

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СТАВРОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Диденко Николай Николаевич

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

3.3.3. Патологическая физиология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Сирак Алла Григорьевна

Краснодар – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. РОЛЬ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ В ПАТОГЕНЕЗЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	18
1.1 Патофизиология больших слюнных желез	18
1.2 Основные функции слюны и их значение в поддержании гомеостаза полости рта и развитии стоматологической патологии	24
1.3 Основные изменения в организме, развивающиеся на фоне сниженной функции слюнных желёз	27
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	35
2.1 Общая характеристика проведенных исследований	35
2.2 Материалы и методы экспериментальной части исследования.....	36
2.2.1 Моделирование гипосаливации, не связанной с деструктивными изменениями в слюнных железах	36
2.2.2 Разработка экспериментальной модели острого пародонтита.....	37
2.2.3 Разработка экспериментальной модели пародонтита при пониженной секреторной активности больших слюнных желез крыс .	40
2.2.3.1 Хирургические этапы исследования больших парных слюнных желез (на примере околоушных слюнных желез).....	40
2.3 Материалы и методы исследования интенсивности свободнорадикального окисления и состояния антиоксидантной системы	44
2.3.1 Выделение мононуклеарных лейкоцитов десен крыс.....	44
2.3.2 Оценка продукции активных форм кислорода мононуклеарными лейкоцитами десен методом проточной лазерной цитометрии.....	44
2.3.3 Определение содержания гидропероксидов липидов.....	46
2.3.4 Определение уровня продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (TBARS-тест) как маркера малонового диальдегида (МДА).....	46

2.3.5	Определение активности супероксиддисмутазы	48
2.3.6	Определение активности каталазы.....	50
2.3.7	Определение содержания церулоплазмينا в плазме крови	51
2.3.8	Определение концентрации восстановленного глутатиона	52
2.4	Материалы и методы исследования иммунного статуса	53
2.4.1	Исследование клеточного иммунитета.....	53
2.4.2	Определение содержания иммуноглобулинов классов А, М и G в сыворотке крови.....	53
2.4.3	Определение содержания циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови.....	54
2.4.4	Исследование цитокинового статуса	55
2.4.5	Выделение моноцитов из крови	56
2.4.6	Тест нитросинего тетразоля (НСТ-тест).....	56
2.5	Методы исследования эндогенной интоксикации и состояния детоксикационной системы	58
2.5.1	Определение эритроцитарного индекса интоксикации (ЭИИ).....	58
2.5.2	Определение содержания молекул средней массы	58
2.6	Методы статистического анализа.....	59
ГЛАВА 3. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ БОЛЬШИХ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПОСАЛИВАЦИИ		60
3.1	Гистологическая картина строения больших слюнных желез крысы в норме (на примере околоушной слюнной железы).....	60
3.2	Морфологические изменения больших слюнных желез крыс в условиях экспериментальной гипосаливации	67
ГЛАВА 4. ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БОЛЬШИХ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПАРОДОНТИТЕ		74

ГЛАВА 5. ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПАРОДОНТИТА ПРИ ПОНИЖЕННОЙ СЕКРЕТОРНОЙ И ГУМОРАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ БОЛЬШИХ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ КРЫС.....	88
5.1 Интенсивность процессов липидной пероксидации и состояние антиоксидантной системы у крыс с ОП при низкой секреторной активности больших слюнных желез крыс	89
5.2 Особенности неспецифического и специфического звеньев иммунной защиты у крыс с острым пародонтизом на фоне ксеростомии.....	97
5.3 Показатели эндогенной интоксикации у крыс с сочетанной формой патологии пародонта и слюнных желез.....	112
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	120
Выводы.....	127
Практические рекомендации.....	129
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	131
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	132
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА	148
ПРИЛОЖЕНИЯ	152
Приложение А. Патенты на изобретения	152

ВВЕДЕНИЕ

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 [46, 56, 110]. Рост заболеваемости усугубляется низкой эффективностью традиционных методов лечения и диагностики, что затрудняет достижение длительной ремиссии [31, 68]. В этиологии и патогенезе пародонтита ключевую роль играют факторы, снижающие иммунитет и способствующие развитию вторичной иммунной недостаточности [32]. Современные концепции подчеркивают значение иммунного статуса индивидуума и устойчивости тканей пародонта к бактериальной инвазии [66]. Эндокринная система, входящая в нейроэндокринную регуляцию, оказывает первичное влияние на иммунный ответ [86, 88, 90].

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 [115]. Гипосаливация (ксеростомия) возникает по разным причинам, включая радиоактивное излучение [33], прием лекарств [6], онкологию [33], химические ожоги [57], алкогольную интоксикацию [65], ожирение [5], а также сахарный диабет и психоэмоциональное напряжение [50, 94, 109].

Гипосаливация существенно изменяет стоматологический статус пациентов, способствуя развитию кариеса дентина, воспалений пародонта и слизистой оболочки, а также системным нарушениям, ухудшающим качество жизни [60, 122].

Степень разработанности темы исследования

Взаимосвязь стоматологических патологий с общесоматическими заболеваниями хорошо изучена [16, 18, 44, 108]. Данные литературы подтверждают высокую частоту кариозных поражений при гипосаливации [53,

106] и снижение неспецифической резистентности при остром и генерализованном пародонтите [62]. Однако имеющиеся научные сведения недостаточны для понимания патогенетических механизмов пародонтита, особенно в условиях гипосаливации [13, 21]. Исследования патогенеза пародонтита при дисфункции слюнных желез крайне ограничены [34, 40, 128].

Рекомендуется нормализация слюноотделения для профилактики стоматологических заболеваний [91], но механизмы нарушений саливации требуют дальнейшего изучения для эффективного влияния на гомеостаз полости рта [109]. 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».

Объект исследования – показатели свободнорадикального окисления (МДА), состояние антиоксидантной системы (СОД, каталаза), фагоцитарная активность, состояния клеточного и гуморального звеньев иммунной системы (CD4⁺ лимфоциты, IgA/IgG), цитокиновый профиль (TNF- α , IL-1 β , IL-6) в тканях слюнных желез и пародонтальной ткани у крыс с острым пародонтитом на фоне индуцированной ксеростомии.

Предмет исследования - роль секреторной (эксреторной) и гуморальной активности больших слюнных желез в механизмах патогенеза острого пародонтита у крыс на фоне индуцированной гипосаливации.

Область исследования – механизмы патогенеза экспериментального пародонтита у крыс при снижении секреторной и гуморальной активности больших слюнных желез (на фоне индуцированной ксеростомии).

Отрасль науки – медицинские науки.

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 проведена на расширенном заседании кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России (Ставрополь, 2025 г.), где результаты рекомендованы к внедрению.

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.

ГЛАВА 1**РОЛЬ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ В ПАТОГЕНЕЗЕ
ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА
(ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)****1.1 Патопфизиология больших слюнных желез**

Слюнные железы (СЖ) и выделяемая ими слюна выполняют много функций и играют важнейшую роль в поддержании гомеостаза полости рта и обеспечении жизнедеятельности человека [12, 15, 108]. Анатомически СЖ делятся на железы преддверия полости рта (щечные, губные) и собственно полости рта (язычные, твердого и мягкого неба). В подслизистом слое группами расположены малые слюнные железы (МСЖ), которые структурно отличаются от больших СЖ [29]. Большое число МСЖ рассредоточено по слизистой оболочке мягкого неба [96].

Анатомически и гистологически СЖ хорошо изучены и на сегодняшний день их структура представляется всесторонне оцененной. Функция так же исследована и представлена в множестве руководств и монографий. Главным секретом СЖ считается слюна, формирующаяся первично в концевых секреторных клетках железистого аппарата с последующими модификациями состава в протоковой системе [31].

Соединительнотканые капсулы желез с отходящими от нее внутрь органа прослойками, обеспечивают структурность и остов для паренхимы с сосудисто-нервным аппаратом. Специализированные клетки, секретирующие составные части слюны (гланулоциты), и миоэпителиальные клетки (миоэпителиоциты), обеспечивающие при сокращении движение секрета, составляют основной клеточный состав СЖ [46].

Секрет СЖ – слюна – постоянно выделяется в полость рта. Паротин стимулирует обызвествление кости, уменьшает уровень кальция в крови, обладает слабым иммунакативным действием через макрофаги и лейкоциты.

Калликреин изменяет порозность мембран и капиллярной стенки, модифицирует кининовую систему, тем самым усиливая микроциркуляцию и некоторым образом изменяя системное артериальное давление. Фактор роста нервных волокон активирует регенерацию нервных волокон. Эпидермальный фактор роста способствует пролиферации эпителия СОПР и других отделов пищеварительной трубки [86].

Для больших СЖ характерна инкреторная функция. Вместе с тем, некоторые функции биологически активных частей слюны до сих пор мало изучены, в том числе их роль в обеспечении функционального состояния тканей пародонта, зубов [52, 96].

По механизму выделения секрета все СЖ являются мерокринными. Количественные и качественные характеристики секрета определяются различным вкладом желез. В частности, до 25–35% общего объёма слюны синтезируется и экскретируется околоушными железами, а 60–70% — подчелюстными. На долю подъязычных и малых желез совокупно приходится не более 15% объёма слюны. При этом именно секрет малых желёз отличается повышенным содержанием слизи, обеспечивая ею до 70% всей слизи в общем объёме слюны.

Слюнные железы отличаются также по характеру слюны и вырабатываемых БАВ [23, 91].

Поднижнечелюстная железа (осуществляет преимущественно белковый тип секреции. До 80% её концевых отделов белковые, 20% - смешанные. Концевые отделы имеют трубчатую форму, образованы слизистыми клетками — мукоцитами, которые содержат много слизистых гранул. Ядра и органеллы смещены к основанию клеток, хорошо развит аппарат Гольджи и агранулярная ЭПС. Её кислотность ниже, чем кислотность слюны околоушных желёз. Они вырабатывают фактор роста нервов, который обеспечивает синтез нейропептидов, рост аксона. Эти клетки также выделяют инсулиноподобные белки [48, 96, 106, 112].

В стенке выводного протока возможно отложение минеральных солей с развитием слюннокаменной болезни [15]. Показано, что удаление именно поднижнечелюстной железы приводит к развитию различных заболеваний желудочно-кишечного тракта [30].

Околоушная СЖ - сложная альвеолярная железа с разветвлённой протоковой системой. Основу секрета железы составляет жидкий серозный секрет, богатый альфа-амилазой и минеральными солями. В клетках большое количество белковых секреторных гранул. Между клетками развиты межклеточные секреторные каналы, куда клетки выделяют секрет, содержащий амилазу, мальтазу, минеральные соли и сиаловую кислоту [22, 41, 49, 101].

Подъязычная железа по характеру выделяемых компонентов слюны относится к смешанным серозно-слизистым железам, но преимущественно со слизистой секрецией [34, 52, 80, 97].

Механизмы регуляции слюноотделения представляются сложно организованными нейро-гуморальными взаимодействиями, которые функционируют как единая система обеспечения слаженной работы всего пищеварительного тракта [14, 36, 86]. Физиологически такая система обеспечивается как условно-, так и безусловно-рефлекторными связями афферентной и эфферентной частей периферической и центральной нервной системы, имеющей воспринимающий аппарат в виде тактильных, температурных, вкусовых рецепторов полости рта, афферентацию по волокнам язычного, языкоглоточного и верхнегортанного нервов, слюноотделительный центр продолговатого мозга, эфферентную часть, контролирующую секреторную часть СЖ [14, 54, 69, 115].

Гуморальный компонент представлен сложной системой обеспечения контроля со стороны ацетилхолина, гистамина, тироксина, калликреин-кининовой системы, которые модулируют функцию СЖ, в зависимости от функциональной активности клеток [28]. Следует отметить, что вместе с физиологической анатомией слюнных желез, особое значение имеет и патологическая анатомия

слюнных желёз, проявляющаяся в виде сиалоаденопатий – различных патологических изменениях, развивающихся в СЖ.

Различают 3 основных класса сиалоаденопатий: пороки развития, сиалоадениты (воспаление слюнных желез) и опухоли. В каждый из классов включены много разных заболеваний, снижающих функцию СЖ [5, 60].

Если говорить об основных этиологических факторах и механизмах развития патологии СЖ, то на первый план выходят механические повреждения, включая ятрогенные хирургические воздействия, опухолевая трансформация, а также аутоиммунные повреждения клеток, запускаемые внешними воздействиями и эндогенными факторами. Немаловажную роль в патологии СЖ отводят изменениям в составе слюны, ведущим к камнеобразованию с последующим повреждением протоковой системы и развитию сиалоаденитов [8, 65, 101].

Наиболее распространенным заболеванием СЖ является хронический неспецифический сиалоаденит. В основном воспаляются околоушные железы (89%), реже - подчелюстные и подъязычные. Двустороннее поражение СЖ наблюдается не так часто (около 30% случаев). Это самостоятельное заболевание, его появление не сопряжено с эпидемическим паротитом. В зависимости от локализации повреждений в СЖ можно говорить об интерстициальном, паренхиматозном сиалоадените, либо сиалодохите (сужение протоков) [9, 19, 65, 130].

Острое по клиническому течению воспаление неспецифического характера чаще всего наблюдается в околоушной СЖ. В клинической практике именно этот вид паротита остается наиболее частой и тяжело протекающей патологией [18].

Нельзя сбрасывать со щитов патологию СЖ, как следствие развития нежелательных эффектов некоторых лекарственных препаратов. Описаны случаи гиперсаливации с последующими воспалительными явлениями в СЖ при использовании некоторых групп нейролептиков [99].

Условиями, способствующими, либо препятствующими развитию патологии СЖ, могут быть сужение слюнно-выводного протока [40], внедрение инородных тел [7, 53]. Предполагают, что существенное влияние на развитие

хронических воспалительных заболеваний СЖ оказывает нарушение обменных процессов [44], патологические изменения ферментативной активности [109].

В настоящее время вполне доказанным является роль IgG4 в развитии воспалительного процесса в паренхиматозных органах, в том числе и СЖ [64, 95, 120, 123]. Об этом свидетельствует повышение уровня IgG4 в сыворотке крови [17]. Как считают ученые, целесообразно выделить в отдельную группу IgG4-связанный хронический сиалоаденит [1, 37, 47].

Слюнно-каменная болезнь (сиалолитиаз, СКБ), заболевание, характеризующееся образованием конкрементов в теле железы или её выводном протоке [2, 24, 99, 113]. Наиболее часто слюнно-каменная болезнь встречается в подчелюстной СЖ (90-95%), реже в околоушной (5-8%) [86, 93]. Описаны случаи образования камней и в малых СЖ [54, 109].

Основой развития болезни является нарушение минерального обмена [21, 27, 37, 75]. Одни авторы причину камнеобразования видят в сниженной активности самой железы, при которой происходит застой слюны, выпадение кристаллов солей, которые и служат центром оседания органических и неорганических веществ [3, 58, 76, 121].

Другие авторы указывают на нарушение фосфорно-кальциевого обмена в организме, недостаток витамина А. Установлено также, что причиной развития СКБ могут быть врожденные деформации протоковой системы, такие как диффузное расширение различных ее отделов, изменения анатомической формы главных протоков, которые имеют вид ломаной линии с резкими изгибами [94]. Ученые полагают, что длительное применение высокоминерализованной питьевой воды может способствовать камнеобразованию в СЖ [86].

В. В. Афанасьев (2017) предполагает, что процесс камнеобразования возникает в СЖ на фоне их первично-хронического воспаления, которое является следствием хронической персистенции вирусов, тропных к железистым тканям, чаще всего вирусов цитомегалии и эпидемического паротита [5].

По мнению С. Н. Орехова (2017) первыми симптомами слюнно-каменной болезни являются возникновение боли и увеличение СЖ при приеме пищи, развитие «слюнной колики» [50].

Опухоли слюнных желез делятся на эпителиальные, неэпителиальные, смешанные, неклассифицированные: доброкачественные и злокачественные. Занимают третье место среди заболеваний СЖ [84, 131]. Опухоли СЖ чаще встречаются в околоушных СЖ, реже в малых СЖ и в подчелюстных СЖ. Специфические заболевания слюнных желез в основном относятся к системным заболеваниям, когда страдают не только СЖ, но и другие органы [23, 28, 74].

Среди системных аутоиммунных заболеваний выделяют патологию, характеризующуюся поражением (лимфоцитарной инфильтрацией) многих секретирующих желез – Болезнь Шегрена [1, 15, 65, 104, 132]. Поскольку это системное заболевание, то симптомы, относящиеся к проявлениям патологии СЖ, являются частью симптомокомплекса со снижением слюнообразования и выделения [42, 67, 116]. Механизм поражения СЖ при болезни Шегрена связан с запуском апоптоза клеток аутоиммунного генеза с формированием клиники сиалоаденоза [51, 67, 86]. Следует отметить, что при болезни Шегрена наряду с БСЖ, могут поражаться и малые СЖ [103].

Синдром Шегрена наблюдается преимущественно у женщин в возрасте 20–60 лет (чаще после 40 лет). По данным статистики синдром Шегрена наблюдается у 15–25% больных ревматоидным артритом, у 5–10% больных коллагеновыми заболеваниями, у 50-100% больных аутоиммунным заболеваниями печени [60, 86].

Существуют несколько теорий поражения СЖ при болезни Шегрена. Так, например, А. Lehmann-Kalata (2018) считает, что существенное значение имеет чрезмерное производство интерферонов типа I (IFN), вызванное факторами окружающей среды и наследственными факторами [116]. С другой стороны, при данной патологии выявлен синтез большого количества иммуноглобулинов, что может быть связано с диссоциацией во взаимодействии Т- и В-лимфоцитов [12, 43, 52, 67].

По мнению N. Xiao (2023) свидетельством в пользу участия наследственных факторов в реализации симптоматики при синдроме Шегрена, являются мыши линий NZB/W и MRL с яркими признаками аутоиммунной патологии, у которых отсутствует слюноотделение [108].

Как доказал в своем исследовании F. M. Jadu (2014) провоцирующими факторами для усугубления и утяжеления патологического процесса в СЖ при болезни Шегрена являются вирусные заболевания, развившиеся на фоне иммунодефицита [101] и многие соматические болезни [16], вирусные заболевания (вирусы Эпштейна-Барра и цитомегаловирус) [44].

К специфическим заболеваниям СЖ относятся патологии, развивающиеся на фоне эндокринной дисфункции желез.

Так, специфический сиалоаденоз наблюдается при дисфункции щитовидной железы [23, 38, 60, 87]. Заболевания СЖ у человека могут развиваться на фоне туберкулеза, актиномикоза, сифилиса, вирусных заболеваний (эпидемический сиалоаденит, цитомегалия) [23].

До сих пор ученые дискутируют по поводу возможности регенерации СЖ, и многие считают, что она возможна [118].

В настоящее время на основании проведения ряда современных исследований (синиграфия, ультрасонография, сканирование, ультразвук, эластография, эндоскопия, гисто- и цитоморфология) представляется возможность весьма точно выявить природу заболеваний СЖ и установить правильный диагноз [48, 68, 77, 122, 126, 129].

Таким образом, большие слюнные железы выполняют ряд функций, благодаря которым в значительной степени осуществляется поддержание целостности тканей полости рта за счет высоких адаптивных способностей к изменяющимся условиям жизнедеятельности организма и являются своеобразным тест-объектом для оценки многих физиологических и патологических состояний.

1.2 Основные функции слюны и их значение в поддержании гомеостаза полости рта и развитии стоматологической патологии

Слюна является диагностическим маркером в клинической лабораторной диагностике состояния здоровья при многих соматических заболеваниях [38, 43, 68, 79, 82, 90, 112, 121]. Хорошо изучены вопросы клинико-лабораторной диагностики многих соматических заболеваний с оценкой состава, в частности, по соотношению концентраций электролитов и микроэлементов в жидких средах организма [22], различных классов антител [10, 18, 53], летучих кислот [17], белков [55], ферментов [25, 38] продуктов обеспечения перекисного окисления липидов [39].

Ученые указывают на важное прогностическое значение изучения кристаллизации слюны, например, у пациентов с эрозивно-язвенными поражениями гастродуоденальной области [112].

Исследования электролитов (натрия, калия) слюны широко используется для оценки развития перенапряжения организма при профессиональной деятельности и уровня адаптационного синдрома [55].

Основные функции СЖ: защитная, пищеварительная, трофическая, инкреторная, очищающая, минерализующая.

Защитная функция обеспечивается рядом составных частей самой слюны, точнее их бактерицидностью, способностью обеспечивать буферные свойства. Пищеварительные свойства мальтазы и амилазы слюны обеспечивают деградацию сложных углеводов, крахмала, а также проталкивание пищевого комка в пищеварительный тракт в смоченном виде. Инкреция биологически активных и гормоноподобных веществ осуществляет контроль углеводного (глюкагон, инсулиноподобный фактор), минерального обменов и эритропоза.

Трофическая и очищающая функции обеспечиваются координированной выработкой всех экскреторных факторов, регулирующих увлажнение и омывание зубов и слизистой, метаболизм тканей пародонта с контролем репарации и регенерации, контроль микробиоты ротовой полости.

Все перечисленные функции реализуются несколькими идентифицированными классами белков СЖ, вырабатываемых железистыми клетками [3, 16, 24, 68, 101, 125, 131].

Участие СЖ в опосредовании минерализующей функции слюны наиболее интересно. Учитывая, что в процессах минерализации зубов участвуют кальций, фосфаты, фтор, бикарбонаты, их концентрации в крови и слюне, хотя и существенно отличаются, подлежат жесткому контролю [1, 14, 39, 59].

Важное значение в минерализации и деминерализации поверхностного слоя эмали отводят значениям рН, так же контролируемым слюной. Наиболее комфортные значения от 4,5, до 5,5 обеспечиваются эмалевым гидроксиапатитом и фторапатитом ротовой жидкости. Закисление среды ниже указанных значений вследствие снижения концентрации апатитов приводит к растворению эмали зубов по типу эрозии [32]. Кроме того, буферная емкость слюны определяется гидрокарбонатной, фосфатной и белковой системами [61].

Чрезвычайна важна с клинической точки зрения, а также представляет интерес с учетом оценки механизмов патологии пищеварения вообще ферментативная составляющая слюной жидкости. Ключевые ферменты слюны - α -амилаза, щелочная и кислая фосфатазы, нуклеазы, кининогены и гиалуронидаза. Ферменты обеспечивают начало деградации сложных углеводов, участвуют дефосфорилировании органических веществ, контролируют противовирусную защиту, расщепляя нуклеиновые кислоты вирусов, обеспечивают появление брадикинина, а также контролируют уровень проницаемости клеточных барьеров, в том числе клеточных мембран. Важно, что активность ферментов слюны определяется рН среды, увеличиваясь при воспалении мягких тканей полости рта, а также кариесе зубов [54, 118].

Нельзя не отметить иммунологическую роль слюны, зависимую от концентрации различных классов иммуноглобулинов. Более мелкие молекулы IgG секретируются в полость рта из сосудистого русла через сосудистую стенку слизистой оболочки или околоушной слюнной железой, что определяется степенью проницаемости мембранного аппарата [16]. Крупные IgM и S-IgA

синтезируются местно. Роль секретируемого IgA, среди прочего, сводится к балансу качественного состава микробиоты, компенсации функции IgM при его недостатке [38].

Снижение функциональной активности СЖ ведет к изменениям многих функций в полости рта и организме в целом, включая пищеварение, обмен веществ, состояние тканей пародонта, зубов, контролируя возможные воздействия экзогенных факторов на внутреннюю среду организма [10, 15, 35, 51, 64, 77, 88, 94, 103, 112, 116, 133].

Таким образом, к настоящему времени учеными установлено, что снижение саливации способствует развитию стоматологической патологии. Механизм развития стоматологических заболеваний сопряжен с основными функциями СЖ и связан непосредственно с недостатком поступления в ротовую полость биологически активных веществ осуществляющих естественные защитный и минерализующий потенциалы, которые реализуются через кислотно-щелочной, иммунный, микробный, минеральный, антиоксидантно-прооксидантный и другие системы гомеостаза полости рта, что обуславливает особенности течения большинства патологических процессов как непосредственно в полости рта, так и на уровне организма.

1.3 Основные изменения в организме, развивающиеся на фоне сниженной функции слюнных желёз

В доступной литературе мало данных, позволяющих комплексно оценить влияние пониженной продукции слюны на течение пародонтита, а также на функциональную активность иммунной системы.

Пониженная секреция слюны – гипосаливация, при которой выделяется тягучая вязкая слюна.

По мнению И. К. Новицкой (2012) гипосаливация способствует развитию и усугублению стоматологической патологии, проявляющиеся в активации

воспалительных процессов в полости рта, развитию кариеса и его осложнений и, как следствие, снижению качества жизни [45].

С точки зрения Е. И. Деркачевой (2015) пониженное слюноотделение препятствует формированию пищевого комка и затрудняет его глотание [19].

Как считает А. Г. Шульгай (2012) крайняя степень гипосаливации – ксеростомия, приводит к абсолютной сухости в полости рта [63].

Литературные данные говорят о том, что ксеростомия выявляется у 10-60% жителей планеты, а среди пожилых людей ее распространенность достигает 85% [17, 24, 77, 80, 87, 90, 121, 129].

О. Аmano с соавторами (2012) провели исследования саливации у 773 мужчин и 514 женщин в возрасте между 20 и 70 годами и установили, что распространенность ксеростомии и связанных с ней симптомов со стороны СОПР составила 59% [70]. Следует отметить, что частота встречаемости лиц с гипосаливацией с каждым годом увеличивается [68, 80, 114, 129].

J. Liukkonen (2018) напрямую связывает изменения слюноотделения с влиянием вегетативных нервов на активность СЖ. Свой вклад в отсутствие баланса между симпатическим и парасимпатическим контролем вносят факторы эндогенной и экзогенной природы, способные вызвать дистрофические изменения в СЖ, вплоть до атрофии [115].

Среди условий, способствующих уменьшению слюноотделения, есть наиболее вероятные в клинической практике. Во-первых – различные виды дегидратаций организма, ведущие к дефициту жидкости: диареи, активное потоотделение, кровопотеря, прием диуретиков и средств для повышения онкотической и осмотической емкости крови [4, 84, 112].

Во-вторых – инволюционные процессы организма в результате тяжелых соматических заболеваний, старения организма, замедления метаболических функций клеток, в том числе, приемов лекарственных препаратов для лечения опухолевой прогрессии [14, 45, 102, 127].

Третья группа условий характеризует изменения в самой СЖ дистрофического характера под действием различных экзогенных факторов,

например, механической, физической или биологической природы [12, 35, 98, 122], либо

Четвертая группа условий характеризует изменения в самой СЖ функционального характера. Это состояния, связанные с вегетативным дисбалансом в период психоэмоциональных расстройств, приема препаратов холинергического типа действия, гиповитаминозы, лихорадка, эндокринная патология и др. [13, 84, 107].

Наибольший интерес в этом плане представляет прием целого ряда медикаментозных препаратов [8, 69, 112] - гипотензивные препараты и блокаторы кальция, диуретики, цитостатики, антидепрессанты, противосудорожные, седативные, антигистаминные препараты, препараты ретровирусной терапии, антацидные средства - приводящие к обезвоживанию организма [25, 66, 74, 94, 114, 123]. Непосредственно на снижение секреции слюны оказывают лекарственные препараты антихолинэстеразного действия, назначаемые при расстройствах вегетативной нервной системы [11, 30, 88, 94, 122].

По данным Е. В. Gordis (2016) секреция СЖ подвержена закономерным возрастным изменениям - с момента прорезывания зубов слюноотделение значительно усиливается, вплоть до физиологического слюнотечения [74]. Еще более существенные изменения обнаруживаются в период гормонального «взрыва» после 12-14 лет, что опосредуется влиянием на функцию СЖ половых гормонов [9, 46, 127], со снижением саливации у 60% детей подросткового возраста [7].

Дистрофические явления с перестройкой СЖ наблюдаются после 60-70 лет с клинически значимым снижением слюноотделения и изменением качественного состава слюны [25]. Наиболее значимое снижение функции СЖ наблюдается при поражении их паренхимы, когда страдает как секретирующие клетки, так и слюновыводные протоки [23, 118]. Ученые также считают, что при сиалоаденитах нарушена вегетативная регуляция слюнообразования с превалированием симпатической иннервации [22].

Исследования показывают, что снижение саливации наиболее частое осложнение неспецифических сиалоаденитов [1, 47].

Одно из серьезных осложнений лучевой терапии в области головы и шеи – повреждение крупных слюнных желез, что резко ухудшает их функцию по выработке слюны. Данное состояние часто приводит к гипосаливации или полному отсутствию слюноотделения, вызывая сухость во рту, дискомфорт при жевании и глотании, а также повышая риск развития стоматологических заболеваний, таких как кариес и воспаления слизистой оболочки полости рта. Так как слюнные железы чувствительны к радиации, этот побочный эффект требует тщательного мониторинга и симптоматического лечения для улучшения качества жизни пациентов после лечения [59, 80].

Снижением саливации вплоть до ксеростомии сопровождается химиотерапевтическое лечение онкологических заболеваний [49, 111]. Считают, что после химиотерапевтического лечения прогноз относительно восстановления функции СЖ более благоприятный, нежели после облучения [89].

Исследования показывают, что снижение выработки слюны приводит к появлению «синдрома сухого рта» – состояния, которое усугубляет различные стоматологические заболевания. Комплекс включает воспалительные поражения слизистой оболочки полости рта (СОПР), гингивит, пародонтит, кариес и повышенную чувствительность зубов (гиперестезию). Пониженная саливация нарушает естественную защиту полости рта, снижая её способность к самоочистке и борьбе с бактериями, что способствует прогрессированию этих патологий и требует своевременного внимания со стороны стоматологов для предотвращения осложнений [54, 72, 89, 101, 116, 120].

Снижение секреторной активности СЖ встречается достаточно часто при заболеваниях эндокринных желез [15]. По некоторым данным, снижение функциональной активности СЖ наблюдается у 80% больных с одонтогенными воспалительными заболеваниями полости рта.

По данным А. Souza (2022) снижение функциональной активности СЖ наблюдается у лиц с зубными протезами. При съемном зубном протезировании,

когда в качестве базисного протеза применяется акриловая пластмасса, снижение саливации связано с токсическим влиянием метилметакрилата [68]. При несъемных металлических конструкциях протезов снижение саливации в большинстве случаев обусловлено наличием гальванизма [11, 31, 66].

По мнению М. S. Vajwa (2014) причиной снижения секреторной функция СЖ могут быть одонтогенные воспалительные заболевания челюстей [76]. М. Н. Aure (2015) считает, что ряд общесоматических и инфекционных заболеваний также сопровождается снижением слюновыделения [75].

Одним из ранних проявлений сахарного диабета являются не только сухость кожных покровов и снижением эластичности кожи, жажда, но и сухость во рту. У таких пациентов ярко выражена потеря нитевидных сосочков на языке, имеются признаки пародонтита с высокой вероятностью преждевременной потери зубов [88]. Это делает необходимым больных сахарным диабетом ставить на диспансерное наблюдение у стоматолога.

По данным С. С. Griffith (2017) практически у всех больных диабетом наблюдается гипосаливация. Автор предполагает, что диабетические осложнения функции СЖ могут быть связаны с аутоиммунным процессом перерождения слюнопродуцирующих клеток [109].

Установлено, что кандидоз полости рта также сопровождается синдромом «сухого рта», обусловленный в основном недостаточной функцией околоушной СЖ [3, 127, 130]. Образуется замкнутый круг: снижение слюноотделения – увеличенный рост грибов – симптомы грибкового стоматита – разрастание колоний грибов в выводном протоке СЖ – прогрессирующее уменьшение количества выделяемой слюны [19, 37, 47, 54].

Следует отметить, что у человека симпатические нервы вызывают слюноотделение только из подчелюстных желез и не действуют на околоушные железы [6].

В исследовании С. Е. Sorensen (2014), А. К. Bag (2018) у пациентов с сердечно-сосудистой патологией выявлена высокая частота встречаемости ксеростомии, что обусловлено невысоким уровнем гигиены полости рта [73, 98].

В работах В. З. Сикоры (2013) показано, что гипосаливация наблюдается при патологии желудочно-кишечного тракта [52], заболевании почек, особенно у больных, находящихся на гемодиализе.

В исследованиях многих авторов доказано, что снижение саливации является одним из факторов риска развития пародонтита [4, 14, 45, 64, 118, 129]. Исследования К. Kusafuka (2018) показывают, что у лиц с ксеростомией увеличивается численность и агрессивность патогенной микрофлоры, в том числе и пародонтогенной [120].

Ряд авторов на основании комплекса клинико-лабораторных исследований доказали наличие патологических изменений в полости рта, и в первую очередь заболеваний пародонта, у больных с хронической почечной недостаточностью, развившиеся на фоне гипосаливации [17, 30, 117, 124].

Гипосаливация способствует развитию и усугублению стоматологической патологии, проявляющиеся в активации воспалительных процессов в полости рта, развитию кариеса и его осложнений и, как следствие, снижению качества жизни [28, 53, 69, 98]. Крайняя степень гипосаливации - ксеростомия - приводит к абсолютной сухости в полости рта [25, 47, 76, 111].

По мнению В. В. Лобейко и В. Н. Цыгана (2017) ксеростомия может развиваться при психоэмоциональных расстройствах, проявлением которых является депрессия, чаще всего развивающаяся на фоне стресса или длительно травмирующей ситуации [31]. Зная механизм развития непосредственно стресса, заключающийся в выбросе адреналина, можно обозначить и механизм снижения слюноотделения.

Как известно, адреналин и прочие катехоламины — химические вещества, вырабатываемые при стрессе — подавляют деятельность желудочно-кишечного тракта, включая саливацию. Под действием постоянно выделяющегося адреналина начинает преобладать симпатическая иннервация БСЖ, главным образом подчелюстных, нивелируя действие парасимпатической иннервации. Выделяющаяся слюна густая, ее мало и к тому же она трудно истекает по протокам.

По мнению В. З. Сикоры (2013) гистологические изменения слюнных желез в условиях техногенных микроэлементозов обусловлено уменьшением содержания в слюне солей и других важных метаболитов [52]. На ранние патологические изменения слюнных желез при стрессе указывает в своем исследовании А. И. Гончарова (2018) [13].

Следует отметить, что у человека симпатические нервы вызывают слюноотделение только из подчелюстных желез и не действуют на околоушные железы.

В работе М. S. Vajwa (2014) установлено, что при бронхолегочных заболеваниях характерным является не только снижение саливации, но и снижение в слюне основных минеральных компонентов – Са, Р [76].

К. Iwasawa (2018) установил, что обструктивная форма хронического пиелонефрита у детей и подростков существенно снижает скорость саливации и степень кислотности ротовой жидкости, а также повышает буферную емкость смешанной слюны [86, 127].

По мнению А. Simon-Soro (2018) снижение саливации является одним из факторов риска развития пародонтита [81].

Исследованием А. М. Chibly (2018) показано, что у лиц с ксеростомией увеличивается численность и агрессивность патогенной микрофлоры, в том числе, пародонтогенной [71].

Как показали исследования, проведенные Е. В. Gordis (2016), при заболеваниях эндокринной системы, риском развития кариеса является снижение слюновыделения. Автором доказано, что у пациентов с ксеростомией чаще наблюдается нарушение краевого прилегания пломб [74].

Деструктивные изменения в паренхиме и сосудистых компонентах больших СЖ у крыс обнаружены в ходе экспериментального моделирования гипергликемии [26]. На основании комплекса клинико-лабораторных исследований реакции тучных клеток в околоушной слюнной железе при интоксикации (алкоголем), доказано наличие патологических изменений в полости рта, и в первую очередь заболеваний пародонта, у больных с

хронической почечной и печеночной недостаточностью, развившиеся на фоне гипосаливации [65]. Таким образом, проанализированные данные литературных источников, показали, что снижение функции слюнных желез отмечается как на фоне общесоматической патологии, так и в связи со стоматологическими заболеваниями.

Резюме

Анализ литературных данных позволяет сделать следующие выводы.

На сегодняшний день существует много нерешенных вопросов в проблеме снижения саливации, обусловленной как структурными, так и морфофункциональными причинами. Однако из рассматриваемой литературы становится ясно, что углубленный анализ ведущих причин, способствующих уменьшению слюновыделения, учеными практически не рассматривается. При разработке методов стимулирования саливации в каждом конкретном случае редко учитывается патогенетический механизм нарушения слюновыделения, без знания которого не всегда удастся целенаправленно влиять на функциональную активность больших слюнных желез. В доступной литературе не встретились работы, посвященные одновременному исследованию гуморальной, клеточной, фагоцитарной составляющей иммунной системы у больных с воспалительными заболеваниями тканей пародонта в сочетании со снижением секреторной активности больших слюнных желез. В свете всего вышесказанного, изучение патогенетических механизмов пародонтита при низкой секреторной активности больших слюнных желез крыс представляется актуальным и важным научным исследованием, поскольку позволяет научно обосновать комплексный подход к лечению данных заболеваний с учетом выявленных закономерностей их развития.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Общая характеристика проведенных исследований

Комплекс экспериментальных и лабораторных исследований был реализован для решения поставленных в работе задач.

В таблице 1 указан весь объем исследований, проведенных в рамках выполненной работы.

Таблица 1 – Перечень проведенных экспериментальных и лабораторных исследований

Объекты исследования	Наименования проведенных исследований	Кол-во
Экспериментальные исследования		
Крысы	Моделирование гипосаливации (ксеростомии)	40
Крысы	Разработка экспериментальной модели острого пародонтита	60
Крысы	Разработка экспериментальной модели пародонтита при пониженной секреторной активности больших слюнных желез крыс	60
Всего:		160
Лабораторные исследования		
Гомогенаты десен, препараты слюнных желез, кровь экспериментальных животных	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.	658
Всего:		658

Продолжение таблицы 1

Объекты исследования	Наименования проведенных исследований	Кол-во
Рентгенологические исследования		
Крысы	Рентгенологический контроль костной ткани альвеолярных отростков челюстей и вершин межзубных костных перегородок при формировании модели пародонтита	134
Статистические исследования		
Результаты, исследований	Однофакторный дисперсионный анализ и множественное сравнение Ньюмена-Кейлса в программе Primer of Biostatistics 4.03 для Windows, t-критерий Стьюдента, данные считали достоверными при $p < 0,05$.	1287
Всего:		1287

2.2 Материалы и методы экспериментальной части исследования

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

2.2.1 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 $p < 0,05$.

2.2.2 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 (рисунки 1, 2).

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.



Рисунок 1 – Экспериментальная часть исследования, подготовка животных

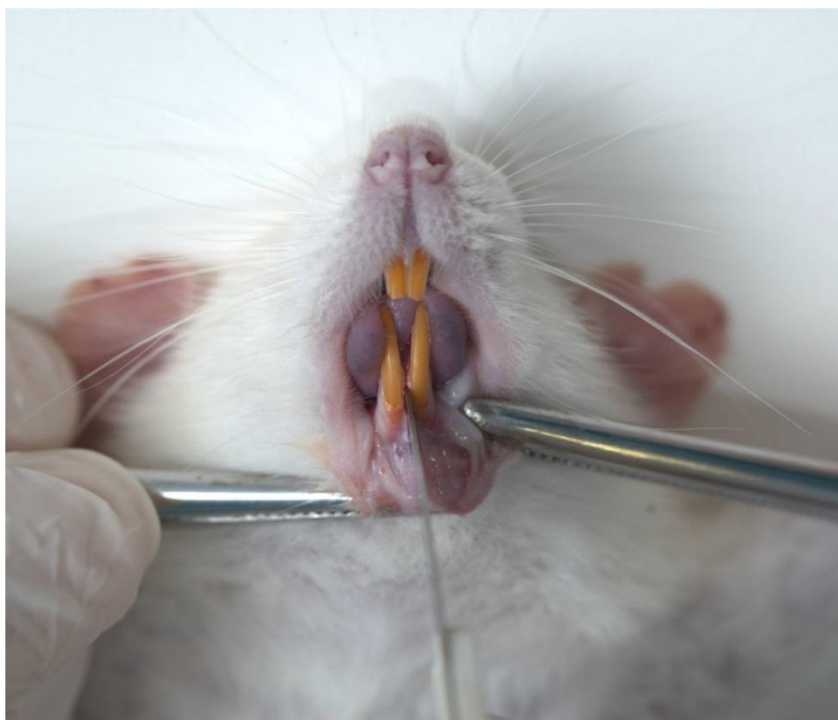


Рисунок 2 – Экспериментальная часть исследования, на этапе моделирования экспериментального пародонтита

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 Шабаша, 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 Turner 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).

2.2.3 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.

2.2.3.1 Хирургические этапы исследования больших парных слюнных желез (на примере околоушных слюнных желез)

Околоушная железа у крыс расположена под кожей в области уха и шеи, и её выделение требовало стереотипной техники для всех групп наблюдения.

1. Обезболивание.

Все манипуляции выполнялись под общей анестезией (кетамин/ксилазин), с соблюдением асептики и этических норм (в соответствии с ARRIVE).

Обезболивание производили с использованием наиболее распространенной схемы – кетамин + ксилазин, вводимых внутривентриально. Дозировки

рассчитывали в зависимости от веса крысы и цели исследования (расчетный период анальгезии 20-60 минут).

Препараты: кетамин: 75–100 мг/кг внутривбрюшинно. Начальная доза 75 мг/кг обеспечивала лёгкую анестезию с увеличением до 100 мг/кг для глубокой; ксилазин: 5–10 мг/кг внутривбрюшинно, комбинировали с кетамином для усиления эффекта и снижения дозы диссоциативов.

Вспомогательные препараты: атропин 0,05 мг/кг (подкожно или внутривбрюшинно) для предотвращения брадикардии, местные анестетики (например, 2% лидокаина гидрохлорид подкожно) для разреза.

Пример расчёта для крысы весом 250 г:

Кетамин: $75 \text{ мг/кг} \times 0,25 \text{ кг} = 18,75 \text{ мг}$ (или 0,019 г).

Ксилазин: $5 \text{ мг/кг} \times 0,25 \text{ кг} = 1,25 \text{ мг}$.

2. Выстригание шерсти.

Шерсть на латеральной поверхности головы и шеи (от ушной раковины до основания шеи) выстригали электробритвой или ножницами, что обеспечивало беспрепятственный доступ и визуализацию, предотвращая загрязнение (рисунок 3а). Операционное поле обрабатывали раствором йода (рисунок 3б).

3. Разрез кожи.

Производили вертикальный разрез кожи длиной 5 см вдоль заднего края ушной раковины, осторожно проникая через подкожно-жировой слой. Разрез ориентировали таким образом, чтобы минимизировать кровотечение и избежать повреждение крупных сосудов (рисунок 3в).

4. Рассечение мышц и фасций.

Послойно рассекали поверхностные мышцы (*m. platysma*) и фасции с помощью острых ножниц или скальпеля. Ткани разделяли тупым препарированием для раскрытия капсулы околоушной железы, с контролем за жевательными мышцами (*m. masseter*), идущими глубже (рисунок 3г).



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

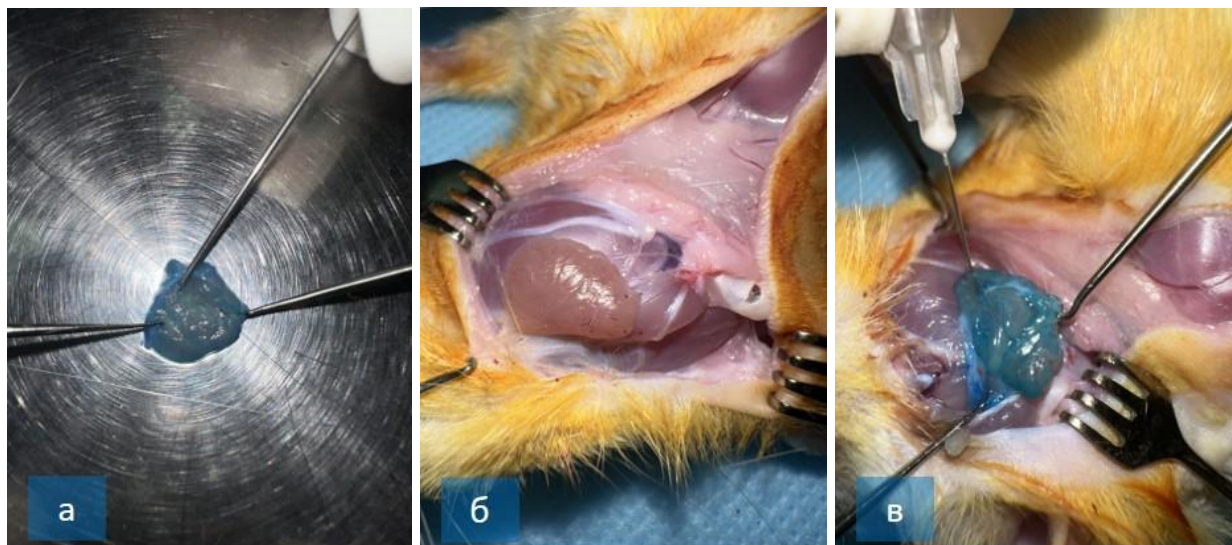
Рисунок 3 – Экспериментальная часть исследования

5. Выделение околоушной слюнной железы.

Околоушную железу идентифицировали как бледно-желёзистое образование и осторожно отделяли от окружающих тканей (сосуды, нервы, лимфатические узлы) с помощью тупого препарирования (рисунок 3д). Выделяли выводной проток и питающие сосуды (ветви внешней сонной артерии), движение инструментов осуществляли от поверхности к основанию, чтобы предотвратить разрывы (рисунок 3е).

После выделения в зависимости от этапа исследования, железы взвешивали на электронных весах (рисунок 4а), экстирпировали на биопсию или исследовали

in situ (рисунок 4б,в). Рану закрывали рассасывающимися швами, животное помещали в клетку для наблюдения.



Примечание – а – взвешивание выделенной железы на электронных весах; б, в – исследование слюнной железы in situ у интактных животных (б) и в опытной группе (в)

Рисунок 4 – 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».

Полученные экспериментальные данные подвергались статистической обработке с использованием дисперсионного анализа с повторными измерениями (Repeated-Measures ANOVA), дополненного двухсторонним t-тестом Стьюдента.

Достоверность различий оценивалась на уровне значимости, соответствующем доверительному интервалу $\pm 1,96$ стандартной ошибки (что эквивалентно приблизительно 95% доверительному интервалу). Анализы выполнялись в программном пакете StatDirect.

2.3 Материалы и методы исследования интенсивности свободнорадикального окисления и состояния антиоксидантной системы

2.3.1 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%.

2.3.2 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 АСЕА, США), оборудованном трёхлазерной системой с длинами волн 488 нм, 640 нм и 405 нм (рисунок 5). 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 (рисунок 6).



Рисунок 5 – Проточный цитометр NovoCyte 3000 (ф.«АСЕА», США)

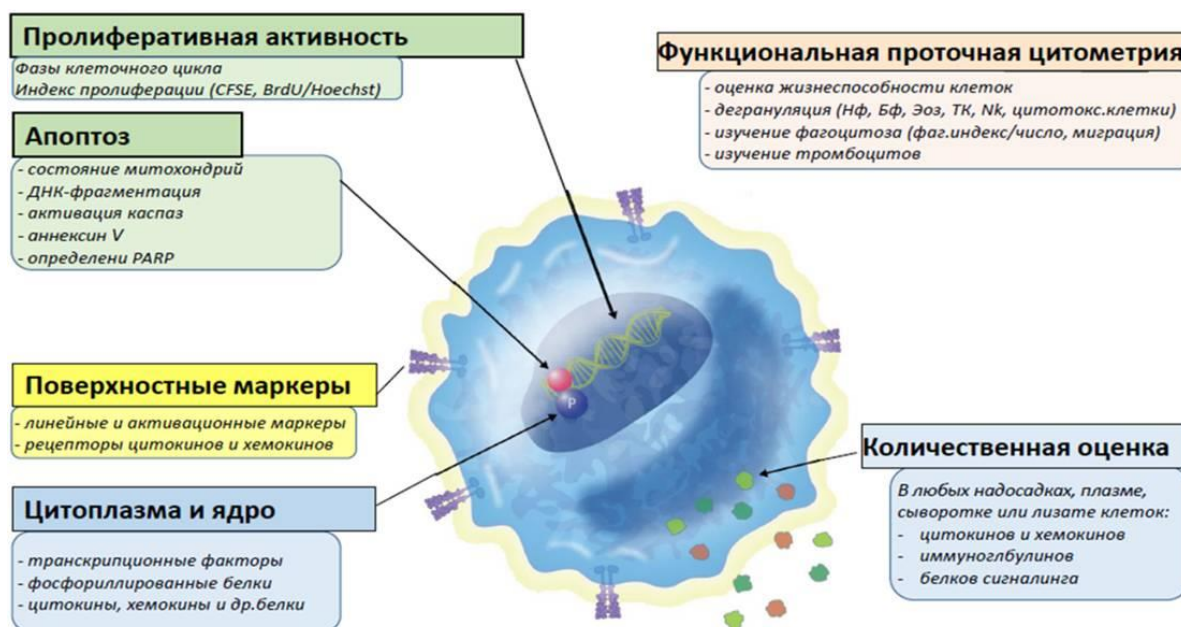


Рисунок 6 – Возможности проточного цитометра NovoCyte 3000

2.3.3 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 пробирки добавляли по 1 мл раствора HCl (рН 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.

2.3.4 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.

Материалы и оборудование.

Реагенты: дистиллированная вода, 30% раствор трихлоруксусной кислоты (ТХУ), 5 М раствор HCl, 0,5% раствор ТБК в дистиллированной воде.

Образцы: плазма крови или 10% гомогенаты десен (подготовленные по стандартным протоколам).

Оборудование: водяная баня с точным контролем температуры (100°C), центрифуга (для осаждения при 4000 об/мин), микропланшетный анализатор (например, BioTek или аналогичный) для измерения оптической плотности при 532–535 нм (длина волны максимального поглощения комплекса МДА–ТБК).

Процедура анализа.

Подготовка проб: в отдельные центрифужные пробирки или лунках 96-луночного планшета добавляли:

- для плазмы: 0,5 мл плазмы + 1,5 мл дистиллированной воды.
- для гомогенатов: 1 мл 10% гомогената + 0 мл дистиллированной воды.

Контроль: 1 мл дистиллированной воды вместо биоматериала (для учёта фонового поглощения).

Добавление экстрагентов и реактивов: в каждую пробу вносили 2 мл 30% раствора ТХУ (для осаждения белков и создания кислой среды), 0,2 мл 5 М HCl и 2 мл 0,5% раствора ТБК.

Инкубация и нагрев: закрывали плотно пробирки (или накрывали планшет фольгой для предотвращения испарения) и инкубировали на водяной бане при 100°C в течение 15 минут, что обеспечивало развитие реакции и образование хромофора.

Охлаждение и центрифугирование: после инкубации охлаждали пробы до комнатной температуры. Центрифугировали при 4000 об/мин в течение 10 минут для осаждения осадка, затем олтбирали супернатант (или верхнюю фазу) для измерения.

Измерение оптической плотности: переносили супернатант в кюветы или лунки планшета и измеряли результаты на микропланшетном ридере при 532–535 нм. Для точности измерений строили калибровочную кривую по стандарту МДА (например, тетраметоксипропан как источник МДА) в диапазоне 0–50 мкМ.

Расчёт и выражение результатов.

Концентрацию МДА рассчитывали по калибровочной кривой, выражая в:

- в плазме крови: мкмоль/л (стандартизация по плазменным критериям здоровья).

- в гомогенатах десен: мкмоль/кг сырого веса ткани.

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 АОАС и стандартам GLP для биомедицинских исследований, 2021).

2.3.5 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.

Материалы и оборудование.

Реагенты: 10% гомогенат десен (приготовленный в 50 мМ фосфатном буфере, pH 7,4); 1:1 смесь хлороформа и этанола (для экстракции); 0,1 М фосфатный буфер (pH 8,3); нитроблю-тетразолиум (НБТ, 0,1 мг/мл);

феназинметасульфат (ФМС, 0,01 мг/мл); дистиллированная вода. Коммерческий кит для SOD (содержащий стандарты и буферы для автоматизации).

Образцы: 1 мл 10% гомогената десен.

Оборудование: центрифуга с охлаждением (до 4°C, 12000 об/мин); микропланшетный анализатор (BioTek ELx808 с фильтрами на 550–600 нм для измерения оптической плотности); лазерный спектрофотометр ЛФ-26.

Процедура анализа.

Подготовка проб: брали 1 мл 10% гомогената десен, добавляли равный объем (1 мл) смеси хлороформа и этанола для удаления липидов и экстракции растворимой фракции. Встряхивали 5–10 минут и центрифугировали при 12000 об/мин в течение 15 минут при 4°C, затем отделяли супернатант (верхний водный слой, ~0,8–1 мл), содержащий фермент.

Настройка реакции: в лунки 96-луночного планшета (или кюветы) добавляли 0,2 мл супернатанта (проба) или 0,2 мл фосфатного буфера (контроль для фонового корона). 1,3 мл 0,1 М фосфатного буфера (pH 8,3), 1 мл раствора НБТ (0,1 мг/мл), 0,3 мл раствора ФМС (0,01 мг/мл), затем инкубировали в темноте при комнатной температуре в течение 10 минут.

Измерение оптической плотности: пробы переносили в микропланшетный ридер и измеряли при 550–600 нм (пиковое поглощение формазана), использовали дубликаты для каждой пробы с расчетом средних значений.

Определение белка и калибровка: измеряли содержание общего белка в супернатанте (метод Брэдфорда) для нормировки активности на мг белка. С построением калибровочной кривой с использованием стандарта чистой СОД (в диапазоне 0–10 U/мл) для точной конверсии.

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

2.3.6 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 (рН 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.

Необходимые материалы (на одну пробу): плазма крови или супернатант гомогената дёсен (0.1 мл), раствор перекиси водорода (0.03%) – 2 мл, раствор молибдата аммония (для остановки реакции и детекции остатка H_2O_2) – 0,1% молибдат аммония в 0.5 М серной кислоте, дистиллированная вода (для холостой пробы). фосфатный или трис-буфер (для разведения).

Оборудование: спектрофотометр (ЛФ-26) с кюветами, водяная баня или инкубатор с термостатом (37°C).

Пошаговый протокол.

1. Подготовка: в две пробирки для пробы и холостой добавляли по 2 мл 0.03%-ного раствора H_2O_2 . В пробную трубку вводили 0,1 мл исследуемого образца (плазма или гомогенат), а в холостую – 0,1 мл дистиллированной воды (с измерением начальной концентрации H_2O_2 без фермента).

2. Инкубация: пробирки помещали в термостат при 37°C на 5-10 минут.

3. Остановка и окрашивание: после инкубации добавляли раствор молибдата аммония (в кислой среде) для образования окрашенного комплекса с остаточным H_2O_2 . Объём молибдата подбирали с рН 2-3, перемешивали для стабилизации цвета.

4. Измерение: переносили раствор в кювету спектрофотометра и измеряли оптическую плотность при длине волны 410 нм, холостая проба оценивалась как "нулевой" уровень, основная проба показывала потребление.

Расчёт активности.

Строили калибровочную кривую по стандартам H_2O_2 (0-0,03%) для перевода OD в концентрацию H_2O_2 . Активность каталазы рассчитывали по формуле: активность (мкат/л) = [(OD_холостой – OD_пробы) × коэффициент H_2O_2 из кривой] / (время реакции в сек × объём пробы в л × белок).

Нормооценка: в плазме 200–600 мкат/л, в деснах 10–50 U/мг; низкие значения оценивали, как достоверный признак риска воспаления в пародонте.

2.3.7 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, рН 5,5) и 1 мл раствора пара-фенилендиамина. контрольную пробу формировали аналогичным образом, но предварительно обрабатывали 1 мл 0,5% раствора солянокислого гидроксиламина 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 гидроксиламина. 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.

2.3.8 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 (на одну пробу): образец (0,2 мл; кровь или гомогенат печени в разведении 1:10). дистиллированная вода (1,6 мл + эквивалентный объем для контроля), 25% раствор сульфосалициловой кислоты (0,2 мл; для осаждения белков), 0,2 М трис-буфер (рН 8,4; 2,5 мл; обеспечивает щелочную среду для реакции), 0,04% раствор DTNB (0,05 мл).

Оборудование: центрифуга (3000 об/мин), лазерный спектрофотометр ЛФ-26, пробирки.

Пошаговый протокол

1. Подготовка и осаждение белков: К 0,2 мл образца добавляли 1,6 мл дистиллированной воды и 0,2 мл 25% сульфосалициловой кислоты для денатурации белков. Перемешивали и центрифугировали при 3000 об/мин (4°C) 15 минут, для получения прозрачного супернатанта.

2. Реакция: к 0,5 мл супернатанта добавляли 2,5 мл 0,2 М трис-буфера (рН 8,4) и 0,05 мл 0,04% DTNB. Для контрольной пробы заменяли образец на эквивалентный объем дистиллированной воды, перемешивали и инкубировали при комнатной температуре 10 минут.

3. Измерение: оптическую плотность определяли на спектрофотометре ЛФ-26 при 412 нм против контроля.

Расчет концентрации

Концентрацию рассчитывали по формуле Бугера-Ламберта: концентрация глутатиона (мкМ/мл) = (OD × фактор разведения) / ($\epsilon \times l \times$ объем суператанта), где OD – оптическая плотность, ϵ — молярный коэффициент экстинкции тионитрофенильного аниона (около $14150 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), l – длина оптического пути кюветы (в см), фактор разведения – кровь в разведении 1:10.

Нормооценка: 0,5-2 мкМ/мл в крови, сниженные уровни указывают на окислительный стресс.

2.4 Материалы и методы исследования иммунного статуса

2.4.1 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.«АСЕА», США).

2.4.2 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.

2.4.3 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).

Необходимые материалы (на одну пробу): сыворотка крови (0,3 мл; предпочтительно свежая, без гемолиза). 0,1 М боратный буфер (рН 8,4; 0,6 мл; обеспечивает физиологическую среду для преципитации), 25% раствор ПЭГ-6000 (0,1 мл; концентрацию ПЭГ довели до 4% после смешивания для оптимального осаждения), дистиллированная вода или буфер для разведений.

Оборудование: пробирки, водяная баня (4°C), центрифуга, спектрофотометр или фотоколориметр (450 нм), таймер.

Пошаговый протокол.

1. Подготовка смеси: к 0,3 мл сыворотки добавляли 0,6 мл 0,1 М боратного буфера (рН 8,4) для создания буферной среды, перемешивали для предотвращения образования пузырей.

2. Преципитация: добавляли 0,1 мл 25% раствора ПЭГ-6000 (финальная концентрация ~4%), перемешивали и инкубировали в водяной бане при 4°C в течение 1 часа для образования преципитата. Для отрицательного контроля использовали сыворотку интактной группы; для положительного – смесь сыворотки и известных антиген-антитело комплексов.

3. Центрифугирование и измерение: пробы центрифугировали при 1500g (4°C) 15 минут для осаждения преципитата, измеряли оптическую плотность

супернатанта или мутность осадка при 450 нм против буфера. Преципитат ресуспендировали в буфере для дальнейшей проверки иммуноэлектрофорезом.

Расчет концентрации: концентрацию ЦИК рассчитывали по калибровочной кривой, построенной на основе стандартных растворов по формуле: количество ЦИК (ед. оптической плотности) = (ОД образца - ОД контроля) × фактор разведения. Нормочувствительность: 10–600 ед./мл; повышенные уровни (>100 ед./мл) ассоциируются с аутоиммунными заболеваниями.

2.4.4 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.

2.4.5 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%.

2.4.6 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.

Необходимые материалы (на одну пробу): суспензия моноцитов (0,1 мл; концентрация $\sim 1-2 \times 10^6$ клеток/мл, из периферической крови или культуры, 0,1% водный раствор нитросинего тетразоля (НСТ; 0,1 мл, рН 7,4),

физиологический раствор (0,1 мл; для спонтанного теста), пирогенал (0,1 мл 0,01 мг/мл; для активированного теста, как стимулятор).

Оборудование: пробирки, термостат (37°C), центрифуга, микроскоп (с подсчетом клеток), таймер, раствор праванского фиолетового для окраски (0,1%).

Пошаговый протокол

1. Подготовка пробы для спонтанного НСТ-теста: в пробирку внесли 0,1 мл суспензии моноцитов, добавляли 0,1 мл 0,1% раствора НСТ и 0,1 мл физиологического раствора (конечный объем ~0,3 мл).

2. Подготовка пробы для активированного НСТ-теста: аналогично вышеприведенному шагу, но вместо физраствора для стимулирования фагоцитоза и усиления кислородного притока (стандартизированный активированный НСТ-тест) вносили 0,1 мл пирогенала. Для контроля использовали инертный буфер.

3. Инкубация: перемешивали пробы и инкубировали в термостате при 37°C в течение 40 минут в темноте, затем центрифугировали при 200g (комнатная температура) 5 минут, отделяли супернатант и ресуспендировали осадок в физиологическом растворе.

4. Окраска и оценка: нанесли каплю ресуспендированного осадка на предметное стекло, высушивали на воздухе, фиксировали метанолом (1–2 минуты), окрашивали водным раствором кристаллического фиолетового (0,1%, 5–10 минут), промывали дистиллированной водой и высушивали. Реакцию оценивали путем микроскопического подсчета 100 моноцитов (при увеличении 1000×) на наличие в цитоплазме гранул и зерен диформаза (синих включений). Результаты выражали в проценте НСТ-положительных клеток для каждого теста. Для характеристики резервных возможностей кислородзависимого метаболизма рассчитывали показатель резерва (ПР) по формуле: $ПР = (\% \text{ НСТ-положительных клеток в активированном тесте}) / (\% \text{ НСТ-положительных клеток в спонтанном тесте})$.

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

Нормооценка: спонтанный тест – 10–20%, активированный – 60–80%, ПР > 2–3. Низкий процент положительных клеток (менее 10% в активированном тесте), указывает на нарушение функции фагоцитов.

2.5 Методы исследования эндогенной интоксикации и состояния детоксикационной системы

2.5.1 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.

2.5.2 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.

2.6 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).

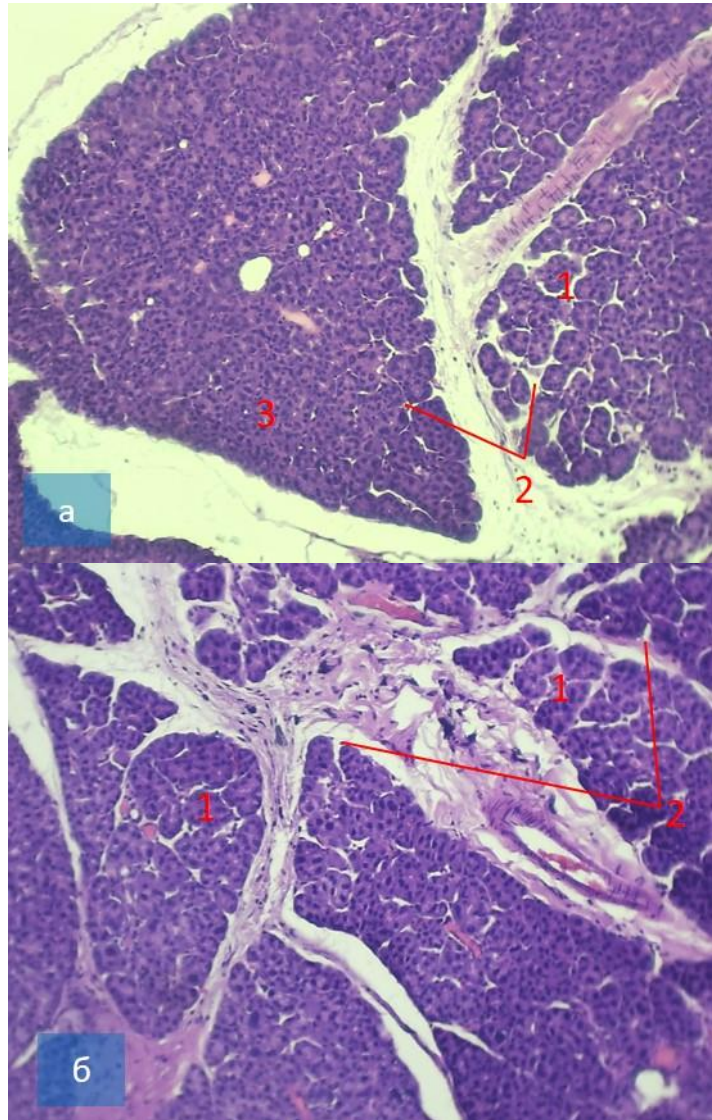
ГЛАВА 3**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ
БОЛЬШИХ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ КРЫС В УСЛОВИЯХ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПОСАЛИВАЦИИ****3.1 Гистологическая картина строения больших слюнных желез крысы в
норме (на примере околоушной слюнной железы)**

Гистологическая картина строения околоушной слюнной железы крысы в норме достаточно подробно изучена в предыдущих исследованиях [10, 49, 55, 45, 71, 104], однако, для реализации поставленной цели исследования (оценки патологических изменений, таких как воспаление или гипертрофия на моделях экспериментального пародонтита), требуется подробное описание нормы, как базовой линии. Описание нормы позволяет проводить сравнительный анализ с отклонениями, учитывать вариации и минимизировать возможные артефакты (например, возникающие при фиксации препаратов формалином, вызывающие ретракцию ацинусов).

Общая архитектоника железы.

Околоушная слюнная железа (ОСЖ) крысы – высокоорганизованная железа с альвеолярно-тубуло-ацинарной структурой, характеризующаяся плотным компактным строением и разделением на дольки. Размеры долек колеблются от 200 до 500 мкм в диаметре, а их формы обычно округлые или вытянутые, что связано с приспособлением к ограниченному пространству шеи из-за сжатия. Между дольками располагаются перегородки, образованные плотной соединительной тканью (рисунок 7а), включающей волокна коллагена (типа III), эластичные волокна и обилие сосудов кровеносного русла (артериолы и вены), а также лимфатические сосуды и нервные волокна (симпатические и парасимпатические, обеспечивающие регуляцию секреторной активности). Такая

структура позволяет эффективно распределять секреторные единицы и поддерживать гемодинамику в условиях высокой функциональной нагрузки.



Примечание – а – дольчатое строение (1) железы с междольковыми перегородками из плотной соединительной ткани (2) и адипоцитами, маскирующими границы долек (3); б – ацинусы округлой формы (1), соединенные короткими вставочными междольковыми протоками (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10, об. 20 (а), Ок 10, об 40 (б)

Рисунок 7 – Микропрепараты. Гистологическая структура околоушной слюнной железы крысы в норме

В междольковой ткани часто присутствуют адипоциты (жировые клетки), особенно у взрослых крыс, что может маскировать границы долек. Именно эта

структура обеспечивает механическую поддержку и разделение долек для предотвращения распространения воспаления.

Паренхима железы: секреторные отделы.

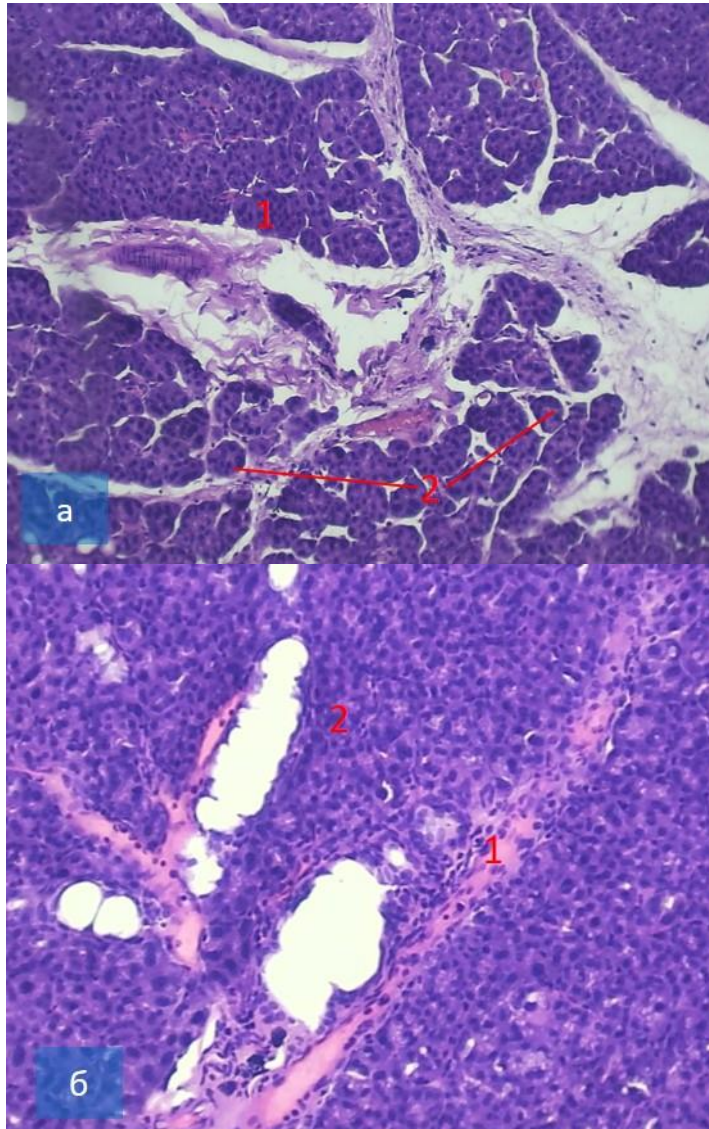
Паренхима ОСЖ крысы исключительно серозного типа, без примеси муцинозных элементов, что характерно для грызунов и отличает её от ОСЖ хищников или человека (где присутствуют смешанные ацинусы). Основные компоненты – ацинусы (концевые отделы), формирующие плотные скопления.

Ацинусы: округлые или слегка овальные структуры (диаметр 30–60 мкм), соединённые короткими вставочными протоками. Просвет ацинуса узкий (менее 5 мкм), часто трудноразличимый на гистологических срезах из-за плотного прилегания клеток (рисунок 7б). Функционально ацинусы ответственны за синтез и секрецию серозной слюны, богатой ферментами (амилаза, протеазы). Клетки ацинусов (сероциты): конической или пирамидальной формы (высота 15–25 мкм), апикально обращены к просвету. Они образуют «корзинчатую» или «шаровидную» структуру с центральным просветом (рисунок 8а). Ядра: округлые или слегка овальные (диаметр 6–8 мкм), интенсивно базофильные (фиолетовые при окраске гематоксилином и эозином) из-за плотного хроматина. Расположены в нижней трети клетки, часто эксцентрично, с эухроматином для активной транскрибуции (особенно в фазу синтеза гранул).

Цитоплазма: базальная зона (нижняя 2/3) базофильная (сиренево-фиолетовая), благодаря высокому содержанию гранулярной эндоплазматической сети и рибосом, где синтезируются белки слюны. Апикальная зона (верхняя 1/3): ацидофильная (розовая или оранжево-красная), заполнена зимогеновыми гранулами (диаметр 0,5–2 мкм), содержащими ферменты (например, α -амилазу) и мукопротеины. Гранулы накапливаются в секреторной фазе и освобождаются под действием нервных импульсов (парасимпатическая стимуляция).

Вариации окраски: интенсивность зависит от секреторного цикла, в фазе накопления гранул ацинусы более ацидофильные (тёмно-розовые), после секреции – преимущественно базофильные с пустыми апикальными зонами (рисунок 8б). Иногда видны межклеточные каналцы или десмосомы для

структурной целостности. Ацинусы состоят из 8–12 сероцитов, окружающих небольшой просвет.

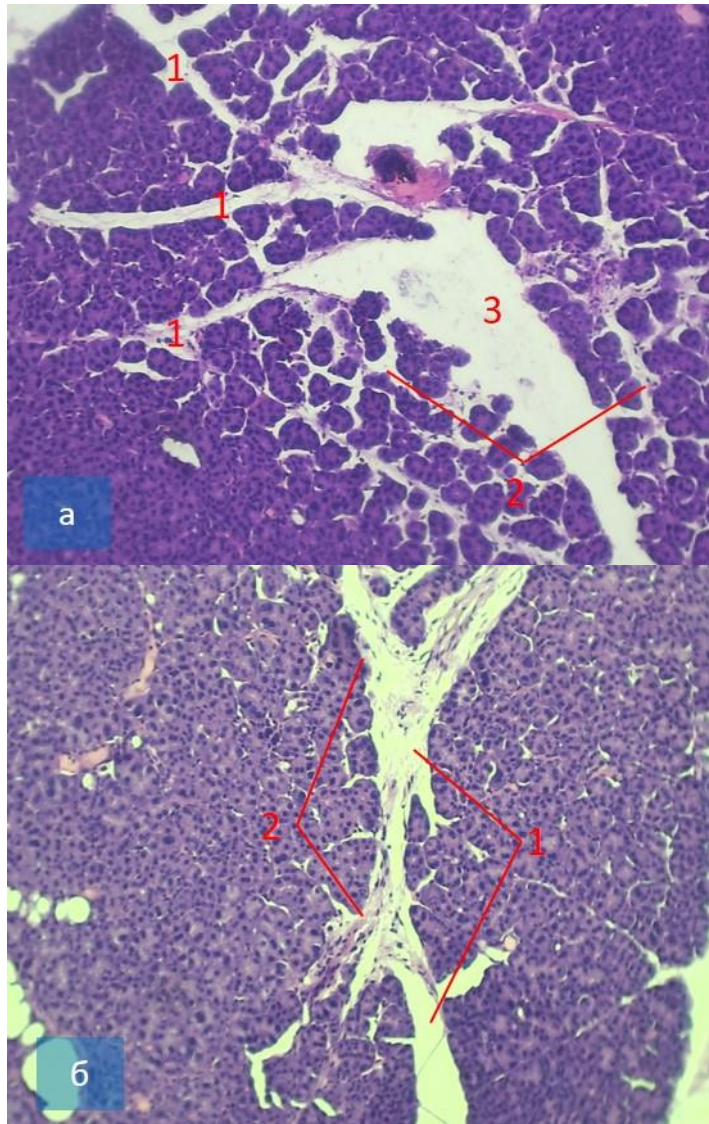


Примечание – а – «корзинчатая» (1) и «шаровидная» (2) структура клеток ацинусов с центральным просветом; б – тёмно-розовые ацидофильные ацинусы (1) в фазе накопления гранул, темно-сиреневые базофильные ацинусы (2) с пустыми апикальными зонами после секреции. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10, об. 20 (а), Ок 10, об 40 (б)

Рисунок 8 – Микропрепараты. Гистологическая структура околоушной слюнной железы крысы в норме

Система выводных протоков: протоки хорошо развиты и дифференцированы, что отличает ОСЖ от поднижнечелюстной (с менее выраженными протоками). Они классифицируются на несколько видов.

Первый – вставочные (интралобулярные) протоки – узкие (ширина 10–20 мкм), выстланы кубическими клетками с базальными ядрами и ацидофильной цитоплазмой (модификация серозных клеток) (рисунок 9а);



Примечание – а – система выводных протоков: вставочные (1), полосатые (2) и междольковые (3) протоки; б – главный выводной проток (1) с мышечными элементами в стенке (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10, об. 40 (а), Ок 10, об 20 (б)

Рисунок 9 – Микропрепараты. Гистологическая структура околоушной слюнной железы крысы в норме

Второй – полосатые (интралобулярные) трубки – шире (20–50 мкм), чем вставочные, с высоким призматическим эпителием; цитоплазма имеет полосатость за счёт базально расположенной митохондрий и микроворсинок на

апикальной поверхности. модифицируют первичный секрет (добавляют бикарбонаты и минералы);

Третий – междольковые (окололобулярные) протоки – наиболее крупные (диаметр до 100 мкм), с кубическим или низким призматическим эпителием, клетки содержат больше вакуолей для абсорбции.

Главный выводной проток соединяет железу с полостью рта, имеет мышечные элементы в стенке (рисунок 9б).

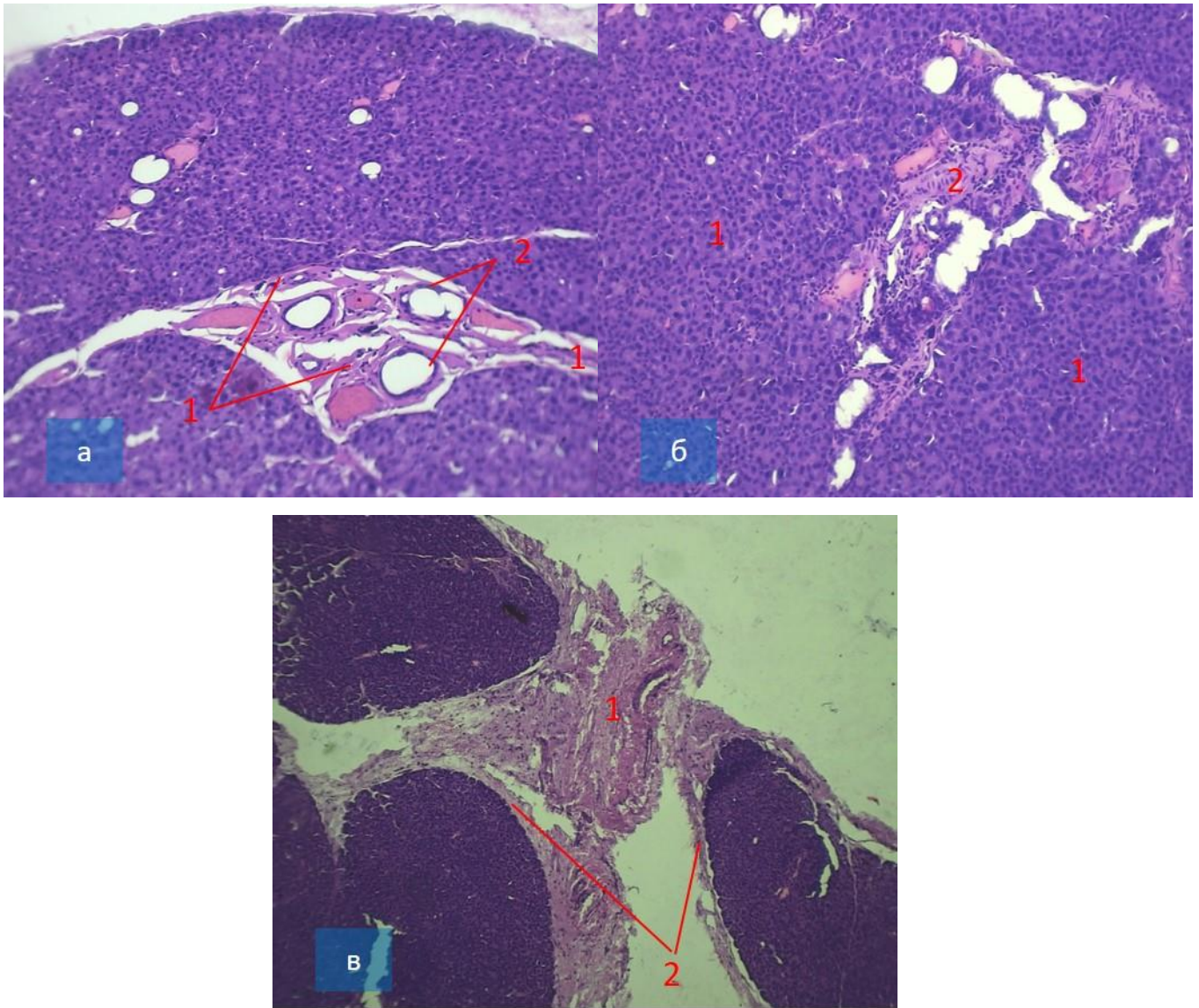
Протоки визуализируются как прямые или извилистые каналы с эозинофильным эпителием, окруженные тонкой базальной мембраной, функционально они обеспечивают транспорт слюны и её модификацию (рН-регуляция).

Строма железы крысы представлена соединительной тканью различных типов, играющей роль скелета и медиатора.

Междольковая строма: более плотная (ретикулярная соединительная ткань с коллагеном I и III типов), содержит фибробласты (веретенообразные клетки с вытянутыми ядрами), адвентициальные клетки сосудов и пучки нервов (симпатические аксоны для сокращения миоэпителия). Жировые клетки (адипоциты) варьируют по количеству (чаще в центральных дольках), образуя «поля» среди перегородок (рисунок 10а).

Внутридольковая строма: рыхлая сеть из коллагена IV типа и базальной ламинины, поддерживающая ацинусы и мелкие протоки. Миоэпителиальные клетки (звёздчатые, с длинными отростками) вплетены между ацинусами, способствуя выдавливанию секрета (рисунок 10б).

Сосуды и капилляры: обильные (особенно мелкие капилляры для быстрого обмена веществ). Они оплетают ацинусы сетью, обеспечивая доставку субстратов (глюкоза для синтеза белков) и отвод продуктов, артерии видны как толстостенные структуры в перегородках, лимфатические щели часто параллельны сосудам (рисунок 10в).



Примечание – а – скопления адвентициальных клеток сосудов и пучки нервов (1), сгруппированные адипоциты (2); б – внутريدольковая строма (1) из рыхлой сети из коллагена IV типа и миоэпителиальных клеток, вплетенных между ацинусами (2); в – обильные пучки сосудов (1), оплетающих ацинусы сетью (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10, об. 40 (а), Ок 10, об 20 (б)

Рисунок 10 – Микропрепараты. Гистологическая структура околоушной слюнной железы крысы в норме

Следовательно, околоушная слюнная железа (ОСЖ) крысы представляет собой компактную альвеолярно-трубчато-ацинарную железу серозного типа, разделённую на дольки (диаметром 200–500 мкм) междольковыми перегородками из плотной соединительной ткани с сосудами, нервами и адипоцитами, что

обеспечивает механическую поддержку и ограничивает распространение патологий, таких как воспаление при пародонтите.

Паренхима состоит из округлых ацинусов (30–60 мкм), образованных 8–12 сероцитами конической формы с базофильной цитоплазмой у основания (для синтеза белков) и ацидофильной апикальной зоной, наполненной зимогеновыми гранулами (с ферментами типа амилазы). Ацинусы функционально активны, с вариациями окраски в зависимости от секреторного цикла, и окружены миоэпителиальными клетками для выдавливания секрета.

Система выводных протоков включает вставочные (кубический эпителий, 10–20 мкм), полосатые (призматический эпителий с митохондриями, 20–50 мкм, регулируют pH) и междольковые (до 100 мкм), заканчивающиеся главным протоком с мышечными элементами, они транспортируют и модифицируют слюну.

Строма варьирует от междольковой – плотной с коллагеном, фибробластами и жировыми клетками до внутريدольковой – рыхлой с ламинином, поддерживающей ацинусы. Обильные сосуды (артерии, вены, капилляры) и нервы обеспечивают метаболизм и секрецию.

3.2 Морфологические изменения больших слюнных желез крыс в условиях экспериментальной гипосаливации

Доказано, что уменьшение секреторной активности слюнных желез приводит к сбоям в работе слюны, чьи биологически активные вещества поддерживают равновесие в полости рта и сохраняют структуру слизистой оболочки, пародонтальных тканей, а также твердых элементов зубов. Слюна задействована в механизмах пищеварительных процессов, борьбе с бактериями и вирусами, а также в восстановлении минерального состава зубов: она способствует созреванию кристаллической структуры эмали после эрупции и создает благоприятные условия для долговременной эксплуатации зубов на

протяжении всей человеческой жизни. В связи с этим дефицит слюноотделения выступает как негативный фактор, неизбежно провоцирующий возникновение различных заболеваний полости рта. Существует множество разработанных и детально описанных экспериментальных подходов к моделированию гипосаливации, многие из которых подразумевают прямое хирургическое или механическое вмешательство в структуру слюнных желез [35, 43, 44, 49, 53, 58, 88, 109]. Альтернативные, неинвазивные стратегии включают химическое воздействие на железы путем нанесения токсинов на слизистую ротовой полости у крыс – например, с использованием раствора метилметакрилата [39]. Такие манипуляции вызывают разрушительные трансформации в крупных слюнных железах, сопровождающиеся значительным падением объема секреции.

В настоящем исследовании задача стояла получить на этапе моделирования гипосаливацию (ксеростомия), не связанную с деструктивными изменениями в СЖ.

Слюнные железы крыс парные, открываются протоками в полость рта, включают околоушные, поднижнечелюстные, большую и малую подъязычные железы. 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 производили в 2 этапа, описанных в главе материал и методы.

Сбор слюны выполняли в условиях общей анестезии с использованием препарата Zoletil. Животных выводили из эксперимента путем передозировки эфиром. Изолированные слюнные железы взвешивали с применением электронных весов. Оценка морфологических изменений проводилась на гистологических препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, а также по методу Массона.

Результаты исследований продемонстрировали, что на 15-е сутки от начала эксперимента в обеих опытных группах наблюдалось заметное снижение уровня слюноотделения по сравнению с интактными животными, что подтвердило эффективность примененной экспериментальной модели.

В контрольной группе время от момента глубокого наркоза до выделения первой капли слюны составляло в среднем 6 минут 52 секунды; в группе с аппликацией атропина – 14 минут 10 секунд; в группе с применением Этакрила – 19 минут 56 секунд. За полный период сбора слюны (30 минут) у интактных животных было собрано $1,241 \pm 0,12$ мл слюны, после аппликации атропина – $0,54 \pm 0,06$ мл, а при использовании Этакрила – $0,31 \pm 0,05$ мл (таблица 2).

Таблица 2 – Динамические показатели слюноотделения ($M \pm m$)

	Скорость слюноотделения (мл/мин)	Количество выделенной слюны за 30 мин (мл)
Контрольная группа (n=10)	$0,054 \pm 0,007$	$1,241 \pm 0,12$
1-я опытная группа (n=15)	$0,034 \pm 0,005$; $p < 0,05$	$0,54 \pm 0,06$; $p < 0,05$
2-я опытная группа (n=15)	$0,026 \pm 0,004$; $p < 0,05$	$0,31 \pm 0,05$; $p < 0,05$

Примечание: $P < 0,05$ – достоверность отличий по отношению к данным контрольных животных

Полученные данные свидетельствуют, что независимо от препарата, использованного для моделирования гипосаливации у крыс, нестимулированная слюна у животных выделяется с существенной задержкой, которая, впрочем, более выражена при аппликациях Этакрила. Механизм снижения слюноотделения в обеих моделях реализуется различным, поскольку масса больших СЖ при действии Этакрила уменьшилась, а при использовании на слизистую атропина – увеличилась (таблица 3). В первом случае выявлена постепенная дегенерация ацинусов - клеток, выделяющих секрет, с последующей деактивацией секреторной деятельности слюнных желез, во втором – запущен механизм изменения вегетативного контроля с преобладанием симпатического тонуса и затруднением выделения вязкого секрета.

Таблица 3 – Относительная масса СЖ у животных при моделировании гипосаливации ($M \pm m$)

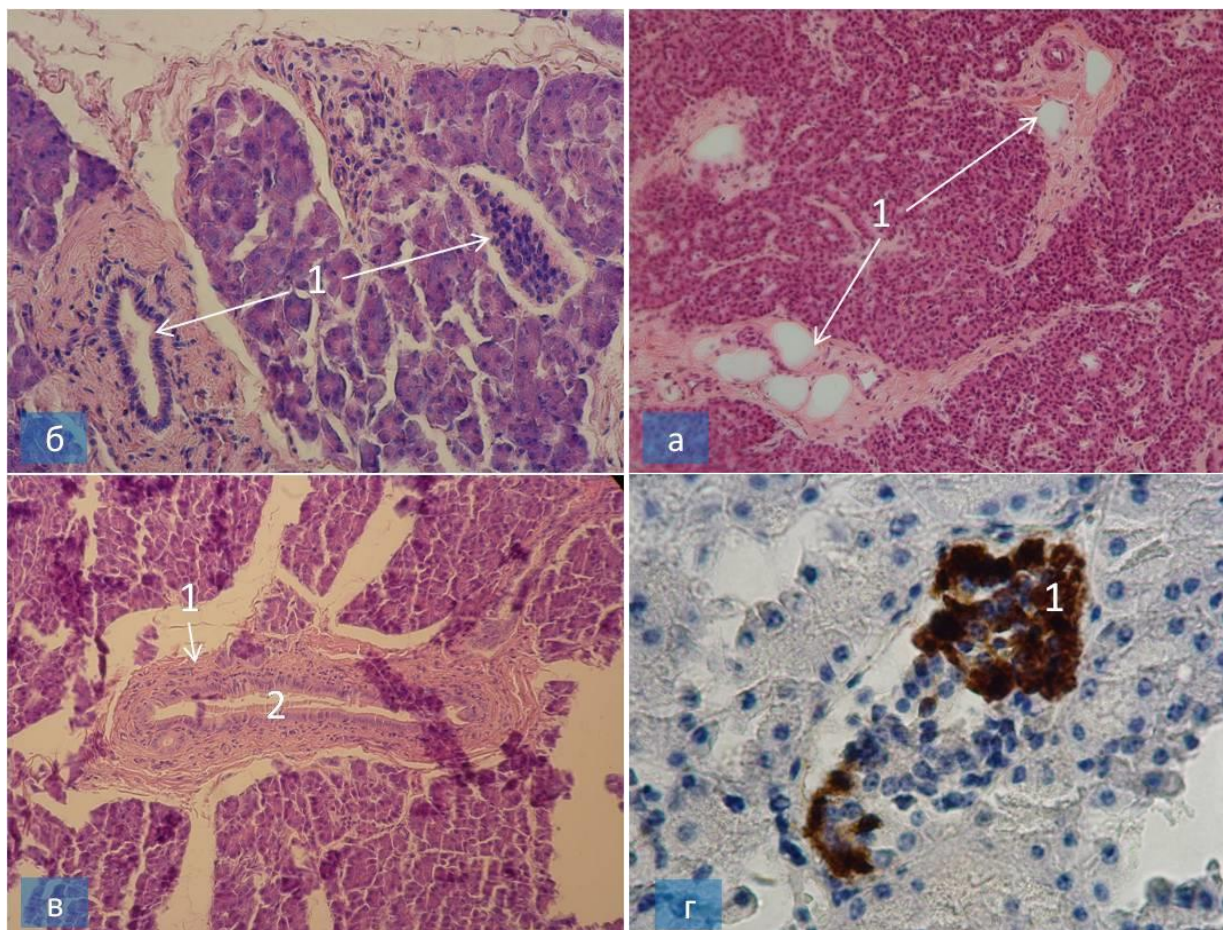
Группа животных	Относительная масса слюнных желез, г		
	Околоушная	Поднижнечелюстная	Подъязычная
Контрольная группа (n=10)	0,255±0,006	0,212±0,004	0,052±0,005
1-я опытная группа (n=15)	0,306±0,012 P<0,05	0,284±0,004 P<0,05	0,061±0,004 P>0,05
2-я опытная группа (n=15)	0,128±0,007 P<0,05	0,145±0,006 P<0,05	0,035±0,003 P>0,05

Примечание: P – достоверность отличий рассчитана по отношению к данным, полученным у животных контрольной группы

Высказанное предположение о патогенетических механизмах снижения саливации потребовало морфологического подтверждения, что потребовало визуального изучения выделенных у животных слюнных желез.

Согласно итогам морфологического анализа, нанесение тройного сополимера метилметакрилата на слизистую оболочку ротовой полости, приводящее к гипосаливации, характеризовалось отсутствием в цитоплазме вакуолей, заполненных секреторными гранулами (рисунок 11а), что соответственно сопровождалось значительным угнетением функциональной деятельности эпителиальных клеток железистых структур железы.

В некоторых участках отмечалось повышение плотности размещения альвеолярных компонентов железы с искажением формы эпителиоцитов. Также наблюдались зоны дегенеративных изменений части эпителиоцитов, включая явления разрушения альвеол и накопление остатков клеточного распада в межальвеолярных областях (рисунок 11б).



Примечание – а – эпителиоциты (1) с отсутствием в цитоплазме вакуолей, выполненных секретирруемыми гранулами; б – дегенерированные эпителиоциты (1); в – спадение просветов железистых протоков (1) и отсутствием в них секрета (2); г – кальцификация секрета железы (1). Окраска гематоксилином и эозином (а, б, в), по Массону (г). Ок. 10, об. 100 (а, б, в). Ок 20, об 100 (г)

Рисунок 11 – Микропрепараты. Патоморфологические изменения поднижнечелюстной слюнной железы крысы при действии тройного сополимера метилметакрилата (а, б, в), при действии атропина (г)

Морфологические последствия для протоков слюнных желез и сравнение с действием атропина.

Дегенеративные преобразования эпителиального слоя выявлялись также в некоторых протоках. Этот процесс сопровождался отслоением клеток в просвет и его заращением. Косвенным свидетельством угнетения функциональной активности железы служило сокращение просветов всех секреторных протоков и отсутствие в них выделений (рисунок 11в). Также отмечалось заращение

просветов крупных протоков, вызванное первоначальным накоплением секрета, а затем его кальцификацией (рисунок 11г).

На основе этих результатов можно заключить, что нанесение тройного сополимера метилметакрилата на слизистую ротовой полости приводит к разрушительным изменениям в слюнных железах. Анализ же образцов слюнных желез животных после воздействия атропина показал выраженное общее повышение функциональной активности эпителиоцитов секреторных структур, проявлявшееся наличием в их цитоплазме вакуолей с секретом. Вследствие этого объем клеток значительно возрастал, межклеточные промежутки сужались. Наблюдались диффузно рассеянные секреторные клетки железистых компонентов с интенсивно базофильной цитоплазмой и увеличенным ядрышком. При этом просветы протоков расширялись за счет наполнения их обильным секретом.

Резюме

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 атрофическим изменениям в слюнных железах с нарушением слюнообразования, что подтвердило ранее полученные результаты, свидетельствующие об уменьшении массы слюнных желез и снижении саливации [71, 90, 115].

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.

ГЛАВА 4**ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
БОЛЬШИХ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ КРЫС
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПАРОДОНТИТЕ**

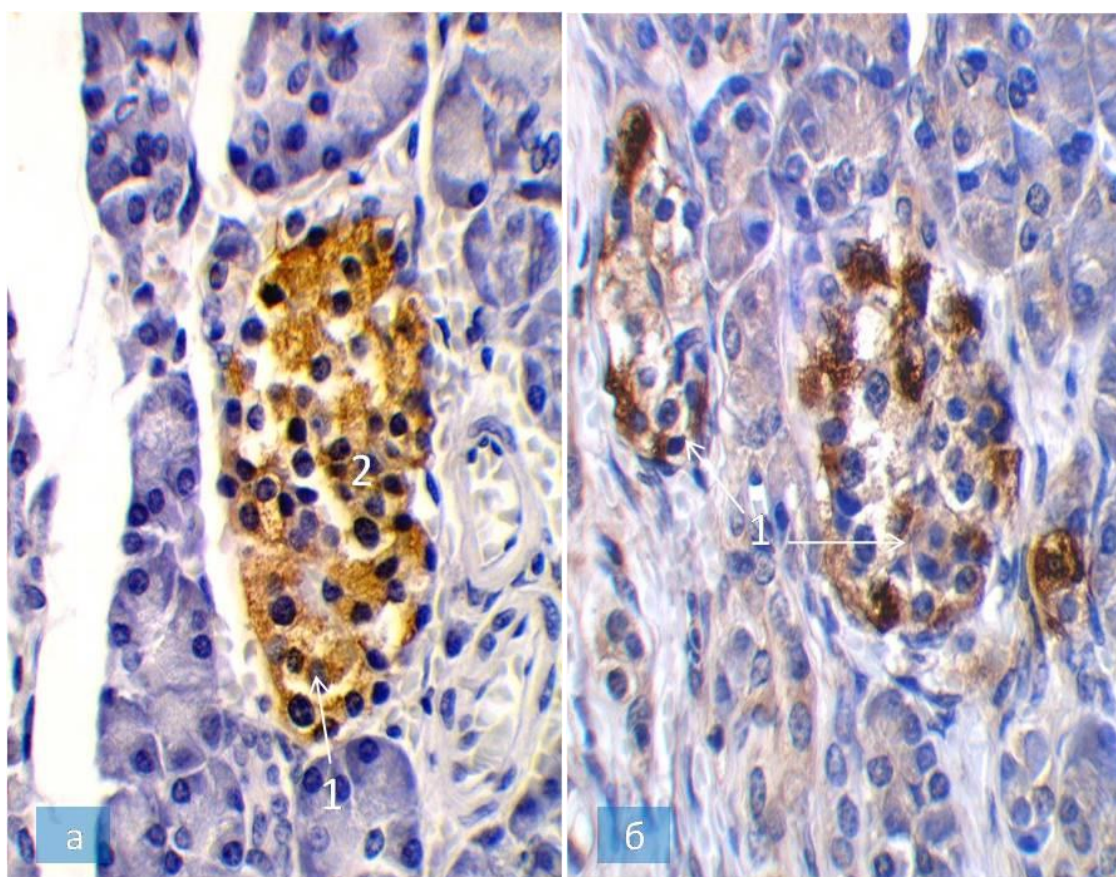
Дисфункция слюнных желез приводит к изменению количественных и качественных показателей ротовой жидкости, чьи активные составляющие поддерживают равновесие во рту, а также защищают слизистую, пародонт и твердые ткани зубов. Слюна способствует пищеварению, обладает антимикробными и противовирусными свойствами и участвует в ремоделировании зубной эмали. Более того, основной объем слюны продуцируется крупными парными железами (околоушными, подчелюстными и подъязычными), что создает благоприятные условия для функционирования пародонтальных тканей на протяжении всей жизни организма. Таким образом, любое падение слюноотделения или сдвиги в балансе буферных систем ротовой жидкости выступают неблагоприятным фактором, неизбежно ведущим к стоматологическим заболеваниям.

В недавнее время появились исследования, посвященные биохимическому и гистохимическому анализу слюнных желез млекопитающих [10, 16, 18, 35, 118]. Эти работы продемонстрировали присутствие сиаловых кислот и ряда других мукополисахаридов в секрете всех слюнных желез. Однако гистохимические особенности слюнных желез при воспалительных патологиях пародонта остаются малоизученными, с лишь отдельными публикациями, касающимися полисахаридов подъязычной железы человека [13] и крыс [45].

Целью данного этапа исследования явилась всесторонняя гистохимическая оценка белков и полисахаридов крупных слюнных желез в условиях моделированного пародонтита. Эксперименты проводились на 60 белых лабораторных крысах-самцах с начальным весом 150–160 г, разделенных на опытную и контрольную группы по 30 особей каждая. После индукции

пародонтита животных изолировали из эксперимента путем передозировки эфиром на 10-е, 30-е и 60-е сутки.

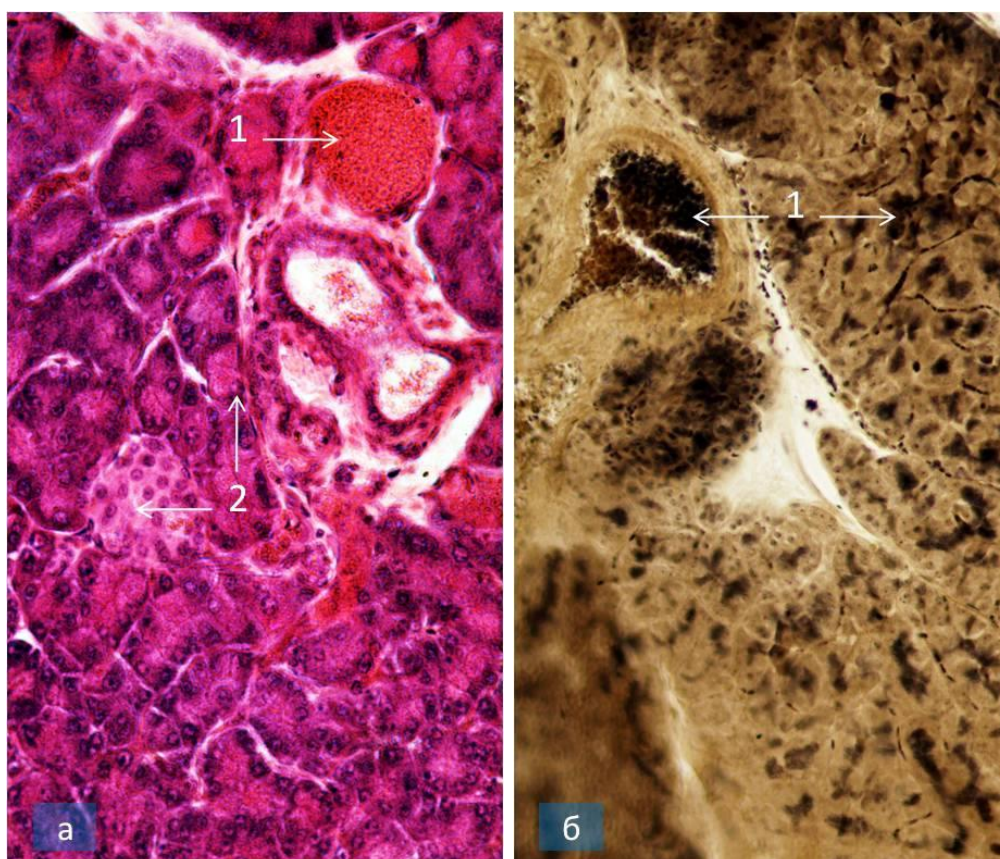
Анализ показал, что после воспроизведения экспериментальной модели пародонтита к 10-м суткам в цитоплазме секреторных клеток околоушной железы накапливаются полисахариды, выявляемые посредством PAS-реакции как ярко окрашенные гранулы разного размера, сосредоточенные в апикальной зоне клеток (рисунок 12а). Под влиянием интенсивного метилирования в условиях мягкого кислотного гидролиза срезов к 30-м суткам после моделирования пародонтита интенсивность PAS-реакции этих гранул значительно снижается (рисунок 12б).



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 12 – Микропрепараты секреторных клеток околоушной железы на 10 (а) и 30 (б) сутки после формирования модели экспериментального пародонтита

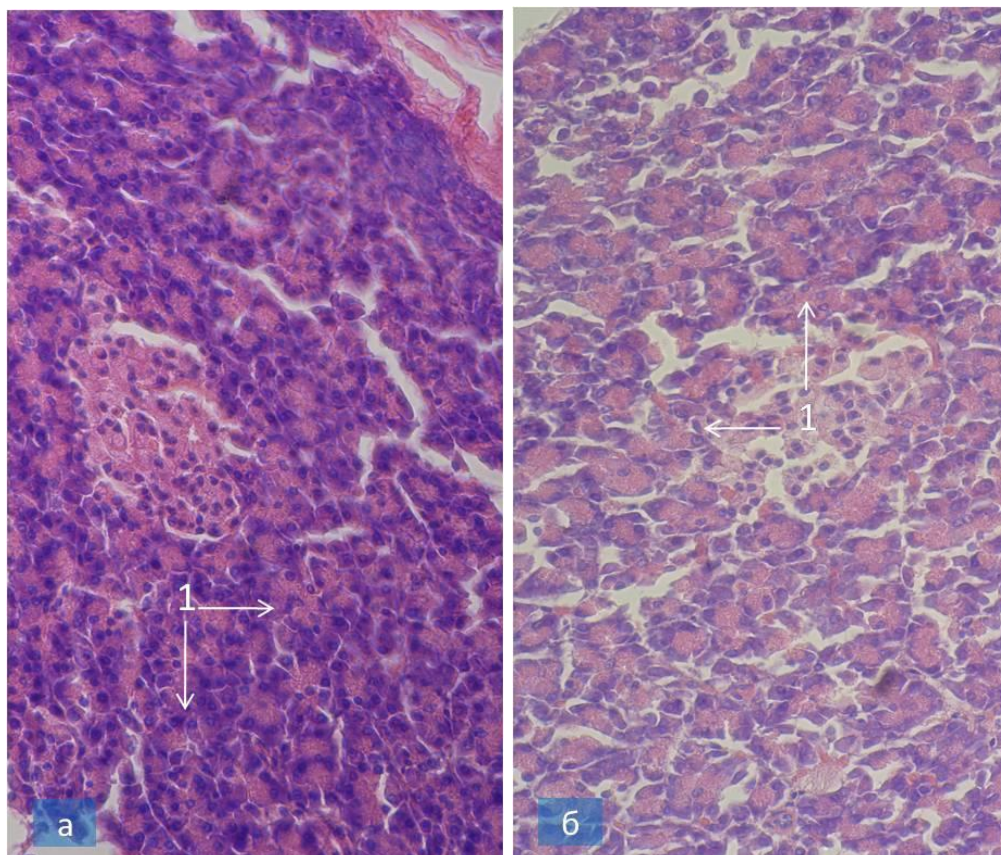
В аналогичные периоды эксперимента цитоплазма мукозных клеток подчелюстной железы демонстрировала интенсивное окрашивание при использовании PAS-реакции. В протеиновых клетках данная реакция выявляла гранулы, сосредоточенные в апикальном отделе клеток. Цитоплазма мукозных клеток в результате PAS-окрашивания представляла собой аморфную субстанцию, заполненную многочисленными вакуолями, внутреннее содержимое которых приобретало фиолетово-красный оттенок (рисунок 13а). При окрашивании основным коричневым пигментом окрашивались как стенки вакуолей, так и их внутреннее содержимое (рисунок 13б).



Примечание – а – цитоплазма слизистых клеток в виде бесформенной массы (1) с множеством вакуолей, содержимое которых окрашивается в фиолетово-красный цвет (2); б – оболочки вакуолей и их содержимое, окрашенное основным коричневым (1). ИГХ реакция на окрашивание срезов шифф-йодной кислотой по методу Шабдаша (а) и кислым раствором основного коричневого по методу Шубича (б). Продукт реакции фиолетово-красного (а) и коричневого цвета (б). Ок. 20, об. 40

Рисунок 13 – Микропрепараты секреторных клеток подчелюстной железы на 10 (а) и 30 (б) сутки после формирования модели экспериментального пародонтита

В протеиновых клетках альциановый синий выявлял гранулы, расположенные в апикальном сегменте клеток. Максимальная степень метахроматического окрашивания цитоплазмы мукозных клеток с использованием азура наблюдалась на 60-е сутки после создания модели экспериментального пародонтита при значении рН 2,5 (рисунок 14а). Когда уровень рН раствора отклонялся от 2,5 как в меньшую, так и в большую сторону, интенсивность метахроматического окрашивания снижалась (рисунок 14б).



Примечание – а – интенсивное метахроматическое окрашивание цитоплазмы слизистых клеток (1) при рН 2,5; б – уменьшение интенсивности метахроматического окрашивания (1) при рН выше 2,5. Окраска альциановым синим. Продукт реакции фиолетового цвета (а, б). Ок. 20, об. 20

Рисунок 14 – Микропрепараты секреторных клеток подчелюстной железы на 60 сутки (а, б) после формирования модели экспериментального пародонтита

Мягкая метилизация не влияла на яркость окрашивания альциановым синим и не меняла степени PAS-реакции в цитоплазме протеиновых и мукозных клеток. Напротив, жесткая метилизация и мягкий кислотный гидролиз значительно

снижали интенсивность PAS-реакции в цитоплазме мукозных клеток и полностью устраняли окраску альциановым синим. Цитоплазма мукозных клеток смешанных концевых отделов подъязычной железы при окраске гематоксилин-эозином к 10-м суткам после индукции модели экспериментального пародонтита представляла собой нежную пенистую субстанцию, усеянную множеством вакуолей. В реакции PAS мембраны вакуолей и их содержимое приобретали насыщенный пурпурно-красный оттенок; интенсивную PAS-реакцию также демонстрировали гранулы в апикальном сегменте протеиновых клеток. При использовании альцианового синего и основного коричневого цитоплазма мукозных клеток показывала яркое окрашивание оболочек вакуолей и их внутреннего содержимого.

Динамика изменения окрашиваний клеток слюнных желез на 30-е сутки. Через 30 дней после начала эксперимента цитоплазма протеиновых клеток показывала менее яркую окраску альциановым синим по сравнению с 10-ми сутками, что указывает на постепенное снижение содержания кислых мукополисахаридов. Кроме того, основной коричневый краситель не выявлял окрашивания в этих клетках, сигнализируя об изменении их биохимического состава. Эти результаты позволяют предположить эволюцию клеточной функции под влиянием исследуемых факторов, требующую дальнейшего анализа.

Метахромазия и ортохромазия при использовании азура на разных рН через 30 суток. Применение азура с рН 1,5 обнаруживало метахромазию – особое окрашивание гистохимических структур в красно-фиолетовые тона – в цитоплазме мукозных клеток только в отдельных смешанных концевых отделах слюнных желез, что указывает на локализованное присутствие специфических полисахаридов. При увеличении рН до 2,5 этот эффект становился выраженным почти во всех мукозных клетках секреторных отделов, демонстрируя более широкое вовлечение клеток в секреторный процесс. Однако при рН выше 2,5 метахромазия в мукозных клетках ослабевала, в то время как ортохромазия – стандартное окрашивание в синие тона – в протеиновых клетках усиливалась, отражая сдвиг в типе клеточной активности и возможные функциональные адаптации желез.

Характеристики окрашиваний на 60-е сутки. К 60-м суткам комбинированное использование альцианового синего и PAS-реакции (шамовая реакция) приводило к насыщенному красно-фиолетовому окрашиванию цитоплазмы мукозных клеток, что свидетельствует о повышенном содержании нейтральных и кислых мукополисахаридов. Напротив, цитоплазма протеиновых клеток приобретала равномерный голубой оттенок, указывая на преобладание протеинового компонента и, возможно, стабильный синтез. Эти изменения иллюстрируют продолжительную трансформацию клеточной структуры и ее связь с долговременными эффектами эксперимента.

Влияние метилизации и гидролиза на окраски через 60 суток. Проведение жесткой метилизации (эстерификация карбоксильных групп) и мягкого кислотного гидролиза существенно снижало интенсивность PAS-реакции в цитоплазме как протеиновых, так и мукозных клеток, полностью устраняя окрашивание альциановым синим и метахромазию в обоих типах клеток. Это говорит о разрушении гликопротеиновых и мукополисахаридных связей, что может помочь в дифференциации молекулярных компонентов и понимании механизма клеточного ответа. Такие методы подтверждают зависимость окрашиваний от химического состава клеток и их чувствительность к модифицирующим воздействиям.

Результаты реакции Даниелли продемонстрировали, что белковые субстанции, обнаруживаемые этим методом, присутствуют во всех гистологических структурах исследуемых желез. При этом наиболее ярко окрашивалась цитоплазма протеиновых клеток и ядра (как у протеиновых, так и у мукозных клеток, где преимущественно окрашивались ядерная оболочка и хроматин). В апикальном участке цитоплазмы мукозные клетки окрашивались очень слабо, представляя собой мелкие зерна разного размера. При окрашивании прочным зеленым в кислой среде процесс проходил интенсивнее, чем в щелочной.

Результаты исследования указывают, что уже на ранних этапах сформированного пародонтита (10 суток) секреторные клетки околоушных желез

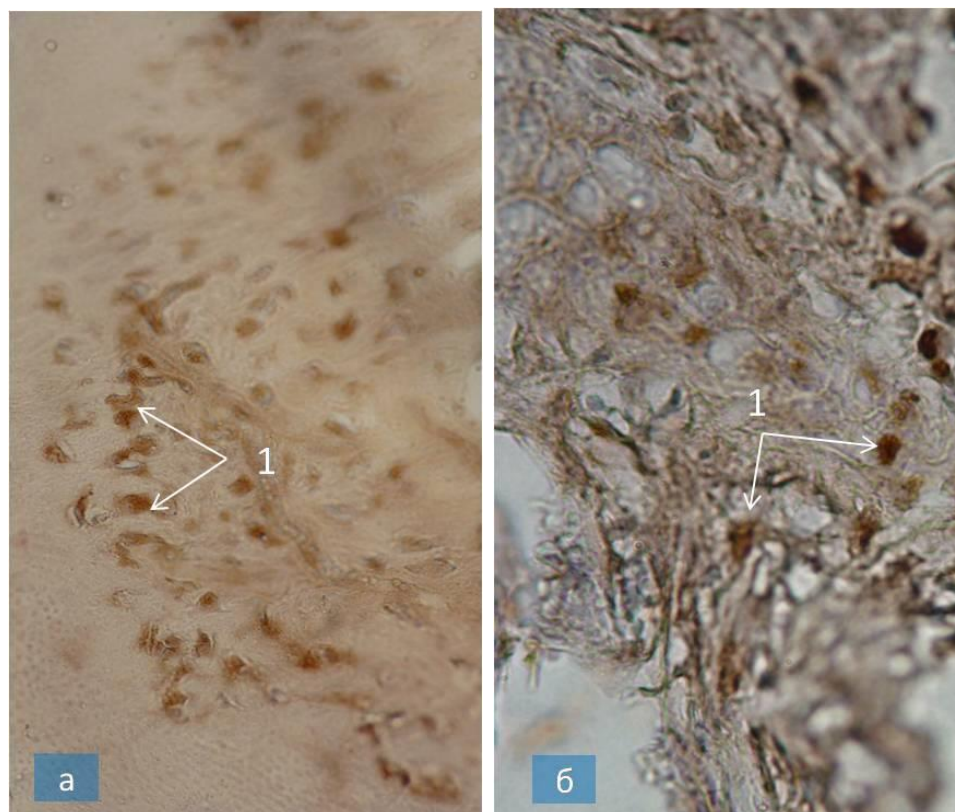
реагировали на PAS-реакцию, интенсивность которой существенно снижалась после мягкого кислотного гидролиза и жесткой метилизации срезов. Однако в более поздние сроки наблюдения (30 и 60 суток) секреторные клетки околоушных желез не окрашивались даже альциановым синим и не проявляли метахромазии с азуром.

Обнаруженное явление можно объяснить присутствием в околоушных железах сиаловой кислоты, которая на ранних сроках после индукции пародонтита дает PAS-реакцию главным образом за счет свободных гликолевых групп, а в более поздние периоды (к 60 суткам) ее карбоксильные группы блокируют с базовыми белками (наличие которых подтверждено окрашиванием прочным зеленым). Таким образом, присутствие сиаловых кислот в мукозных клетках подчелюстной и подъязычной желез, а также в секреторных клетках околоушной железы может служить специфическим маркером раннего (острого) этапа пародонтита; напротив, отсутствие сиаловых кислот в этих структурах сигнализирует о хронизации воспалительного процесса в тканях пародонта.

Для анализа химического состава сиаломуцина использовали метод ацетилирования по протоколу S. Wang (2009), согласно которому данная процедура селективно ингибирует карбоксильные группы асиаловой кислоты, способной образовывать лактонные структуры [125]. В противоположность этому, O-ацелированная сиаловая кислота не подвержена лактонизации и, следовательно, не реагирует на блокировку при ацетилировании.

Изменения в окрашивании клеток слюнных желез на 10-е сутки после моделирования пародонтита. В начальные периоды эксперимента, спустя 10 дней с момента индукции пародонтита, процедура ацетилирования не изменяла интенсивность окраски цитоплазмы мукозных клеток подчелюстной и подъязычной слюнных желез при использовании альцианового синего, а также не затрагивала метахроматический эффект в присутствии азура. Данные результаты указывают на присутствие в клетках защищенной формы сиаловой кислоты, модифицированной O-ацетилированием, которая устойчива к химическим блокирующим воздействиям.

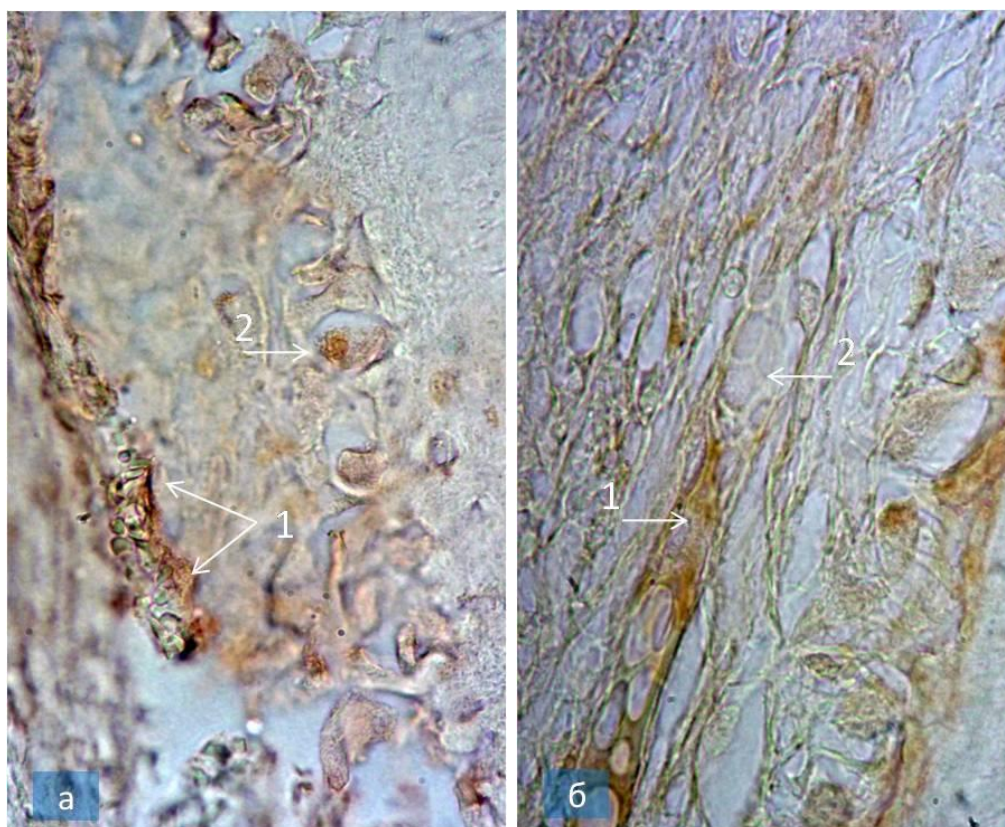
Остаточная PAS-реакция на 30-е и 60-е сутки. По мере прогрессирования эксперимента, к 30-м суткам и особенно к 60-м, в цитоплазме секреторных клеток околоушной слюнной железы сохранялась слабая PAS-реакция, что, по всей видимости, связано с накоплением нейтральных мукополисахаридов. Эти наблюдения свидетельствуют о постепенной перестройке гистохимического состава клеток в ответ на патологические изменения, вызванные пародонтитом, и требуют дальнейшего изучения для понимания механизмов компенсации (рисунок 15а).



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

Аналогичная реакция в слизистых клетках подчелюстной железы к данному сроку наблюдения, может быть связана как с нейтральными, так и с сульфатированными мукополисахаридами, наличием которых может объясняться способность этих клеток окрашиваться основным коричневым (рисунок 15б). Остаточная PAS-реакция в цитоплазме слизистых клеток подъязычной железы на поздних сроках пародонтита (60 суток) может быть связана как с фукозомуцинами, так и с сульфатированными мукополисахаридами, резистентными к диастазу (рисунок 16а). На присутствие последних указывает метахроматическое окрашивание цитоплазмы слизистых клеток азуром при низком pH (1,5) и интенсивная окраска кислым раствором основного коричневого (рисунок 16б).



Примечание – а – остаточная PAS-реакция на сульфатированные мукополисахариды (1) в цитоплазме слизистых клеток (2); б – интенсивная окраска кислым раствором основного коричневого цитоплазмы слизистых клеток (1) и метахроматическое окрашивание азуром (2) при низком pH (1,5). ИГХ реакция. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 20, об. 40

Рисунок 16 – Микропрепараты слизистых клеток подъязычной железы на 60 сутки после формирования модели экспериментального пародонтита

Доказательство этого выводится из экспериментов по метилированию и деметилированию срезов. К 60-му дню после индукции пародонтита, на фоне жесткого кислотного гидролиза, в исследуемых образцах почти полностью отсутствовали PAS-реакция и метахромазия с азуром (рисунок 17).

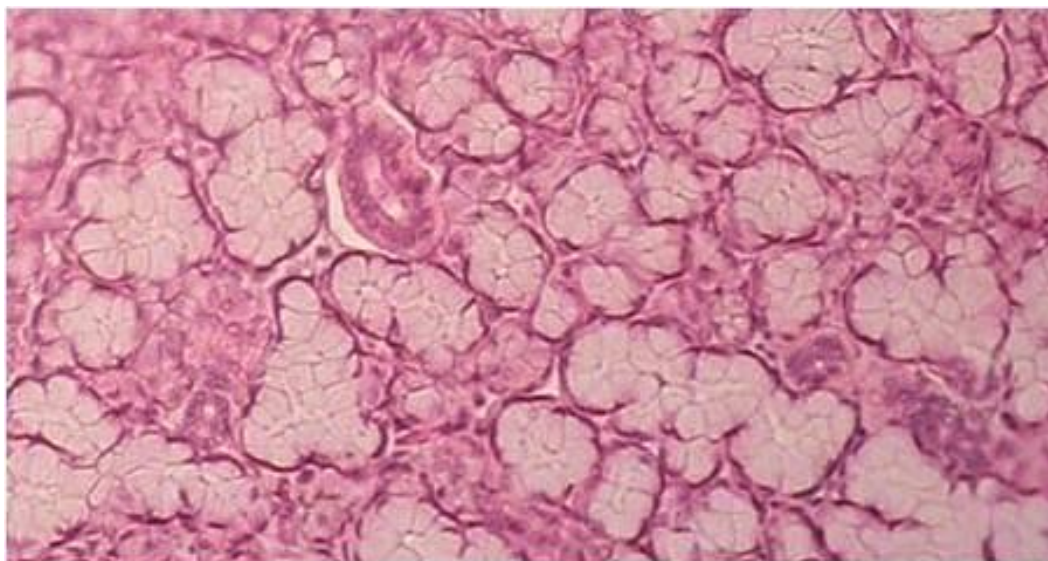


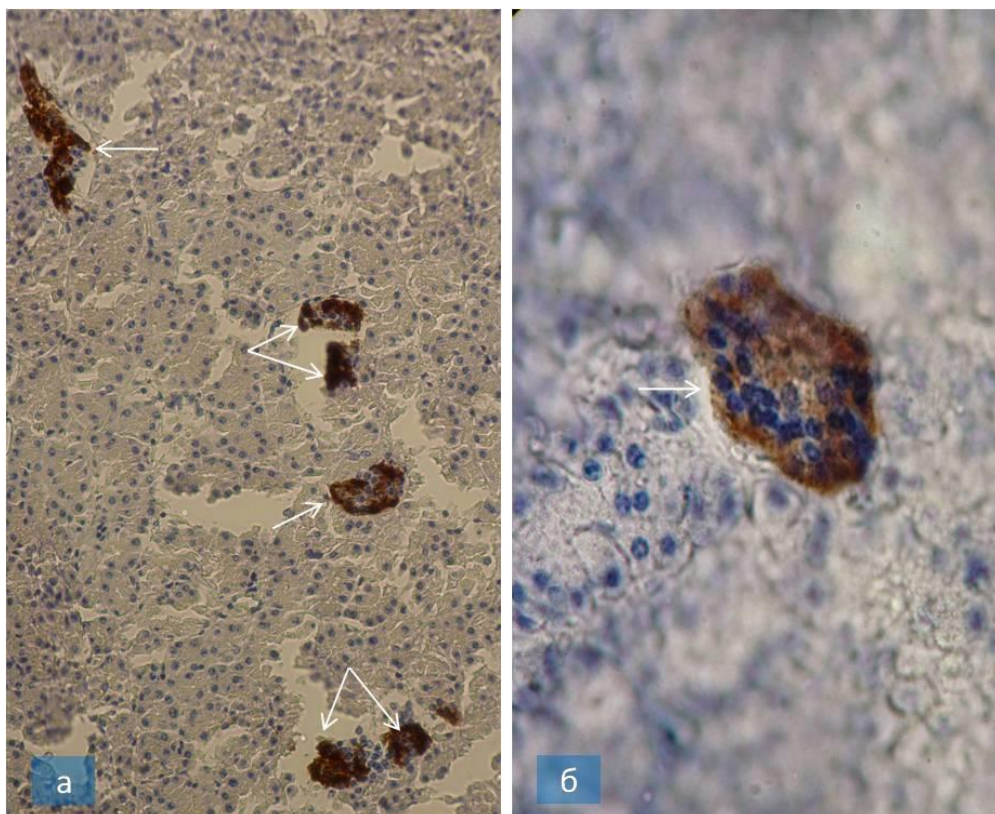
Рисунок 17 – Микропрепарат околоушной железы на 60 сутки после формирования модели экспериментального пародонтита. ИГХ реакция метохромазии азуром. Ок. 20, об. 20

Особенности метахромазии с азуром при pH 1,5 на 10-е сутки после моделирования пародонтита. На начальных стадиях развития пародонтита, через 10 дней после индукции, метахроматическое окрашивание с азуром при pH 1,5 преобладало в слизистых клетках отдельных смешанных терминалей подъязычной слюнной железы (рисунок 18а). Возможно, это связано с наличием хондроитин-сульфата в этих структурах, что подтверждается специфическим красно-фиолетовым оттенком метахромазии.

Интенсивная остаточная PAS-реакция на 60-е сутки. К 60-му дню после моделирования пародонтита значительно выраженная PAS-реакция фиксировалась практически во всех слизистых клетках концевых отделов

подъязычной железы (рисунок 186). Вероятно, данный эффект на поздних этапах патологического процесса объясняется не только присутствием сульфатированных мукополисахаридов, но и участием фукозомуцинов, которые подвергаются разрушению или устранению под воздействием интенсивного кислотного гидролиза. Эти данные иллюстрируют эволюцию гистохимических свойств железы в условиях хронического воспаления.

На ранних сроках эксперимента (10-й день) для белковых клеток полулуний и белковых концевых отделов подчелюстной и подъязычной желез типичен был простой полисахаридный состав. Цитоплазма таких белковых клеток демонстрировала PAS-реакцию и интенсивно окрашивалась альциановым синим. Интенсивность этих реакций снижалась после мягкого кислотного гидролиза и жесткого метилирования, что указывало на наличие сиаловой кислоты. Остаточная PAS-реакция, устойчивая к диастазе, на данном этапе, по всей видимости, связана с присутствием нейтральных мукополисахаридов.



Примечание – а – хондроитин-сульфат В (отмечен стрелками в слизистых клетках при низком рН (1,5); б – остаточная PAS-реакция в слизистой клетке (отмечена стрелкой). ИГХ реакция метахромазии с азуром. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10, об. 20 (а), ок. 20, об. 40 (б)

Рисунок 18 – Микропрепараты смешанных концевых отделов подъязычной железы на 10 (а) и 60 (б) сутки после формирования модели экспериментального пародонтита

К 30-му дню после моделирования пародонтита белковые вещества, выявляемые реакцией Даниелли, обнаруживались уже в белковых и слизистых клетках. Их наибольшее количество отмечалось в цитоплазме белковых клеток, а также в ядре и ядрышке как белковых, так и слизистых клеток. К 60-му дню наблюдения сравнение результатов окрашивания прочным зеленым показало, что в кислой среде реакция протекала интенсивнее, чем в щелочной. Эти данные свидетельствуют о том, что белковые вещества в исследуемых структурах на поздних этапах эксперимента имеют смешанный характер, поскольку включают как кислые, так и основные белки. Полученные результаты подчеркивают прогрессивные изменения в составе секреторных элементов слюнных желез при пародонтите, от доминирования углеводных компонентов (сиаловые кислоты, нейтральные мукополисахариды) на ранних стадиях к синтезу белковых субстанций смешанной природы на поздних этапах.

Резюме

Морфофункциональные особенности концевых отделов слюнных желез.

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.

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.

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. 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. В поднижнечелюстной и подъязычной железах сохраняется остаточная PAS-позитивность на сульфатированные мукополисахариды и фукозомуцины, с метакромазией азуром при низком рН 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.

Функциональное значение изменений и клинические перспективы.

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.

ГЛАВА 5**ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПАРОДОНТИТА ПРИ
ПОНИЖЕННОЙ СЕКРЕТОРНОЙ И ГУМОРАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ
БОЛЬШИХ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ КРЫС**

Современные представления о возникновении, развитии и исходах заболеваний пародонта основаны на взаимодействии этиологических факторов и условий, которые инициируют процессы разрушения тканей пародонта одновременно с активизацией защитных адаптационных реакций организма. Ключевыми элементами здесь выступают показатели иммунной реактивности и устойчивость тканей пародонта к воздействию бактериальных агентов. Кроме того, существенное влияние на воспалительные изменения в пародонте оказывают секреторные и гуморальные функции больших слюнных желез. Исходя из этого, целью данного раздела стало изучение основных патогенетических звеньев пародонтита в условиях экспериментально вызванной гипосаливации, что и освещается в данной главе.

Эксперимент проводился на 60 самцах белых лабораторных крыс, разделенных на 6 групп (по 10 особей в каждой):

1. Контрольная группа: здоровые животные, полость рта которых обрабатывалась дистиллированной водой в течение 30 дней.
2. Группа с атропиновой ксеростомией: животные, которым на слизистую оболочку наносили 0,01% раствор сульфата атропина в дозе 25 мг/кг на протяжении 30 дней.
3. Группа с этакриловой ксеростомией: животные, получавшие аппликации Этакрила в дозе 25 мг/кг также в течение 30 дней.
4. Группа с острым пародонтитом (ОП): моделирование заболевания у крыс в течение 30 дней.
5. Группа с ОП на фоне атропиновой ксеростомии: включало предварительную индукцию ксеростомии атропином на протяжении 21 дня.

6. Группа с ОП на фоне этакриловой ксеростомии: аналогично, но с предварительной индукцией ксеростомии Этакрилом.

Информация о сроках этаназии животных подробно описана в разделе "Материалы и методы исследования".

5.1 Интенсивность процессов липидной перекисидации и состояние антиоксидантной системы у крыс с ОП при низкой секреторной активности больших слюнных желез крыс

Результаты исследований продемонстрировали, что содержание реактивных форм кислорода (РФК) у особей с атропиновой ксеростомией достигало $66,9 \pm 4,18\%$ от уровня интактных животных ($p < 0,05$), что может быть связано с угнетением метаболических процессов в полости рта, включая генерацию АФК из-за недостатка паротина. После моделирования острого пародонтита на 60-й день продукция РФК резко возросла, превысив норму в 2,75 раза; к 90-му дню этот показатель снизился, но все еще был выше в 2 раза по сравнению с контролем.

В группах, где острый пародонтит развивался на фоне ксеростомии (индуцированной атропином), прирост РФК был менее выраженным, чем при изолированном ОП: на 60-й день – 244% от нормы, на 90-й – 189%. Аналогичная тенденция наблюдалась в группе с этакриловой ксеростомией, где на 60-й день уровень РФК увеличился на 75%, а на 90-й – на 59% относительно интактных особей (рисунок 19).

Концентрация гидроперекисей липидов (ГПЛ) в сыворотке крови у животных с изолированным ОП на 60-й день составляла 70,4% от контрольных значений, тогда как при ОП на фоне атропиновой или этакриловой ксеростомии – 243,8% и 228,9% соответственно. К 90-му дню эти показатели снизились до 175,4% и 158,6% (рисунок 20).

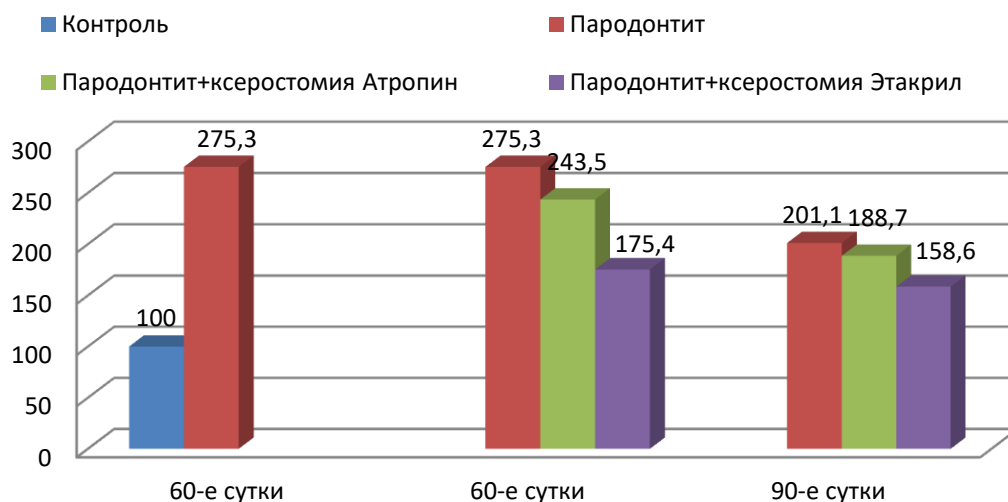


Рисунок 19 – Уровень АФК при моделировании острого пародонтита на фоне ксеростомии (%)



Рисунок 20 – Содержание ГПЛ в сыворотке крови животных с острым пародонтитом на фоне ксеростомии (%)

В гомогенатах десен аналогичная тенденция сохранялась, за исключением группы с ОП и этакриловой ксеростомией, где пикового уровня ГПЛ достигали не на 60-й, а на 90-й день эксперимента (рисунок 21).



Рисунок 21 – Содержание ГПЛ в гомогенатах десен животных с острым пародонтитом на фоне ксеростомии (%)

У животных с ксеростомией (группы 2 и 3) отмечалось снижение продукции супероксидного анион-радикала НАДФН-оксидазой нейтрофилов, а также уменьшение концентрации ТБК-активных продуктов в гомогенатах десен и сыворотке крови на всех этапах эксперимента (60-й и 90-й дни). В группе с изолированным ОП уровни ТБК-активных продуктов в сыворотке оказались выше в 2,3 раза, в гомогенатах десен – в 1,4 раза. К 90-му дню концентрации снизились до 137,4% и 112,8% соответственно. При комбинации ОП с ксеростомией значительного увеличения ТБК-активных продуктов не наблюдалось: на 60-й день в гомогенатах десен они были на 24% ниже нормы, в сыворотке – на 97% выше; на 90-й день — на 18,5% и 24,8% ниже соответственно.

Изменения содержания конечных продуктов липопероксидации – шиффовых оснований (азометинов) – подтвердили эту динамику. В комбинации ОП с ксеростомией отмечалось значительное повышение их уровней, особенно при этакриловой ксеростомии, с тенденцией к дальнейшему росту к 90-му дню (рисунок 22).

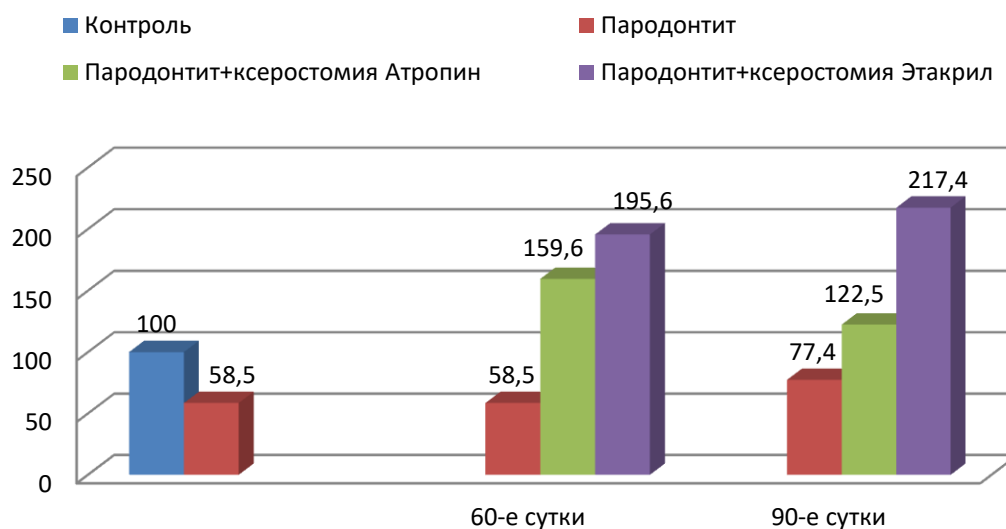


Рисунок 22 – Содержание оснований Шиффа в гомогенатах десен животных с острым пародонтитом на фоне ксеростомии (%)

Таким образом, животные с изолированным ОП проявляли большую резистентность к оксидативному стрессу и повреждению тканей по сравнению с теми, у кого он сочетался с ксеростомией. Выявлена прямая связь между степенью стресса и типом химического агента, вызвавшего гипосаливацию: при этакриловых аппликациях в сыворотке и гомогенатах десен фиксировалось снижение ТБК-активных продуктов, но рост азометинов.

Поскольку интенсивность свободнорадикальных реакций зависит не только от количества генерируемых РФК, но и от их способности запускать цепи липопероксидации или окислительной модификации белков, особое внимание уделялось оценке ферментного и неферментного звеньев антиоксидантной системы, отвечающей за подавление этих процессов.

Исследования показали, что снижение активности слюнных желез ассоциировано не только с уменьшением продукции РФК и процессов липопероксидации, но и со снижением активности антиоксидантных ферментов в слюне — супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы. У животных с ксеростомией (группы 2 и 3) активность СОД в крови была на 62,8% ниже нормы, в гомогенатах десен — на 92,5%. К 90-му дню при атропиновой ксеростомии активность СОД в

крови и деснах составляла 55,2% и 60,5%, а при этакриловой — почти соответствовала норме. Активность каталазы демонстрировала схожую картину, с той разницей, что на 90-й день при атропиновом воздействии она достигала 83% и 75,4% в крови и деснах, а при этакриловом — возрастала на 198% и 132,7% соответственно.

В группе с изолированным ОП активность СОД в крови на 60-й день была 124,6% от нормы, в гомогенатах — 112,4%. К 90-му дню она снизилась до 84% в обеих средах ($p < 0,05$) (рисунок 23).

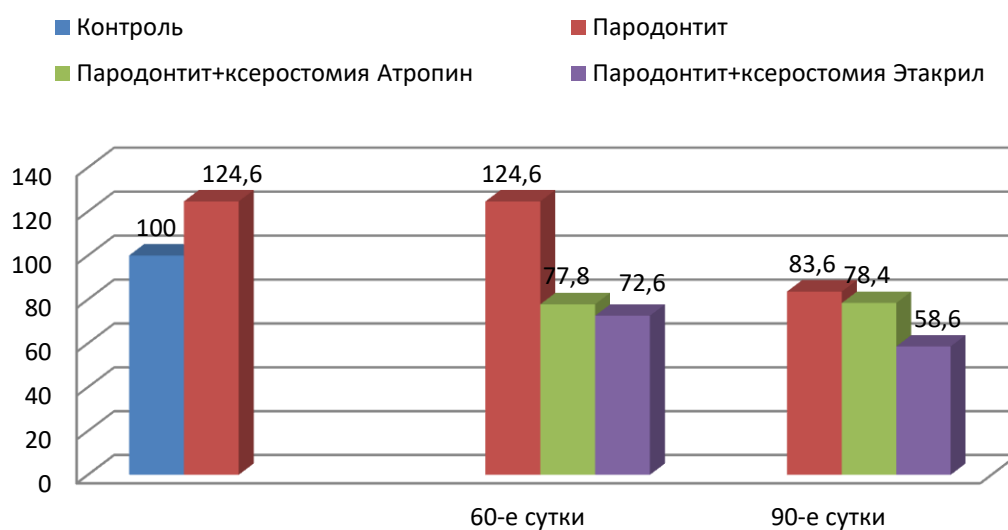


Рисунок 23 – Содержание СОД в сыворотке крови животных с острым пародонтитом на фоне ксеростомии (%)

При сочетании ОП с ксеростомией активность СОД снижалась с 60-го дня: в крови — до 80%, в деснах — до 54,7%. К 90-му дню в атропиновой группе она была на 21,6% ниже в крови и на 40,7% ниже в деснах; в этакриловой — на 41,4% и 44,2% соответственно.

Концентрация основного антиоксиданта плазмы — церулоплазмина — у животных с ОП составляла 88,4% от нормы. В группах с ОП на фоне ксеростомии (атропиновой) показатели на 60-й и 90-й дни равнялись 65,9% и 61,3%; при этакриловой — 59,3% и 62,5% (рисунок 24).

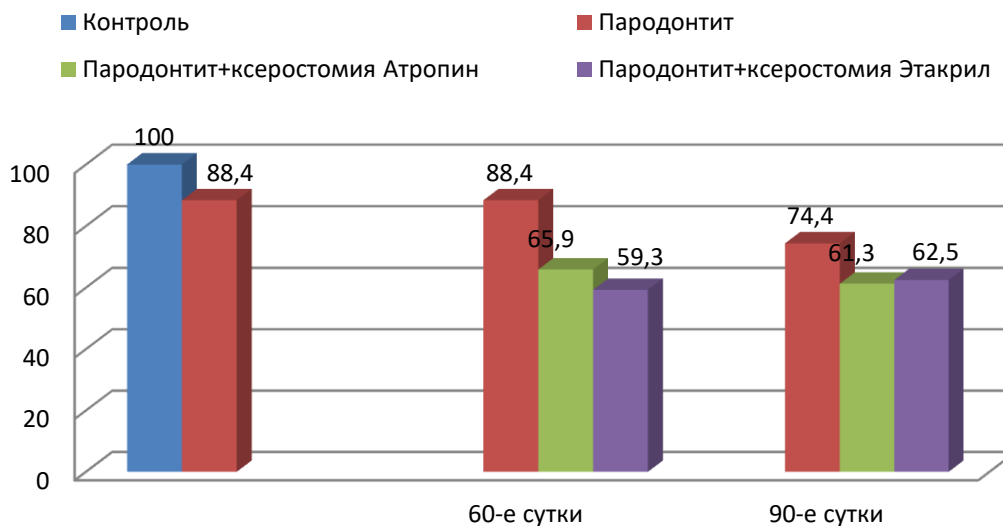


Рисунок 24 – Концентрация церулоплазмينا в сыворотке крови животных с ОП на фоне ксеростомии (%)

Важную роль в оценке антиоксидантной системы играет система глутатиона, включающая восстановленный глутатион (ВГ), окисленный глутатион, глутатионпероксидазу и глутатионредуктазу. Уровень ВГ измерялся в гемолизатах эритроцитов и гомогенатах десен. Заметные изменения отмечались преимущественно в деснах: уровень ВГ прогрессивно снижался ко второй точке наблюдения, особенно выражено у животных с ОП и ксеростомией.

К 90-му дню при атропиновой ксеростомии ВГ в деснах составлял 67,7% от нормы, при этакриловой – 82,6%. В гемолизатах динамика различалась: к 60-му дню снижение наблюдалось во всех экспериментальных группах, к 90-му – у животных с ОП уровень ВГ вырос до 123,8%, при этакриловой ксеростомии – на 17%, а в группах с ОП плюс ксеростомия оставался низким: 71,2% (атропин) и 67,5% (этакрил) (рисунок 25).

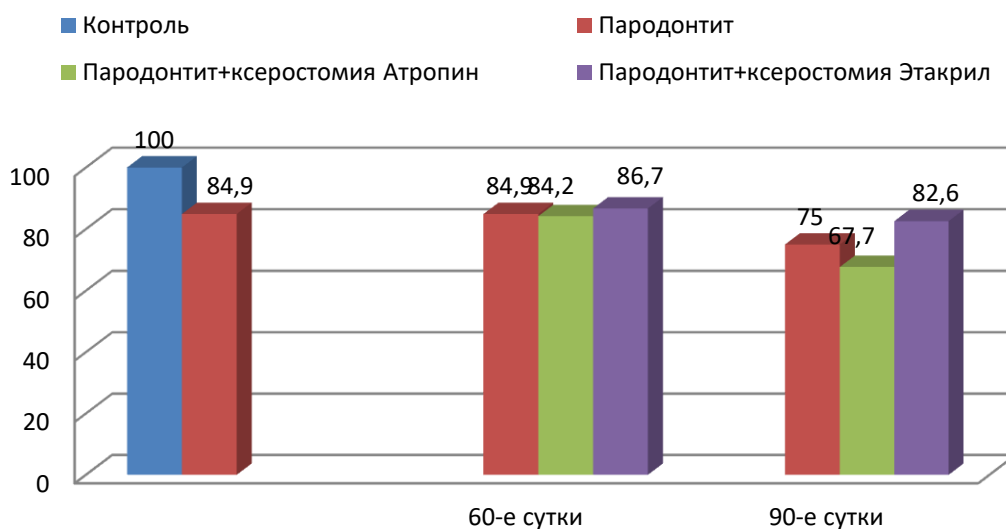


Рисунок 25 – Концентрация ВГ в гомогенатах десен животных с ОП на фоне ксеростомии

Полученные данные свидетельствуют о значительном вкладе больших слюнных желез (БСЖ) в поддержание антиоксидантного статуса пародонта и организма в целом. Крысы с изолированным ОП демонстрировали большую устойчивость к оксидативному стрессу и тканевым повреждениям по сравнению с теми, у кого патология осложнена ксеростомией. При этом отмечена прямая зависимость между тяжестью стресса и типом химического раздражителя, индуцировавшего гипосаливацию: под влиянием этакрила в сыворотке и гомогенатах десен снижалось содержание ТБК-активных продуктов на фоне роста азометинов и истощения антиоксидантных резервов (таблица 4).

Таблица 4 – Активность субстратов антиоксидантной системы в крови и гомогенатах десен у крыс с острым пародонтитом и гипосаливацией на 90 день эксперимента, $M \pm m$

Показатели	Группы животных					
	1-я группа, n=10	2-я группа, n=10	3-я группа, n=10	4-я группа, n=10	5-я группа, n=10	6-я группа, n=10
СОД, кровь, ус.ед	1,16±0,02	0,64±0,09 p<0,001	1,33±0,03 p<0,001	0,97±0,05 p<0,01	0,91±0,07 p ₁ <0,01 p ₂ <0,001	0,68±0,05 p ₃ <0,001 p ₄ <0,002

Продолжение таблицы 4

Показатели	Группы животных					
	1-я группа, n=10	2-я группа, n=10	3-я группа n=10	4-я группа n=10	5-я группа n=10	6-я группа n=10
СОД, гомогенат, ус. ед	3,24±0,07	1,96±0,22 p<0,001	3,75±0,08 p<0,001	2,76±0,47 p>0,05	1,92±0,26 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	1,81±1,17 p ₃ >0,05 p ₄ >0,05
Каталаза, кровь, мкат/л	1,48±0,15	1,23±0,08 p>0,05	2,94±0,14 p<0,001	1,77±0,06 p>0,05	1,52±0,30 p ₁ >0,05 p ₂ <0,002	1,33±0,22 p ₃ >0,05 p ₄ >0,05
Каталаза, гомогенат, мкат/кг	6,75±0,28	5,09±0,15 p<0,001	8,96±0,12 p<0,001	7,32±0,10 p>0,05	6,89±0,15 p ₁ >0,05 p ₂ <0,001	6,24±0,18 p ₃ >0,05 p ₄ <0,001
ЦП, сыворотка, мг/л	242,6±3,04	210,5±5,24 p<0,001	163,2±11,4 p<0,001	180,5±5,84 p<0,001	148,8±4,15 p ₁ <0,001 p ₂ >0,05	151,6±2,70 p ₃ <0,001 p ₄ <0,002
ВГ, гомогенат, мг/г	3,96±0,17	2,68±0,12 p<0,001	3,27±0,21 p<0,001	2,97±0,08 p<0,001	2,55±0,13 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	2,48±0,03 p ₃ <0,001 p ₄ <0,001
ВГ, гемолизат, мг/л	72,2±2,6	58,7 ±1,8 p<0,001	84,5±3,66 p<0,02	89,4±4,5 p<0,02	51,4±2,8 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	48,7±1,5 p ₃ <0,001 p ₄ <0,001

Примечание: достоверность разницы показателей у животных:

p – по отношению к 1 группе; p₁ – между 5-ой и 4 группами; p₂ – между 5-ой и 2 группами; p₃ – между 6-ой и 4-ой группами; p₄ – между 6-ой и 3-ой группами

Резюме

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 церулоплазмينا 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.

5.2 Особенности неспецифического и специфического звеньев иммунной защиты у крыс с острым пародонтитом на фоне ксеростомии

Анализ параметров иммунной системы у животных с острым пародонтитом на фоне ксеростомии осуществляли с помощью сравнительного исследования иммунологических показателей здоровых животных, животных с ксеростомией (атропин - и этакрил индуцированной ксеростомией), животных с острым пародонтитом и животных, которым пародонтит моделировали на фоне атропин -

и этакрил индуцированной ксеростомии. Для оценки состояния иммунной системы у животных оценивали показатели, характеризующие функциональную активность клеточного и гуморального звеньев иммунитета, фагоцитарно-макрофагальное звено, а также цитокиновый статус.

Тест с нитросинем тетразолам использовали с целью анализа активности фагоцитов, поскольку спонтанный НСТ-тест основан на способности частиц нитросинего тетразола, поглощенных нейтрофилом, менять окраску под действием активных форм кислорода, супероксиданиона и позволяет оценить состояние кислородзависимого механизма бактерицидности фагоцитов. Индуцированный НСТ-тест показывает возможности нейтрофилов адекватно ответить на потенциальную угрозу синтезом соответствующего набора ферментов. Показатель резерва (ПР), как отношение значений индуцированного НСТ к спонтанному НСТ-тесту характеризует количественную готовность нейтрофила к качественному фагоцитозу.

Показатели сНСТ-теста у крыс с экспериментальным пародонтитом и интактных животных оказались сопоставимыми на 60 сутки эксперимента и недостоверно увеличенными к 90-м (рисунок 26).

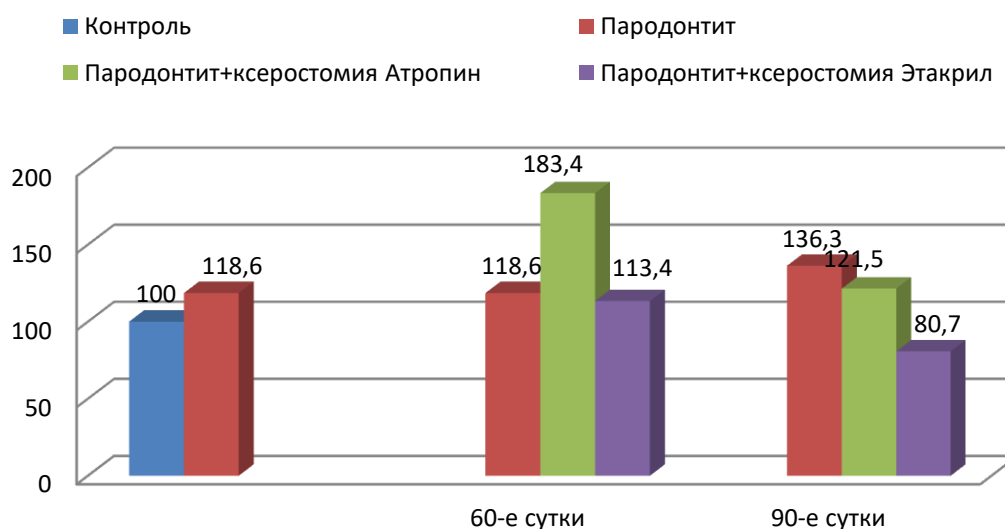


Рисунок 26 – Показатели спонтанного НСТ-теста у животных с острым пародонтитом на фоне ксеростомии

Вместе с тем, снижение секреторной и гуморальной активности слюнных желез этакрилом, но не атропином, к 90 дню достоверно увеличило показатели спонтанного и индуцированного НСТ-теста, что свидетельствует в пользу гуморального обеспечения кислородзависимого механизма бактерицидности фагоцитов, блокированного этакрилом.

Исследование функциональной активности нейтрофилов периферической крови у крыс с воспалением тканей пародонта на фоне ксеростомии, указывает на уменьшение качественных характеристик метаболизма в полиморфно-ядерных лейкоцитах. В частности, на 60-е сутки эксперимента у крыс с пародонтитом на фоне атропин- и этакрил- индуцированной ксеростомии показатели сНСТ-теста и индуцированного НСТ-теста оказались достоверно ниже в более чем 1,5 раза, а на 90-е сутки – почти в 2 раза, по сравнению с животными, у которых нарушение секреторной и гуморальной активности больших слюнных желез протекало без моделирования воспаления (2-я и 3 группа) (таблица 5).

Таблица 5 – Характеристика НСТ-теста у опытных животных на 90 сутки эксперимента, $M \pm m$

Показатели	Группы животных					
	1-я группа, n=10	2-я группа, n=10	3-я группа, n=10	4-я группа, n=10	5-я группа, n=10	6-я группа, n=10
сНСТ-тест, (тест с нитросиним тетразолам), %	16,53±1,57	18,44±0,76 p>0,05	28,55±1,41 p<0,001	22,53±0,98 p>0,05	20,09±0,43 p ₁ <0,01 p ₂ <0,002	13,35±0,58 p ₃ <0,001 p ₄ <0,001
ИНСТ-тест, (индуцированный НСТ-тест), %	24,96±1,01	28,12±1,92 p>0,05	39,54±0,87 p<0,001	25,94±0,66 p>0,05	26,74±0,18 p ₁ <0,02 p ₂ <0,001	18,56±0,59 p ₃ <0,001 p ₄ <0,002
ПР (показатель резерва)	1,51±0,11	1,53±0,32 p>0,05	1,39±0,03 p>0,05	1,15±0,13 p<0,05	1,33±0,18 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05	1,39±0,05 p ₃ <0,02 p ₄ >0,05

Примечание: достоверность разницы показателей у животных:

p – по отношению к 1 группе; p₁ – между 5-ой и 4 группами; p₂ – между 5-ой и 2 группами; p₃ – между 6-ой и 4-ой группами; p₄ – между 6-ой и 3-ой группами

Показатель резерва у крыс с пародонтитом зафиксирован на уровне, который на 34,8% ($p < 0,05$) ниже по сравнению с контролем. Установленное уменьшение показателя резерва характеризует уменьшение функциональной активности нейтрофилов, характерное для воспаления.

Анализ показателей клеточного иммунитета в исследуемых группах указывает на существенные различия между факторами, модулирующими ксеростомию у животных. У животных с атропированной ксеростомией показатель CD4 лимфоцитов оказался ниже значений интактных животных на 27,7% к 90 суткам эксперимента. Этакрил же, наоборот к окончанию моделирования увеличил долю CD4 лимфоцитов на 34,1% по отношению к значениям интактных крыс. Несколько меньшее, но также разнонаправленное влияние оказали средства для моделирования ксеростомии и на уровень CD8 лимфоцитов, хотя атропин к 90 суткам их долю снизил достоверно на 13,1%. Интересно, что иммунорегуляторный индекс достоверно изменился при действии атропина и этакрила тоже разнонаправленно – этакрил его увеличил, а атропин снизил. Это свидетельствует о неадекватности иммунной реакции и о возможности хронизации процесса, поскольку отсутствуют закономерные изменения в содержании и преобладании Т-хелперов (CD4+Т-клеток) в острую фазу воспаления с последующим нарастанием CD8+Т-клеток (киллеров) в период реконвалесценции.

Моделирование острого пародонтита так же сопровождалось изменениями показателей клеточного иммунитета. В частности, на 60-е сутки показатель CD4 у животных с пародонтитом составил 129,3% от уровня здоровых, а CD8 – 112,8%, что привело к росту иммунорегуляторного индекса в 1,18 раза (рисунок 27). Достоверные изменения отмечены также и на 90-е сутки – CD4 составил 126,7 % от нормы, CD8 – 112,8% (рисунок 28). Такие изменения выражались в несколько меньшем росте соотношения CD4/CD8.

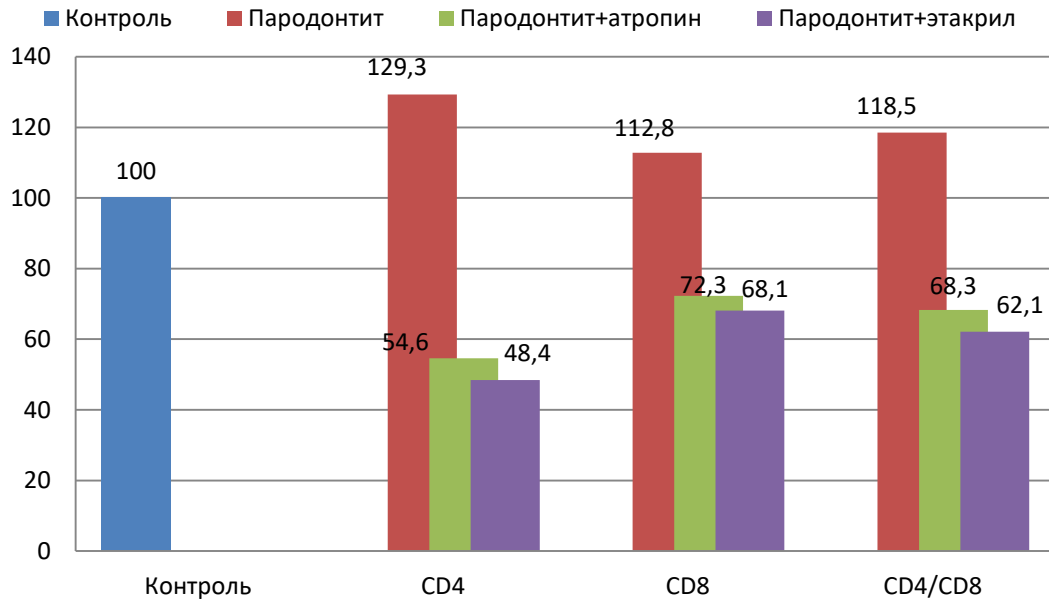


Рисунок 27 – Показатели клеточного иммунитета у животных с острым пародонтизом на фоне ксеростомии (60 суток)

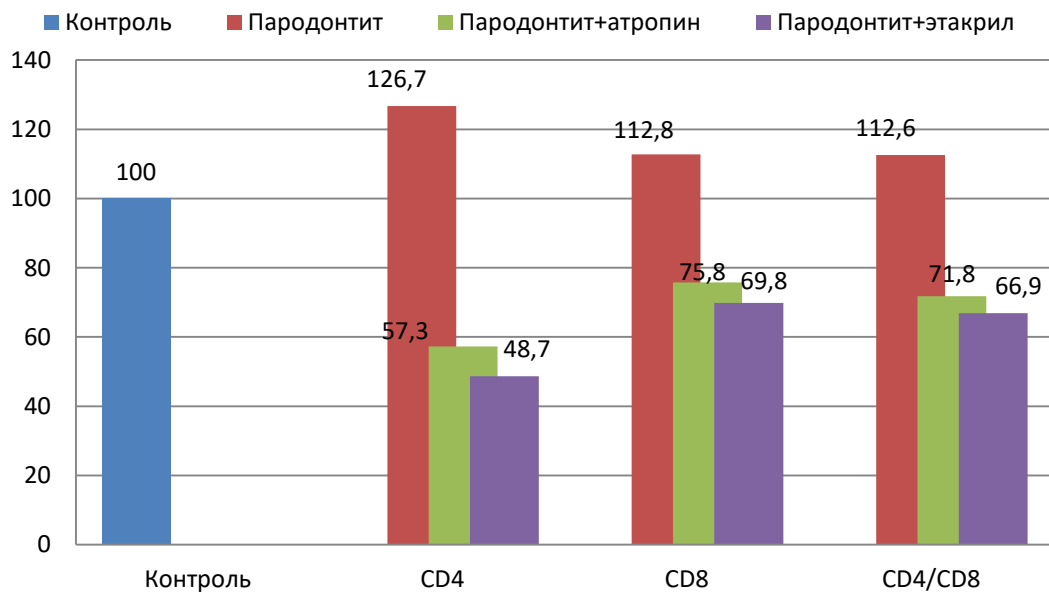


Рисунок 28 – Показатели клеточного иммунитета у животных с острым пародонтизом на фоне ксеростомии (90 суток)

Таким образом, у крыс с пародонтизом наблюдалось течение воспалительного процесса с преобладанием роста Т-хелперов над уровнем цитотоксических Т-лимфоцитов и, соответственно, возрастанием иммунорегуляторного индекса.

У животных, которым острый пародонтит моделировали на фоне ксеростомии изменения имели противоположное направление, причем более выражены они были при использовании этакрила.

Содержание CD4 и CD8 лимфоцитов на 60-е сутки по сравнению со здоровыми животными достоверно снизилось и составило около 50% и 70% соответственно, от их уровня, что привело к значительному снижению иммунорегуляторного индекса. На 90-е сутки эксперимента тенденция сниженных значений Т-клеток сохранилась с достоверно более низкими значениями иммунорегуляторного индекса (таблица 6).

Таблица 6 – Характеристика клеточного звена иммунитета при остром пародонтите с моделированием ксеростомии на 90 сутки эксперимента, $M \pm m$

Показатели	Группы животных					
	1-я группа, n=10	2-я группа, n=10	3-я группа, n=10	4-я группа, n=10	5-я группа, n=10	6-я группа, n=10
CD4, %	38,56±1,34	28,64±0,191 p<0,001	51,69±0,55 p<0,001	48,87±2,44 p<0,05	22,09±0,66 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	18,78±1,75 p ₃ <0,001 p ₄ >0,05
CD8, %	27,18±1,52	23,62±1,72 p<0,01	29,44±0,12 p>0,05	28,62±0,92 p<0,001	20,59±0,63 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	18,98±1,45 p ₃ <0,001 p ₄ <0,01
Имунорегуляторный индекс, CD4/CD8	1,48±0,19	1,21±0,54 p>0,05	1,76±0,17 p<0,001	1,71±0,13 p<0,001	1,06±0,34 p ₁ <0,05 p ₂ <0,001	0,99±0,06 p ₃ >0,05 p ₄ >0,05

Примечание: достоверность разницы показателей животных: p – в отношении интактных животных; p₁ – 5-ей группы относительно показателей 4-ой группы; p₂ – 5-й группы относительно показателей 2-ой группы; p₃ – 6-й группы относительно показателей 4-ой группы; p₄ – 6-й группы относительно показателей 3-ей группы

Таким образом, у животных с пародонтитом на фоне ксеростомии выявляется существенное и достоверное снижение иммунорегуляторной активности со стороны клеточного звена с дисбалансом основных субпопуляций лимфоцитов. Выявленная недостаточность данного компонента иммунного ответа отражает усиление взаимного негативного влияния воспалительного процесса в

пародонте и гуморального сбоя в работе слюнных желез, системных нарушений иммунной защиты в условиях сопутствующего дефицита как секреторного, так и гуморального компонента слюны.

Оценку гуморального звена иммунитета при моделировании пародонтита производили по определению содержания различных классов иммуноглобулинов в сыворотке крови - IgG, IgM и IgA.

Моделирование острого пародонтита характеризовалось существенными сдвигами в содержании различных классов иммуноглобулинов уже в начальные сроки эксперимента, что говорит о выраженной реакции иммунологической реактивности на присутствие в этот период эндотоксинов и антигенов. В частности, наибольшее снижение выявлено в показателях IgM – на 44,6% и IgG – на 22,8%, падение уровня IgA составило 21,8% (рисунок 29).

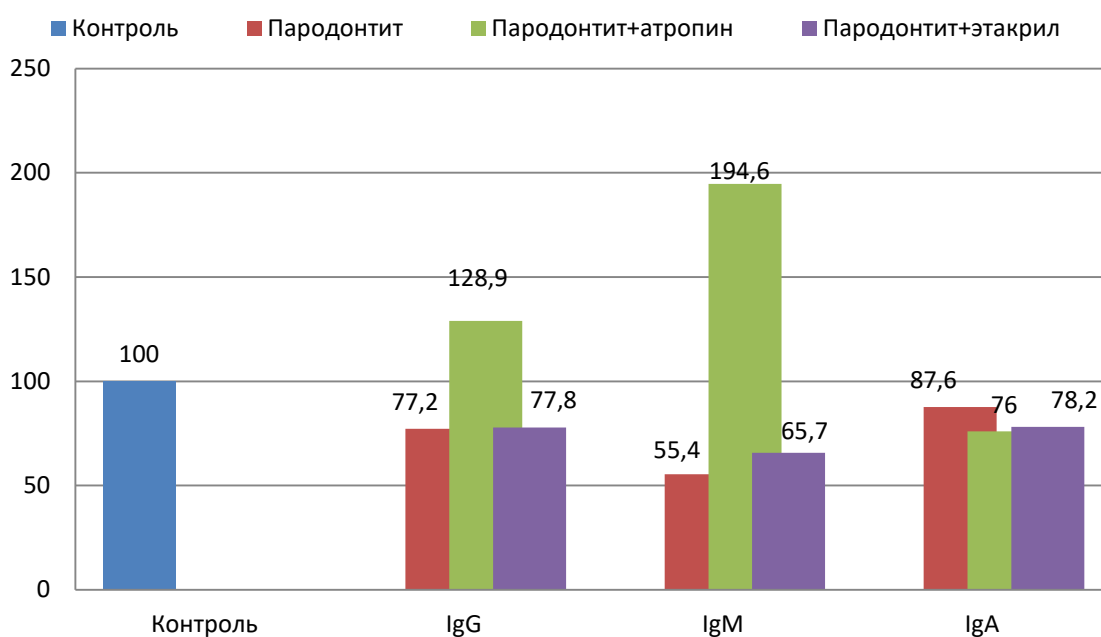


Рисунок 29 – Активность иммуноглобулинов на 60 сутки моделирования острого пародонтита и ксеростомии

На 90 сутки моделирования уровень иммуноглобулинов восстановился с одним лишь отличием – уровень IgA оказался достоверно выше контрольных значений (рисунок 30). Важно, что моделирование пародонтита на фоне атропин-

индуцированной ксеростомии способствовало значимому увеличению содержания изученных иммуноглобулинов в сыворотке крови крыс на 60-е эксперимента, в то время, как оказался этакрил- индуцированная ксеростомия в эти сроки по сдвигам в иммунологическом статусе мало чем отличалась по показателям от крыс без подобной индукции (рисунок 29). А вот к 90-м суткам эксперимента, значения IgG и IgM у животных с пародонтитом на фоне этакрил-индуцированной ксеростомии оказались наиболее близкими уровню контрольных особей.

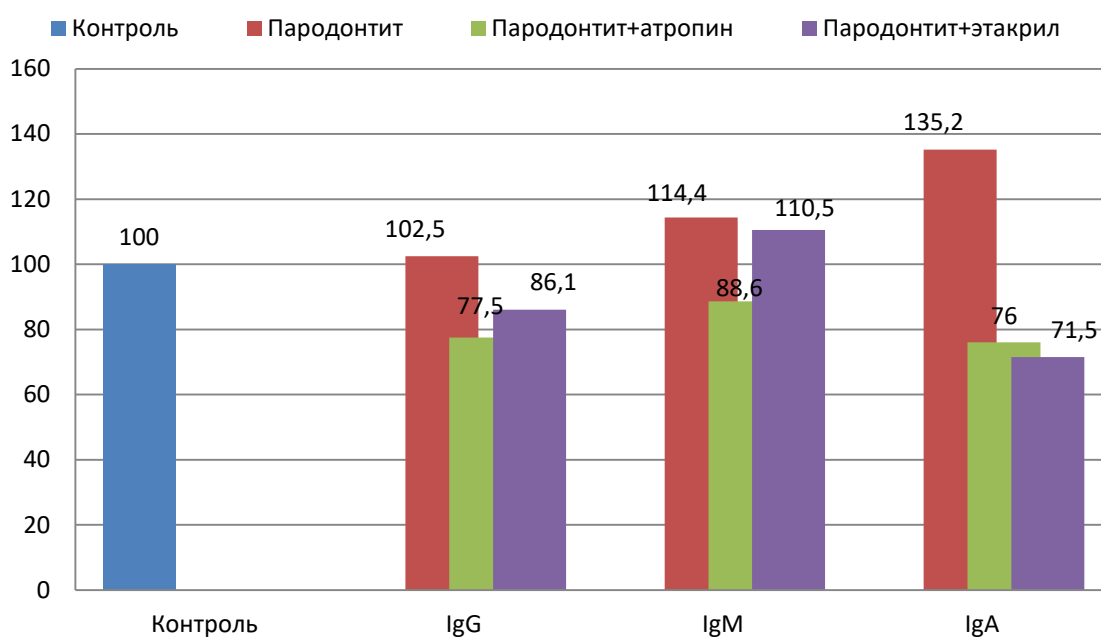


Рисунок 30 – Активность иммуноглобулинов на 90 сутки моделирования острого пародонтита и ксеростомии

Оценка гуморальной составляющей иммунного ответа при моделировании острого пародонтита дает возможность заключить о мобилизации классов иммуноглобулинов из кровеносного русла в течение 60-ти суток с дальнейшим снижением к 90-м суткам концентрации всех классов иммуноглобулинов, видимо, за счет угнетения их продукции иммунными клетками на системном уровне и в тканях, что свидетельствует о снижении саногенетических иммунологических механизмов (таблица 7).

В условиях моделированного острого пародонтита на фоне ксеростомии также выявлено достоверное изменение гуморальной активности к 60-м суткам эксперимента, разнонаправленное, в зависимости от причины гипосаливации. Гипертрофия, либо гипотрофия слюнных желез при использовании атропина или этакрилат, соответственно, приводит к увеличению, либо снижению концентрации IgG и IgM в сыворотке крови крыс относительно группы контроля. Моделирование ксеростомии к 90-м суткам препятствует восстановлению уровня IgA, в отличии от животных с пародонтитом без гипосаливации.

Таблица 7 – Показатели гуморальной активности при моделировании острого пародонтита на фоне ксеростомии на 90 сутки эксперимента, $M \pm m$

Показатели	Группы животных					
	1-я группа, n=10	2-я группа, n=10	3-я группа, n=10	4-я группа, n=10	5-я группа, n=10	6-я группа, n=10
IgG, г/л	7,15±0,18	3,83±0,07 p<0,001	8,54±0,16 p<0,001	7,33±0,13 p<0,001	5,54±0,13 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	5,44±0,19 p ₃ >0,05 p ₄ <0,001
IgM, г/л	3,25±0,14	1,94±0,14 p<0,01	6,11±0,15 p<0,001	3,72±0,11 p<0,001	2,88±0,12 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	3,59±0,26 p ₃ <0,01 p ₄ >0,05
IgA, г/л	1,79±0,09	1,12±0,06 p<0,001	2,48±0,05 p<0,001	2,42±0,11 p>0,05	1,36±0,09 p ₁ <0,05 p ₂ <0,001	1,28±0,12 p ₃ >0,05 p ₄ <0,001

Примечание: достоверность разницы показателей животных: p – в отношении интактных животных; p₁ – 5-ей группы относительно показателей 4-ой группы; p₂ – 5-й группы относительно показателей 2-ой группы; p₃ – 6-й группы относительно показателей 4-ой группы; p₄ – 6-й группы относительно показателей 3-ей группы

Полученные в ходе моделирования патологических состояний пародонта и функционирования слюнных желез результаты позволили наблюдать существенные изменения иммунологического статуса животных, причем при сочетании моделирования – уже к 60 суткам эксперимента. Важным компонентом такой иммуносупрессии можно считать влияние паротина. Вместе с тем, в последующем, к 90-м суткам эксперимента, выявлено достоверное нарастание

уровня иммуноглобулинов, что можно расценивать как системную компенсаторную реакцию иммунитета накопительного характера. Подобные изменения иммунологической реактивности свидетельствуют в пользу формирования дисрегуляторных изменений ее функционирования при сочетанном моделировании пародонтита и ксеростомии.

В ходе исследования изучался уровень противовоспалительных цитокинов в процессе течения острого экспериментального пародонтита. Среди провоспалительных цитокинов определялся фактор некроза опухоли-альфа (кахектин, представляет собой многофункциональный цитокин, участвующий в различных путях гомеостаза и патофизиологии млекопитающих), интерлейкины - 1, -4, -10. Установлено, что уровень ФНО- α в сыворотке крови здоровых животных составил $0,682 \pm 0,069$ пг/мл. При экспериментальном пародонтите уровень ФНО- α оказался на 14,8% меньше, чем у контрольных животных $0,594 \pm 0,055$ пг/мл ($p_1 < 0,001$) (таблица 8).

Таблица 8 – Содержание ФНО- α у животных с моделированием пародонтита и ксеростомии, $M \pm m$

Условия эксперимента		ФНО- α , пг/мл
Интактные животные, (1-я группа)		$0,682 \pm 0,069$
Острый пародонтит, (4-я группа)		$0,594 \pm 0,055$ $p_1 < 0,001$
острый пародонтит на фоне атропин-индуцированной ксеростомии, (5-я группа)	60-е сутки	$0,983 \pm 0,067$ $p_2 < 0,001$
	90-е сутки	$0,758 \pm 0,063$ $p_3 < 0,001$
острый пародонтит на фоне этил-индуцированной ксеростомии, (6-я группа)	60-е сутки	$1,22 \pm 0,18$ $p_4 < 0,001$; $p_5 > 0,001$
	90-е сутки	$1,29 \pm 0,44$ $p_4 < 0,001$; $p_6 < 0,001$

Примечание: p_{1-4} – достоверность изменений показателей между группами опытных и интактных животных; p_5 - достоверность изменений показателей животных 6-ой группы относительно показателей 5-ой группы на 60-е сутки; p_6 – достоверность изменений показателей животных 6-ой группы относительно показателей 5-ой группы на 90-е сутки

После 60 суток формирования модельного состояния острого пародонтита в группе животных с атропин- индуцированной ксеростомией выявлено достоверное увеличение в сыворотке крови уровня ФНО- α до значения $0,983 \pm 0,067$ пг/мл ($p_2 < 0,001$), что оказалось в 1,6 раза выше, чем у контрольной группы животных. В последующем, к 90-х суткам эксперимента значения данного показателя снизилось до $0,758 \pm 0,063$ пг/мл ($p_3 < 0,001$). В группе крыс с острым пародонтитом на фоне этакрил- индуцированной ксеростомии уровень ФНО- α через 60 суток после моделирования вырос еще больше и в 1,78 раза превышал норму, а до 90-х суток рост составил 1,89 раза, что свидетельствует о росте активности деструктивных процессов в пародонте при такой сочетанной патологии. Уровень ИЛ-1 β в сыворотке здоровых животных составил $1,52 \pm 0,11$ пг/мл (таблица 9). При экспериментальном пародонтите концентрация ИЛ-1 β также оказалась достоверно ниже, чем в группе контроля и составляла $1,44 \pm 0,09$ ($p_1 < 0,001$) пг/мл.

Таблица 9 – Содержание ИЛ-1 β в сыворотке животных с моделированием пародонтита и ксеростомии, $M \pm m$

Условия эксперимента		ИЛ-1 β , пг/мл
Интактные животные, (1-я группа)		$1,52 \pm 0,11$
Острый пародонтит, (4-я группа)		$1,44 \pm 0,09$ $p_1 < 0,001$
острый пародонтит на фоне атропин- индуцированной ксеростомии, (5-я группа)	60-е сутки	$2,94 \pm 0,14$ $p_2 < 0,001$
	90-е сутки	$2,77 \pm 0,06$ $p_3 < 0,001$
острый пародонтит на фоне этакрил- индуцированной ксеростомии, (6-я группа)	60-е сутки	$2,19 \pm 0,09$ $p_4 < 0,001$; $p_5 > 0,001$
	90-е сутки	$2,48 \pm 0,13$ $p_6 < 0,001$

Примечание: p_{1-4} – достоверность изменений показателей между группами опытных и интактных животных; p_5 – достоверность разницы показателей животных 6-ой группы относительно показателей 5-ой группы на 60-е сутки; p_6 – достоверность разницы показателей животных 6-ой группы относительно показателей 5-ой группы на 90-е сутки

Воспалительный процесс в пародонте привел к росту уровня IL-1 β в сыворотке крови во все сроки исследования с максимумом на 60-е сутки у животных с острым пародонтитом на фоне атропин- индуцированной ксеростомии - $2,94 \pm 0,14$ пг/мл ($p_2 < 0,001$), когда показатель превышал уровень интактных животных в 1,93 раза с последующим постепенным снижением, однако на всех сроках наблюдения показатель оказался достоверно выше уровня интактных животных.

Среди большой группы цитокинов интерлейкин-4 (IL-4) занимает особое место, поскольку проявляет выраженное противовоспалительное действие. Он, в частности, стимулирует пролиферацию Ig-активированных В-клеток, Т-лимфоцитов, мастоцитов и тимоцитов, регулирует продукцию IgE и IgG В-клетками, индуцирует экспрессию Ig и Fe-рецепторов в лимфоцитах и моноцитах, ингибирует продукцию IL-1, ФНО- α и IL-6, являясь антагонистом цитокинов воспаления.

В исследовании установлен менее значительный рост этого цитокина, чем IL-1 и ФНО- α . В сыворотке крови через 60 суток после моделирования острого экспериментального пародонтита на фоне атропин- индуцированной ксеростомии (5-я группа) показатель вырос на 22,7% и еще больше вырос в срок 90-х суток, составляя на 65,6% больше, чем в группе контроля ($6,83 \pm 0,64$, $p_3 < 0,001$).

При моделировании пародонтита на фоне этакрил- индуцированной ксеростомии (6-я группа) динамика роста IL-4 оказалась сопоставимой с предыдущей группой (таблица 10). В сыворотке крови показатели составили на 24,2 и 31,3% больше, чем у здоровых животных в соответствующие сроки исследования (данные статистически достоверны, $p < 0,001$).

Таблица 10 – Содержание IL-4 в сыворотке животных с моделированием пародонтита и ксеростомии, $M \pm m$

Условия эксперимента		IL-4, пг/мл
Интактные животные, (1-я группа)		4,48±0,16
Острый пародонтит, (4-я группа)		2,51±0,13 $p_1 < 0,001$
острый пародонтит на фоне атропин-индуцированной ксеростомии, (5-я группа)	60-е сутки	5,79 ± 0,23 $p_2 < 0,001$
	90-е сутки	6,83 ± 0,64 $p_3 < 0,001$
острый пародонтит на фоне этакрил-индуцированной ксеростомии, (6-я группа)	60-е сутки	5,91±0,16 $p_4 < 0,001$; $p_5 > 0,001$
	90-е сутки	6,43±0,59 $p_6 < 0,001$

Примечание: p_{1-4} – достоверность изменений показателей между группами опытных и интактных животных; p_5 – достоверность разницы показателей животных 6-ой группы относительно показателей 5-ой группы на 60-е сутки; p_6 – достоверность разницы показателей животных 6-ой группы относительно показателей 5-ой группы на 90-е сутки

Изучение концентрации противовоспалительного IL-10 показал, что при экспериментальном пародонтите наблюдалась тенденция к снижению исследуемого показателя (таблица 11). При экспериментальном пародонтите на фоне атропин- индуцированной ксеростомии (5-я группа) отмечены высокие показатели IL-10 на 60-е сутки, которые превышали контрольные значения на 34,8% ($p < 0,001$) с последующим снижением на 90-е сутки эксперимента концентрации ИЛ-10 на 29,4% относительно 60-х суток ($p < 0,001$).

При моделировании у крыс острого пародонтита на фоне этакрил-индуцированной ксеростомии отмечено достоверное возрастание концентрации IL-10 относительно показателей контрольной группы (интактные животные) на 60-е сутки на 18,9% ($p > 0,001$)_с прогрессирующим падением к 90-м суткам на 15,8% ($p < 0,001$) относительно контроля.

Таблица 11 – Содержание IL-10 в сыворотке животных с моделированием пародонтита и ксеростомии, $M \pm m$

Условия эксперимента		IL-10, пг/мл
Интактные животные, (1-я группа)		22,67±3,17
Острый пародонтит, (4-я группа)		18,46±0,89 $p_1 < 0,001$
острый пародонтит на фоне атропин-индуцированной ксеростомии, (5-я группа)	60-е сутки	30,55±1,63 $p_2 < 0,001$
	90-е сутки	20,88±2,14 $p_3 > 0,05$
острый пародонтит на фоне этакрил-индуцированной ксеростомии, (6-я группа)	60-е сутки	26,95±1,89 $p_4 < 0,001$; $p_5 > 0,001$
	90-е сутки	19,09±1,18 $p_6 < 0,001$

Примечание: p_{1-4} – достоверность изменений показателей между группами опытных и интактных животных; p_5 – достоверность разницы показателей животных 6-ой группы относительно показателей 5-ой группы на 60-е сутки; p_6 – достоверность разницы показателей животных 6-ой группы относительно показателей 5-ой группы на 90-е сутки

Установлено, что через 90 суток эксперимента на фоне резкого роста уровня провоспалительных цитокинов наблюдается существенное снижение концентрации IL-10 в обеих опытных группах (5-я и 6-я). Ранняя гиперактивация продукции IL-10 способствует превалированию процессов апоптоза над маркерами активации и является звеном неблагоприятного течения исследуемого патологического состояния.

Таким образом, экспериментальный острый 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.

Резюме

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.

5.3 Показатели эндогенной интоксикации у крыс с сочетанной формой патологии пародонта и слюнных желез

Эндотоксикоз является следствием нарушения процессов метаболизма в клетках в ответ на чрезмерную нагрузку в результате действия эндогенных и/или экзогенных факторов. Токсическими субстратами могут выступать различные вещества или их компоненты, формирующиеся в результате клеточной дезорганизации, неполного распада и неферментного превращения белков крови и тканей. Среди таких субстратов особую роль отводят среднемолекулярным продуктам протеолиза или молекулам средней массы (МСМ). В конечном итоге изменения концентрации МСМ в крови зависят от двух параллельно идущих процессов – активностью их появления в тканях и возможностью элиминации из организма. Более крупные, среднемолекулярные цепочки белковых молекул, также представляют интерес как факторы поддержания эндотоксикоза, вмешиваясь в метаболическое обеспечение физиологических процессов организма.

В таблице 12 представлены данные изменений МСМ у животных с моделированием патологии пародонта и функции слюнных желез к 60-м суткам эксперимента. Интересным можно считать разнонаправленные сдвиги качественных показателей МСМ различных классов: МСМ₁ – полипептидов с разветвленными цепными аминокислотами и МСМ₂ - с ароматическими аминокислотами.

Выявленные различия показателей связаны с особенностями метаболизма, которые проявляются активацией деградации окисляемых модифицированных белков, активностью гидролаз, которые расщепляют их, а также нарушением

элиминации в условиях дефицита паротина при снижении гуморальной активности БСЖ.

Таблица 12 – Показатели эндогенной интоксикации у крыс с острым пародонтитом на фоне ксеростомии, 60-е сутки, $M \pm m$

Показатели	Группы животных					
	1-я группа, n=10	2-я группа, n=10	3-я группа, n=10	4-я группа, n=10	5-я группа, n=10	6-я группа, n=10
МСМ ₁ , ус.ед	349,5±12,9	403,7±11,2 p<0,05	682,3±15,6 p ₁ <0,001	588,1±13,9 p ₂ <0,001	829,9±21,4 p ₃ <0,001 p ₄ <0,002	831,5±16,4 p ₅ <0,001 p ₆ <0,001
МСМ ₂ , ус.ед	209,7±10,6	254,6±11,8 p<0,05	484,3±12,8 p ₁ <0,001	325,7±18,2 p ₂ <0,001	639,7±18,3 p ₃ <0,02 p ₄ <0,001	672,7±12,6 p ₅ <0,001 p ₆ <0,002
ЭИИ, %	31,2±3,4	38,4±1,5 p<0,05	45,4±2,5 p ₁ <0,001	42,4±4,8 p ₂ <0,002	55,7±3,5 p ₃ <0,001 p ₄ <0,001	50,8±4,6 p ₅ <0,02 p ₆ <0,001

Примечание: p – достоверность изменений показателей между 2-ой и интактными группами животных; p₁ – достоверность изменений показателей между 3-ей и интактными группами животных; p₂ – достоверность изменений показателей между 4-ой и интактными группами животных; p₃ – достоверность изменений показателей между 5-ой и 4-ой группами; p₄ – достоверность изменений показателей между 5-ой и 2-ой группами; p₅ – достоверность изменений показателей между 6-ой и 4-ой группами; p₆ – достоверность изменений показателей между 6-ой группы и 3-ей группами животных

Острый экспериментальный пародонтит приводил к росту МСМ за счет выраженного повышения значения именно МСМ₁, уровень которых к 60 суткам моделирования возрастал на 68,3% а содержание МСМ₂ на 55,2%, – по сравнению с интактными животными (рисунок 31). Содержание МСМ₁ и МСМ₂ на 90-е сутки эксперимента несколько уменьшалось относительно предыдущего срока наблюдения (60 суток) и составляло 143,8 и 112,6% от нормы. Моделирование ксеростомии более существенно изменяло данные показатели, что отражалось на индексе эндогенной интоксикации.

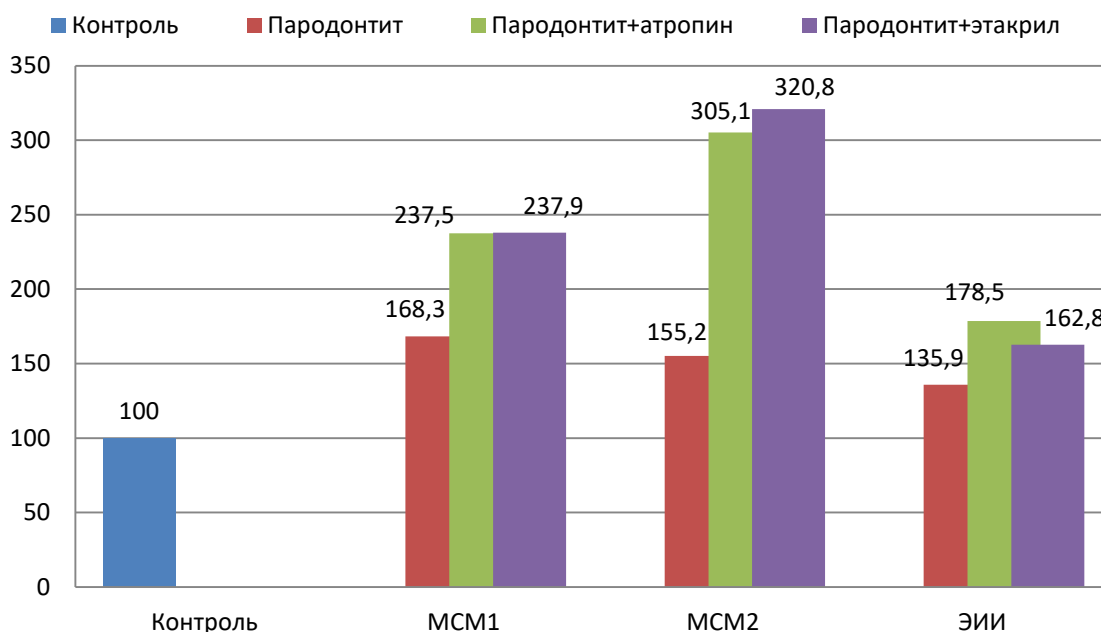


Рисунок 31 – Показатели эндогенной интоксикации у животных с острым пародонтитом на фоне ксеростомии (60 суток)

Полученные результаты свидетельствуют в пользу повышения в организме животных с пародонтитом интенсивности катаболических процессов. Ксеростомия существенно потенцировала явления катаболизма во все сроки исследования, причем при этакрил-индуцированной патологии интенсивность эндогенной интоксикации несколько выше. Повышенные значения МСМ₂ по-видимому характеризуют нарастание эндотоксикоза за счет нарушения процессов утилизации, входящих в их состав мочевой кислоты и пуриновых оснований, ароматических аминокислот. Вместе с тем, свой вклад вносят и процессы ПОЛ клеточных мембран, о чем свидетельствует повышение содержания МСМ₁, в состав которых могут входить триглицериды, холестерол, фрагменты нуклеиновых кислот, высших жирных кислот.

Хорошей моделью для оценки качественных характеристик мембранного аппарата остается эритроцитарная мембрана, в частности, тест на ее проницаемость. Отсутствие в эритроците клеточных органелл дает возможность оценивать количественно и качественно свойства билипидного слоя мембраны, как отражения интенсивности ПОЛ и возможного влияния на него различных

биологически активных веществ или эндо- или экзогенных факторов химической или биологической природы. Контролирование эритроцитарного индекса интоксикации (ЭИИ), характеризующего функциональную способность эритроцитов связывать различные соединения эритроцитарных мембран, также позволяет оценивать интенсивность эндотоксикоза.

В ходе проведенного исследования получены новые данные о влиянии функции слюнных желез на ЭИИ в ходе моделирования патологии пародонта. В частности, на 60-е сутки эксперимента данный показатель у крыс с пародонтитом (4-я группа) вырос в 1,35 раза с постепенным снижением до 90-х суток, когда он составлял 122,4% от нормы.

Ксеростомия привела к более существенному росту ЭИИ. В частности, на 60-е сутки показатель у крыс с пародонтитом с атропин- и этакрил-индуцированной ксеростомией составил 178,5 и 162,8% от уровня здоровых животных соответственно.

Таким образом, снижение выработки паротина приводит к усилению эндогенной интоксикации. Причинами этого могут быть чрезмерный распад модифицированных белков, а также нарушение их метаболизма, в частности при участии лизосомальных гидролаз.

В ходе исследования проведено изучение активности лизосомальных ферментов – катепсина D и кислой фосфатазы в гомогенатах десен, чтобы проверить или опровергнуть одно из вышеперечисленных предположений. Полученные результаты позволяют констатировать, что на фоне сниженной продукции паротина катаболические процессы существенно подавляются (рисунок 32). Формирование экспериментальной модели пародонтита у животных с атропин- и этакрил-индуцированной ксеростомией привело к достоверному росту показателя в 1,8 и 1,5 раза соответственно через 60 суток, что можно объяснить более массивной миграцией нейтрофилов в очаг поражения в 5-й и 6-ой группах. К 90-м суткам протеолитическая активность в группах снижалась и составляла 141,7 и 146,3% соответственно от уровня интактных животных.



Рисунок 32 – Показатели катепсина D в гомогенатах десен у животных с острым пародонтитом на фоне ксеростомии

На 90-е сутки активность катепсина D в гомогенатах десен животных 5-ой и 6-ой групп также выше значений контрольной группы, однако была ниже на 32,4 и 38,9% соответственно от аналогичного уровня у животных на 60-е сутки, превышая в среднем, в 1,43 раза аналогичный показатель интактных животных. Обращает на себя внимание тот факт, что до 90-х суток активность катепсина D в 5-ой группе снизилась на 16,8% от 60-х суток, тогда как в 6-ой группе мы отметили менее существенное снижение активности катепсина D - на 10,4%. Аналогичные изменения отмечены в динамике кислой фосфатазы (рисунок 33). В экспериментальных группах, где острый пародонтит развивался на фоне атропин- и этакрил-индуцированной ксеростомии, активность фермента на 60-й день наблюдения была зафиксирована на уровне 172,3% и 123,8% соответственно по сравнению с интактными животными. У крыс с изолированной ксеростомией отмечались существенные колебания активности этого фермента. К 90-му дню она достигала 141,4% от контрольных значений, что превышало аналогичный показатель у особей с пародонтитом (4-я группа) на 30,5%.

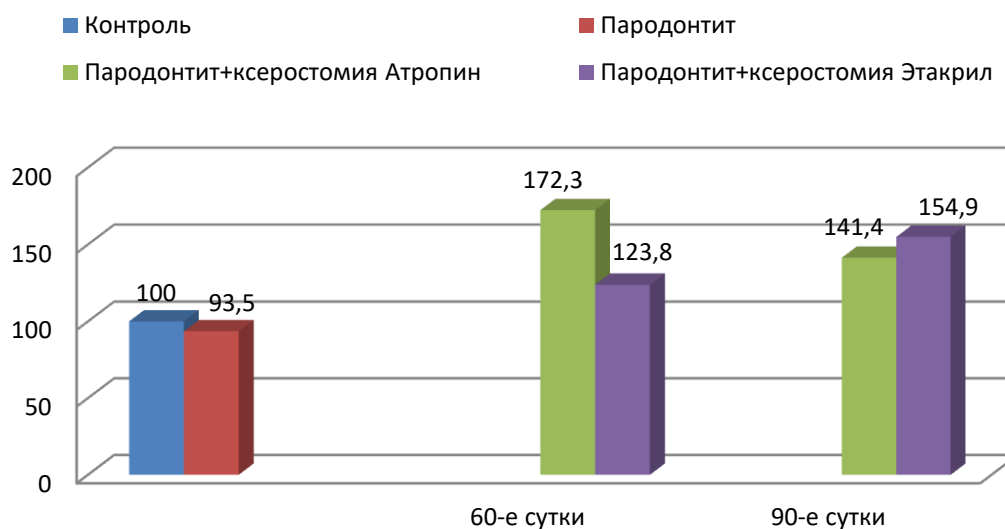


Рисунок 33 – Показатели кислой фосфатазы в гомогенатах десен у животных с острым пародонтитом на фоне ксеростомии

Одновременно в группе животных с сочетанием острого пародонтита и этакрил-индуцированной ксеростомии активность КФ к этому сроку составила 154,9% от уровня здоровых особей, что на 61,4% выше, чем у индивидов с изолированным пародонтитом, и превосходило их собственные показатели на 60-й день эксперимента.

Таким образом, исследование эндогенной интоксикации у крыс с сочетанной патологией – острым пародонтитом (ОП) и ксеростомией, индуцированной атропином или этакрилом, продемонстрировало значительное усиление катаболических процессов и накопление токсичных продуктов метаболизма.

У животных с изолированным ОП отмечалось повышение уровня среднемолекулярных пептидов (МСМ): МСМ1 увеличивался на 68,3%, МСМ2 – на 55,2% к 60 суткам, с частичным снижением к 90 суткам, но выше нормы. 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 ОП вырос в 1,35 раза к 60 суткам, снижаясь к 90 (122,4% нормы); при ксеростомии ЭИИ достигал 162–178%, особенно с этакрилом, отражая повреждение мембран и накопление токсинов из-за дефицита паротина. Активность лизосомальных ферментов (катепсин D и кислая фосфатаза) в гомогенатах десен повышалась при ОП + ксеростомии: на 60 суткам в 1,5–1,8 раза, снижаясь к 90, но оставаясь выше нормы (141-154%), с этакрилом вызывая более стабильный рост (до 154,9%), что указывает на активацию протеолиза и миграцию нейтрофилов в очаг воспаления, усугубляемую гипосаливацией.

В итоге, острый пародонтит провоцирует эндотоксикоз за счет сбоя в метаболизме и процессах катаболизма, в то время как ксеростомия – особенно вызванная этакрилом – усиливает этот эффект, подавляя выработку паротина. В результате развивается хроническое воспаление и возникают системные токсические проявления. Полученные результаты акцентируют внимание на значимости терапии, направленной на восстановление слюнной секреции, чтобы избежать прогрессирования пародонтальных нарушений.

Резюме

Из полученных в данной главе результатов можно сделать следующие выводы. 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 пероксидации – 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.

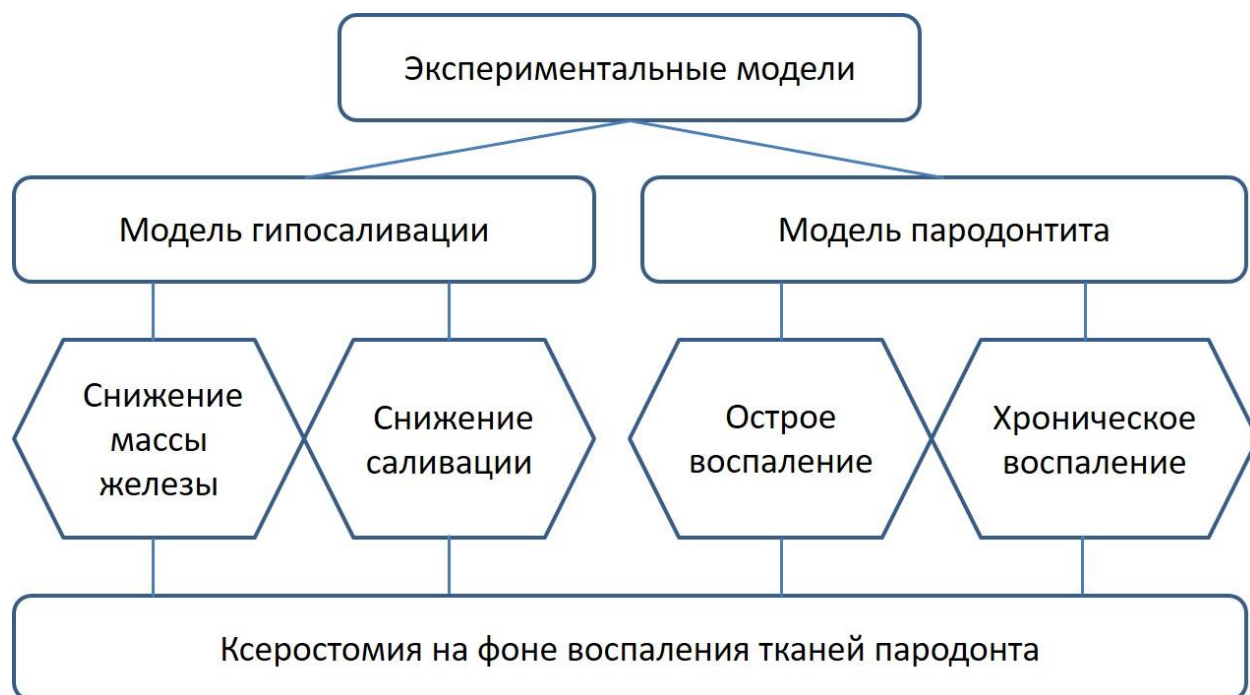
Снижение уровня интенсивности метаболических и оксидативных процессов в тканях пародонта при ксеростомии сопровождается снижением уровня гидропероксидации липидов и восстановленного глутатиона как в пародонте, так и в крови, что обуславливает усиление эндогенной интоксикации из-за нарушения метаболизма,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

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.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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 (фиг. 1). Использование атропина (блокада парасимпатической иннервации) и этакрила (атрофия слюнных желез) позволило сравнить обратимые и необратимые эффекты гипосаливации в контексте сочетанной патологии пародонта.



Фиг. 1

Морфологические и гистохимические особенности слюнных желез при моделировании пародонтита. Согласно морфологическим исследованиям, полученным в ходе работы, слюнные железы активно функционируют при атропированных 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 пломбирочного 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).

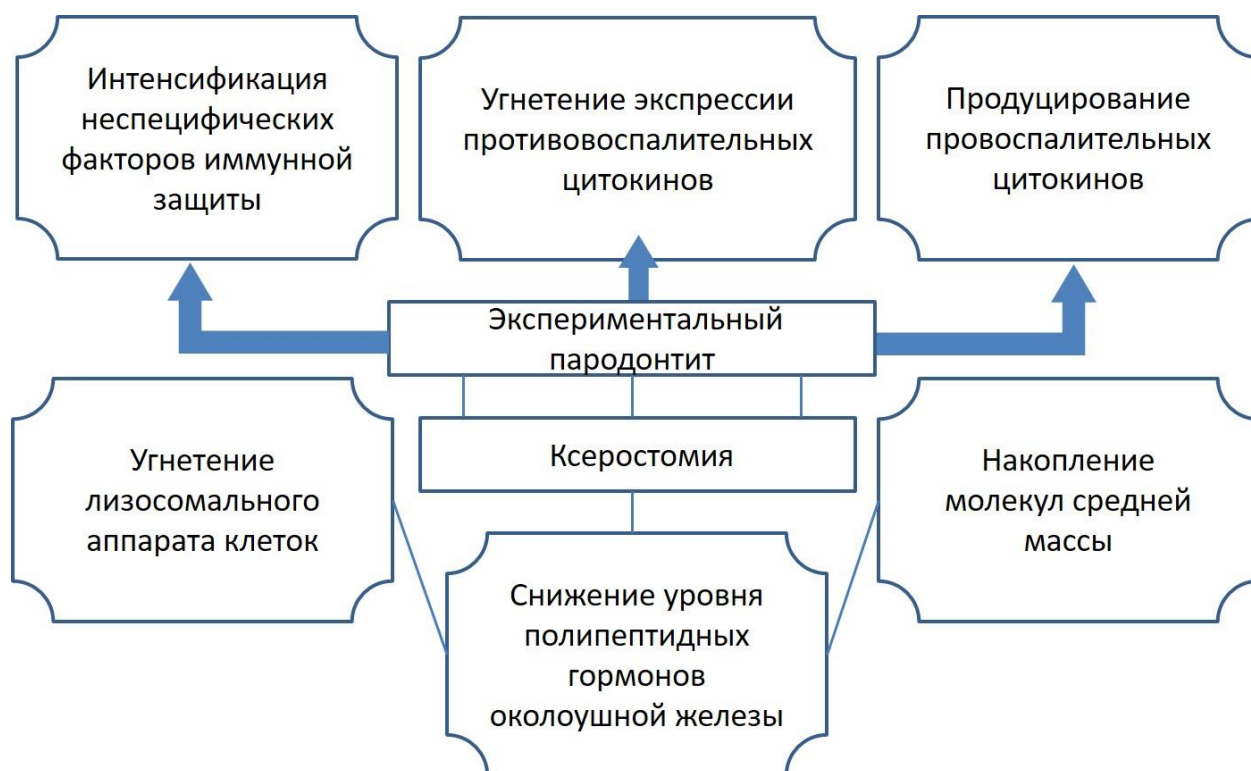
Снижение уровня интенсивности метаболических и оксидативных процессов в тканях пародонта при ксеростомии сопровождается снижением уровня гидропероксидации липидов и восстановленного глутатиона как в пародонте, так и в крови, что обуславливает усиление эндогенной интоксикации из-за нарушения метаболизма,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

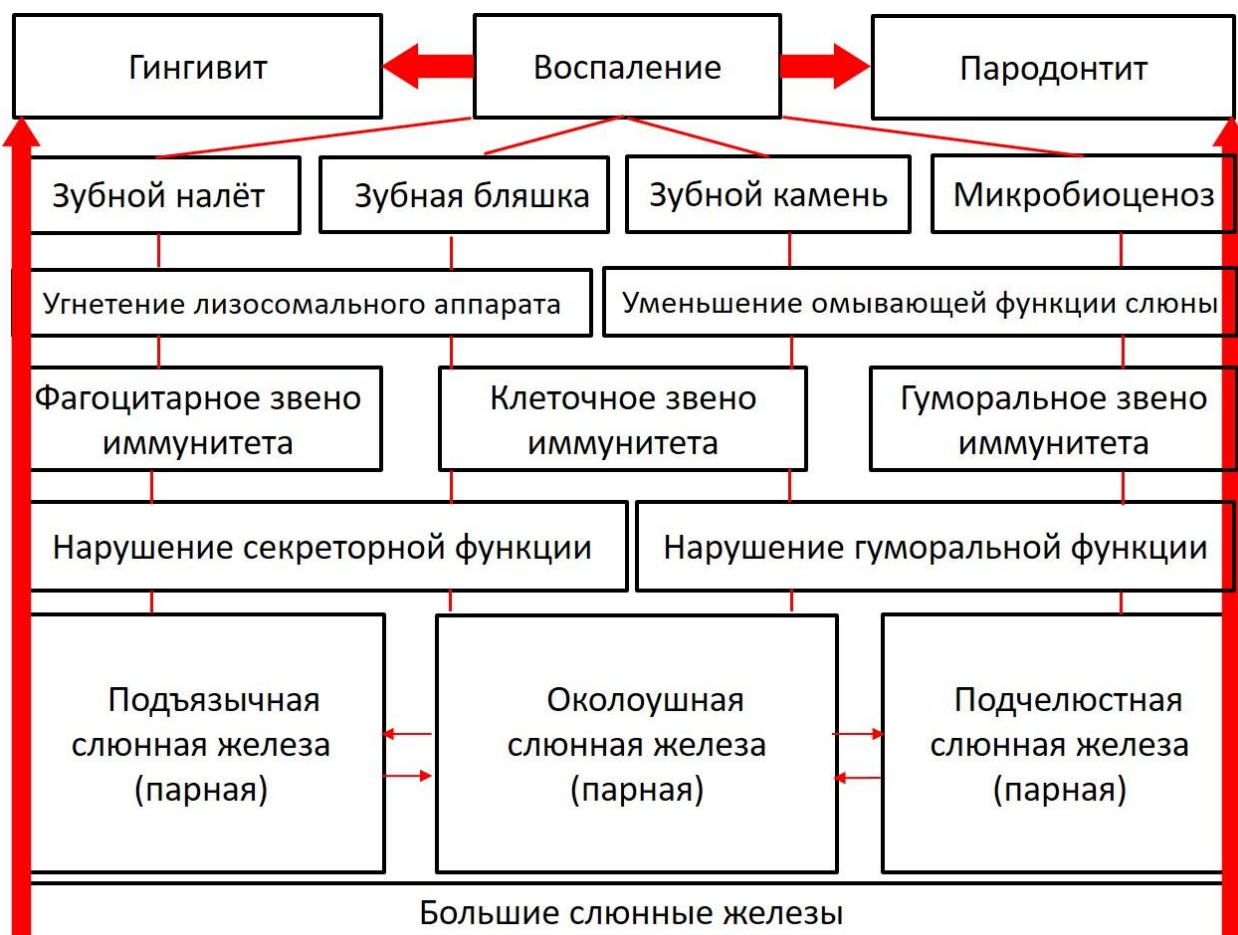
Иммунный ответ и цитокиновый статус при сочетанной патологии. Установлено, что экспериментальный пародонтит у крыс сопровождается активацией системного ответа местной воспалительной реакции, вызванной интенсификацией неспецифических факторов иммунной защиты, интенсивным продуцированием провоспалительных 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 (фиг. 2).



Фиг. 2

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 (фиг. 3).



Фиг. 3

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.

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: гиперемию 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 азиометинив.

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: гиперемию 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.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АФК – активные формы кислорода

БСЖ – большие слюнные железы

ВГ – восстановленный глутатион

ВЗП – воспалительные заболевания пародонта

ВНС – вегетативная нервная система

ГПЛ – гидропероксиды липидов

ДСЖ – дисфункция слюнных желез

КФ – кислая фосфатаза

ОП – острый пародонтит

ОСЖ – околоушные слюнные железы

ОШ – основания Шиффа (азометины)

ПОЛ – перекисное окисление липидов

ПСАБСЖ – пониженная секреторная активность больших слюнных желез

ПЧСЖ – подчелюстные слюнные железы

ПЯСЖ – подъязычные слюнные железы

МБ – молочнокислые бактерии

МДА – малоновый альдегид

МКАТ – моноклональные антитела

МОП – модель острого пародонтита

МСЖ – малые слюнные железы

МСМ – молекулы средней массы

ПОЛ – перекисное окисление липидов

СЖ – слюнные железы

СОД – супероксиддисмутаза

СОПР – слизистая оболочка полости рта

СКБ – слюнно-каменная болезнь

СФСЖ – снижение функции слюнных желез

ЩФ – щелочная фосфатаза

ЭИИ – эритроцитарный индекс интоксикации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Активность щелочной фосфатазы в секретах больших слюнных желез человека в постнатальном онтогенезе / А. А. Чепрасова, А. Н. Пашков, Н. М. Карташова [и др.] // Международный научно-исследовательский журнал. – 2016. – № 3-3(45). – С. 33-35.
2. Алексеева, С. Р. Регуляция фагоцитарной активности нейтрофилов у пациентов с воспалениями пародонта и слюнных желез с помощью ультразвука и Имудона / С. Р. Алексеева, Р. В. Арзуманова // Вестник Медицинского стоматологического института. – 2014. – № 1(28). – С. 29-31.
3. Арутюнян, Б. А. Магнитно-резонансная сиалография -альтернативный метод исследования заболеваний околоушных слюнных желез / Б. А. Арутюнян, М. В. Козлова, А. Ю. Васильев // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2019. – Т. 14, № 1. – С. 100-102.
4. Афанасьев, В. В. Ксеростомия (сухость полости рта). Этиология, патогенез, клиническая картина, диагностика и лечение / В. В. Афанасьев, М. Л. Павлова, Х. А. Ордашев – М.: «ГЭОТАР-Медиа», 2019. – 160 с.
5. Афанасьев, В. В. Нарушение работы слюнных желез (сиаладеноз), нарушения питания и ожирение: очевидные и неочевидные взаимосвязи / В. В. Афанасьев // Вопросы диетологии. – 2017. – Т. 7, № 3. – С. 63-64.
6. Базык-Новикова, О. М. Температурные особенности воздействия высокоинтенсивного лазерного излучения на паренхиму околоушной слюнной железы в эксперименте / О. М. Базык-Новикова // Современная стоматология. – 2017. – № 3. – С. 60-64.
7. Боженкова, М. В. Строение околоушных слюнных желёз и поджелудочной железы при остром перегревании у белых крыс / М. В. Боженкова, В. И. Романов // Морфология. – 2020. – Т. 157, № 2-3. – С. 36.
8. Гайсина, Е. Ф. Побочные реакции в полости рта, индуцированные приемом лекарственных препаратов, применяемых при сердечно-сосудистых

заболеваниях / Е. Ф. Гайсина, Н. В. Изможерова, Е. В. Мандра // Уральский медицинский журнал. – 2018. – № 7. – С. 5-9.

9. Галимов, Р. М. Влияние наночастиц диоксида титана на морфометрические показатели подчелюстной слюнной железы / Р. М. Галимов, А. М. Федорова // Вестник Башкирского государственного медицинского университета. – 2021. – № 6. – С. 40-47.

10. Гармаш, О. В. Особенности морфофункционального состояния околоушных слюнных желез шестимесечных крыс при экспериментально моделированной внутриутробной макросомии / О. В. Гармаш, Г. И. Губина-Вакулик, Д. Вондрашек // Pathologia. – 2019. – № 1. – С. 106-115.

11. Гигиена полости рта и ткани пародонта у лиц, страдающих гипосаливацией вследствие патологии слюнных желёз, и пути их улучшения / А. К. Иорданишвили, В. В. Лобейко, Д. В. Балин [и др.] // Институт стоматологии. – 2015. – № 2. – С.32-35.

12. Гистоморфологические изменения в подчелюстных слюнных железах после резекции печени (экспериментальное исследование) / А. Усенко, И. Савицкая, Д. Косенко [и др.] // Modern Science – Moderni Veda. – 2016. – Т. 3, № 3. – С. 132-141.

13. Гончарова, А. И. Иммунологические особенности течения воспалительных заболеваний больших слюнных желез / А. И. Гончарова, В. К. Окулич // Стоматология. Эстетика. Инновации. – 2018. – № 1. – С. 49-54.

14. Григорьев, С. С. Синдром сухого рта (Обзор литературы) / С. С. Григорьев, П. Н. Кудинов, А. В. Бурлак // Уральский медицинский журнал. – 2019. – № 12. – С. 18-25.

15. Гурбанов, Т. В. Современный взгляд на хронические воспалительные и реактивно-дистрофические заболевания слюнных желез / Т. В. Гурбанов // Современная стоматология. – 2017. – № 4. – С.2-7.

16. Денисов, А. Б. Воздействие ультразвука на большие слюнные железы. Морфология слюнных желез крысы в динамике / А. Б. Денисов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2017. – Т. 144, № 11. – С. 586-589.

17. Денисов, А. Б. Воздействие ультразвука на большие слюнные железы: функциональное состояние слюнных желез крысы в динамике / А. Б. Денисов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2017. – Т. 144, № 12. – С. 621-624.
18. Денисов, А. Б. Механизмы патологических и приспособительных процессов при заболеваниях слюнных желез (экспериментальное исследование) / А. Б. Денисов // Автореф. дис. ... д-ра. мед. наук. – Москва, 1995. – 48 с.
19. Деркачева, Е. И. Причины возникновения гипофункции слюнных желез и ксеростомии / Е. И. Деркачева, Г. И. Ронь // Медицинская наука и образование Урала. – 2015. – Т. 16, № 4(84). – С. 140-143.
20. Дополненная реальность при лечении слюннокаменной болезни / А. В. Лысенко, А. Я. Разумова, А. И. Яременко [и др.] // Стоматология. – 2020. – Т. 99, № 4. – С. 64-66.
21. Заболевания слюнных желез / А. М. Ешиев, С. Т. Жолдошов, Ж. Мамажакып уулу [и др.] // Международный журнал экспериментального образования. – 2017. – № 2. – С. 54-55.
22. Значение цитологической диагностики в практической работе челюстно-лицевого хирурга / И. Б. Улитин, Г. А. Бovyкина, Е. П. Улитина [и др.] // Научный взгляд в будущее. – 2020. – Т. 1, № 16. – С. 60-70.
23. Иванова, В. М. Синдром Шегрена / В. М. Иванова // Международный студенческий научный вестник. – 2018. – № 4-2. – С. 242-244.
24. Изменение цитокинового профиля в околоушных слюнных железах крыс под воздействие иммобилизационного стресса и ингибитора TLR4 / И. Г. Островская, Ю. Г. Гаверова, О. Н. Гева [и др.] // Cathedra-Кафедра. Стоматологическое образование. – 2021. – № 75. – С. 22-25.
25. Иорданишвили, А. К. Заболевания слюнных желез в различном возрасте и их особенности / А. К. Иорданишвили, В. В. Лобейко // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2014. – № 3(47). – С. 85-89.
26. Исследование активности холинэстеразы в смешанной слюне пациентов с соматической патологией / О. О. Янушевич., Н. Е. Духовская,

И. Г. Островская [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2020. – Т. 65, № 4. – С. 212-215.

27. Казеко, Л. А. Возможности диагностики заболеваний периодонта с использованием противомикробных пептидов слюны и десневой жидкости / Л. А. Казеко // Современная стоматология. – 2016. – № 1. – С. 11-16.

28. Каргиева, З. Р. Слюнные железы, особенности их строения / З. Р. Каргиева, Г. Л. Оганесов // Вестник науки. – 2023. – Т. 5, № 1. – С. 301-304.

29. Кистозные образования и свищи околоушных слюнных желез: современный взгляд на лечение и реабилитацию / А. А. Никитин, Т. Н. Модина, А. М. Сипкин [и др.] // Клиническая стоматология. – 2017. – № 3(83). – С. 48-52.

30. Клеточный состав воспалительных инфильтратов малой слюнной железы как дополнительный диагностический критерий первичного синдрома Шегрена / Е. С. Кувардин, И. Н. Григорьева, И. А. Бехтерева [и др.] // Научно-практическая ревматология. – 2021. – Т. 59, № 4. – С. 434-441.

31. Лобейко, В. В. Пародонтологический статус пожилых и старых людей при заболеваниях слюнных желез / В. В. Лобейко, А. К. Иорданишвили, В. Ф. Черныш // Пародонтология. – 2017. – Т. 22, № 3. – С. 29-32.

32. Локальный цитокиновый статус у пациентов с сиаладенозом околоушной слюнной железы на фоне гипотиреоза / Т. Б. Сульtimiова, М. В. Козлова, А. М. Гапонов, [и др.] // Иммунология. – 2021. – Т. 42, № 4. – С. 356-363.

33. Маланчук, В. А. Клинические проявления дисфункции слюнных желез у пациентов, получивших терапию радиоактивным йодом по поводу папиллярной карциномы щитовидной железы / В. А. Маланчук, А. В. Копчак, В. А. Коваленко // Вестник стоматологии. – 2013. – № 1(82). – С. 61-65.

34. Моделирование гипертрофии больших слюнных желез у неполовозрелых крыс: морфометрическая и гистохимическая характеристика эпителиоцитов / В. В. Иванова, И. В. Мильто, И. В. Суходоло [и др.] // Бюллетень сибирской медицины – 2017. – № 3(16). – С. 61-69.

35. Моделирование гипертрофии больших слюнных желез у неполовозрелых крыс: морфометрическая и гистохимическая характеристика эпителиоцитов / В. В. Иванова, И. В. Мильто, И. В. Суходоло [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2017. – Т. 16, № 3. – С. 61-69.

36. Морфологические и антропометрические особенности подъязычной слюнной железы в пренатальном онтогенезе человека / Н. В. Берник, И. Ю. Олийнык, А. В. Цигикало [и др.] // European Journal of Biomedical and Life Sciences. – 2018. – № 2. – С. 17-23.

37. Морфология поднижнечелюстных слюнных желез (обзор литературы) / С. А. Ульяновская, А. С. Оправин, Е. Н. Афоничева [и др.] // Международный журнал экспериментального образования. – 2015. – № 2-1. – С. 42-43.

38. Мохначева, С. Б. Эндокринный сиалоаденоз больших и малых слюнных желез при гипофункции щитовидной железы в клинике и эксперименте / С. Б. Мохначева, А. А. Шабунова // Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке. – 2016. – Т. 18, № 1. – С. 98-102.

39. Нагорняк, И. В. Состояние нитроксидэргической системы и свободнорадикальных процессов в слюнных железах крыс при аппликации на слизистую оболочку полости рта метилового эфира метакриловой кислоты / И. В. Нагорняк, А. А. Левков, В. А. Костенко // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2015. – № 2(50). – С. 105-108.

40. Невский, М. С. Морфологические особенности поднижнечелюстной железы белой крысы в эмбриогенезе / М. С. Невский // Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Саранск, 2012. – 25 с.

41. Неганова, О. А. Строение околоушной слюнной железы в онтогенезе / О. А. Неганова // Морфология. – 2014. – Т. 145, № 3. – С. 138-139.

42. Некоторые морфологические и физиологические характеристики постнатального онтогенеза белых крыс в условиях длительного питания диспергированной пищей / М. А. Семенова, Н. А. Цыганова, Е. П. Дрождина [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 4-5. – С. 1144-1148.

43. Новицкая, И. К. Изучение действия атропина на функциональную активность слюнных желез в эксперименте / И. К. Новицкая // Вестник стоматологии. – 2012. – № 1(78). – С. 7-9.

44. Новицкая, И. К. Патогенетические аспекты нарушения функции слюнных желез, их роль в развитии стоматологической патологии и пути коррекции (экспериментально-клиническое исследование) / И. К. Новицкая // Автореф. дис. ... д-ра. мед. наук. – Одесса, 2014. – 48 с.

45. Новицкая, И. К. Патоморфологические изменения поднижнечелюстных слюнных желез крыс в условиях экспериментальной гипосаливации / И. К. Новицкая, В. В. Витт // Вестник стоматологии. – 2012. – № 4(81). – С. 5-8.

46. Новицкая, И.К. Механизм снижения саливации у больных с соматической патологией при нарушении функциональной активности слюнных желез разного генеза / И. К. Новицкая, Т. П. Терешина // Вестник проблем биологии и медицины. – 2014. – Т. 2, №3. – С. 369-375.

47. Особенности морфологии начальных отделов язычных слюнных желез / А. В. Олсуфьева, М. О. Тимофеева, А. Д. Вовкогон [и др.] // Морфологические ведомости. – 2017. – Т. 25, № 2. – С. 54-56.

48. Пищеварительные и непивцеварительные функции больших слюнных желез грызунов / В. В. Иванова, И. В. Мильто, И. В. Суходоло [и др.] // Успехи физиологических наук. – 2017. – Т. 48, № 1. – С. 66-79.

49. Половой диморфизм больших слюнных желез у грызунов / В. В. Иванова, И. В. Мильто, И. В. Суходоло [и др.] // Морфология. – 2016. – № 2(149). – С. 89-95.

50. Причины нарушения секреции слюнных желез и способы лечения / С. Н. Орехов, С. В. Матвеев, А. Э. Карамян [и др.] // Научное обозрение. Медицинские науки. – 2017. – № 4. – С. 58-64.

51. Сетка для подсчета количества различных объектов в гистологических препаратах при микроскопическом исследовании / Н. С. Эделев,

О. В. Тесленко, А. Л. Шершевский [и др.] // Вестник судебной медицины. – 2016. – № 4. – С.47-49.

52. Сикора, В.З. Гистологические изменения слюнных желез в условиях техногенных микроэлементозов / В. З. Сикора, В. А. Бойко // Журнал клинических и экспериментальных медицинских исследований. – 2013. – № 3. – С.363-369.

53. Слюнно-каменная болезнь и системное нарушение костного ремоделирования / М. Н. Доклаева, М. В. Козлова, А. М. Мкртумян // Институт стоматологии. – 2012. – Т. 2, № 55. – С. 0-81.

54. Сокол, Е. В. Диагностическая ценность IGG4 сыворотки крови при IGG4-связанном заболевании: так ли она велика? / Е. В. Сокол, М. В. Черкасова, А. В. Торгашина // Современная ревматология. – 2019. – Т. 13, № 1. – С. 52-57.

55. Сравнительная морфология больших слюнных желез у человека и лабораторных животных / А. А. Мужикян, В. В. Шедько, К. О. Заикин [и др.] // Морфология. – 2020. – Т. 157, № 1. – С. 79-92.

56. Степаненко, Р. С. Роль слюнных желез в гомеостазе организма / Р. С. Степаненко, В. В. Афанасьев, М. А. Полякова // Российский стоматологический журнал. – 2010. – № 5. – С. 26-27.

57. Строение слюнной железы при химическом ожоге полости рта: влияние нитризола / Д. В. Салюкова, Л. Р. Мустафина, С. В. Логвинов [и др.] // Морфология. – 2017. – Т. 151, № 3. – С. 101.

58. Структурная организация подчелюстной слюнной железы крыс после трансплантации опухолевых клеток и при коррекции мелатонином / Е. В. Овсянко, А. О. Бреусова, А. С. Виноградов [и др.] // Сибирский медицинский вестник. – 2019. – № 2. – С. 44-53.

59. Табачнюк, Н. В. Морфологические преобразования прилегающих к поднижнечелюстной слюнной железе смежных структур в течение 3-5 недели эмбриогенеза / Н. В. Табачнюк, А. В. Митченков, М. П. Митченков // Молодой ученый. – 2020. – № 35. – С. 32-34.

60. Тимофеев, А. А. Профилактика воспалительных осложнений у больных после оперативного вмешательства на околоушной и поднижнечелюстной слюнных железах / А. А. Тимофеев, Б. Беридзе // Современная стоматология. – 2014. – № 4(73). – С. 72.

61. Цыган, В.Н. Сравнительная оценка иммуномоделирующих свойств препаратов «Кортексин» и «Ноотропил» / В. Н. Цыган // Клиническая патофизиология. – 2015. – № 1. – С. 53-56.

62. Шаяхметов, Д. Б. Характеристика функциональных и морфологических изменений в слюнных железах при хроническом сиалоадените в клинике и эксперименте / Д. Б. Шаяхметов // Проблемы современной науки и образования. – 2016. – № 15(57). – С. 116-119.

63. Шульгай, А. Г. Морфологические параллели изменений ацинарной ткани и артерий околоушной слюнной железы при экспериментальной механической желтухе / А. Г. Шульгай, М. О. Левкив // Уральский медицинский журнал. – 2012. – № 13(105). – С. 58-62.

64. Яворская-Скрабут, И. М. Структурная перестройка компонентов паренхимы и сосудов больших слюнных желез крыс при экспериментальной гипергликемии / И. М. Яворская-Скрабут // Таврический медико-биологический вестник. – 2013. – Т. 16, № 1-1. – С. 257-260.

65. Яковлева, Л. М. Реакция тучных клеток в околоушной слюнной железе на хроническую алкогольную интоксикацию / Л. М. Яковлева, О. А. Соркина // Морфология. – 2016. – Т. 149, № 2. – С. 27-31.

66. A salivary metabolite signature that reflects gingival host-microbe interactions: instability predicts gingivitis / M. M. Fernandez-Gutierrez, S. Imangaliyev, A. Prodan [et al.] // Scientific Reports. – 2020. – Vol. 10, № 1. – P. 3008.

67. Abdel Razek, A. A. K. Imaging of sialadenitis / A. A. K. Abdel Razek, S. Mukherji // Neuroradiology Journal. – 2017. – Vol. 30, № 3. – P. 205-215.

68. Acute stress disrupts temporal patterns of behavioral and biochemical parameters of rats / A. Souza, B. Carraro Detanico, L. Fernandes Medeiros [et al.] // Biological Rhythm Research. – 2022. – Vol. 49, № 4. – P. 521-538.

69. Adthapanyawanich, K. Expression and localization of phosphodiesterase 2A in the submandibular gland of mice / K. Adthapanyawanich, H. Nakata, S. Iseki // *Archives of Oral Biology*. – 2018. – Vol. 90. – P. 91-99.
70. Anatomy and histology of rodent and human major salivary glands: Overview of the Japan salivary gland society-sponsored workshop / O. Amano, K. Mizobe, Y. Bando [et al.] // *Acta Histochemica et Cytochemica*. – 2012. – Vol. 45, №5. – P. 241-250.
71. APKC ζ -dependent Repression of Yap is Necessary for Functional Restoration of Irradiated Salivary Glands with IGF-1 / A. M. Chibly, W. Y. Wong, M. Pier [et al.] // *Scientific Reports*. – 2018. – Vol. 8, № 1. – P. 6347.
72. Armstrong, M. A. Salivary Gland Emergencies / M. A. Armstrong, M. A. Turturro // *Emergency Medicine Clinics of North America*. – 2013. – Vol. 31, № 2. – P. 481-499.
73. Associations between xerostomia, histopathological alterations, and autonomic innervation of labial salivary glands in men in late midlife / C. E. Sorensen, J. O. Larsen, J. Reibel [et al.] // *Experimental Gerontology*. – 2014. – Vol. 57. – P. 211-217.
74. Asymmetry between salivary cortisol and α -amylase reactivity to stress: Relation to aggressive behavior in adolescents / E. B. Gordis, D. A. Granger, E. J. Susman [et al.] // *Psychoneuroendocrinology*. – 2016. – Vol. 31, № 8. – P. 976-987.
75. Aure, M. H. Salivary Gland Homeostasis Is Maintained through Acinar Cell Self-Duplication / M. H. Aure, S. F. Konieczny, C. E. Ovitt // *Developmental Cell*. – 2015. – Vol. 33, № 2. – P. 231-237.
76. Bajwa, M. S. Is it time we adopted a classification for parotid gland cytology? / M. S. Bajwa, D. A. Mitchell, P. A. Brennan // *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. – 2014. – Vol. 52, № 2. – P. 99-101.
77. Beyond the brain: Extra-axial pathology on diffusion weighted imaging in neuroimaging / D. Mallon, L. Dixon, T. Champion [et al.] // *Journal of the Neurological Sciences*. – 2020. – Vol. 415. – P. 116900.

78. Brain-derived neurotrophic factor is related to stress and chewing in saliva and salivary glands / J. Saruta, M. To, W. Sakaguchi [et al.] // Japanese Dental Science Review. – 2020. – Vol. 56, № 1. – P. 43-49.

79. Classification and management of chronic sialadenitis of the parotid gland / S. Wang, F. Marchal, Z. Zou [et al.] // Journal of Oral Rehabilitation. – 2009. – Vol. 36, № 1. – P. 2-8.

80. Clinical, radiographic, and histological analyses after transplantation of crest-related palatal-derived ectomesenchymal stem cells (paldscs) for improving vertical alveolar bone augmentation in critical size alveolar defects / W. D. Grimm, W. A. Arnold, S. V. Sirak [et al.] // Journal of Clinical Periodontology. – 2015. – Vol. 42, № S17. – P. 366b-366.

81. Combined analysis of the salivary microbiome and host defence peptides predicts dental disease / A. Simon-Soro, A. Sherriff, S. Sadique [et al.] // Scientific Reports. – 2018. – Vol. 8, № 1. – P. 1484.

82. Complex, three-dimensional reconstruction of critical size defects following delayed implant placement using stem cell-containing subepithelial connective tissue graft and allogenic human bone blocks for horizontal alveolar bone augmentation: a case report as proof of clinical study principles / Dr. W. D. Grimm, Dr. M. Plöger, Dr. I. Schau [et al.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2014. – Т. 9, №2(34). – С. 131-133.

83. Correlation analysis between metric parameters of parenchymatous components of rat submandibular glands under the effect of ethanol / K. V. Shevchenko, G. A. Yeroshenko, A. V. Solod [et al.] // Світ медицини та біології. – 2020. – Vol. 16, № 2. – P. 225-229.

84. Correlation between computed tomography imaging and histopathology in pleomorphic adenoma of parotid gland / H. Kim, S. Y. Kim, Y.-J. Kim, [et al.] // AurisNasus Larynx. – 2018. – Vol. 45, № 4. – P. 783-790.

85. Diagnostic work-up in obstructive and inflammatory salivary gland disorders / L. Uggas, M. Ravanelli, A. A. Pallottino [et al.] // Acta Otorhinolaryngologica Italica. – 2017. – Vol. 37, № 2. – P. 83-93.

86. Dysbiosis of the salivary microbiota in pediatric-onset primary sclerosing cholangitis and its potential as a biomarker / K. Iwasawa, W. Suda, T. Tsunoda [et al.] // *Scientific Reports*. – 2018. – Vol. 8, № 1. – P. 5480.
87. Einhorn, O. M. Salivary dysfunction caused by medication usage / O. M. Einhorn, K. Georgiou, A. Tompa // *Physiology international*. – 2020. – Vol. 107, № 2. – P. 195-208.
88. Elliott, K. H. A novel role for cilia-dependent sonic hedgehog signaling during submandibular gland development / K. H. Elliott, G. Millington, S. A. Brugmann // *Developmental Dynamics*. – 2018. – Vol. 247, № 6. – P. 818-831.
89. Epithelial invagination by a vertical telescoping cell movement in mammalian salivary glands and teeth / J. Li, A. D. Economou, B. Vacca, [et al.] // *Nature Communications*. – 2020. – Vol. 11, № 1. – P. 2366.
90. Epithelial-immune cell interplay in primary Sjögren syndrome salivary gland pathogenesis / G. M. Verstappen, S. Pringle, H. Bootsma [et al.] // *Nat. Rev. Rheumatol*. – 2021. – Vol. 17, № 6. – P. 333-348.
91. Evaluation of psychological stress in confined environments using salivary, skin, and facial image parameters / M. Egawa, S. Haze, Y. Gozu [et al.] // *Scientific Reports*. – 2018. – Vol. 8, № 1. – P. 8264.
92. Expression patterns of CD66a and CD117 in the mouse submandibular gland / A. Takeyama, Y. Yoshikawa, T. Ikeo [et al.] // *Acta Histochemica*. – 2015. – Vol. 117, № 1. – P. 76-82.
93. Fine-needle aspiration biopsy of salivary gland lesions / H. Wang, C. Fundakowski, J. S. Khurana [et al.] // *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*. – 2015. – Vol. 139, № 12. – P. 1491-1497.
94. Geyer, J. T. IgG4-associated sialadenitis / J. T. Geyer, V. Deshpande // *Current Opinion in Rheumatology*. – 2021. – Vol. 23, № 1. – P. 95-101.
95. Hematogenous apoptotic mechanism in salivary glands in chronic periodontitis / T. Shikayama, J. Fujita-Yoshigaki, M. Sago-Ito [et al.] // *Arch Oral Biol*. – 2020. – Vol. 117. – P. 104775.

96. Image analysis of fatty infiltration in labial salivary gland biopsies: extent and its correlation to age, obesity and diabetes / K. Katona, E. Elekes, N. Farkas [et al.] // *Journal of Oral Pathology and Medicine*. – 2017. – Vol. 46, № 7. – P. 537-542.
97. Image analysis of fibrosis in labial salivary glands of patients with systemic autoimmune diseases. Close correlation of lobular fibrosis to seropositive rheumatoid arthritis and increased anti-CCP and RF titres in the serum / K. Katona, N. Farkas, M. Kneif [et al.] // *Pathology*. – 2018. – Vol. 50, № 4. – P. 418-425.
98. Imaging of Inflammatory Disorders of Salivary Glands / A. K. Bag, J. K. Curé, P. R. Chapman [et al.] // *Neuroimaging Clinics of North America* – 2018. – Vol. 28, № 2. – P. 255-272.
99. Inducible tertiary lymphoid structures, autoimmunity, and exocrine dysfunction in a novel model of salivary gland inflammation in C57BL/6 mice / M. Bombardieri, F. Barone, D. Lucchesi [et al.] // *Journal of Immunology*. – 2012. – Vol. 189, № 7. – P. 3767-3776.
100. Influence of transcranial electrostimulation on the osseointegration of dental implant in the experiment / D. V. Mikhalchenko, A. V. Poroshin, V. F. Mikhalchenko [et al.] // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. – 2014. – Vol. 5. – № 5. – P. 705-711.
101. Jadu, F. M. A meta-analysis of the efficacy and safety of managing parotid and submandibular sialoliths using sialendoscopy assisted surgery / F. M. Jadu, A. M. Jan // *Saudi Medical Journal*. – 2014. – Vol. 35, № 10. – P. 1188-1194.
102. Kwak, M. Analysis of histone H2BGFP retention in mouse submandibular gland reveals actively dividing stem cell populations / M. Kwak, S. Ghazizadeh // *Stem Cells and Development*. – 2015. – Vol. 24, № 5. – P. 565-574.
103. Le, A. Distribution of dendritic cells in normal human salivary glands / A. Le, M. Saverin, A. R. Hand // *ActaHistochemicaetCytochemica*. – 2011. – Vol. 44, № 4. – P. 165-173.
104. Lee, L.-T. Pathogenesis and Diverse Histologic Findings of Sialolithiasis in Minor Salivary Glands / L.-T. Lee, Y. K. D. Wong // *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. – 2010. – Vol. 68, № 2. – P. 465-470.

105. Monitoring glucose, calcium, and magnesium levels in saliva as a non-invasive analysis by sequential injection multi-parametric determination / A. Machado, R. Maneiras, A. A. Bordalo [et al.] // *Talanta*. – 2018. – Vol. 186. – P. 192-199.
106. Nagata, S. Apoptosis and Clearance of Apoptotic Cells / S. Nagata // *Annual Review of Immunology*. – 2018. – Vol. 36. – P. 489-517.
107. Neuroprotection boosts neurotrophic mechanisms preventing damage of neurons and neuroglia in case of cerebral hypoxia / N. V. Tsygan, A. P. Trashkov, A. G. Vasiliev [et al.] // *Russian Biomedical Research*. – 2016. – Vol. 1. – № 1. – P. 30-39.
108. Neurotrophic factor GDNF promotes survival of salivary stem cells / N. Xiao, Y. Lin, H. Cao [et al.] // *Journal of Clinical Investigation*. – 2023. – Vol. 124, № 8. – P. 3364-3377.
109. New developments in salivary gland pathology: Clinically useful ancillary testing and new potentially targetable molecular alterations / C. C. Griffith, A. C. Schmitt, J. L. Little [et al.] // *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*. – 2017. – Vol. 141, № 3. – P. 381-395.
110. Ohshima, H. Oral biosciences: The annual review 2022 / H. Ohshima, K. Mishima // *J. Oral Biosci*. – 2023. – Vol. 65, № 1. – P. 1-12.
111. Parasympathetic stimulation improves epithelial organ regeneration / S. M. Knox, I. M. A. Lombaert, C. L. Haddox, [et al.] // *Nature Communications*. – 2013. – Vol. 4. – art. no. 1494.
112. Patel, V. N. Salivary gland development: A template for regeneration / V. N. Patel, M. P. Hoffman // *Seminars in Cell and Developmental Biology*. – 2014. – № 25-26. – P. 52-60.
113. Pathogenetic aspects of dental pulp pathology / E. V. Shchetinin, S. V. Sirak, A. B. Khodzhayan [et al.] // *Медицинский вестник Северного Кавказа*. – 2015. – Vol. 10. – №2 (38). – P. 187-191.
114. Ramos, J. M. J. Relationship between prandial drinking behavior and supersensitivity of salivary glands after superior salivatory nucleus lesions in rats / J. M. J. Ramos, M. E. Castillo, A. Puerto // *Physiol Behav*. – 2020. – Vol. 224. – P. 113022.

115. Salivary biomarkers in association with periodontal parameters and the periodontitis risk haplotype / J. Liukkonen, U. K. Gürsoy, E. Könönen [et al.] // *Innate Immun.* – 2018. – Vol. 24, № 7. – P. 439-447.

116. Salivary fingerprint of simple obesity / A. Lehmann-Kalata, I. Miechowicz, K. Korybalska [et al.] // *Cytokine.* – 2018. – Vol. 110. – P. 174-180.

117. Salivary gland pathology in IgG4-related disease: A comprehensive review / I. Puxeddu, R. Capecchi, F. Carta [et al.] // *Journal of Immunology Research.* – 2018. – Vol. 2018. – art. 6936727.

118. Salivary gland proteins alterations in the diabetic milieu / M. Fouani, C. A. Basset, A. R. Jurjus [et al.] // *J. Mol. Histol.* – 2021. – Vol. 52, № 5. – P. 893-904.

119. Salivary secretion in health and disease / A. M. L. Pedersen, C. E. Sørensen, G. B. Proctor [et al.] // *Journal of Oral Rehabilitation.* – 2018. – Vol. 45, №9. – P.730-746.

120. Sclerosing rhabdomyosarcoma of the oral floor mimicking a salivary gland tumor: A case report with immunohistochemical and genetic analyses / K. Kusafuka, T. Kawasaki, T. Onitsuka [et al.] // *Human Pathology: Case Reports.* – 2018. – Vol. 13. – P. 39-44.

121. Sialendoscopy and sialendoscopically-assisted operations in the treatment of lithiasis of the submandibular and parotid glands: our experience of 239 cases / T. Kopeć, M. Wierzbicka, J. Kałużny [et al.] // *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.* – 2016. – Vol. 54, № 7. – P. 767-771.

122. Sirak, S. V. Prevention of complications in patients suffering from pathological mandibular fractures due to bisphosphonate-associated osteonecroses / S. V. Sirak, E. V. Shchetinin // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences.* – 2015. – Vol. 6, № 5. – P. 1678-1684.

123. Smyslenova, M. V. Possibilities of ultrasonography in differential diagnosis of the ductal system of major salivary glands / M. V. Smyslenova, E. G. Privalova, Yu. N. Vasil'eva // *Радиология – практика.* – 2014. – № 3. – P. 33-40.

124. Sramkova, M. Expression of plasmid DNA in the salivary gland epithelium: Novel approaches to study dynamic cellular processes in live animals / M.

Sramkova, A. Masedunskas, L. Parente [et al.] // *American Journal of Physiology – Cell Physiology*. – 2009. – Vol. 297, № 6. – P. C1347-C1357.

125. Stress-associated changes in salivary microRNAs can be detected in response to the Trier Social Stress Test: An exploratory study / C. Wiegand, P. Heusser, C. Klinger [et al.] // *Scientific Reports*. – 2018. – Vol. 8, № 1. – P. 7112.

126. Structural reorganization of the rats' submandibular glands acini after the influence of 1% methacrylate / G. A. Yeroshenko, L. Y. Fedoniuk, K. V. Shevchenko [et al.] – 2020. – Vol. 73, № 7. – P. 1318-1322.

127. Submandibular gland pleomorphic adenoma: Histopathological capsular characteristics and correlation with the surgical outcome / K. Mantsopoulos, M. Goncalves, M. Koch [et al.] // *Annals of Diagnostic Pathology*. – 2018. – Vol. 34. – P. 166-169.

128. The central clock controls the daily rhythm of Aqp5 expression in salivary glands / H. Uchida, T. J. Nakamura, N. N. Takasu [et al.] // *Journal of Physiological Sciences*. – 2018. – Vol. 68, № 4. – P. 377-385.

129. The Milan System for Reporting Salivary Gland Cytopathology: Analysis and suggestions of initial survey / E. D. Rossi, W. C. Faquin, Z. Baloch [et al.] // *Cancer Cytopathology*. – 2017. – Vol. 125, № 10. – P. 757-766.

130. Thyroidectomy induces thyroglobulin formation by parotid salivary glands in rats / M. B. Helal, D. A. Labah, M. A. El-Magd [et al.] // *Acta Histochemistry*. – 2020. – Vol. 122, № 5. – P. 151568.

131. Translational research: palatal-derived ecto-mesenchymal stem cells from human palate: a new hope for alveolar bone and cranio-facial bone reconstruction / W. D. Grimm, A. Dannan, B. Giesenhagen [et al.] // *International Journal of Stem Cells*. – 2014. – T. 7. – № 1. – C. 23-29.

132. Treatment of patients with surround defects mandible / A. A. Sletov, S. V. Sirak, D. V. Mihalchenko [et al.] // *International Journal of Applied and Fundamental Research*. – 2016. – № 5. – P. 9.

133. Treatment outcomes of sialendoscopy for submandibular gland sialolithiasis: The minor axis of the sialolith is a regulative factor for the removal of

sialoliths in the hilum of the submandibular gland using sialendoscopy alone / N. Kondo, T. Yoshihara, Y. Yamamura [et al.] // *AurisNasus Larynx*, – 2018. – Vol. 45, № 4. – P. 772-776.

134. Yoo, C. Adult stem cells and tissue engineering strategies for salivary gland regeneration: A review / C. Yoo, J. B. Vines, G. Alexander [et al.] // *Biomaterials Research*. – 2014. – Vol. 18, № 1. – art. no. 9.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

Таблица 1. Перечень проведенных экспериментальных и лабораторных исследований	33
Рисунок 1. Экспериментальная часть исследования, подготовка животных	36
Рисунок 2. Экспериментальная часть исследования, на этапе моделирования экспериментального пародонтита	37
Рисунок 3. Экспериментальная часть исследования	40
Рисунок 4. Экспериментальная часть исследования	41
Рисунок 5. Проточный цитометр NovoCyte 3000 (ф.«АСЕА», США)	43
Рисунок 6. Возможности проточного цитометра NovoCyte 3000	43
Рисунок 7. Микропрепараты. Гистологическая структура околоушной слюнной железы крысы в норме.....	59
Рисунок 8. Микропрепараты. Гистологическая структура околоушной слюнной железы крысы в норме.....	61
Рисунок 9. Микропрепараты. Гистологическая структура околоушной слюнной железы крысы в норме.....	62
Рисунок 10. Микропрепараты. Гистологическая структура околоушной слюнной железы крысы в норме.....	64
Таблица 2. Динамические показатели слюноотделения ($M \pm m$)	67
Таблица 3. Относительная масса СЖ у животных при моделировании гипосаливации ($M \pm m$)	68
Рисунок 11. Микропрепараты. Патоморфологические изменения поднижнечелюстной слюнной железы крысы при действии тройного сополимера метилметакрилата (а, б, в), при действии атропина (г).....	69
Рисунок 12. Микропрепараты секреторных клеток околоушной железы на 10 (а) и 30 (б) сутки после формирования модели экспериментального пародонтита.....	73

Рисунок 13. Микропрепараты секреторных клеток подчелюстной железы на 10 (а) и 30 (б) сутки после формирования модели экспериментального пародонтита.....	74
Рисунок 14. Микропрепараты секреторных клеток подчелюстной железы на 60 сутки (а, б) после формирования модели экспериментального пародонтита.....	75
Рисунок 15. Микропрепараты секреторных клеток околоушной (а) и слизистых клеток подчелюстной (б) железы на 30 (а) и 60 (б) сутки после формирования модели экспериментального пародонтита	78
Рисунок 16. Микропрепараты слизистых клеток подъязычной железы на 60 сутки после формирования модели экспериментального пародонтита	79
Рисунок 17. Микропрепарат околоушной железы на 60 сутки после формирования модели экспериментального пародонтита. ИГХ реакция метохромазии азуром. Ок. 20, об. 20.....	80
Рисунок 18. Микропрепараты смешанных концевых отделов подъязычной железы на 10 (а) и 60 (б) сутки после формирования модели экспериментального пародонтита	81
Рисунок 19. Уровень АФК при моделировании острого пародонтита на фоне ксеростомии (%).....	87
Рисунок 20. Содержание ГПЛ в сыворотке крови животных с острым пародонтитом на фоне ксеростомии (%)	87
Рисунок 21. Содержание ГПЛ в гомогенатах десен животных с острым пародонтитом на фоне ксеростомии (%)	88
Рисунок 22. Содержание оснований Шиффа в гомогенатах десен животных с острым пародонтитом на фоне ксеростомии (%)	89
Рисунок 23. Содержание СОД в сыворотке крови животных с острым пародонтитом на фоне ксеростомии (%)	90
Рисунок 24. Концентрация церулоплазмينا в сыворотке крови животных с ОП на фоне ксеростомии (%).....	91
Рисунок 25. Концентрация ВГ в гомогенатах десен животных с ОП на фоне ксеростомии	92

Таблица 4. Активность субстратов антиоксидантной системы в крови и гомогенатах десен у крыс с острым пародонтитом и гипосаливацией на 90 день эксперимента, $M \pm m$	92
Рисунок 26. Показатели спонтанного НСТ-теста у животных с острым пародонтитом на фоне ксеростомии	95
Таблица 5. Характеристика НСТ-теста у опытных животных на 90 сутки эксперимента, $M \pm m$	96
Рисунок 27. Показатели клеточного иммунитета у животных с острым пародонтитом на фоне ксеростомии (60 суток).....	98
Рисунок 28. Показатели клеточного иммунитета у животных с острым пародонтитом на фоне ксеростомии (90 суток).....	98
Таблица 6. Характеристика клеточного звена иммунитета при остром пародонтите с моделированием ксеростомии на 90 сутки эксперимента, $M \pm m$	99
Рисунок 29. Активность иммуноглобулинов на 60 сутки моделирования острого пародонтита и ксеростомии	100
Рисунок 30. Активность иммуноглобулинов на 90 сутки моделирования острого пародонтита и ксеростомии	101
Таблица 7. Показатели гуморальной активности при моделировании острого пародонтита на фоне ксеростомии на 90 сутки эксперимента, $M \pm m$	102
Таблица 8. Содержание ФНО- α у животных с моделированием пародонтита и ксеростомии, $M \pm m$	103
Таблица 9. Содержание IL-1 β в сыворотке животных с моделированием пародонтита и ксеростомии, $M \pm m$	104
Таблица 10. Содержание IL-4 в сыворотке животных с моделированием пародонтита и ксеростомии, $M \pm m$	106
Таблица 11. Содержание IL-10 в сыворотке животных с моделированием пародонтита и ксеростомии, $M \pm m$	107
Таблица 12. Показатели эндогенной интоксикации у крыс с острым пародонтитом на фоне ксеростомии, 60-е сутки, $M \pm m$	110

Рисунок 31. Показатели эндогенной интоксикации у животных с острым пародонтитом на фоне ксеростомии (60 суток).....	111
Рисунок 32. Показатели катепсина D в гомогенатах десен у животных с острым пародонтитом на фоне ксеростомии	113
Рисунок 33. Показатели кислой фосфатазы в гомогенатах десен у животных с острым пародонтитом на фоне ксеростомии	114

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А

Патенты на изобретения

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2682615

**УСТРОЙСТВО ДЛЯ ФИКСАЦИИ ФРАГМЕНТОВ
НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО
ЖИВОТНОГО**

Патентообладатели: *Слетов Александр Анатольевич (RU), Сирак Сергей Владимирович (RU), Щетинин Евгений Вячеславович (RU), Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Ставропольский государственный медицинский университет (ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет) Минздрава РФ (RU)*

Авторы: *см. на обороте*

Заявка № 2017142236

Приоритет изобретения 04 декабря 2017 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 19 марта 2019 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 04 декабря 2037 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев Г.П. Ивлиев



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(19) **RU** (11) **2 682 615**⁽¹³⁾ **C1**(51) МПК
A61B 17/58 (2006.01)
A61B 17/60 (2006.01)
A61B 17/64 (2006.01)
A61D 1/00 (2006.01)(12) **ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**(52) СПК
A61B 17/58 (2018.08); A61B 17/60 (2018.08); A61B 17/64 (2018.08); A61B 17/6425 (2018.08); A61B 17/645 (2018.08); A61D 1/00 (2018.08)

(21)(22) Заявка: 2017142236, 04.12.2017

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
04.12.2017

Дата регистрации:
19.03.2019

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 04.12.2017

(45) Опубликовано: 19.03.2019 Бюл. № 8

Адрес для переписки:
355000, г. Ставрополь, ул. Узорная, 12, Сирак С.В.

(72) Автор(ы):
Слетов Александр Анатольевич (RU),
Сирак Сергей Владимирович (RU),
Щетинин Евгений Вячеславович (RU),
Жидовинов Александр Вадимович (RU),
Слетова Валерия Александровна (RU),
Копылова Ирина Анатольевна (RU),
Можейко Ростислав Александрович (RU),
Локтионова Марина Владимировна (RU),
Слетов Эдуард Александрович (RU),
Давыдов Алексей Борисович (RU),
Диденко Николай Николаевич (RU),
Петросян Григорий Григорьевич (RU),
Стоматов Александр Владимирович (RU)

(73) Патентообладатель(и):
Слетов Александр Анатольевич (RU),
Сирак Сергей Владимирович (RU),
Щетинин Евгений Вячеславович (RU),
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования Ставропольский
государственный медицинский университет
(ФГБОУ ВО Ставропольский
государственный медицинский университет)
Минздрава РФ (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2541055 C1, 10.02.2015. RU
2222283 C2, 27.01.2004. SU 1827213 A1,
15.07.1993. RU 2318463 C2, 10.03.2008. RU
2119778 C1, 10.10.1998. SU 1149954 A1,
15.04.1985. US 8172849 B2, 08.05.2012. US
6860883 B2, 01.03.2005.

R U 2 6 8 2 6 1 5 C 1

(54) **УСТРОЙСТВО ДЛЯ ФИКСАЦИИ ФРАГМЕНТОВ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ У
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЖИВОТНОГО**(57) **Формула изобретения**

Устройство для фиксации фрагментов нижней челюсти у экспериментального

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2682613

**СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ ДЕФЕКТА НИЖНЕЙ
ЧЕЛЮСТИ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЖИВОТНОГО**

Патентообладатели: *Слетов Александр Анатольевич (RU), Сирак Сергей Владимирович (RU), Щетинин Евгений Вячеславович (RU), Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Ставропольский государственный медицинский университет (ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет) Минздрава РФ (RU)*

Авторы: *см. на обороте*

Заявка № 2017142235

Приоритет изобретения 04 декабря 2017 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 19 марта 2019 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 04 декабря 2037 г.

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

Г.П. Ивлиев



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(19) **RU** (11) **2 682 613**⁽¹³⁾ **C1**(51) МПК
A61B 17/00 (2006.01)(12) **ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**(52) СПК
A61B 17/00008 (2018.08)

(21)(22) Заявка: 2017142235, 04.12.2017

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
04.12.2017Дата регистрации:
19.03.2019

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 04.12.2017

(45) Опубликовано: 19.03.2019 Бюл. № 8

Адрес для переписки:
355000, г. Ставрополь, ул. Узорная, 12, Сирак
С.В.

(72) Автор(ы):

Слетов Александр Анатольевич (RU),
Сирак Сергей Владимирович (RU),
Щетинин Евгений Вячеславович (RU),
Жидовинов Александр Вадимович (RU),
Слетова Валерия Александровна (RU),
Копылова Ирина Анатольевна (RU),
Можейко Ростислав Александрович (RU),
Локтионова Марина Владимировна (RU),
Слетов Эдуард Александрович (RU),
Давыдов Алексей Борисович (RU),
Диденко Николай Николаевич (RU),
Петросян Григорий Григорьевич (RU),
Стоматов Александр Владимирович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Слетов Александр Анатольевич (RU),
Сирак Сергей Владимирович (RU),
Щетинин Евгений Вячеславович (RU),
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования Ставропольский
государственный медицинский университет
(ФГБОУ ВО Ставропольский
государственный медицинский университет)
Минздрава РФ (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2253391 C1, 10.06.2005. RU
2563942 C9, 27.09.2015. RU 2289344 C1, 20.12
2006. RU 2281704 C1, 20.08.2006. RU 2595087
C1, 20.08.2016.(54) СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ ДЕФЕКТА НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО
ЖИВОТНОГО

(57) Формула изобретения

Способ моделирования дефекта нижней челюсти у экспериментального животного, включающий рассечение тканей, линейную компактостеотомию, отличающийся тем, что препарирование тканей осуществляют гидропрепаровкой раствором лидокаина гидрохлорида 0,25% - 20,0 мл, содержащим 0,1 мл раствора адреналина, затем

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2676658

СПОСОБ СОЗДАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
МОДЕЛИ ОСТЕОПОРОЗА

Патентообладатели: *Сирак Сергей Владимирович (RU), Щетинин Евгений Вячеславович (RU), Быкова Наталья Ильинична (RU), Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Ставропольский государственный медицинский университет (ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет) Минздрава РФ (RU)*

Авторы: *см. на обороте*

Заявка № 2017135880

Приоритет изобретения 09 октября 2017 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 09 января 2019 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 09 октября 2037 г.



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Излиев Г.П. Излиев

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** (11) **2 676 658** (13) **C1**(51) МПК
G09B 23/28 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
G09B 23/28 (2006.01)

(21)(22) Заявка: 2017135880, 09.10.2017

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
09.10.2017Дата регистрации:
09.01.2019Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: 09.10.2017

(45) Опубликовано: 09.01.2019 Бюл. № 1

Адрес для переписки:
355000, г. Ставрополь, ул. Узорная, 12, Сирак
С.В.

(72) Автор(ы):

Сирак Сергей Владимирович (RU),
Щетинин Евгений Вячеславович (RU),
Быкова Наталья Ильинична (RU),
Вафиади Марина Юрьевна (RU),
Петросян Григорий Григорьевич (RU),
Диденко Николай Николаевич (RU),
Геваидова Маргарита Грантовна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Сирак Сергей Владимирович (RU),
Щетинин Евгений Вячеславович (RU),
Быкова Наталья Ильинична (RU),
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования Ставропольский
государственный медицинский университет
(ФГБОУ ВО Ставропольский
государственный медицинский университет)
Минздрава РФ (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: СИРАК С.В.Патоморфологические изменения пульпы
зубов при экспериментальном остеопорозе.
Морфологические ведомости N 3 2016,
стр.36-40. RU 2480843 C1 27.04.2013. RU
2384894 C1 20.03.2010. RU 2524128 C1
27.07.2014. UA 38479 A 15.05.2001.
ZARRINKALAM M. R. Validation of the
sheep as a large animal model for the study of
vertebral osteoporosis. Eur (см. прод.)

(54) СПОСОБ СОЗДАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ОСТЕОПОРОЗА

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине и может
быть использовано для создания
экспериментальной модели остеопороза.
Трехлетней овце Северо-Кавказской породы
проводят двухстороннюю овариэктомию. Со
второго дня после операции осуществляют
внутримышечное введение дексаметазона в

течение 3 месяцев в дозе 12 мг на 1 кг массы по 6
инъекций в неделю. Способ обеспечивает создание
экспериментальной модели остеопороза,
позволяющей исключить летальность
подопытных субъектов, получить полноценную
и необратимую в течение всей жизни животного
модель остеопороза с большим объемом тканей,

Стр.: 1

RU 2 676 658 C1

RU 2 676 658 C1

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2676649

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
МОДЕЛИ ПАРОДОНТИТА

Патентообладатели: *Сирак Сергей Владимирович (RU), Щетинин Евгений Вячеславович (RU), Быкова Наталья Ильинична (RU), Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Ставропольский государственный медицинский университет (ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет) Минздрава РФ (RU)*

Авторы: *с.м. на обороте*

Заявка № 2017135879

Приоритет изобретения 09 октября 2017 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 09 января 2019 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 09 октября 2037 г.



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Излиев Г.П. Излиев

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(19) **RU** (11) **2 676 649** (13) **C1**(51) МПК
G09B 23/28 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
G09B 23/28 (2006.01)

(21)(22) Заявка: 2017135879, 09.10.2017

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
09.10.2017Дата регистрации:
09.01.2019

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 09.10.2017

(45) Опубликовано: 09.01.2019 Бюл. № 1

Адрес для переписки:
355000, г. Ставрополь, ул. Узорная, 12, Сирак
С.В.

(72) Автор(ы):

Сирак Сергей Владимирович (RU),
Щетинин Евгений Вячеславович (RU),
Быкова Наталья Ильинична (RU),
Вафиади Марина Юрьевна (RU),
Петросян Григорий Григорьевич (RU),
Диденко Николай Николаевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Сирак Сергей Владимирович (RU),
Щетинин Евгений Вячеславович (RU),
Быкова Наталья Ильинична (RU),
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования Ставропольский
государственный медицинский университет
(ФГБОУ ВО Ставропольский
государственный медицинский университет)
Минздрава РФ (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2252009 C2, 20.05.2005. RU
2433485 C1, 10.11.2011. UA 15182 A, 30.06.1997.
JP 2011109951 A, 09.06.2011. БЫКОВА Н.И.
Показатели клеточного и гуморального
иммунитета при экспериментальном
воспалении тканей пародонта. Кубанский
научный медицинский вестник N 6 (161)
2016, стр.20-25. AIUSHIEVA S et al. Phytofilm
Khastaplen use in case of (см. прод.)

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ПАРОДОНТИТА

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к экспериментальной стоматологии, и может быть использовано для получения экспериментальной модели пародонтита. Помещают половозрелых крыс в общую клетку площадью 0,018 м² на особь. Перед помещением в клетку каждому животному под наркозом внутримышечно вводят линкомицина гидрохлорид дозой 30 мг на 100 г

веса. Производят аппликацию суспензии пчелиного яда в области десен и преддверия рта в дозе 2 мг на 100 г веса животного. При этом для ускорения моделирования дополнительно к стандартному рациону питания крыс добавляют 2 мл подсолнечного масла на одного животного, которое нагревают в присутствии 2% сульфата меди в течение 24 часов до достижения