

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

На правах рукописи

РОМАНЕНКО

Роман Геннадьевич

СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННЫЕ НАРУШЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА
ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА И СПОСОБЫ ИХ КОРРЕКЦИИ

3.3.3 – патологическая физиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор Е.В.ЩЕТИНИН

Ставрополь – 2022

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ВЗГЛЯДЫ НА МЕХАНИЗМЫ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ТКАНЯХ ПАРОДОНТА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ СТРЕССЕ И ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ИХ КОРРЕКЦИИ (обзор литературы)	12
1.1. Современные представления о механизмах влияния хронического стресса на развитие повреждений тканей пародонта	12
1.2. Роль стресса и сосудистых нарушений в развитии генерализованного пародонтита и резорбции альвеолярного отростка челюсти	15
1.3. Роль нарушения перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы в развитии генерализованного пародонтита	19
1.4. Современные направления фармакологической коррекции воспалительно-деструктивных повреждений тканей пародонта	22
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	28
2.1. Экспериментальная часть исследования с возможностью моделирования хронического стресса	29
2.1.1. Материалы и методы первой серии эксперимента на животных. Моделирование хронического стресса и оценка патологических изменений в тканях пародонта	30
2.1.2. Материалы и методы второй серии эксперимента на животных. Оценка эффективности использования антиоксиданта для коррекции патологических изменений в тканях пародонта при экспериментальном хроническом стрессе	33
2.2. Материалы и методы биохимических исследований	36
2.3. Материалы и методы статистической обработки данных	36
ГЛАВА 3. ОПЫТНО-КОНСТРУКТОРСКИЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗРАБОТКЕ СТРЕСС-ИНДУЦИРУЮЩЕГО УСТРОЙСТВА ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ НЕФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ ОККЛЮЗИИ ЧЕЛЮСТЕЙ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЖИВОТНОГО	38
ГЛАВА 4. ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ХРОНИЧЕСКОМ СТРЕССЕ	50
4.1. Функциональное состояние антиоксидантной системы, перекисного окисления липидов и минерального обмена в крови и костной ткани животных при экспериментальном хроническом стрессе	51

4.2. Патогистологическая оценка стресс-индуцированных нарушений структуры тканей пародонта в эксперименте на животных	59
ГЛАВА 5. РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИОКСИДАНТА ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ТКАНЯХ ПАРОДОНТА НА ФОНЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СТРЕСС-ИНДУЦИРУЮЩЕГО УСТРОЙСТВА	74
5.1. Гистоморфологическая оценка изменений в костной ткани альвеолярного отростка челюстей и мягких тканей пародонта крыс при ХС	76
5.2. Результаты исследования кислородного режима и местного кровотока в тканях пародонта при ХС	83
5.3. Результаты исследования процессов митохондриального дыхания в клетках тканей пародонта в условиях ХС	86
ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ	92
ВЫВОДЫ	108
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	110
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	111
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	112
Приложение	133

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Для современной медицинской науки остается актуальным исследование комплекса патофизиологических сдвигов, возникающих в организме людей и животных, подвергшихся воздействию хронического стресса (А.Ю.Абрамова, 2018; Н.А.Мураева, 2019; И.А.Янкелевич, 2019; К.А.Кидун, 2019; Ю.Д.Иванова, 2021; А.О.Федорова, 2021; С.Barr, 2021; J.S.Ng, 2021). Хронические стрессовые нагрузки современного общества более чем в 90% случаев сопровождаются различными формами поражения пародонта (Л.Х.Дурыгина, 2012; Л.Р.Колесникова, 2019; А.Е.Брусенцова, 2022; А.М.Decker, 2021; С.Petit, 2021). В настоящее время считают, что острый или хронический стресс имеет большое значение в поражениях тканей пародонта, являясь тем провокационным фактором, который вызывает или стимулирует развитие пародонтита при различных патологических ситуациях (М.Ю.Раваева, 2018; В.И.Урбанович, 2018; Д.В.Михальченко, 2019; О.Ф.Губина, 2020; А.И.Сабилова, 2021; G.V.Minhoto, 2021; S.A Tanveer, 2021).

Существуют исследования, которые доказывают сопредельность тяжести стресса как важнейшего условия для формирования различных по тяжести поражений пародонта (В.Н.Цыган, 2016; А.А.Макеев, 2016; Э.Ф.Галиуллина, 2017; P.Eickholz, 2018). При развитии стресс-реакции нередко наблюдаются микроциркуляторные нарушения, повышается содержание глюкокортикоидов, усиливается перекисное окисление липидов, что приводит, в том числе, к повреждению тканей пародонта с формированием типовых патологических процессов слизистой оболочки и соединительнотканной основы десны, деструктивных изменений в тканях пародонта (А.Н.Старосельская, 2015; Н.Е.Большедворская, 2017; Л.Р.Колесникова, 2019; G.Wang, 2017; H.Zhang, 2021).

Нарушения транспорта и потребления кислорода, дыхательной функции митохондрий, прооксидантно-антиоксидантной гомеостазис в мягких и твердых тканях пародонта являются основанием для применения фармакологических препаратов антигипоксического и антиоксидантного действия (Ю.В.Маскурова,

2016; А.Н.Вётош, 2020; Л.М.Кожевникова, 2022; Н.Naririan, 2018; L.Thant, 2022). Таким образом, разнообразие этиологических факторов и патогенетических звеньев повреждения тканей пародонта являются предпосылкой для оптимизации эффективности первичной и вторичной профилактики, что обуславливает актуальность исследования проблемы для патологической физиологии и стоматологии.

Степень разработанности темы исследования. Хронические генерализованные поражения околозубных тканей воспалительного, язвенно-некротического или дегенеративного характера, несмотря на свою актуальность, являются пока нерешенной проблемой современной медицины (И.К.Новицкая, 2017; И.Н.Усманова, 2021; J.Chen, 2018; S.A Tanveer, 2021). Традиционные лечебные мероприятия в полости рта носят, в основном, локальную направленность: они, как правило, дают лишь временный лечебный эффект, не предотвращают рецидивы и не препятствуют прогрессирующему течению заболевания, что заставляет применять патогенетически ориентированные подходы к разработке методов коррекции с позиций системно действующих механизмов (Г.Г.Петросян, 2018; A.Fujita, 2018). В разработке комплексных подходов к терапии пародонтита большой интерес представляют препараты метаболического и антиоксидантного действия, применяемые сегодня в медицине, оказывающие стимулирующее воздействие на протективные функции клеточных мембран (В.А.Батурин, 2016; С.В.Сирак, 2018; Л.Б.Новикова, 2019; D.Pedro, 2017; М.М.Л.Castro, 2019).

Кроме этого, остаются мало исследованными механизмы повреждения мягких тканей пародонта, связанные с нарушением местного кровотока, функционального состояния сосудов, структурными изменениями сосудов пародонта и гемато-саливарного барьера, развитием митохондриальной дисфункции и степенью кальцификации (И.Ю.Попович, 2017; L.S.Feng, 2017; R.Yamamoto, 2021).

Все вышесказанное диктует необходимость дополнительных фундаментальных исследований для выяснения ведущих механизмов

повреждений мягких и твердых тканей пародонта при хроническом стрессе и поиске эффективных патогенетических средств, направленных на профилактику и лечение таких повреждений.

Цель исследования – установить механизмы развития стресс-индуцированных нарушений метаболизма тканей пародонта для патогенетического лечения хронического пародонтита.

Задачи исследования

1. Разработать и апробировать стресс-индуцирующее устройство для формирования нефизиологической окклюзии челюстей у экспериментального животного.

2. Дать патогистологическую и электронно-микроскопическую оценку стресс-индуцированным нарушениям структуры тканей пародонта и ткани альвеолярного отростка челюстей в эксперименте на животных.

3. Изучить особенности функционального состояния перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы и ее взаимосвязь с минеральным обменом в крови и челюстной кости крысы при ХС.

4. Установить патогенетические механизмы развития патологии пародонта при воздействии стресс-индуцирующего фактора, формирующего нефункциональную окклюзию челюстей.

5. Определить эффективность использования препарата с антигипоксическими мембранопротекторными свойствами для коррекции патологических изменений в тканях пародонта при экспериментальном хроническом стрессе.

Научная новизна полученных результатов

Впервые установлено, что длительное использование стресс-индуцирующего устройства для формирования нефизиологической окклюзии у экспериментального животного приводит к накоплению продуктов ПОЛ и

снижению функциональной способности АОС в периферической крови на фоне торможения минерализации кости нижней челюсти.

Впервые доказано, что развитие стресс-реакции сопровождается снижением напряжения кислорода в десне крыс и резким уменьшением потребления кислорода костной тканью альвеолярного отростка челюсти, что обусловлено изменениями скорости транспорта кислорода кровью в системе микроциркуляции в результате уменьшения скорости объемного кровотока.

Впервые установлено, что при хроническом стрессе в пародонте крыс происходит снижение активности ключевых антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы и каталазы, что наряду с повышением содержания в тканях пародонта вторичных продуктов ПОЛ приводит к снижению эффективности формирования компенсаторно-приспособительных реакций при стрессе.

Впервые установлено, что использование антиоксидантного препарата способствует уменьшению стресс-индуцированных нарушений метаболических процессов в мягких и твердых тканях пародонта как за счет поддержания адекватной интенсивности окислительного фосфорилирования, так и вследствие восстановления прооксидантно-антиоксидантного баланса.

Теоретическая и практическая значимость работы

Впервые разработано и апробировано новое СИУ ФНОЧ у экспериментального животного (патент РФ на полезную модель №182498, заявка №2018103520(005143) от 30.01.2018).

Теоретические и практические предпосылки к разработке стресс-индуцирующего устройства сводились к необходимости получения экспериментальной модели с формированием нефизиологической окклюзии челюстей и с возможностью многократного использования данного устройства в течение неограниченно долгого времени. Возможность изучения отсроченных эффектов стресс-реакции с всесторонним анализом механизмов развития, течения и исходов патологических процессов, выявляемых как в тканях

пародонта, так и в зубочелюстной системе в целом при нарушении физиологической окклюзии обеспечивает практическое значения данных фундаментальных исследований.

Широкий спектр патогенетических механизмов, выявленных при моделировании нефизиологической окклюзии с помощью разработанного стресс-индуцирующего устройства в тканях пародонта, указывает на необходимость применения новых эффективных подходов к коррекции повреждений тканей пародонта, вызванных стрессом.

Полученные данные о высокой супероксиддисмутазной активности этилметилгидроксипиридина сукцината (ЭМГПС), обуславливающей антиоксидантный эффект в условиях хронического стресса, могут служить обоснованием целесообразности его использования в стоматологической практике для коррекции метаболических нарушений в тканях пародонта при нарушении физиологической окклюзии челюстей.

Методология и методы исследования

Исследование выполнялось в рамках паспорта специальности «патологическая физиология» с использованием комплексного междисциплинарного подхода, позволяющего в динамическом режиме изучать изменения структуры и функции зубочелюстной системы на местном и системном уровнях при моделировании хронического стресса с помощью нового устройства.

Диссертационное исследование проведено с соблюдением принципов доказательной медицины, в сравнительном плане, с формированием основных и контрольных групп, с оценкой объективных параметров функционального и структурного характера.

В ходе выполненной работы проведено экспериментальное моделирование, объективные данные получены с использованием лабораторных методов, проведен морфологический, гистологический,

иммуногистохимический анализ, оценены функциональные возможности, а также проведена визуализация с помощью электронной микроскопии.

При статистической обработке полученных данных использованы воспроизводимые методы, включая описательную статистику.

Основные научные положения диссертации, выносимые на защиту

1. Предложенное и испытанное в экспериментальных условиях стресс-индуцирующее устройство является эффективной моделью для оценки развития, течения и исходов патологических процессов в зубочелюстной системе и в тканях пародонта, сопровождающиеся необратимыми изменениями метаболизма с нарушением механизмов образования как органического, так и неорганического компонента костной ткани.

2. При хроническом стрессе нарушения местного кровообращения в мягких тканях пародонта характеризуются ростом индекса периферического сопротивления и уменьшением объемного кровотока, что снижает скорость транспорта кислорода кровью в системе микроциркуляции и сопровождается нарушениями про- и антиоксидантного баланса в мягких тканях пародонта с повышением содержания вторичных продуктов ПОЛ, а также снижением концентрации восстановленного глутатиона.

3. Применение с целью коррекции стрессорных повреждений в тканях пародонта при ХС антиоксидантного препарата сопровождалось статистически достоверными изменениями степени дистрофических процессов в пародонте крыс.

Степень достоверности.

Степень достоверности полученных результатов, обоснованность выводов и их соответствие заявленным задачам работы определяется достаточным объемом выборки при проведенном исследовании, количеством наблюдений при проведении объективных методов диагностики, включая визуализирующие. Достоверность полученных результатов также определяется использованием метрологически поверенными средствами измерения и оценки современного уровня.

Апробация результатов.

Результаты проведенного исследования доложены и обсуждены на научно-практических конференциях, симпозиумах и форумах различного уровня: местных, региональных, всероссийских и международных, включая VI Открытую международную научно-практическую конференцию «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Москва, 22-25.11.2016), конференцию молодых ученых «Фундаментальная медицина» (Ставрополь, 15-17.05.2018), международный молодежный форум «Неделя Науки» (Ставрополь, 2019, 2020, 2021), II Международной конференции «Актуальные проблемы клинической и фундаментальной медицины» (Минск, 21-23.03.2022) V Международной научно-практической конференции «Междисциплинарный подход к диагностике, лечению и профилактике заболеваний тканей пародонта у пациентов с сахарным диабетом» (Санкт-Петербург, 19-20.04.2022).

Апробация диссертации проведена на расширенном заседании сотрудников кафедр патологической физиологии и стоматологии ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России.

Публикации.

По материалам диссертации опубликовано 12 научных работ, из них 7 – в изданиях, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий 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, получен 1 патент РФ на полезную модель.

Личный вклад автора в исследование.

Диссертантом лично проведен патентно-информационный поиск по теме научного исследования, обзор литературы, сформулированы цель и задачи исследования, проведены лабораторные и опытно-конструкторские работы. Соискателем самостоятельно проведена систематизация и статистическая

обработка полученных результатов, написаны все разделы работы. Вместе с научным руководителем проведен анализ и обобщение результатов клинических исследований, сделаны научные выводы и практические рекомендации. Научные публикации, текст диссертации и автореферат написаны автором лично.

Объем и структура диссертации. Работа построена по традиционному принципу изложения на 134 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, пяти глав собственных исследований, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы, который включает 154 источника, из них 90 отечественный и 64 иностранных авторов. Диссертация иллюстрирована 24 рисунками и микрофотографиями, содержит 13 таблиц.

ГЛАВА 1.

СОВРЕМЕННЫЕ ВЗГЛЯДЫ НА МЕХАНИЗМЫ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ТКАНЯХ ПАРОДОНТА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ СТРЕССЕ И ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ИХ КОРРЕКЦИИ (обзор литературы)

1.1. Современные данные, свидетельствующие о роли хронического стресса в развитии повреждений тканей пародонта

Воспалительные заболевания пародонта провоцируют вовлечение окружающих мягких околозубных тканей и альвеолярной кости, вызывая целый каскад ответных реакций, играющих важную роль в развитии, поддержании и хронизации патологического процесса в смежных органах и системах макроорганизма. Эти реакции лежат в основе повреждающего фактора, приводящего к разрушению всего комплекса альвеолярно-перио-пародонтальных тканей [16,19,22,24,29,54,59,93,96,139].

Патогенез заболеваний пародонта в настоящее время окончательно не установлен, но в последнее время особое внимание уделяется изучению нервно-трофического влияния на ткани пародонта, обусловленного, в первую очередь, стрессом.

При этом предполагают, что наибольшее влияние на патологические процессы в тканях пародонта производит именно стрессорный фактор [32,52,95]. Решению проблемы хронизации и генерализации воспаления в пародонте посвящены самые многочисленные фундаментальные и клинические исследования [14,31,42,54,64,79,110], однако проблема эта до сих пор не решена, что не мешает считать одним из основных факторов, которые вызывают патоморфоз пародонтита, хронический стресс [28,70,106].

В настоящее время принято, что именно хронический стресс является одним из наиболее весомых факторов развития заболеваний пародонта у человека, в частности хронического генерализованного пародонтита. При пародонтите поражается в первую очередь соединительная ткань пародонта,

слизистой оболочки десен, нарушается целостность эпителиального прикрепления. Вследствие этого увеличивается подвижность зубов. Хронический стресс влечет за собой дополнительные изменения в костной ткани, происходит повреждение еще одного компонента пародонта, что обуславливает рост темпов увеличения динамической подвижности зубов [93,94]. То есть, максимальные сдвиги структурно-функциональных свойств тканей пародонта наблюдаются при воспроизведении пародонтита на фоне хронического стресса [105].

По мнению ряда ученых, к числу которых относят С. Bertoldi (2013), J. Schmidt (2022), активация определенных отделов нервной и эндокринной систем вызывают генетически детерминированный неспецифический ответ на любой стрессорный фактор, приходящий извне организма, чем провоцирует дальнейшую неконтролируемую активацию полифункциональных систем, объединяющих остальные комплексы тканей и органов, которые напрямую отвечают за реализацию приспособительных реакций организма к каждому конкретному стрессорному фактору [93,137].

Некоторые исследователи отмечают, что в условиях стресса они наблюдали развитие и нарастание дегенеративных изменений соединительнотканной основы десен, предпосылки к уменьшению количества иммуно- и остеокомпетентных клеток, отвечающих за регуляцию остеомалации [17,138,150].

Несмотря на наличие значительного количества научных работ, связанных с изучением влияния стрессорных факторов на ткани пародонта, научному анализу патогенетических связей хронического стресса и заболеваний пародонта до настоящего времени посвящены единичные исследования [31,57,79,138].

При развитии в организме стресс-реакции многочисленные механизмы в развитии повреждений пародонта приводят к воспалительно-дистрофической патологии. В первую очередь, это нейротрофические нарушения. Они являются теми провокационными факторами, которые вызывают или стимулируют

развитие поражений пародонта при различных ситуациях, в том числе и в случае соматических заболеваний [3,5,72,105,134,147].

Считают, что психофизиологические расстройства могут негативно влиять на ткани пародонта вследствие непосредственного влияния нервной системы.

Возможное наличие причинно-следственных связей между стрессом и степенью тяжести воспаления в пародонте, рядом авторов относится к антропогенным и климато-экологическим факторам внешней среды: неблагоприятным условиям жизни, суровому климату, отсутствию развитой коммунальной инфраструктуры [7,14,96].

Важным моментом в патогенезе хронического стресса является повышенное выделение стероидных гормонов, которые способны неблагоприятно влиять на ткани пародонта [20,39,100,154].

В патогенезе стрессовых повреждений пародонта имеют значение реакции слюнных желез, которые реагируют на стресс изменением секреции гормонов, медиаторов и других биологически активных веществ. С помощью данных регуляторов они способны изменять иммунный гомеостаз полости рта, а также и пародонт [30,36,60,89,113].

Известно, что длительный стресс может выступать в роли своеобразного «гаранта» прогрессирования патологического процесса, приводящего к дезорганизации механизмов саморегуляции самых уязвимых функциональных систем: сердечно-сосудистой, дыхательной, нервной, гуморальной [1,4,8,41,81].

Проведенные исследования последних лет в условиях клиники и эксперимента значительно расширили представление о влиянии стресса на развитие заболеваний тканей пародонта. В частности, доказано, что резорбция альвеолярного отростка и развитие хронического периодонтита развивается в том числе, вследствие психоэмоционального стресса [71,103,104,116].

1.2. Роль стресса и сосудистых нарушений в развитии генерализованного пародонтита и резорбции альвеолярного отростка челюсти

Исследуя проблему патофизиологических реакций на стресс и воспаление, ряд авторов констатируют, что при хронизации патологического течения генерализованного пародонтита патоморфологические изменения сосудов выходят на первый план. К таким патологическим расстройствам относят фиброз соединительнотканной собственной пластинки десны и периодонта, фибриноидное превращение, набухание и склероз стенок сосудов, дистрофические изменения покровного эпителия.

По наблюдению Л.А.Григорьянца (2006), Э.Ф.Галиуллиной (2017), Г.Г.Петросяна (2018) при воспалении в кости челюсти регистрируются все известные науке виды резорбции (остеокластический, сопряженный, лакунарный, системный, локальный и т.д.). При воспалении комплекса пародонтальных тканей, затрагивающего не только кость, но и соединительнотканную основу, имеет место расплавление хрупких межзубных перегородок, с вовлечением круговой связки зуба и цемента корня [22,27,64,124].

Поскольку за оперативность процессов ремоделирования костной ткани в организме человека отвечает система адаптивной регуляции, при стрессе на первый план выходят системы, напрямую не связанные с воспалением, но влияющие на его развитие: гормональная, ремоделирующая, трофическая.

По мнению И.К.Новицкой (2017) естественное соотношение между процессами образования, активации остеобластов и взаимодействия компонентов системы ремоделирования кости обеспечивает физиологическое восстановление костной ткани, так и ее адаптацию к реальным условиям жизнедеятельности [57].

В последнее время в литературе встречаются сведения по вопросу взаимосвязи генерализованного пародонтита и возможности развития резорбции альвеолярного отростка челюстей, как проявления системной потери костной ткани [11,34,66,71,83,102,115].

В исследовании Н.А.Корневской (2009) показано, что стресс может приводить к остеопорозу костной составляющей альвеолярного отростка челюсти. Автор выявила явления разволокнения лигаментарной связки, прогрессирующий рост грануляционной ткани в пародонтальной кармане, тормозящей регенерацию пародонта [43].

По мнению ряда ученых, механизмы потери костной массы до сих пор недостаточно раскрыты, однако, в последнее время среди разнообразных этиологических факторов деминерализации кости важную роль отводят психоэмоциональному напряжению и поведенческим искажениям [118,119].

Так, в исследовании В.В.Багметовой (2013) на фоне изменения соотношения минерального и органического компонентов экспериментальных у крыс, подвергавшихся хроническому эмоциональному стрессу, выявлена прогрессирующая резорбция альвеолярной кости, лакунарное рассасывание лунок корней зубов [9].

По данным А.К.Иорданишвили (2016) хронический стресс значительно ускоряет в пародонте инволюционные патологические изменения [37].

В работе В.И.Герелюк (2017) при морфологическом исследовании образцов костной ткани обнаружено, что резорбция фрагментов челюстных костей сопровождается замещением дефектов соединительной тканью [23].

Таким образом, длительный стресс способствует формированию дисбаланса между резорбцией и ремоделированием твердых тканей пародонта [107,118,123,130,144]. Деструктивные проявления обнаруживаются и в мягких тканях десны [70,80,133].

По мнению И.Ю.Попович (2017) возможно, что дистрофические заболевания тканей пародонта, также связанные не только с нарушением синтетической функции остеобластов, но и с дисбалансом между пролиферацией и апоптозом их в ткани, который может привести к ее атрофии – пародонтоза [66].

Ряд авторов считают, что молекулярные механизмы, которые лежат в основе развития генерализованного пародонтита нуждаются в дополнительном исследовании [6,26,47,84,122,131,149]

Определенного внимания заслуживают исследования, которые подтверждают, что длительный стресс инициирует развитие гингивита и периодонтита.

В исследовании К.А.Кидун (2019) на основании гистохимического анализа тканей пародонта доказано, что активация гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы в эксперименте повышает риск повреждения пародонта [39]. Это подтверждает исследование Т. Breivik (2000), согласно которому адреналэктомия уменьшает риск развития заболеваний тканей пародонта у животных при стрессе [98].

В свою очередь, своими результатами исследования И.С.Соболевская (2013) обосновывает положение о индивидуальной реакции животных на стрессорные воздействия. По мнению автора, животные с высоким уровнем кортикостероидов в крови более склонны к развитию заболеваний пародонта при стрессе, чем животные с низким уровнем этого гормона [78].

Морфологические исследования С.Г.Цикунова (2016) подтверждают наличие склеротических изменений в сосудах пародонта [83].

Существует и диаметрально-противоположное мнение, озвученное А.Н.Старосельской (2014), что у больных пародонтитом сосудистая система тканей пародонта подвергается таким же изменениям, как и сосуды других органов, то есть реакция сосудов не локальная, а общая и имеет один общий этиологический фактор, в данном случае, атеросклероз [80].

Это утверждение находит свое подтверждение в экспериментально-морфологических работах и клинико-морфологических исследованиях М.Ю.Раваевой (2018), которая обнаружила, что у больных с атеросклеротическими поражениями сосудистой системы наблюдают рост поражения пародонта [67].

Аналогичные данные получены Е.В.Кардулаевой (2015) при обследовании больных с нарушениями сердечно-сосудистой системы [38].

По мнению А.Г.Сирак (2018) морфологические изменения сосудов пародонта различной степени тяжести взаимосвязаны со степенью патологического перерождения эндотелия сосудов, которое, в свою очередь, зависит от степени тяжести пародонтита. Именно таким образом, по мнению данного автора, при прогрессировании воспалительного процесса в отсутствие адекватной терапии, изменение метаболизма и трофики в стенках сосудистого пародонтального русла приводит к сбоям в окислительно-восстановительных процессах всего пародонтального комплекса [76].

Пусковым механизмом целого каскада патологических реакций в пародонте в ответ на воспеление, по всей видимости, является уменьшение просвета и снижение эластичности стенок капилляров, что в конечном итоге вскоре приводит к стазу, застою крови и генерализации воспалительного процесса в пародонте [50,84].

Как показали исследования В.Г.Артрушкевич (2010), все нарушения кровообращения в пародонтальных тканях сопровождаются дистонией мелких и мельчайших сосудов пародонта [5]. Такие функциональные изменения кровообращения пародонта некоторые авторы рассматривают как инициальный фактор в патогенезе генерализованных воспалительно-деструктивных изменений в тканях [35,45,82,86,109,121].

По мнению А.В.Островского (2014) все нарушения, возникающие в сосудистом русле пародонтальных тканей, зависят от потенциала калликреин-кининовой системы, увеличение удельного веса вазомоторных кининов в очаге воспаления приводит к его хронизации, развитию новых патологических исходов, затрагивающих другие органы и стемы органов организма [58].

По данным И.Р.Ярмошука (2017) хронический стресс может снижать кровоток в несколько раз в капиллярах различных тканей организма [87].

С.П.Ярова (2012) считает, что наличие однотипных нарушений компонентов микроциркуляторной системы у животных разных видов в

различных органах, а также литературные данные свидетельствуют о генерализованном характере нарушений микроциркуляторной системы при стрессе [89].

Изменения в системе микроциркуляции, таким образом, является не только проявлением, но и одним из важнейших звеньев патогенеза стресса. Грубые же склеротические изменения возникают уже на конечных стадиях развития воспалительно-дистрофических изменений в пародонте [30,64,97,146]. По данным И.Ю.Поповича (2017) при воспалении значительную роль в запуске воспалительно-деструктивных процессов в пародонте играет длительное воздействие стрессорных агентов [66].

Приведенные выше данные свидетельствуют о том, что именно стресс является ведущим среди основных факторов риска развития воспалительно-дистрофических и деструктивных изменений в тканях пародонта.

Но не менее значительным фактором в механизмах развития деструктивных процессов в пародонте выступает кислородное голодание тканей, причем недостаток поступления кислорода в пародонтальные ткани провоцирует не только ухудшение метаболизма, но и постепенное накопление продуктов распада, свободных радикалов и токсинов [21].

Таким образом, окислительно-восстановительные потенции тканей пародонта является отражением их стрессорного потенциала, который имеет тенденцию снижаться каждый раз, когда происходит воздействие мощного стрессорного фактора.

1.3. Роль различных метаболических систем организма в развитии генерализованного пародонтита

Сегодня в патогенезе воспалительно-деструктивных заболеваний пародонта большую роль отводят нарушениям перекисного окисления липидов (ПОЛ), которое представляет собой жизненно необходимое звено метаболического обмена.

Целый ряд экспериментальных и клинических исследований легли в основу теории о ведущей роли нарушений свободнорадикального окисления липидов в патогенезе пародонтита [10,13,18,40,62,74,85,101,108].

В патогенезе генерализованного пародонтита немаловажную роль играет процесс неферментативного окисления липидов или так называемый «процессинг внутреннего метаболизма» [112,135]. Однако, как считает А.Н.Попова (2017) кроме общеизвестных факторов, к сбою в системе перекисного окисления липидов в пародонте приводят и совсем не «процессинговые» факторы, то есть не общие, системные, а локальные, местные: мягкий и твердый зубной налет и персистирующие в нём колонии патогенных микроорганизмов [65].

По исследованиям Д.К.Льяновой (2017) стрессы различного происхождения являются важной и практически неременной составляющей развития воспалительно-деструктивных заболеваний, по крайней мере в звене нарушение ПОЛ [45].

По сведениям А.В.Зайченко (2019) начало реализации стрессорной активации ПОЛ комплекса пародонтальных тканей происходит при участии гипоталамо-гипофизарной системы [33]. Как пишет автор, именно под воздействием стресса в пародонте развиваются сосудистые и трофические нарушения, застой крови и накопление продуктов распада.

Исследования О.П.Яценко (2011) свидетельствуют о возможной роли этой же системы в стрессорной активации ПОЛ пародонта, о чем свидетельствуют экспериментальные исследования на белых лабораторных мышах [90].

Результаты экспериментальных и клинических исследований К.А.Кидун (2019) подтверждают, что нарушение прооксидантно-антиоксидантного баланса клеток играют большую роль в патогенезе стрессорных повреждений пародонта [39].

По сведению Л.Р.Колесниковой (2019) при воздействии неблагоприятных факторов окружающей среды резко возрастает интенсивность свободнорадикальных процессов, постепенно истощается антиоксидантная

система защиты, что приводит к развитию патологического, в частности воспалительно-деструктивного процесса в пародонте [42].

По данным Ю.В.Маскуровой (2016) морфологически при стрессорных повреждениях, особенно в случае хронических воздействий, ответственными за нарушение являются деструктивные изменения в мягких и твердых тканях пародонтального комплекса, приводящие к дегенеративным изменениям в соединительнотканной основе десен [51].

Как считает С.С.Перцов (2015), при воспалении в пародонте в костной ткани челюсти наблюдается усиленное выведение кальция с активацией резорбционных процессов в матриксе кортикальной и губчатой кости, что приводит к повышению угрозы переломов и пародонтозу [62].

Следовательно, объединенное действие всех вышеперечисленных повреждающих факторов, в конечном итоге провоцирует ускорение патологических реакций, снижение иммунной защиты, увеличение количества свободно-радикальных групп [31,33,46,53,83,129,132].

Как предполагает Э.Ф.Галиуллина (2017) именно эти патогенные факторы повреждают основные компоненты тканей пародонта, вызывая дисфункциональные сбои в системе проницаемости клеточных мембран [22].

Немаловажным фактором является то, что В.И.Лысенко (2020) описал как «оксидативное повреждение митохондрий». Данный процесс, по ее мнению, играет значительную роль в развитии тканевой гипоксии, потому что аутокаталитично приводит к усилению генерации свободно-радикальных групп [48], которые разрушают липиды, белки, нуклеиновые кислоты и выступают в роли ведущих инициаторов повреждения клеточного пула.

Фундаментальные исследования развития митохондриальной дисфункции в тканях пародонта при стрессе находятся на начальном этапе, а особенности митохондриального биогенеза при этом остается в общем малоисследованными.

Таким образом, из обзора литературы следует, что изменения транспорта кислорода, так и нарушение основных окислительных и оксидативных процессов в тканях пародонта при хроническом стрессе является, с одной

стороны, еще очень мало изученными, а с другой - эти изменения требуют как симптоматических, так и патогенетически направленных корректирующих средств, поэтому поиск новых стресс-протекторных путей терапии остается актуальной проблемой при лечении воспалительно-деструктивных заболеваний пародонта.

1.4. Современные направления фармакологической коррекции воспалительно-деструктивных повреждений тканей пародонта

Генерализованный пародонтит и другие дистрофически-деструктивные заболевания возникают под воздействием, как местных, так и общих факторов, которое сопровождается нарушением метаболизма, изменениями природных защитных сил тканей пародонта и организма в целом. Этот факт обуславливает принципы разработки эффективного комплексного лечения с применением средств местной и системной терапии [12,15,19,44,56,136]. Медикаментозная терапия играет существенную роль в лечении пародонтита. Рациональное и своевременное ее применение позволяет значительно уменьшить или ликвидировать воспалительные явления в тканях пародонта, осуществить влияние на микрофлору пародонтальных карманов, улучшить трофику и обменные процессы. Выбор лекарственных средств зависит от формы патологического процесса, имеющейся микрофлоры пародонтального кармана. Необходимо, также, учитывать возможную сопутствующую патологию [5,13,55,68,74,88,117].

Для ликвидации патологического процесса в тканях пародонта в клинической практике обычно применяют следующие группы медикаментозных средств: противомикробные и противовоспалительные средства, антибактериальные средства природного происхождения, противовоспалительные средства нестероидной и гормональной (стероидной) природы, которые влияют на тканевый обмен, витамины и их аналоги,

ферменты, ингибиторы протеолиза, биогенные стимуляторы, антигистаминные и противоаллергические препараты [2,13,18,25,61,63,69,77,91,99,141].

Для устранения расстройств метаболизма и микроциркуляции в тканях пародонта при местном лечении пародонтита традиционно используют препараты, содержащие каротиноиды, токоферолы, аскорбиновую кислоту и другие биологически активные вещества (масло шиповника, облепиховое масло). Поскольку при пародонтите происходит повышение активности протеиназ, это обуславливает эффективность применения ингибиторов протеолиза в терапии этого заболевания. Препараты этой группы снижают аутолитические процессы в тканях пародонта, способствуют регенерации тканей, тормозя развитие деструктивного процесса в них [6,11,33,62,74,75,141].

Несмотря на то, что развитие пародонтита и пародонтоза, в том числе под влиянием хронического стресса, в значительной степени связано с гипоксией, инициацией процессов ПОЛ с нарушением энергетического метаболизма в приведенном перечне наиболее употребляемых препаратов практически отсутствуют антигипоксанты и антиоксиданты [51,101,140].

Исследованиями последних лет обосновано использование антиоксидантов в комплексном лечении пародонтита. В частности, предложено применение таких антиоксидантных препаратов, как мелатонин.

В.С.Сериков (2014) предлагает давать объективную оценку любым патологическим изменениям в пародонте при воздействии факторов, способных влиять на типологические особенности стресс-индуцированных изменений в организме крыс под действием мелатонина [74].

И.Г.Островская (2017) исследовала иммобилизационный стресс. Она оценивала степень влияния экзогенного мелатонина на обменные процессы в пульпе резцов крыс на модели метаболического сдвига. Автором установлено, что стрессорные воздействия приводят к повреждению мембранных структур в тканях пародонта в результате действия мембранных медиаторов, гормонов, стимулирующих активацию перекисного окисления липидов [61].

В исследовании С.С.Перцова (2015) подчеркивается эффективность применения мелатонина, которая проявляется в виде влияния на способность антиоксидантных ферментов встраиваться в гуморальную систему крови крыс при остром эмоциональном стрессе [62].

P.Eickholz (2018) считает, что проявлением мембранной патологии на микроциркуляторном уровне является увеличение преимущественно венолярной проницаемости, связанное с повреждением эндотелия и базальной мембраны, изменением поверхности эритроцитов и тромбоцитов, ростом дегрануляции тучных клеток [107].

С целью ликвидации таких расстройств в стоматологии G.Wang (2017) рекомендует применять мембранопротекторы, к которым как раз и относятся антиоксиданты и антигипоксанты [151].

P.O.Lima (2013) считает, что по отношению к микрогемодиализации эти препараты не являются эффективными, однако они достоверно уменьшают дегрануляцию тучных клеток и уменьшают нарушение венолярной проницаемости [121].

По мнению Н.Naririan (2018) наиболее важным принципом в профилактике стрессорных нарушений в организме и тканях пародонта, в частности, является индивидуальный подход к применению медикаментозных препаратов с учетом их типологических особенностей [113].

Как показал в своих исследованиях J.Chen (2018) эффективность стресспротекторных свойств веществ, могут применяться для коррекции стресс-синдрома, в значительной степени обуславливается наличием антиоксидантного компонента в механизме их действия, который реализуется в том числе через предупреждение активации ПОЛ в крови и тканях пародонта [102].

Как считает M.Castro (2019), применение подобных адаптогенов сопровождается повышением количества органического компонента костной ткани пародонта, о чем свидетельствует снижение в ней содержания продуктов распада - гексуроновых кислот [101].

В исследовании D.Pedro (2017) показано, что с целью предупреждения развития стрессорных повреждений в тканях пародонта при длительном стрессе в стоматологической практике в последнее время используют достаточно хорошо известные препараты, расширяя область их применения [132].

По мнению L.S.Feng (2017), несмотря на разноплановость механизмов формирования воспалительно-деструктивной патологии при формировании стресс-реакции в тканях пародонта, перспективным можно считать также применение для коррекции нарушений, вызванных стрессом, препаратов широкого спектра, которые сочетают антиоксидантное и антигипоксическое действие [108].

Известно, что этилметилгидроксипиридина сукцинат обладает выраженным общетрофическим и регенераторным эффектом, способствует росту уровня кислорода в тканях и стимулирует энергетический метаболизм, обладает мембраностабилизирующими, антиоксидантными свойствами, активизирует компенсаторные процессы гликолиза, тормозит окисление липидов [10,44,51,56].

Т.А.Voronina (2020) считает, что особое значение в механизме действия ЭМГПС имеет его активирующее влияние на клеточный энергетический метаболизм за счет способности повышать усваивание продуктов метаболизма, стимулируя выработку энергии [150].

По данным E.V.Melnik (2018) под влиянием препарата значительно повышается диффузия и утилизация кислорода, что приводит к улучшению оксигенации крови в системе микроциркуляции [125]. Антиоксидантное действие препарата обусловлено наличием у препарата высокой супероксиддисмутазной активности.

По мнению G.E.Miller (2002) указанные свойства способствуют, с одной стороны, стабилизации плазматических клеточных мембран, с другой - росту концентрации непосредственных переносчиков свободной энергии и аминокислот [126].

По сообщению Ю.В.Маскуровой (2016) к основным аспектам действия неоспоримо принадлежит его разноплановое воздействие на энергетический обмен [51].

По данным А.В.Лопачева (2016) у ЭМГПС и карнозина в условиях окислительного стресса выражено нейропротекторное действие, направленное в первую очередь, на первичную культуру клеток мозжечка крысы. Данное воздействие обуславливается тем, что в условиях тканевой гипоксии препараты способны активировать метаболизм такней пародонта [46].

Таким образом, существуют препараты, которые способны оказывать мощное антиоксидантное действие. По мнению отечественных и зарубежных авторов, отличительной особенностью данных препаратов является способность активировать ключевые ферменты антиоксидантной системы защиты – супероксиддисмутазу, каталазу и глутатионпероксидазу.

По мнению И.Р.Ярмошука (2016), биохимические изменения, обнаруженные в тканях пародонта у больных с пародонтитом, сопровождающимся явлениями остеопении после проведенного оперативного лечения, свидетельствуют о выраженной способности вышеназванного препарата стабилизировать костный метаболизм за счет активации репаративной регенерации кости, что делает его сходным по эффективности с антиоксидантными препаратами [88].

Резюме

Таким образом, как показал обзор литературы, изменения транспорта кислорода, так и нарушение основных окислительных и оксидативных процессов в тканях пародонта при хроническом стрессе является, с одной стороны, еще очень мало изученными, а с другой - эти изменения требуют как симптоматических, так и патогенетически направленных корректирующих средств, поэтому поиск новых стресс-протекторных путей терапии остается

актуальной проблемой при лечении воспалительно-деструктивных заболеваний пародонта.

Понятно, что при подготовке лечебных мероприятий по фармакологической коррекции любых патологических процессов в организме человека следует корректировать свои усилия с учетом специфики воспалительного процесса и его локализации. Сегодня среди исследователей достаточно устойчиво мнение, что коррекцию специфических нарушений необходимо дополнять локальным точечным воздействием на все звенья и очаги патологического процесса. Одной из таких целей для локального воздействия может выступать неспецифическая составляющая патологического процесса, влияющая на стрессорные нарушения функций организма.

В этой связи истощение его адаптивных механизмов и усиление процесса патологической деструкции способно привести к превращению стресса в суперстресс, что зависит только от роста мощности и/или длительности воздействия стрессорного фактора. К такому исходу способно привести длительное накопление разнообразных стрессорных факторов, особенно в условиях хронического воздействия на организм.

Проведение разноплановых исследований морфофункционального состояния тканей пародонта при повторных стрессорных воздействиях на основании данных о механизмах реализации патогенного потенциала стресса в пародонтальных тканях, является необходимой основой при обосновании разработки новых методов фармакологической коррекции и предотвращения развития необратимых патологических изменений в организме в целом.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Поставленные в ходе планирования работы цель и задачи успешно решены в ходе НИОКР и экспериментальных исследований. Реализованный комплекс работ полностью соответствовал принципам доказательной медицины, с использованием этических норм и правил, согласно паспорта специальности 14.03.03 – патологическая физиология (табл. 2.1).

Таблица 2.1 – Общая структура реализованных исследований

Объекты исследования	Наименования проведенных исследований	Кол-во
Лабораторные исследования		
СИУ (стресс-индуцирующее устройство)	Опытно-конструкторские и экспериментальные исследования по разработке СИУ ФНОЧ у экспериментального животного (крыса)	1
Всего:		1
Экспериментальные исследования		
Крысы	Исследование метаболических изменений в костной ткани челюстей при хроническом стрессе, обусловленном использованием СИУ ФНОЧ	100
Крысы	Исследование эффективности применения антиоксиданта для коррекции патологических изменений в тканях пародонта на фоне использования СИУ	78
Всего:		178
Электронно-микроскопические исследования		
Зубоальвеолярные блоки	Исследование уровня прикрепления десны, степени оголения корней зубов, степени атрофии альвеолярного отростка челюсти крыс	255
Всего:		255
Биохимические исследования		
Сыворотка крови	Определение содержания диеновых конъюгатов и малонового диальдегида	46

Сыворотка крови	Определение содержания кальция и фосфора	54
Плазма крови	Определение активности гиалуронидазы	28
Сыворотка крови	Определение содержания сульфатированных гликозаминогликанов	66
Всего:		194
Гистологические и морфологические исследования		
Ткани пародонта	Патогистологическая оценка стресс-индуцированных нарушений структуры тканей пародонта	244
Ткани пародонта	Гистоморфологическая оценка изменений в костной ткани альвеолярного отростка челюстей и мягких тканей пародонта крыс при хроническом стрессе	236
Всего:		480
Рентгенологические исследования		
Крысы	Рентгенологическое исследование для калибровки используемых методов исследования, предварительный этап при подготовке электронно-микроскопического исследования, контроль на этапах экспериментального исследования	75
Всего:		75
Статистические исследования		
Результаты, полученные при обработке фактических данных по видам исследований и группам больных	В экспериментальной части исследования: однофакторный дисперсионный анализ и множественное сравнение Ньюмена-Кейлса в программе Primer of Biostatistics 4.03 для Windows, Т-критерий Вилкоксона, критерий Стьюдента, χ^2 - критерий Пирсона	1095
Всего:		1095

2.1. Экспериментальная часть исследования с возможностью моделирования хронического стресса

2.1.1. Материалы и методы первой серии эксперимента на животных. Моделирование хронического стресса и оценка патологических изменений в тканях пародонта

Стресс-индуцирующее устройство (патент РФ на полезную модель №182498 по заявке №2018103520(005143) от 30.01.2018) для формирования нефизиологической окклюзии челюстей у экспериментального животного (рис. 2.1) предложено в ходе выполнения НИОКР с последующим проведением экспериментального изучения эффективности данного устройства на лабораторных животных.

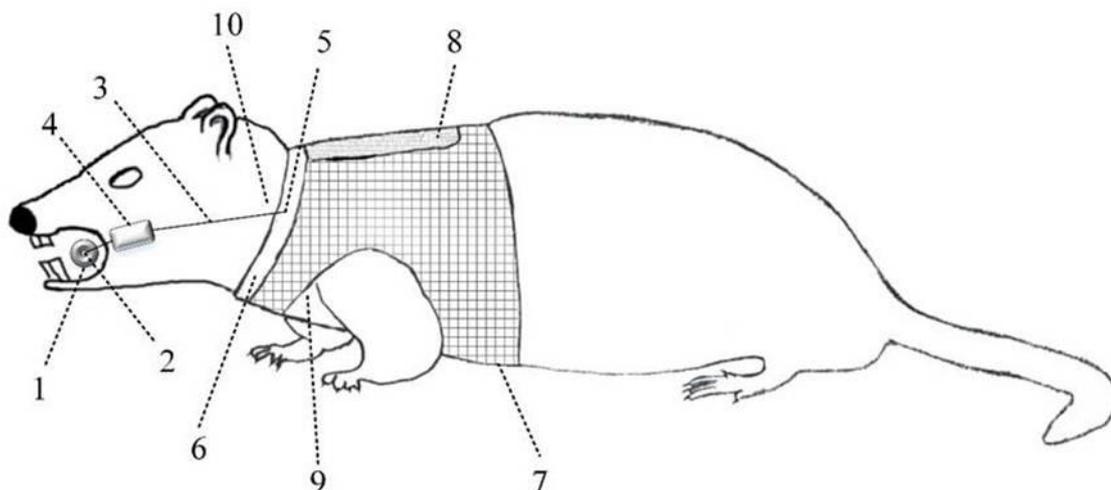


Рисунок 2.1 – схема стресс-индуцирующего устройства для формирования нефизиологической окклюзии челюстей у экспериментального животного, выполненного в виде металлического шарика (1), имеющего отверстие посередине (2), через которое свободно пропущена круглая арамидная нить (3) толщиной 1 мм с двумя симметрично расположенными силиконовыми ограничителями (4), которая жестко крепится к металлическому кольцу (5), вшитому в воротник (6) фиксирующего жилета (7) с застежкой на контактную ленту (8), снабженному двумя отверстиями (9) для передних лап и одним отверстием (10) для шеи

Устройство выполнено в виде металлического шарика (1), имеющего сквозное отверстие (2), в котором свободно пропущена круглая арамидная нить (3) толщиной 1 мм с двумя симметрично расположенными силиконовыми ограничителями (4), которая жестко крепится к металлическому кольцу (5), вшитому в воротник (6) фиксирующего жилета (7) с застежкой на контактную ленту (8), снабженному двумя отверстиями (9) для передних лап и одним отверстием (10) для шеи. В соответствии с возрастом или размером экспериментального животного, имеются три типа шариков: с диаметром 3, 5, 7 мм.

Предварительно подобранное по размеру в зависимости от возраста и характера телосложения экспериментального животного (например, крысы) стресс-индуцирующее устройство надевают через раскрытый фиксирующий жилет, сначала продев голову сквозь металлическое кольцо, вшитое в воротник, одновременно припасовывают металлический шарик, перемещающийся свободно на круглой арамидной нити во рту животного. Два симметрично расположенных силиконовых ограничителя устанавливают на уровне щёк, ограничивая диапазон перемещения шарика только полостью рта, затем затягивают фиксирующий жилет с застежкой на контактную ленту на спине животного таким образом, чтобы круглая арамидная нить располагалась на уровне углов рта, а металлический шарик находился во рту в области нёба между зубными рядами на уровне боковых коренных зубов.

Благодаря такой конструкции устройства животное может свободно перемещаться, но не имеет возможности избавиться ни от одного элемента устройства даже с использованием лап, также не может выплюнуть шарик через угол рта ввиду наличия двух симметрично расположенных силиконовых ограничителей на арамидной нити, которую не может разгрызть ввиду ее особой прочности (в 8 раз прочнее стальной проволоки!).

Длительность эксперимента при использовании разработанного устройства может быть органичена только экспериментатором, в зависимости от условий проводимого исследования. Конструкция устройства разработана таким

образом, что животное свободно перемещается, принимает пищу. Единственный недостаток, который животное испытывает – шарик во рту мешает жевать одновременно на обе стороны челюстей, что требует более тщательного пережевывания пищи поочередно на каждой стороне, а это доставляет неудобство животному.

Нахождение шарика во рту на постоянной основе при невозможности от него избавиться, создает существенный очаг возбуждения у экспериментального животного, запуская целую череду причинно-следственных связей, приводящего к реализации стресса, что зависит от многих условий, включая длительность воздействия стрессирующего фактора. Формирующаяся нефизиологическая окклюзия способствует разворачиванию комплекса механизмов, проявляющихся воспалением тканей пародонта.

Экспериментальная часть исследования выполнена на годовалых белых крысах-самцах, разделенных на 5 равных групп по 20 животных. В первой группе по 5 особей выводились из эксперимента в сроки 15, 30, 60 и 90 суток. Первую группу составили интактные животные (контрольная группа), у которых разрабатываемое устройство не использовалось. У животных четырех опытных групп использовалось предложенное устройство для формирования нефизиологической окклюзии челюстей в течение, соответственно 15, 30, 60 и 90 суток.

Содержание животных соответствовало этическим нормам в условиях вивария без ограничения воды, при двухкратном кормлении и взвешиванием на весах после каждого кормления.

Животных выводили из эксперимента под наркозом. Выделенные зубоальвеолярные блоки фиксировали в течение 10 суток в 12% растворе нейтрального формалина, подвергали декальцинации в Трилоне Б, промывали под проточной водой, проводили по банкам спиртов возрастающей плотности и заливали в целлоидин. Срезы толщиной 3-5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван-Гизон, импрегнировали серебром по методу Фута, Маллори и по Массону. Микроскопию гистологических срезов проводили на цифровом

микроскопе со встроенным фотоаппаратом Olympus BX45. Морфометрические исследования проводили с использованием программы Видео-Тест Морфология 5.1 для Windows. Весь цифровой материал подвергнут вариационно-статистической обработке с определением χ^2 и t-критериев, а также коэффициента корреляции Спирмена при доверительном уровне значимости $p < 0,05$ в программе Primer of Biostatistics 4.03 для Windows.

Макропрепараты исследовали с помощью растрового электронного микроскопа (РЭМ) JSM-T300 (Япония) с режимом работы: ускоряющее напряжение – 20 KV; сила тока – $(2,9-3,1) \times 10^{10}$ А при увеличении – $\times 50$, $\times 200$, $\times 500$ и рентгенологически – на аппарате Premier PRO 2000 (Италия).

Степень атрофии костных фрагментов нижней и верхней челюстей определяли количественно после рентгенологического и электронно-микроскопического исследования, используя балльную систему. В 1 балл оценивали наличие явлений резорбции межальвеолярной перегородки. В 2 балла – добавление к имеющейся резорбции межкорневой перегородки и обнажение бифуркации. Тремя баллами оценивали атрофию альвеолярного отростка на 1/2 длины корня. 4 балла присваивали, в случае отсутствия зуба, либо если зуб удерживался мягкими тканями. По числу зубов, вовлеченных в процесс (1, 2 или 3) определяли коэффициент протяженности дефекта. Окончательную оценку степени атрофии костных фрагментов у отдельно взятого животного осуществляли по четырем точкам - альвеолярный отросток верхней и альвеолярная часть нижней челюсти, справа и слева. Отсутствие атрофического процесса в любом фрагменте оценивалось «0».

Эксперимент на животных проведен в соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики (Национальный стандарт «Принципы надлежащей лабораторной практики» ГОСТ Р 53434-2009), международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985), Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ №267 от 19.06.2003) и положительным заключением этического комитета в условиях вивария на базе федерального

государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ставропольский государственный аграрный университет».

Научно-исследовательская работа осуществлена в рамках государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации на научные исследования и разработки.

2.1.2. Материалы и методы второй серии эксперимента на животных. Оценка эффективности использования антиоксиданта для коррекции патологических изменений в тканях пародонта при экспериментальном хроническом стрессе

Исследование во второй серии эксперимента реализовано с участием 78 половозрелых белых лабораторных крыс-самцов массой 180-200 г. Контрольную группу составили интактные животные (без устройства, сроки выведения из эксперимента здесь и далее, во всех группах одинаковые – 15, 30, 60 и 90 суток), n=18; 2 группа – животные со стресс-индуцирующим устройством (СИУ), n = 20; 3 – животные с СИУ, которым ежедневно внутрибрюшинно вводили физиологический раствор, n=20; 4 – животные с СИУ, которым ежедневно внутрибрюшинно вводили препарат этилметилгидроксипиридина сукцинат (50 мг/кг массы тела), n=20.

Как и в первой части эксперимента, животные находились в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде, двухкратным кормлением и взвешиванием.

После выведения животных из эксперимента, хирургической фрезой выделяли зубоальвеолярные сегменты, которые после промывки взвешивали на торсионных весах. Для электронно-микроскопического исследования из каждого костного блока брали участки ткани (3x2 мм) и проводили пробоподготовку 1% раствором четырехокси осмия на фосфатном буфере. Подготовленные блоки обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации, в конце обработки заливая в смеси аралдита, и выдерживая в течение 24 ч при температуре 62°C. Для

получения ультратонких срезы использовали ультратом Dole (Германия). Срезы контрастировали цитратом свинца и альциановым синим и изучали в растровом электронном микроскопе JSM-T300 (Япония).

При оценке степени деструктивных изменений в тканях пародонта крыс осматривали слизистую оболочку полости рта и мягкие ткани челюстей. После этого челюсти подвергали макро - и микроскопическому исследованию. Для оценки степени резорбции альвеолярного отростка использовали растровый электронный микроскоп JSM-T300 (Япония) и радиовизиограф SOPIX 2 (Франция).

Степень оголения корней зубов как наиболее достоверный клинический признак прогрессирующего дистрофического процесса в тканях пародонта определяли величиной ОГК (относительного оголения корней зубов), выраженной в процентах, по формуле: $ОГК = \alpha/\beta \times 100$, где α - расстояние от края зубной альвеолы до нижнего края коронки зуба; β - расстояние от края зубной альвеолы до верхнего края коронки зуба, затем в зависимости от числа измерений вычисляли средние значения ($ОГК_{ср}$).

Для измерений использовали цифровой микроскоп с градуированным окуляром (x 10) со встроенным фотоаппаратом Olympus VX45. Степень развития дистрофического процесса (в процентах) определяли по формуле: $\lambda = ОГК_1 - ОГК_2$, где $ОГК_1$ - величина относительного обнажения корней зубов в опытных группах, а $ОГК_2$ - величина относительного обнажения корней зубов в контрольной группе. Для удобства описания результатов измерений коренные зубы челюсти обозначали в соответствии с общепринятым обозначением: 1 моляр (первый зуб от резца), 2 моляр (второй зуб от резца), 3 моляр (третий зуб от резца).

Для определения скорости тканевого метаболизма в костной ткани использовали платиновый электрод по методу E.Kravetz. Костные блоки помещали в цилиндрическую термостойкую ячейку объемом 5 мл³, заполненную физиологическим раствором (37°C, рН 7,4). Потребление кислорода за минуту рассчитывали на хроноамперограме, по кривой уменьшения концентрации

кислорода во времени на 100 г ткани. Коэффициент растворимости кислорода принимали равным 0,024 мл на атм. при 37° С.

Для оценки эффективности экспериментального воспроизведения стресса регистрировали изменения массы надпочечников и тимуса (на торсионных весах), наличие язв на слизистой оболочке желудка (визуально), определяли концентрацию кортикостероидных гормонов в крови. Концентрацию кортикостероидных гормонов оценивали с помощью метода иммуноферментного анализа на роботизированной станции ELISA STAR ф. Hamilton (США).

Для определения скорости тканевого метаболизма в костной ткани использовали платиновый электрод по методу Е. Kravetz. Оценивали коэффициент окислительного фосфорилирования, как отношение количества фосфорной кислоты (Р), использованной на фосфорилирование АДФ, к атому кислорода (О), поглощённого в процессе дыхания.

Напряжение кислорода в десне крыс измеряли полярографическим методом с использованием открытого платинового электрода. Показатели регистрировали с помощью полярографа Daf-60 (Польша).

Дыхание и окислительное фосфорилирование митохондрий (МХ) изучали полярографическим методом с использованием закрытого электрода и оксиграфа (Oxygraph System-3, Чехия).

2.2. Материалы и методы биохимических исследований

Для оценки интенсивности процессов пероксидного окисления липидов в гомогенатах тканей пародонта определяли содержание малонового диальдегида (МДА), активность каталазы и супероксиддисмутазы СОД, активность глутатионпероксидазы и содержание восстановленного глутатиона.

Содержание МДА определяли спектрофотометрически по методу J.T.Newton (2010) [129]. Метод основан на способности 2-тиобарбитуровой кислоты реагировать с МДА при высокой температуре с образованием

окрашенных продуктов реакции с спектром поглощения 532 нм. Содержание МДА выражали в нмоль/мг белка и рассчитывали с использованием коэффициента молярной экстинкции.

Активность каталазы и глутатионпероксидазы определяли спектрофотометрически. После центрифугирования гомогенатов определяли снижение интенсивности окраски при длине волны 410 нм. Активность фермента рассчитывали с использованием коэффициента молярной экстинкции и выражали в мкМ/мин/мг белка. Содержание восстановленного глутатиона изучали в безбелковом экстракте тканей пародонта. Все спектрофотометрические исследования выполнены с помощью спектрофотометра SF-1at (Англия).

2.3. Материалы и методы статистической обработки данных

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ (Microsoft Office Excel 2010), однофакторного дисперсионного анализа и множественного сравнения Ньюмена-Кейлса в программе Primer of Biostatistics 4.03 для Windows (2017). Полученные данные обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента (определяли среднее арифметическое (M), стандартную ошибку (m) и t коэффициент достоверности изменений), T-критерия Вилкоксона, χ^2 - критерия Пирсона. При $p < 0,05$ изменения считали достоверными.

ГЛАВА 3.

ОПЫТНО-КОНСТРУКТОРСКИЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ
ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗРАБОТКЕ СТРЕСС-ИНДУЦИРУЮЩЕГО
УСТРОЙСТВА ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ НЕФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ
ОККЛЮЗИИ ЧЕЛЮСТЕЙ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЖИВОТНОГО

В современном понимании нарушение окклюзии может возникнуть при частичной потере зубов, особенно боковой группы зубов, когда происходит неправильное распределение жевательной нагрузки, вследствие чего может возникать перегрузка пародонта оставшихся зубов, зубоальвеолярная деформация челюстей, парафункции жевательных мышц. Данные патологические изменения приводят к пародонтиту, дисфункции височно-нижнечелюстного сустава (ВНЧС) и влекут за собой латеральный или дистальный сдвиг нижней челюсти.

При замещении дефектов зубных рядов без учета данных факторов возникают дисфункциональные нарушения элементов височно-нижнечелюстных суставов и жевательных мышц, что приводит к поломкам съемных ортопедических конструкций, сколам керамики металлокерамических коронок, увеличению сроков адаптации к изготовленным зубным протезам, а перегрузка зубов приводит к прогрессированию заболеваний пародонта. Поэтому, актуально включать в алгоритм комплексного лечения пациентов с частичной потерей зубов мероприятия по нормализации функции жевательных мышц и положения нижней челюсти, а также меры по предупреждению смещения нижней челюсти.

С другой стороны, существующие методы и средства решения задачи по нормализации окклюзии, базирующиеся на использовании назубных капп и/или шин, предусматривают только восстановление равномерных фиссурно-бугорковых контактов в области твердых тканей боковых зубов, но не учитывают патологические изменения, происходящие в мягких тканях и пародонта, окружающем зуб. Подобная терапия, проводимая без учета

метаболических и структурных изменений в тканях пародонта, влияния стрессового фактора, зачастую несет больше вреда, чем пользы.

Для научного исследования подобных патологических изменений, разработки методов и средств (в том числе и фармакологических) их коррекции, необходимо понимать патофизиологические механизмы, лежащие в основе формирования нефизиологической (травматической) окклюзии.

Общепринятым основным принципом исследования в медицине считают эксперимент на животных, в результате которого воссоздается та или иная патология, позволяющая всесторонне изучить стоящую перед наукой проблему.

Из уровня техники известна узда, часть конской сбруи — надеваемые на голову лошади ремни специальной конструкции с удилами и поводьями объединённые в одно целое, служащие для управления лошадью.

Недостатком для использования узды в эксперименте является сложность экстраполяции конструкции на несопоставимого по размеру экспериментального животного (крысу, например), а также необходимость управления каждым животным индивидуально.

Достаточно близко к предлагаемому техническому решению является кляп - кусок дерева или тряпки, насильно всовываемый в рот животному или человеку с тем, чтобы лишить его возможности кусаться или кричать. Существуют кляпы разной конструкции, они могут быть выполнены из разных материалов, например, кожи, пластмассы, резины, имеют, как правило, в своей конструкции ограничивающий (например, шарик) и фиксирующий (например, ремешок) элементы.

Недостатком известной конструкции являются сложности использования кляпа при приеме пищи и воды, что может привести к преждевременной смерти экспериментального животного, а также отсутствие системы его крепления на теле животного.

Известные конструкции кляпов не позволяют зафиксировать их на длительное время у экспериментального животного, поскольку крыса легко избавится от любых инородных тел во рту с помощью передних лап.

Ограничение же движения путем связывания или другого вида фиксации конечностей экспериментального животного снизит чистоту эксперимента и не позволит исследовать стресс-индуцирующий фактор на требуемом для решения поставленной цели уровне.

Наиболее близко к предлагаемому техническому решению является шлейка-жилет TRIXIE (ТРИКСИ) для морской свинки/крысы, в комплект входит жилет (жилетка) и поводок с карабином.

Жилет фиксируется на животном в 2-х местах: под горлом, чтобы животное не достало его зубами и лапами и на животе. Оба крепления регулируются, использование жилета возможно для животного любого возраста. Жилет застёгивается на липучки (контактная лента), которые произведены из качественного синтетического материала, что сильно удлинит срок использования устройства.

Недостатки шлейки-жилета заключаются в конструктивных особенностях, не позволяющих его использовать для решения поставленной цели без внесения существенных изменений в его устройство.

Результаты поиска показали, что специалисту недостаточно просто совместить наиболее близкие по технической сущности устройства – кляп и жилет, которые явным образом вытекают из известного уровня техники, поскольку для достижения поставленной цели требуется значительное по объему усовершенствование известных конструкций, изменяющее, по сути, их первоначальное предназначение.

Задача предлагаемого технического решения – неинвазивное обеспечение нефизиологической окклюзии у экспериментального животного (крысы) без ущерба для его жизнедеятельности и свободе передвижения, характеризующееся простотой изготовления и использования в течение продолжительного промежутка времени.

Технический результат, реализуемый в ходе решения поставленной задачи, выражается в моделировании патологии тканей пародонта, вызванной

воздействием стресс-индуцирующего фактора в виде нефизиологической окклюзии у экспериментального животного.

Поставленная задача решается за счет того, что у СИУ ФНОЧ у экспериментального животного, включающего фиксирующий жилет, снабженный отверстиями для передних лап и шеи с застежкой на контактную ленту, дополнительно имеется металлическое кольцо, вшитое в воротник, к которому жестко крепится круглая арамидная нить толщиной 1 мм с двумя симметрично расположенными силиконовыми ограничителями и металлическим шариком диаметром 3, 5 или 7 мм, имеющим отверстие посередине такого диаметра, который позволяет ему свободно перемещаться по нити.

На рисунке 3.1 изображены основные элементы устройства.

На рисунке 3.2 – устройство в рабочем состоянии, установленное у экспериментального животного.

На рисунке 3.3 – электронно-микроскопическое изображение дистрофических процессов в твердых тканях пародонта у экспериментальных животных через 30 суток после установки устройства. Цифрой 1 обозначены края зубной альвеолы.

На рисунке 3.4 – электронно-микроскопическое изображение дистрофических процессов в твердых тканях пародонта у экспериментальных животных через 60 суток после установки устройства. Цифрой 1 обозначены края зубной альвеолы, цифрой 2 обозначено истирание режущих краев зубов и межбугорковых контактов, цифрой 3 обозначено распространение патологического процесса деструкции на альвеолярную кость.

Таким образом, предлагаемое СИУ ФНОЧ у экспериментального животного выполнено в виде металлического шарика (1), со сквозным отверстием посередине (2), в которое вставлена круглая арамидная нить (3) толщиной 1 мм с двумя симметрично расположенными силиконовыми ограничителями (4), которая жестко крепится к металлическому кольцу (5), вшитому в воротник (6) фиксирующего жилета (7) с застежкой на контактную ленту (8), снабженному

двумя отверстиями (9) для передних лап и одним отверстием (10) для шеи. В соответствии с возрастом или размером экспериментального животного, имеются три типа шариков: с диаметром 3, 5, 7 мм.

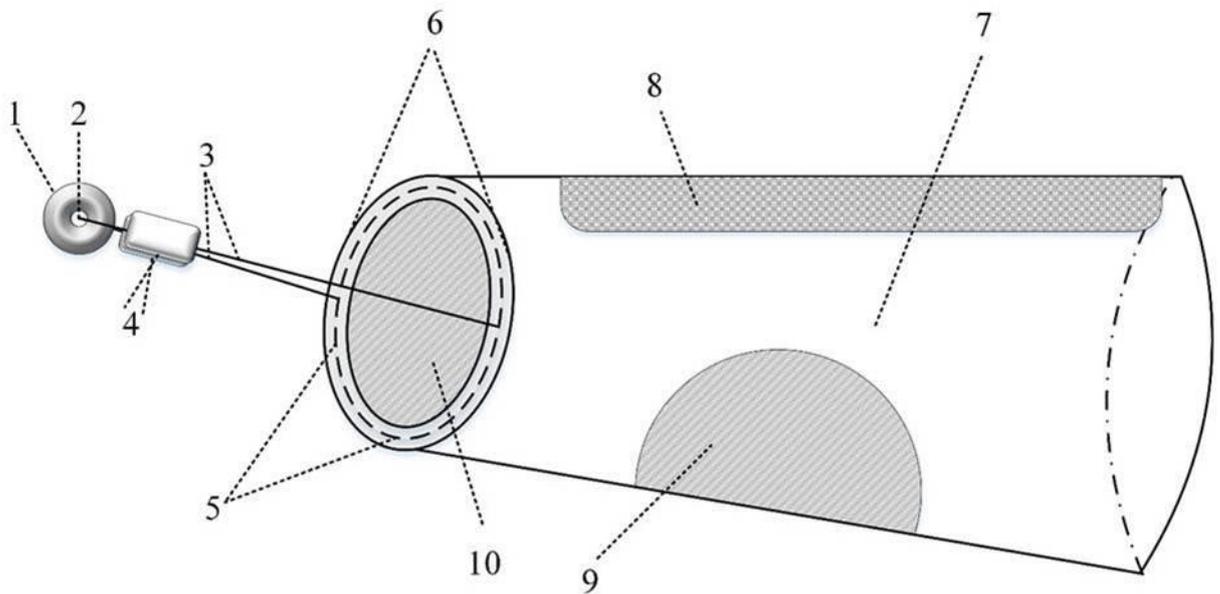


Рисунок 3.1 – Основные элементы устройства (описание в тексте)

Краткая характеристика элементов, использованных в устройстве.

Шарик – металлический шарик, изготовленный из биологически нейтрального металла, например, из титана, диаметром 3, 5 или 7 мм, со сквозным отверстием посередине, в которое вставлено и свободно находится арамидная нить. Подобная конструкция позволяет шарика свободно перемещаться во рту животного, однако, не позволяет его выплюнуть или разгрызть, титан не окисляется в полости рта и не влияет на важные биохимические показатели слюны.

Арамидная нить – в несколько раз прочнее рояльной стали, что своей при толщине в 1 мм уже исключает ее перекусывание зубами животного, полностью биологически совместима с натуральными костными и мягкими тканями полости рта, пластична и доступна по цене. Положение шарика на арамидной нити регулируется двумя симметрично расположенными силиконовыми ограничителями таким образом, чтобы они всегда располагались снаружи на уровне щёк, а металлический шарик всегда находился во рту

экспериментального животного между зубными рядами на уровне боковых коренных зубов.

Жилет – выполнен из синтетического материала, представляет собой единую фиксирующую конструкцию вместе с вшитым в воротник металлическим кольцом, размер которого соответствует типоразмеру головы крысы, к которому жестко прикреплена круглая арамидная нить толщиной 1 мм с двумя симметрично расположенными силиконовыми ограничителями, пропущенная свободно через отверстие в металлическом шарике. Жилет одевается путем продевания головы и лап животного в соответствующие технологические отверстия, дополнительно снабжен удобной широкой застежкой на контактную ленту, с фиксацией на спине животного, которая позволяет при необходимости регулировать степень фиксации жилета на теле экспериментального животного, и не позволяет его расстегнуть.

Сопоставительный анализ признаков заявленного решения с признаками прототипа и ближайших аналогов свидетельствует о соответствии разработанного решения критериям «новизна» и «промышленная применимость».

Предварительно выполненная работа с доступной литературой дала возможность заключить, что разработанная модель не является техническим решением по уже известным моделям, я служит результатом нового подхода к моделированию патологии тканей пародонта, вызванной воздействием стресс-индуцирующего фактора в виде нефизиологической окклюзии у экспериментального животного.

Разработанное СИУ ФНОЧ у экспериментального животного используют следующим образом.

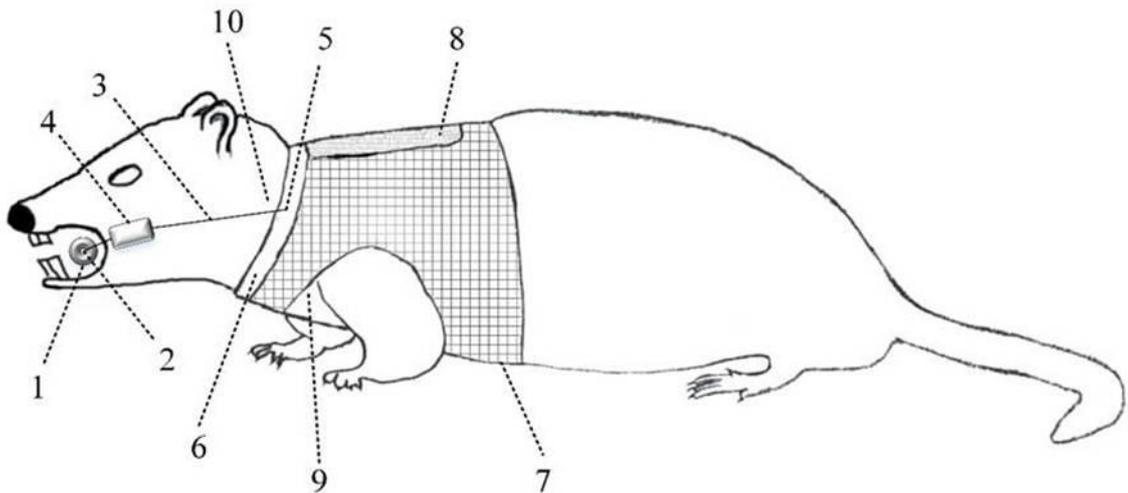


Рисунок 3.2 – Устройство в рабочем состоянии, установленное у экспериментального животного (описание в тексте)

Предварительно подобранное по размеру в зависимости от возраста и характера телосложения экспериментального животного (например, крысы) СИУ ФНОЧ надевают через раскрытый фиксирующий жилет, сначала продев голову сквозь металлическое кольцо, вшитое в воротник, одновременно припасовывают металлический шарик, перемещающийся свободно на круглой арамидной нити во рту животного. Два симметрично расположенных силиконовых ограничителя устанавливают на уровне щёк, ограничивая диапазон перемещения шарика только полостью рта, затем затягивают фиксирующий жилет с застежкой на контактную ленту на спине животного таким образом, чтобы круглая арамидная нить располагалась на уровне углов рта, а металлический шарик находился во рту между зубными рядами на уровне боковых коренных зубов.

После размещения устройства на теле экспериментального животного, его помещают в клетку.

Благодаря заявленной конструкции устройства животное может свободно перемещаться, но не имеет возможности избавиться ни от одного элемента устройства даже с использованием лап, также не может выплюнуть шарик через угол рта ввиду отсутствия соответствующих мимических мышц и наличия на

aramидной нити двух симметрично расположенных силиконовых ограничителей, также не может разгрызть арамидную нить ввиду ее особой прочности.

Длительность эксперимента ограничивается только экспериментатором, в зависимости от условий эксперимента и длительностью изучаемых объектов. СИУ закрепляется на спине животного таким образом, чтобы у него не было возможности избавиться от шлейки и установленного во рту шарика. С СИУ животное свободно передвигается по клетке, имеет свободный доступ к поилке и пище. Единственное неудобство для животного – неспособность, благодаря шарикам осуществлять жевание пищи в полном объеме: пережевывание возможно только поочередно на каждую сторону.

Нахождение инородного объекта во рту на постоянной основе при невозможности от него избавиться, создает существенный очаг возбуждения у экспериментального животного, запуская целую череду причинно-следственных связей, приводящего к реализации стресса, что зависит от многих условий, включая длительность воздействия стрессирующего фактора. Формирующаяся нефизиологическая окклюзия способствует разворачиванию комплекса механизмов, проявляющихся воспалением тканей пародонта.

Кроме этого, разработанное устройство характеризуется простотой изготовления, низкой стоимостью материалов и возможностью многократного использования в течение продолжительного промежутка времени в различных экспериментальных исследованиях для формирования нефизиологической окклюзии челюстей в условиях постоянного стресса.

Использование СИУ приводит к формированию нефизиологической окклюзии челюстей уже к 30-м суткам эксперимента, а к 60 суткам у экспериментального животного на фоне сформированной нефизиологической окклюзии регистрируются патологические воспалительные изменения в тканях пародонта, характеризующиеся кровоточивостью десен с патологическими карманами, глубиной до 5 мм, подвижностью жевательных зубов, зубным налетом.

При непродолжительном использовании стресс-индуцирующего устройства (15 суток) в мягких тканях пародонта экспериментальных животных происходили структурные изменения, которые сопровождались потерей эластичности мышечных волокон и стенок сосудов за счет выхода из миоцитов жидкости с включением белковых компонентов. Однако, проявления генерализованного отека прикрепленной десны не носили критического характера. Также наблюдались изменения ультраструктуры митохондрий: умеренное набухание, частичная вакуолизация, сжатие митохондриального матрикса и мембран. Такие изменения являются свидетельством митохондриальной дисфункции, которая является характерной для развития стресс-реакции. Имело место увеличение количества расширенных канальцев саркоплазматического ретикулума, что может рассматриваться как один из начальных этапов формирования повреждения ткани пародонта.

Проведенные методом растровой электронной микроскопии исследования показали, что длительное использование разработанного устройства приводит к формированию нефизиологической окклюзии в виде истирания режущих краев зубов и межбугорковых контактов уже к 30-м суткам эксперимента, но особенно ярко проявляющееся к сроку наблюдения 60 суток. К этому сроку наблюдается выраженное истончение и деструкция краев зубных альвеол (обозначено цифрой 1 на рис.3.3 и рис.3.4), а также распространение патологического процесса деструкции дальше - на альвеолярную кость (обозначено цифрой 3 на рис.3.4). Структура твердых тканей пародонта и зубов у крыс изображена на рис. 3.3 и 3.4. Таким образом, электронно-микроскопические и гистологические результаты экспериментального исследования с использованием разработанного СИУ подтвердили возможность эффективного воспроизведения неинвазивной экспериментальной нефизиологической окклюзии и воспаления тканей пародонта при сохранении приемлемого качества жизни животного со свободой передвижения по клетке, что дает возможность достоверно оценивать полученные результаты и интерпретировать их значения в плоскости доказательности.

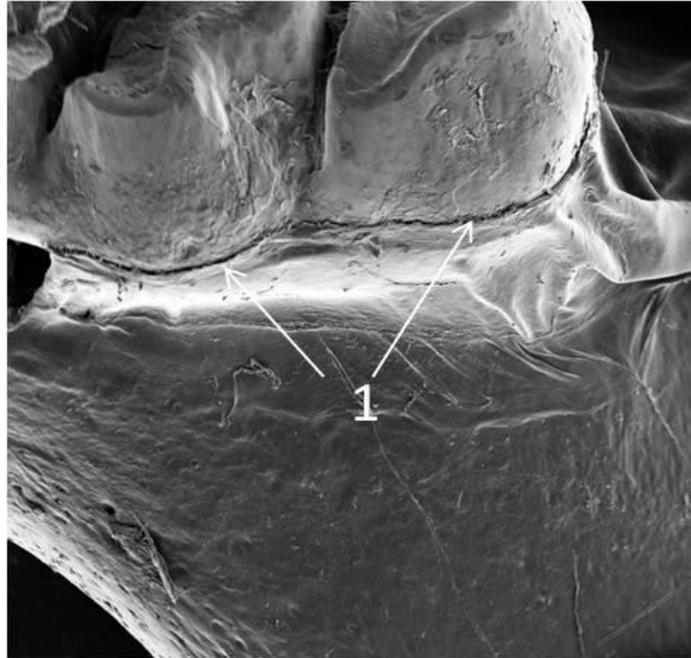


Рисунок 3.3 – электронно-микроскопическое изображение дистрофических процессов в твердых тканях пародонта (1) у экспериментальных животных 3-ей группы (через 30 суток после установки устройства).

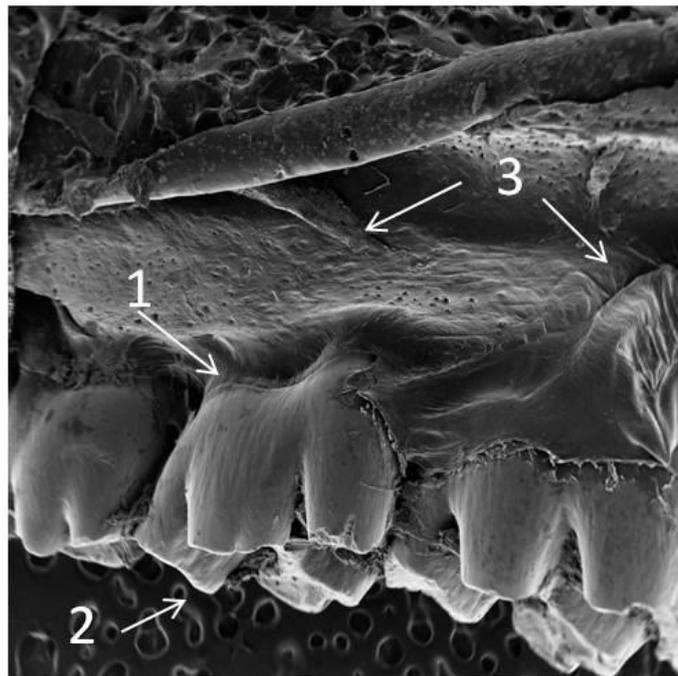


Рисунок 3.4 – электронно-микроскопическое изображение дистрофических процессов в твердых тканях пародонта (1), формирование нефизиологической окклюзии в виде истирания режущих краев зубов и межбугорковых контактов (2) и переход патологического процесса на альвеолярную кость (3) и у экспериментальных животных 3-ей группы (через 30 суток после установки устройства).

экспериментальных животных 4-ей группы (через 60 суток после установки устройства)

Таким образом, в результате проведения экспериментальных и опытно-конструкторских исследований, предложено СИУ ФНОЧ у экспериментального животного, технологически отработанное в виде фиксирующегося на спине жилета с отверстиями для передних лап и шеи и застежкой на контактную ленту. СИУ существенно отличается от известных прототипов тем, что дополнительно содержит металлический шарик диаметром 3, 5 или 7 мм, со сквозным отверстием, через которое свободно пропущена круглая арамидная нить толщиной 1 мм с двумя симметрично расположенными силиконовыми ограничителями, жестко прикрепленная к металлическому кольцу, вшитому в воротник фиксирующего жилета.

Практическое значение разработанного СИУ ФНОЧ у экспериментального животного позволяет многократно использовать его в ходе моделирования патофизиологического эксперимента в течение неограниченного периода времени, что позволяет в отдаленной перспективе оценивать механизмы выявляемых изменений, как местного (непосредственно в тканях пародонта), так и системного уровней.

Результаты, представленные в данной главе опубликованы в специализированных журналах, в том числе включенных в Перечень российских рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук, а также защищены патентом РФ на полезную модель:

1. Петросян, Г.Г. Стресс-индуцированные нарушения структуры тканей пародонта в эксперименте на животных / Г.Г. Петросян, С.В. Сирак, Р.Г. Романенко, А.Г. Тарабрина, Е.В. Щетинин // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2018. – №1. – С.73-77.

2. Патент на полезную модель №182498 «Стресс-индуцирующее устройство для формирования нефизиологической окклюзии полости рта» по заявке №2018103520(005143) от 30.01.2018).

ГЛАВА 4

ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ХРОНИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

На протяжении всего онтогенеза в организме и костной ткани наблюдаются многочисленные адаптивные изменения. К числу таких адаптивных сдвигов входят изменения внутренней архитектоники кости, что проявляется в частичном или полном рассасывании костного вещества, возникновение новых костных трабекул и новообразование костного вещества на основе предыдущих структур.

Одной из актуальных проблем современной стоматологии, является исследование патогенетических механизмов, лежащих в основе развития атрофии альвеолярных отростков при различных патологических состояниях зубочелюстной системы. Челюстная кость, которая при наличии зубов используется достаточно интенсивно, при пародонтите вследствие их потери переводится в состояния покоя и как следствие этого, возникают необратимые процессы, которые приводят к изменениям как органического, так и неорганического состава кости. Такое явление получило название вторичной атрофии костной ткани или «дисфункциональной» атрофии. Атрофические процессы в костях альвеолярных отростков наиболее выражены при осложненном заживлении (воспалительном процессе) после удаления зубов, а также при длительном использовании несъемных и съемных ортопедических конструкций. В этой связи, исследование механизмов, которые лежат в основе остеопатий, обусловленных воспалением или хроническим стрессом, имеют большое значение для разработки профилактических мероприятий при лечении пародонтита.

Все вышесказанное дает основание для рассмотрения в данном разделе настоящего научного исследования метаболических изменений, лежащих в основе инволютивных процессов в костной ткани челюстей при хроническом стрессе (ХС), обусловленном экспериментальным использованием СИУ ФНОЧ.

4.1. Функциональное состояние антиоксидантной системы, перекисного окисления липидов и минерального обмена в крови и костной ткани животных при экспериментальном ХС

Как свидетельствуют проведенные исследования, содержание диеновых конъюгатов (ДК) и малонового альдегида (МДА) в сыворотке крови у животных изучаемых групп имело разное значение (табл. 4.1).

Таблица 4.1 – Содержание диеновых конъюгатов и малонового диальдегида в сыворотке крови крыс ($M \pm m$; нмоль/мл)

Продукты ПОЛ ДК/МДА	Группы				
	1 (контроль)	2	3	4	5
ДК	2,23±0,08	4,28±0,17*	5,68±0,34*	6,82±0,19*	6,48±1,55*
МДА	1,42±0,26	2,01±0,52	3,75±0,18*	4,55±0,44*	4,37±0,95*

Примечание: * - достоверные сдвиги показателей, относительно контрольной группы при $p < 0,05$

Было проведено определение в сыворотке содержание диеновых конъюгатов. Их содержание составило 2,23±0,08 нмоль/мл, 4,28±0,17, 5,68±0,34, 6,82±0,19 и 6,78±1,55 соответственно во 2-й, 3-й, 4-й и 5 группах животных. Приведенные данные свидетельствуют о том, что в исследуемых группах животных наблюдается усиление образования начального продукта перекисного окисления липидов при увеличении длительности эксперимента.

Обращает на себя внимание одна деталь: в интервалах между 2-ой, 3-ей и 4-ой группой животных отмечается постоянный прогрессирующий рост содержания диеновых конъюгатов (с разницей между группами в среднем, в 1,88 нмоль/мл) и малонового альдегида (с разницей между группами в среднем, в 1,23 нмоль/мл), а в интервале между 4-ой и 5-ой группой (60 и 90 суток соответственно) – снижение данных показателей, в среднем, на 0,34 и 0,18 нмоль/мл соответственно (значения статистически недостоверны, $p > 0,05$).

Данный факт является свидетельством относительного снижения интенсивности процессов ПОЛ несмотря на достаточно высокие его показатели в начальные сроки эксперимента, такое явление, очевидно, отражает состояние всех метаболических процессов, связанных с постепенной адаптацией организма к стрессу.

С целью более точной оценки состояния процессов ПОЛ рассчитан коэффициент соотношения между ДК/МДА. В результате расчетов установлено, что у животных контрольной группы он составляет 1,64, во 2-ой – 2,12, в 3-ей – 1,51, в 4-ой – 1,49, в 5-ой – 1,48 (значения статистически достоверны только для 2-ой группы, $p < 0,05$).

Таким образом, приведенные результаты исследования являются свидетельством того, что с увеличением продолжительности воздействия стрессового фактора (СИУ ФНОЧ) возрастает содержание как начальных, так и промежуточных продуктов ПОЛ. Наиболее интенсивно их количество увеличивается в периоде с 15 по 30-е сутки (2-я и 3-я группы), но самый высокий уровень их содержания отмечается в 4-ой группе (60 суток), а к 90-м суткам (5-я группа), их содержание начинает снижаться. При этом необходимо отметить, что скорость накопления малонового диальдегида несколько выше, чем скорость накопления диеновых конъюгатов, то есть становится очевидным, что с увеличением продолжительности воздействия стрессового фактора преобладает процесс образования именно промежуточных продуктов ПОЛ.

В связи с вышеизложенным, интересным представляется изучение состояния системы антирадикальной защиты, которая исследована по активности ключевого фермента супероксиддисмутазы (СОД).

Как свидетельствуют результаты исследований (табл. 4.2) активность СОД имеет существенные отличия у животных различных групп, но если интенсивность процессов ПОЛ растет от срока к сроку наблюдения (за исключением 5-ой группы), то в случае показателей СОД отмечаются разнонаправленные изменения.

Таблица 4.2 – Активность СОД в сыворотке крови крыс различных групп ($M \pm m$; у.е./мл)

Показатель	Группы животных				
	1 (контроль)	2	3	4	5
СОД	138,5±11,7	159,3±16,2*	122,45±11,2	104,26±7,41	128,8±5,94*

Примечание: * - достоверные сдвиги показателей, относительно контрольной группы при $p < 0,05$

В ходе проведенных исследований выяснилось, что у животных контрольной группы активность супероксиддисмутазы составляла, в среднем, $138,52 \pm 11,7$ у.е./мл. В опытных группах этот показатель вариировал в зависимости от сроков: $159,38 \pm 16,2$, $122,45 \pm 11,2$, $104,26 \pm 7,41$ и $128,87 \pm 5,94$, соответственно во 2-й, 3-й, 4-й и 5 группах. Анализ полученных результатов исследования показывает, что в промежутке между 15-ми и 30-ми сутками эксперимента (2-я и 3-я группы соответственно) активность фермента падает на $36,97$ у.е./мл. К 60-м суткам эксперимента падение замедляется до $18,19$ у.е./мл (по сравнению с предыдущим результатом в срок 30 суток). К 90-м суткам (5-я группа) активность супероксиддисмутазы ниже значений контрольной группы всего на $9,65$ у.е./мл (разница значений статистически достоверна, $p < 0,05$).

Для того, чтобы выяснить соотношение функционального состояния АОС и интенсивности процессов ПОЛ у животных различных групп проведены расчеты коэффициентов между активностью СОД и содержанием начального продукта ПОЛ – диеновых конъюгатов.

В результате установлено, что у животных 2-ой группы такой коэффициент составляет $62,84$, в 3-ей группе – $36,14$, в 4-ой группе - $22,56$, в пятой группе – $16,89$.

Таким образом, анализ проведенных расчетов свидетельствует о том, что с увеличением продолжительности воздействия стрессового фактора (СИУ ФНОЧ) в организме животных наблюдается снижение не только функциональной способности, но и буферной емкости антиоксидантной системы защиты. Указанное усиление активности супероксиддисмутазы у

животных 3-ей и 4-ой групп на фоне почти двукратного повышения содержания диеновых конъюгатов, очевидно, является свидетельством того, что в начальном периоде развития стресса соотношения в системе ПОЛ/АОС переходят на новый стационарный уровень. Следовательно, на основании полученных экспериментальных данных и проведенных расчетов сделано предположение о том, что каждому периоду стрессовой реакции (от 15 до 90 суток) соответствует свой стационарный уровень взаимоотношений между АОС и ПОЛ.

На начальном периоде формирования нефизиологической окклюзии (15 суток), когда интенсивность метаболических процессов достаточно высокая, функциональная способность и буферная емкость всех звеньев АОС является очень мощной и поэтому способна содержать ПОЛ на низком стационарном уровне. После прохождения пика данных (30-60 суток) отмечается постепенное снижение мощности АОС, что сопровождается интенсификацией ПОЛ и смещением равновесия в сторону накопления избыточных количеств его как начальных, так и конечных продуктов. Возможно, что такие сдвиги равновесия в системе ПОЛ-АОС является одним из пусковых механизмов инволюционных изменений организма в целом, так и в отдельных его системах, и в том числе, и в костной ткани.

С целью выяснения этих предположений проведены исследования содержания фосфора и кальция в сыворотке крови крыс.

Как свидетельствуют проведенные экспериментальные исследования (табл. 4.3) содержание кальция в сыворотке крови у экспериментальных животных имеет достаточно существенные отличия. У животных 2-ой группы животных содержание кальция в сыворотке крови составляет $4,75 \pm 0,14$ ммоль/мл, в 3-ей группе – $6,9 \pm 0,12$ ммоль/мл, в 4-ой – $7,2 \pm 0,28$ ммоль/мл и в 5-ой – $7,9 \pm 1,32$ ммоль/мл.

Анализ полученных результатов показывает, что интенсивность изменений содержания кальция в сыворотке крови в разные периоды эксперимента имеют весьма существенные различия. Так в период от 15 до 30 суток содержание кальция в сыворотке крови возрастает на 26,4% по отношению

к контролю, в период от 30 до 60 суток - на 29,6% и в период от 60 до 90 суток - на 58,6% по отношению к контролю.

Таблица 4.3 – Содержание кальция и фосфора в сыворотке крови ($M \pm m$; нмоль/мл)

Показатель	Группы				
	1 (контроль)	2	3	4	5
Са	3,62±0,18	4,75±0,14	6,9±0,12*	7,2±0,28*	7,9±1,32*
Р	2,93±0,09	3,82±0,7	4,43±0,6	4,92±0,25	5,32±0,8*

Примечание: * - достоверные сдвиги показателей, относительно контрольной группы при $p < 0,05$

Следовательно, во временном отношении наиболее значительным изменениям подвергается содержание кальция в период от 60 до 90 суток после начала использования СИУ ФНОЧ. Не исключен тот факт, что данный процесс связан с состоянием всех метаболических процессов организма в целом. Таким образом, приведенные данные и их соответствующий анализ является свидетельством того, что после начала использования СИУ ФНОЧ происходит значительное угнетение обмена кальция и увеличение его содержания в сыворотке крови. Этот факт подтверждает высказанное выше предположение о том, что с при ХС наблюдается сдвиг минерального обмена.

Анализ особенностей изменений содержания неорганического фосфора в сыворотке крови животных с СИУ показал следующее. Как свидетельствуют проведенные экспериментальные исследования, содержание неорганического фосфора в сыворотке крови животных 2-ой группы составляет 3,82±0,07 ммоль/мл, в 3-ей – 4,43±0,6, в 4-ой – 4,92±0,7 и в 5-ой – 5,32±0,8.

Итак, как и в случае с кальцием отмечается тенденция к росту содержания фосфора в сыворотке крови крыс в условиях ХС. Проведенные нами расчеты темпов роста содержания фосфора в сыворотке крови по срокам эксперимента показывает, что он не является одинаковым. Так в период от 15 месяца до 30 суток количество неорганического фосфора в сыворотке крови возрастает на 32,4%, от 30 до 60 – на 18,9% и от 60 до 90 суток – на 54,9% по отношению к

контролю. Если проанализировать проведенные расчеты, то оказывается, что в период ХСот 60 до 90 суток рост содержания неорганического фосфора в сыворотке крови является самым высоким. В период от 30 до 60суток интенсивность роста содержание неорганического фосфора несколько ниже, чем в первом периоде.

Достаточно показательными являлись расчеты соотношения Са/Р в сыворотке исследуемых групп животных. Как свидетельствуют приведенные данные (табл. 4.4) коэффициент Са/Р имел характерные особенности для каждой возрастной группы и проявлял тенденции к снижению.

Таблица 4.4 – Соотношение содержания кальция и фосфора в сыворотке крови

Показатель	Группы				
	1 (контроль)	2	3	4	5
Са/Р	1,12±0,09	1,15±0,14	1,09±0,16	1,02±0,15*	0,92±1,18*

Примечание: * - достоверные сдвиги показателей, относительно контрольной группы при $p < 0,05$

У животных 2-ой группы (15 суток) коэффициент соотношения Са/Р в сыворотке крови составляет 1,15±0,14, в 3-ей – 1,09±0,06, в 4-ой - 1,02±0,15 и в 5-ой -0,92±0,18. Анализ этих данных показывает, что в период от 15 до 30 суток соотношение Са/Р статистически не отличается от показателей контрольной группы. Это является свидетельством того, что в данный период ХС минеральный обмен соответствует физиологическим потребностям организма. Начиная с 60 суток после начала формирования ХС, происходит постепенное снижение этого коэффициента с максимальными сдвигами на 90-е сутки. Выявленная закономерность, очевидно, является свидетельством того, что с увеличением срока воздействия ХС у подопытных животных происходит постепенное нарушение баланса между процессами реминерализации и деминерализации с соответствующим структурно-метаболическим сдвигом в костной ткани, которые способствуют выходу ионов кальция и неорганического фосфора из твердых тканей, в том числе и зубов.

Для того, чтобы дать характеристику механизмам формирования органического матрикса костной ткани проведены исследования активности гиалуронидазы и содержание суммарных гликозаминогликанов в крови. Фермент гиалуронидаза является одним из факторов межклеточной проницаемости и катализирует превращение гиалуроновой кислоты.

Как свидетельствуют проведенные исследования у экспериментальных животных с СИУ, происходят значительные изменения активности гиалуронидазы (табл. 4.5).

Таблица 4.5 – Активность гиалуронидазы плазмы крови (ГПК) ($M \pm m$; МЕ/мл)

Показатель	Группы				
	1 (контроль)	2	3	4	5
ГПК	$7,3 \pm 0,18$	$10,5 \pm 0,22$	$15,3 \pm 0,52^*$	$19,7 \pm 1,33^*$	$21,4 \pm 2,32^*$

*Примечание: * - достоверные сдвиги показателей, относительно контрольной группы при $p < 0,05$*

У животных 2-ой группы активность гиалуронидазы в плазме крови крыс составляет $10,5 \pm 0,22$ МЕ/мл, в 3-ей - $15,34 \pm 0,52$, в 4-ой – $19,7 \pm 1,33$ и в 5-ой группе – $19,7 \pm 0,25$ МЕ/мл. Анализ указанных данных показывает, что на протяжении первых 30 суток животных активность гиалуронидазы увеличивается на 47,8%, а с 60 по 90 сутки - только на 24,5%.

Итак, наиболее отчетливым изменениям активности гиалуронидаза подвергается в первые 30 суток после начала использования СИУ ФНОЧ, далее в течение последующих 30 суток интенсивность активации фермента несколько ниже и самая низкая она в последние 30 суток.

На основании полученных результатов исследования и проведенного анализа установлено, что такая отчетливая активация гиалуронидазы на протяжении первых 60 суток эксперимента обусловлена гормональными и метаболическими перестройками в результате использования СИУ ФНОЧ, а изменения, происходящие в период с 60 по 90 сутки обусловлены инволюционными изменениями организма.

Связывая полученные результаты с описанными выше данными следует отметить, что в процессе эксперимента в организме крыс наблюдаются инволюционные изменения, поэтому усиление активности гиалуронидазы способствует нарушению проницаемости мембран вследствие уменьшения содержания гиалуроновой кислоты, которая как известно, является своеобразным биологическим фильтром и выполняет роль биологического цемента. В связи с этим под влиянием гиалуронидазы указанная фильтрующая система нарушается, и в межклеточном пространстве накапливаются избыточные количества межклеточной воды и появляются различные молекулы, в том числе и крупные - развивается отек.

Результаты исследования количественного содержания сульфатированных гликозаминогликанов (сГАГ) в сыворотке крови животных разных групп показали следующее. В результате проведенных экспериментальных исследований установлено, что показатели количественного содержания сГАГ в сыворотке крови у экспериментальных животных имеют существенные различия.

Как свидетельствуют приведенные результаты исследований у животных 2-ой группы, содержание сГАГ в сыворотке крови составляет $37,12 \pm 0,8$ мкмоль/л, в 3-ей группе – $46,82 \pm 4,8$, в 4-ой – $54,63 \pm 1,8$ и 5-ой – $32,47 \pm 2,6$ мкмоль/л.

Таблица 4.6 – Содержание сульфатированных гликозаминогликанов в сыворотке крови крыс ($M \pm m$; мкмоль/л)

Показатель	Группы				
	1 (контроль)	2	3	4	5
сГАГ	$30,14 \pm 2,7$	$37,12 \pm 0,8$	$46,82 \pm 4,8^*$	$54,63 \pm 1,8^*$	$32,47 \pm 2,6$

*Примечание: * - достоверные сдвиги показателей, относительно контрольной группы при $p < 0,05$*

Проведенный анализ полученных результатов исследования свидетельствует о том, что на протяжении первых 15 суток в сыворотке крови крыс содержание сульфатированных гликозаминогликанов растет на 12,82%.

В течение следующего месяца содержание сульфатированных гликозаминогликанов в сыворотке крови крыс увеличивается еще на 35,74%. Совсем другая картина наблюдается через 90 суток: в этот период содержание сульфатированных гликозаминогликанов уменьшается по сравнению с 60-ми сутками животные на 48,14% и по сравнению с 30-ми сутками на 28,52%.

Таким образом, в отличие от предыдущих показателей в данном случае впервые наблюдается резкое уменьшение содержания гликозаминогликанов по сравнению с крысами, выведенными из эксперимента на 30-е и 60-е сутки. Данный факт является свидетельством деструктивных изменений в костной ткани не только неорганического, но и органического компонента.

4.2. Патогистологическая оценка стресс-индуцированных нарушений структуры тканей пародонта в эксперименте на животных

Патогистологическое изучение зубоальвеолярных блоков показало, что через 15 суток после начала использования разработанного стресс-индуцирующего устройства костная ткань челюсти не имела признаков рассасываний и воспаления (рис. 4.1 – а). Десна и периодонт животных 2-ой экспериментальной группы находились в состоянии, сходном с пародонтом животных без СИУ. Однако имелись некоторые различия: в пульпе зубов животных основной группы наблюдалась гиперемия, стаз, резкое расширение сосудов, отмечалось истончение и прерывистость слоя одонтобластов, в препаратах животных контрольной группы сохранялась четкая линия кортикальной пластинки, отчетливый рисунок костных балок (рис. 4.1 – б).

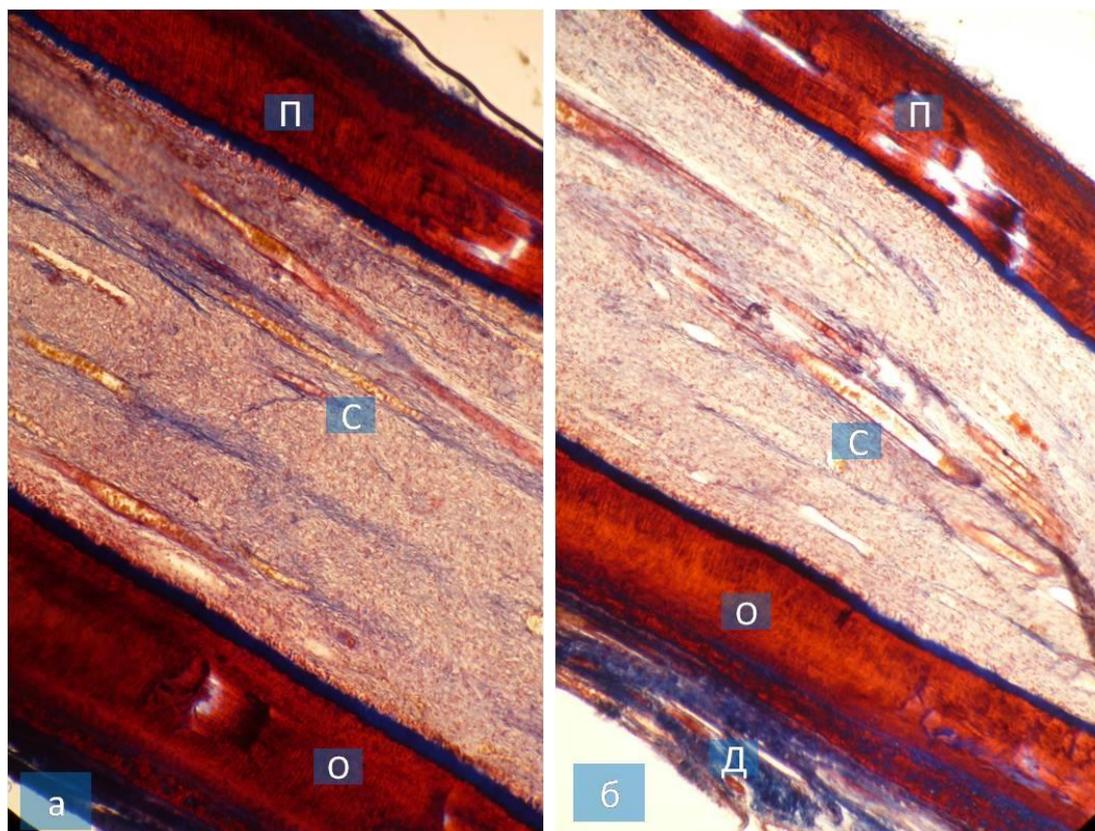


Рисунок 4.1 – микропрепараты зубоальвеолярных сегментов (гистологические срезы на уровне 1 моляра) крыс 1-ой (контрольной, а) и 2-ой (основная, б) групп через 15 суток после начала эксперимента. а – четкая линия кортикальной пластинки (П), отчетливый рисунок слоя одонтобластов (О), неизменные в диаметре сосуды пульпы (С); б – гиперемия, стаз, резкое расширение сосудов (С), истончение и прерывистость слоя одонтобластов (О), клеточная инфильтрация десневых сосочков (Д), незначительное нарушение непрерывности кортикальной пластинки (П). Окраска по Массону. Об.20, ок.20

В ранние сроки использования (30-е сутки) разработанного стресс-индуцирующего устройства у животных 3-ей группы развивалась перестройка стенки альвеолы - появлялся неровный изъеденный край, базофильные линии склеивания, слоистость кости без видимого присутствия остеокластов (рис. 4.2 – а, б).

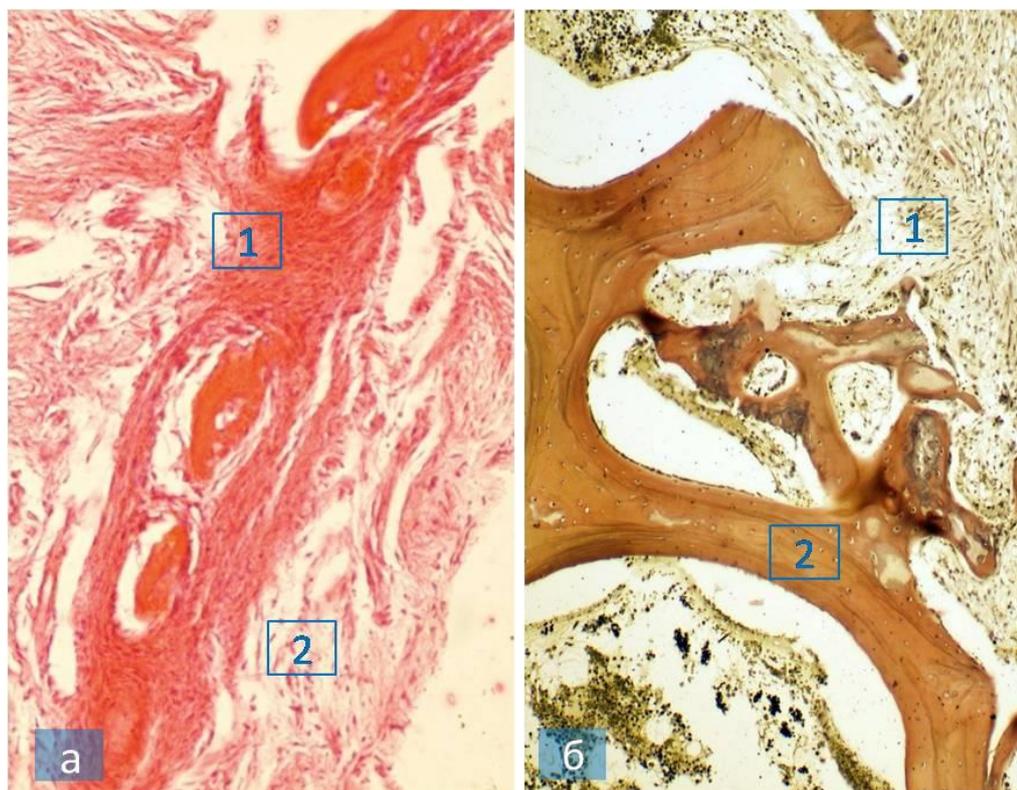


Рисунок 4.2 – микропрепараты зубоальвеолярных сегментов на уровне 1 (а) и 2 (б) моляра крыс 3-ей группы через 30 суток после начала эксперимента. а – базофильные линии склеивания (1), слоистость кости без видимого присутствия остеокластов (2); б – формирование неровного изъеденного края (1) на фоне перестройки стенки альвеолы (2). Окраска гематоксилином и эозином (а) и по Ван-Гизон (б). Ок. 10, об. 20

Отмечалась умеренная клеточная инфильтрация десневых сосочков (рис. 4.3 – а). На рентгенограммах рисунок костной ткани в глубине альвеолярного отростка утрачивал четкость. При электронно-микроскопическом исследовании установлено, что верхушки межальвеолярных перегородок оставались на уровне, сопоставимом с данными, полученными у животных контрольной группы, однако местами нарушалась непрерывность кортикальной пластинки без существенного расширения периодонтальной щели (рис. 4.3 – б).

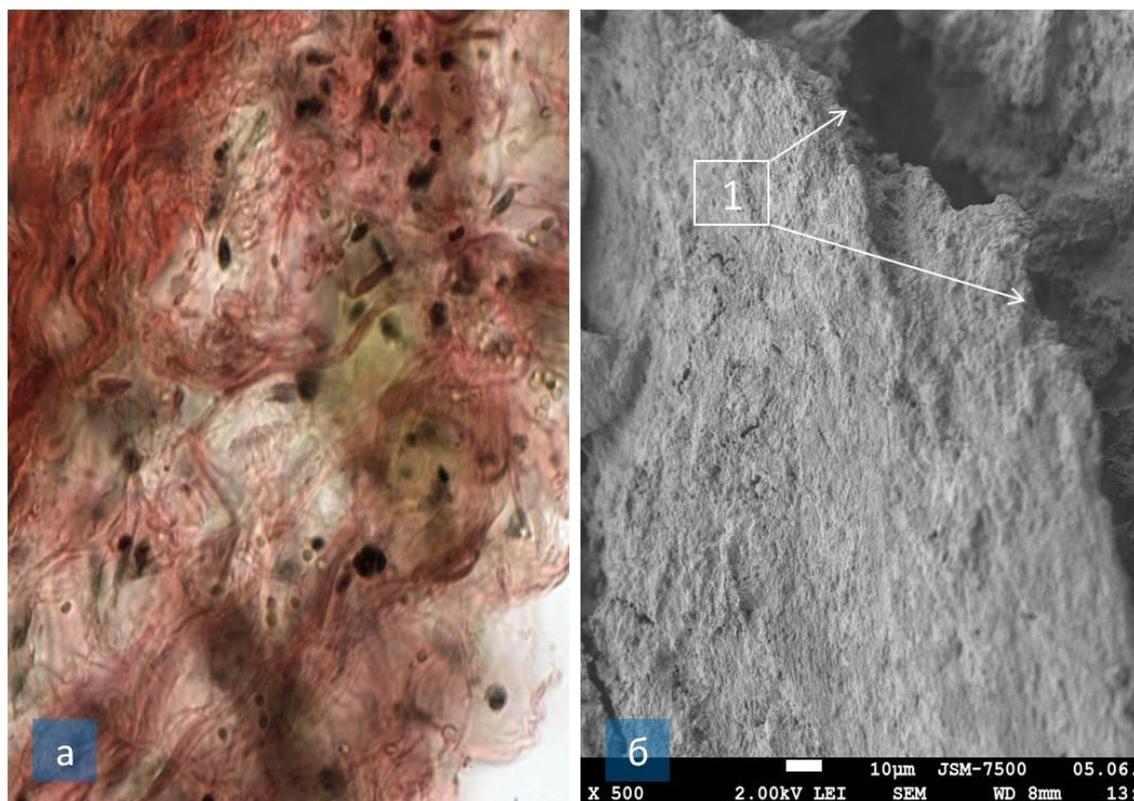


Рисунок 4.3 – микропрепараты зубоальвеолярных сегментов на уровне 1 моляра крыс 3-ей группы через 30 суток после начала эксперимента. а – умеренная клеточная инфильтрация в мягких тканях десны. Окраска по Ван-Гизон. Ок. 10, об. 20; б – нарушение непрерывности и целостности кортикальной пластинки в области периодонтальной щели (1). РЭМ.х500

Через 60 суток после начала использования разработанного стресс-индуцирующего устройства у животных 4-ой группы в области альвеолярного отростка челюстной кости отмечались некоторые выраженные явления атрофии, которые можно заметить при сравнении с животными контрольной группы (рис. 4.4 – а, б).

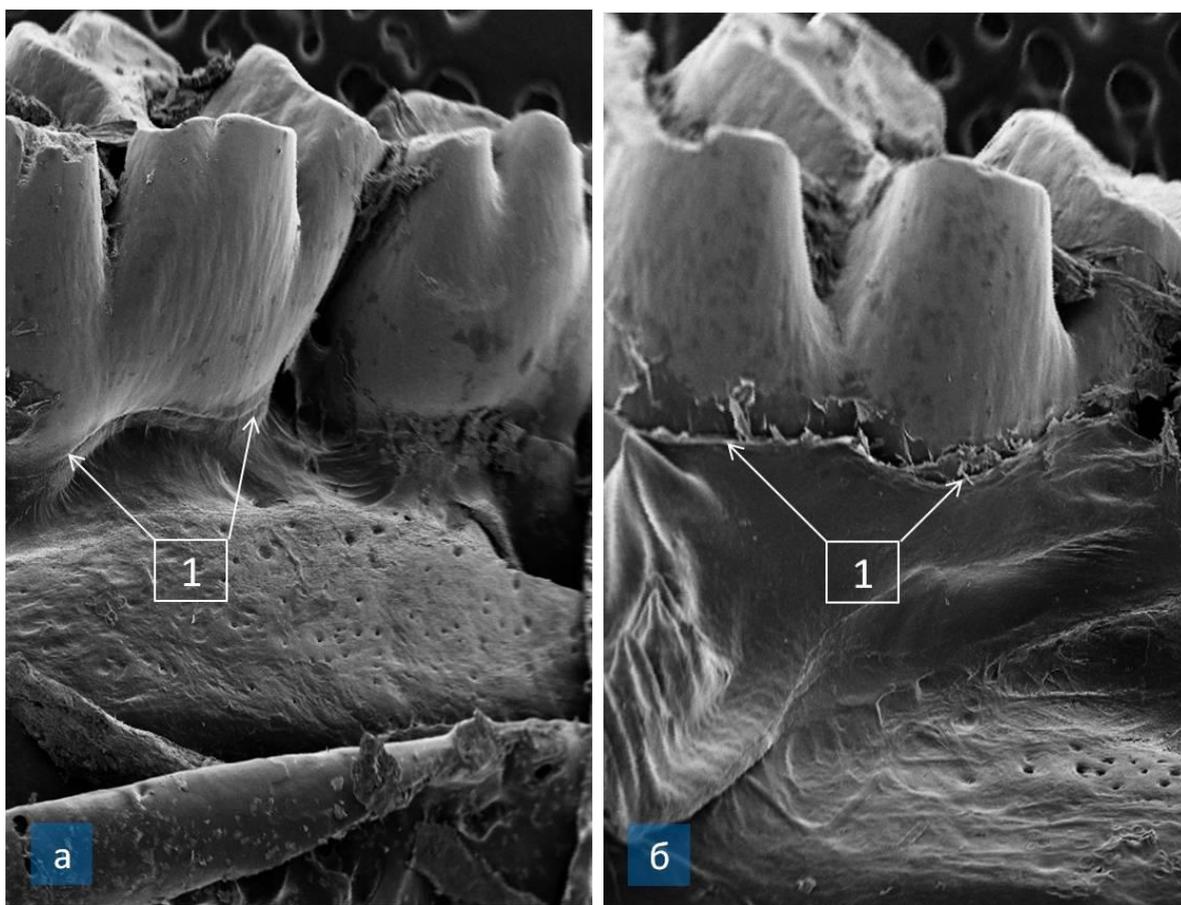


Рисунок 4.4 – микропрепараты зубоальвеолярных сегментов на уровне 1 моляра крыс контрольной (а) и 3-ей группы (б) через 30 суток после начала эксперимента. а – отсутствие изменений непрерывности кортикальной пластинки расширения периодонтальной щели (1); б – резко выраженные явления атрофии в области зубодесневого контакта (1), расширение периодонтальной щели. РЭМ.х500

В этот же срок наблюдения при гистологическом исследовании отмечались истонченные костные балки с расширенными костномозговыми пространствами, заполненными клеточными элементами костного мозга. Резорбция костной ткани происходила без участия остеокластов, в поле зрения регистрировались мегакариоциты на фоне многочисленных базофильных линий склеивания (рис. 4.5 – а). Обнаружены участки отложения молодой кости в виде оксифильных пластинок с клетками (рис. 4.5 – б).

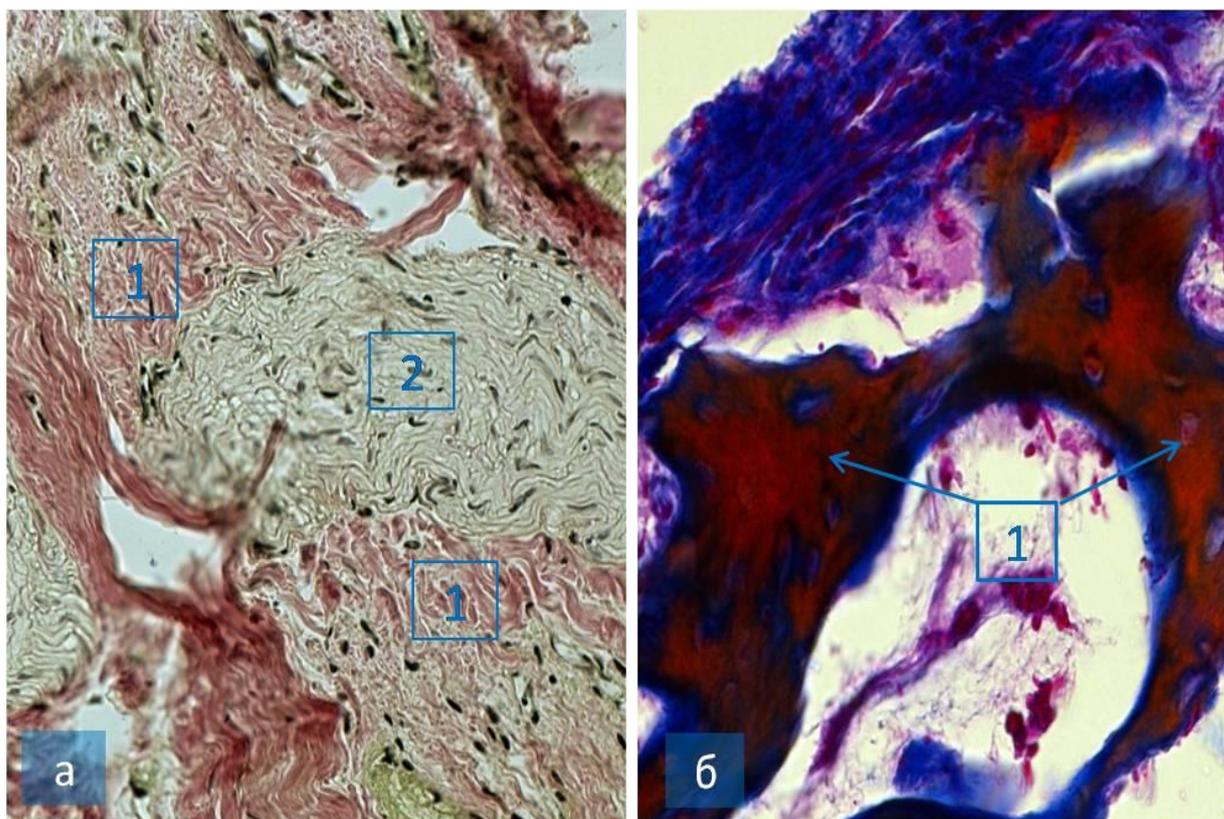


Рисунок 4.5 – микропрепараты зубоальвеолярных сегментов на уровне 1-го (а) и 2-го (б) моляра крыс 4-ой группы через 60 суток после начала эксперимента. а – истонченные костные балки с расширенными костномозговыми пространствами (1), многочисленные базофильные линии склеивания (2); б – участки отложения молодой кости (1) в виде оксифильных пластинок с клетками. Окраска по Ван-Гизон (а) и по Маллори (б). Ок. 10, об. 20 (а), ок. 20, об. 20 (б)

В десневых сосочках животных 4-ой группы (60 суток) отмечался умеренный клеточный инфильтрат, без нарушения целостности дна десневого кармана. Мягкие ткани десны отечны, инфильтрированы значительным количеством клеток лимфатического ряда (рис. 4.6)

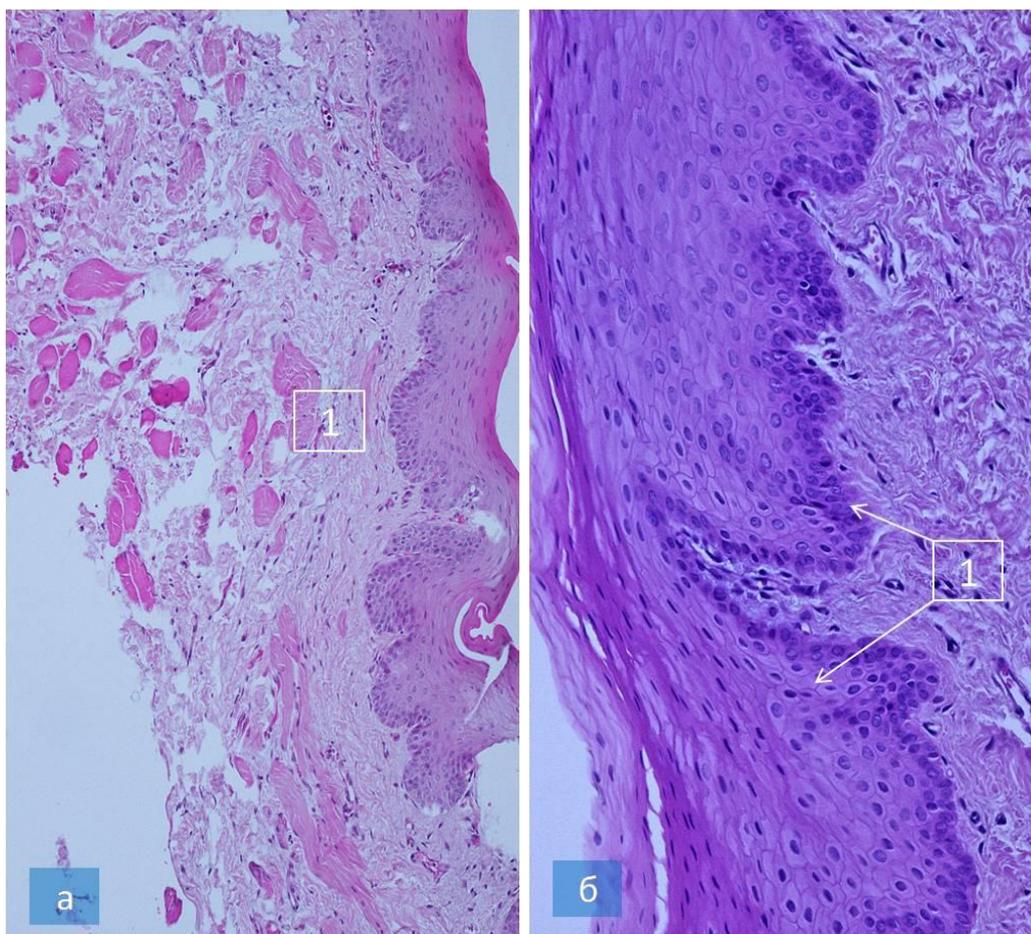


Рисунок 4.6 – микропрепараты зубоальвеолярных сегментов крыс на уровне 1-го моляра 1-ой (контрольная) (а) и 4-ой группы (б) через 60 суток после начала эксперимента. а – ткани пародонта (1) и соединительнотканная структура десны у животного контрольной группы; б – умеренный клеточный инфильтрат (1), отек с большим количеством клеток лимфатического ряда. Окраска по Маллори. Ок. 10, об. 20 (а), ок. 20, об. 20 (б)

На рентгенограммах обнаруживались очаги разрежения в альвеолярном отростке и в теле челюсти, резко выраженный гиперцементоз. При электронно-микроскопическом исследовании установлено, что имеются нарушения непрерывности кортикальной пластинки по краю зубной альвеолы, истирание режущих краев зубов и межбугорковых контактов, распространение патологического процесса деструкции на альвеолярную кость, однако верхушки межальвеолярных перегородок снижены пропорционально снижению общей высоты альвеолярного отростка.

Через 90 суток после начала использования разработанного стресс-индуцирующего устройства у животных 5-ой группы деструктивные изменения в костной ткани челюсти нарастали. Отмечались расширенные костномозговые пространства, в глубине тела челюсти костные обломки окружали многочисленные лимфоидные клетки (рис. 4.7 – а, б).

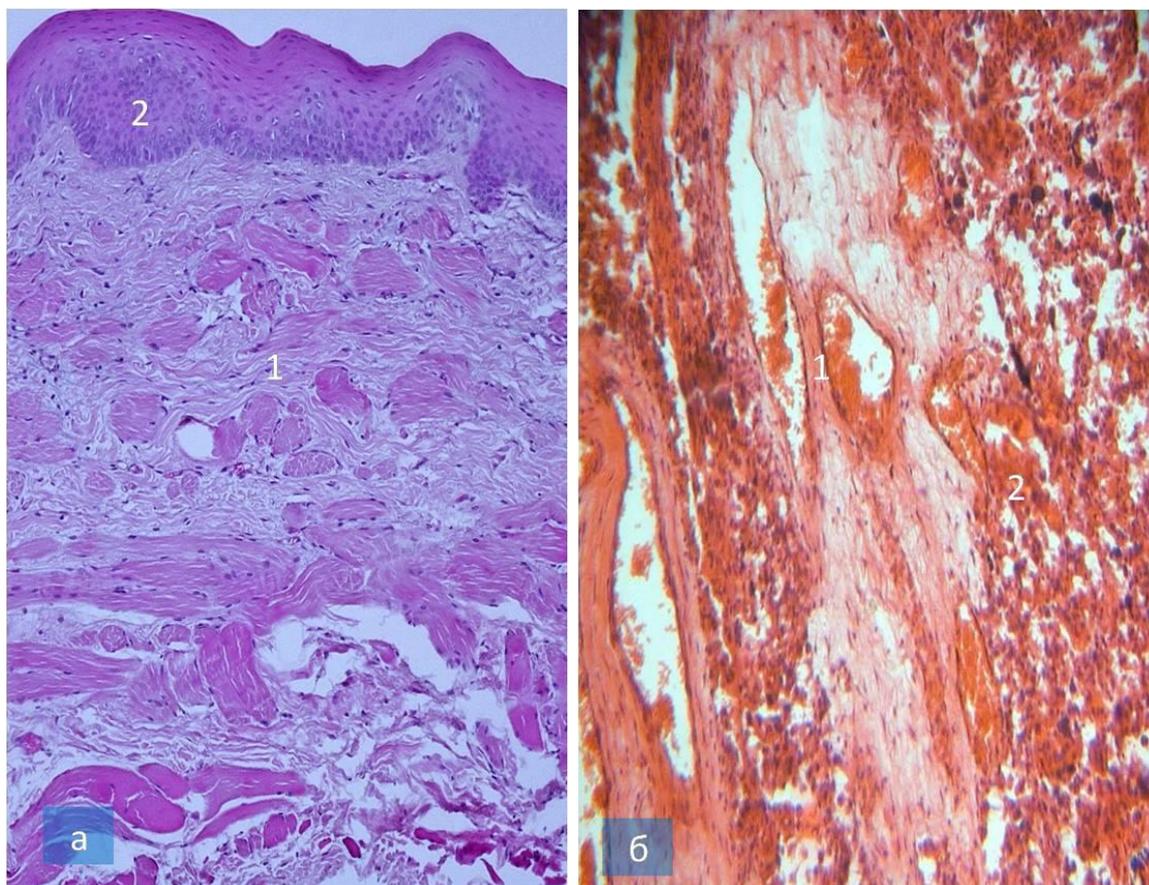


Рисунок 4.7 – микропрепараты зубоальвеолярных сегментов крыс на уровне 1-го моляра 1-ой (контрольная) (а) и 5-ой группы (б) через 90 суток после начала эксперимента. а – ткани пародонта (1) и соединительнотканная структура десны (2) у животного контрольной группы; б – расширенные костномозговые пространства (1), многочисленные лимфоидные клетки (2). Окраска по Маллори (а) и гематоксилином и эозином (б). Ок. 10, об. 20 (а), ок. 20, об. 20 (б)

Поверхность межальвеолярных и межкорневых перегородок неровная, местами на поверхности кости обнаруживались остеокласты. При электронномикроскопическом исследовании установлено слияние множественных очагов разрежения на фоне усиления резорбции костной ткани с выраженным гиперцементозом в области межальвеолярных перегородок (рис. 4.8 – а, б).

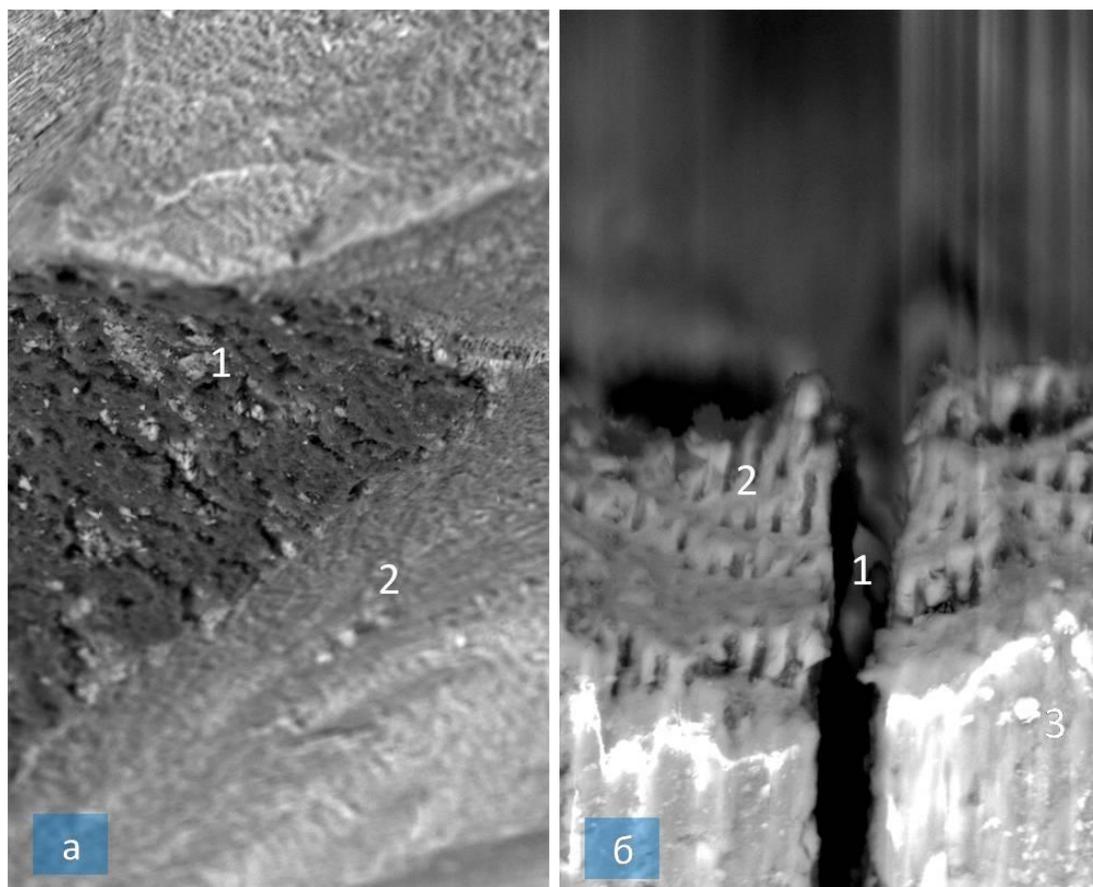


Рисунок 4.8– микропрепараты зубоальвеолярных сегментов на уровне 1 моляра крыс 4-ой (а) и 5-ой группы (б) через 60 (а) и 90 (б) суток после начала эксперимента. а – слияние множественных очагов разрежения (1) в альвеолярной кости (2); б – усиление резорбции костной ткани (1) с выраженным гиперцементозом (2) в области межальвеолярных перегородок.

РЭМ x2000

Полученные данные свидетельствуют о глубоких дистрофических изменениях, развивающихся в околозубных тканях у крыс в отдаленные сроки после начала эксперимента. Эти изменения проявлялись в виде резорбции костной ткани - губчатого вещества альвеолярного отростка. При этом десна и верхушки межальвеолярных перегородок длительное время (15-30 суток) оставались неизменными. Нарастание деструктивных явлений суток в глубине челюсти к сроку 60-90 приводило к атрофии альвеолярного отростка и в отдельных случаях, выпадению зубов (рис. 4.9 – а, б).

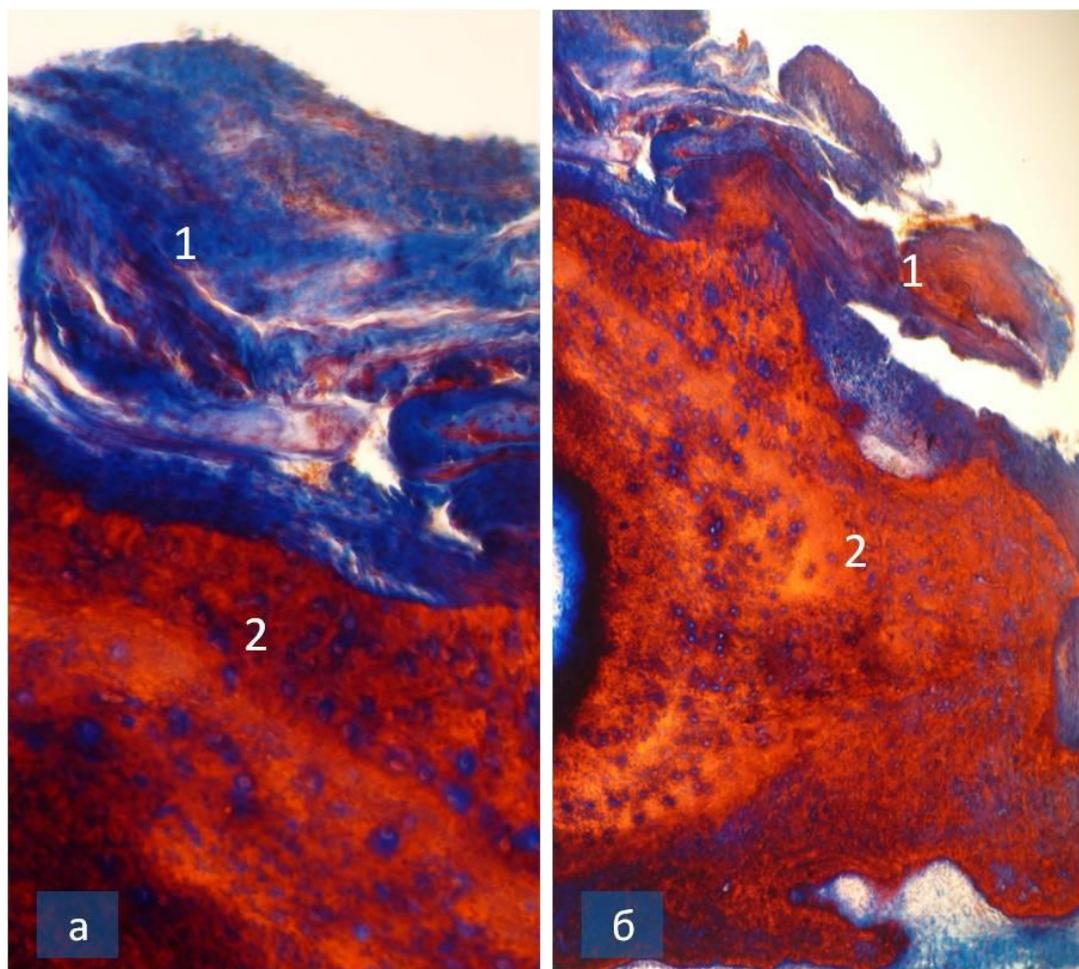


Рисунок 4.9 – микропрепараты зубоальвеолярных сегментов крыс на уровне 1-го моляра 1-ой (контрольная) (а) и 5-ой группы (б) через 90 суток после начала эксперимента. а – соединительнотканые структуры десны (1) и костная ткань альвеолярного отростка (2); б – дистрофия соединительнотканной основы десны (1), атрофия альвеолярного отростка (2). Окраска по Массону. Ок. 20, об.

20

Проведенные методом растровой электронной микроскопии исследования показали, что длительное использование разработанного устройства приводит к формированию нефизиологической окклюзии в виде истирания режущих краев зубов и межбугорковых контактов уже к 30-м суткам эксперимента, что особенно ярко проявлялось к сроку наблюдения 60-90 суток, когда наблюдалось выраженное истончение и деструкция краев зубных альвеол, а также распространение патологического процесса деструкции на альвеолярную кость (рис. 4.10 – а. б).

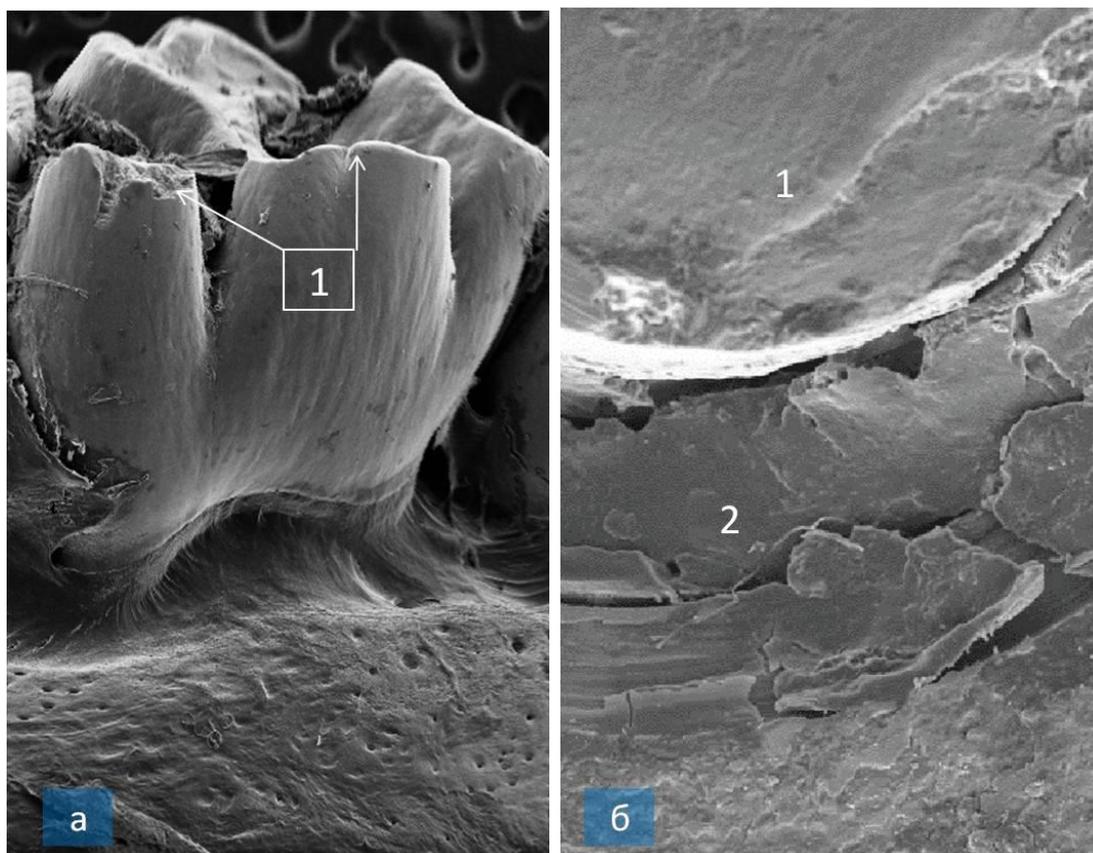


Рисунок 4.10 – микропрепараты зубоальвеолярных сегментов на уровне 1 моляра крыс контрольной (а) и 5-ой группы (б) через 90 суток после начала эксперимента. а – формирование нефизиологической окклюзии, истирание режущих краев зубов и межбугорковых контактов (1); б – распространение патологического процесса деструкции на альвеолярную кость (1), выраженное истончение и деструкция краев зубных альвеол (2). РЭМ.х500 (а), х2000 (б)

Статистический анализ показал, что число животных основных групп наблюдения с явлениями атрофии альвеолярного отростка (ААО) существенно не изменяется от срока к сроку исследования, различия недостоверны ($p > 0,5$). Также недостоверно и различие между степенью поражения тканей пародонта в опытных группах в каждый срок после начала эксперимента ($p > 0,5$). Необходимо еще раз отметить, что при математическом анализе данных учитывали всех животных с любой степенью атрофии альвеолярного отростка, большей или равной 1 баллу. Средний уровень ААО в опытной группе ($56,2 \pm 3,4\%$) статистически незначимо отличался от уровня ААО в контрольной

группе - $54,9 \pm 3,7\%$ ($p > 0,5$). Степень поражения альвеолярного отростка у крыс основных групп незначительно изменялась от срока к сроку исследования и несущественным образом отличалась от данных, полученных у животных группы контроля ($p > 0,05$).

Таким образом, статистический анализ показал, что ни частота возникновения, ни степень атрофического процесса, начинающегося с вершин межальвеолярных перегородок, не имеет прямой корреляционной связи с длительностью воздействия на организм стресс-индуцирующего фактора, показатели незначительно изменяются за 90 суток опыта и не отличаются статистически достоверно от соответствующих показателей у животных контрольной группы.

При анализе состояния костной ткани челюстей у крыс всех исследуемых групп отмечено, что степень ААО существенным образом связана с весом крыс ($p < 0,05$), что вполне согласуется с известными литературными данными, о том, что при стандартных условиях содержания в виварии у крыс наблюдается прямая зависимость между возрастом и весом.

Результаты вариационно-статистического анализа данных, полученных в основных группах, показали, что корреляционная зависимость между весом крыс и степенью атрофии альвеолярного отростка у животных закономерно нарастает по срокам после начала эксперимента. Если до 30 суток эта зависимость мало существенна ($r_{0-15} = +0,354$, $p > 0,05$), то в следующий период эксперимента и особенно, через 90 суток, зависимость выявляется в полной мере, о чем свидетельствуют показатели коэффициентов корреляции и достоверности связей ($r_{15-30} = +0,615$, $p < 0,05$; $r_{60} = +0,975$, $p < 0,05$; $r_{90} = +0,982$, $p < 0,05$). Положительные значения коэффициентов корреляции указывают на прямой характер зависимости: с увеличением веса крыс основных групп наблюдения, возрастает степень атрофии альвеолярного отростка (табл. 4.7).

Как показали полученные данные, в основных группах животных, особенно 4-ой и 5-ой (60 и 90 суток соответственно) обнаруживается прямая корреляционная зависимость между весом крыс и числом животных с атрофией

альвеолярного отростка, в то время как в контрольной группе этой зависимости не отмечается.

Таблица 4.7 – Корреляционная связь между весом и ААО в группах экспериментальных животных

Показатель	Стат. показатель	Контроль	Основная группа, сроки выведения из эксперимента		
			30 сут	60 сут	90 сут
Наличие ААО	r	+0,306	-0,316	+0,860	+0,935
Вес	p	>0,1	>0,1	<0,01	<0,01
ДИКК*	χ	0,125-0,532	0-0,518	0,725-0,932	0,785-0,985
Степень ААО	r	+0,675	+0,615	+0,780	+0,982
Вес	p	<0,05	<0,05	<0,02	<0,05
ДИКК*	χ	0,550-0,785	0,325-0,762	0,582-0,875	0,925-0,992

*Примечание: *- доверительный интервал коэффициента корреляции (χ)*

Высокий уровень достоверности связи через 15-30 и 60-90 дней после начала использования стресс-индуцирующего устройства подчеркивает объективный характер зависимости.

Таким образом, очевидно, что прибавка в весе животных основных групп наблюдения отражает не возрастные особенности организма, как в контрольной группе (у интактных животных), а особенности трофики организма, находящегося в стрессовой ситуации. В отдаленный период реконвалесценции (90 суток) выявлен прирост весовых характеристик, который совершенно непропорционален технологическим параметрам питания, что и приводит к развитию ожирения. Патогенез ожирения при стресс-индуцированном поражении тканей пародонта изучен пока недостаточно, поэтому неясно, почему оно возникает не у всех животных. Вместе с этим, следует отметить, что именно у тех крыс, у которых в отдаленные сроки после начала эксперимента (60-90 суток) развивается патологическое ожирение, чаще возникает и более глубоко распространяется атрофия альвеолярного отростка, начинающаяся с вершин межальвеолярных перегородок.

Полученные данные экспериментального исследования указывают на сложный характер патологических изменений в пародонте, возникающих после воздействия стресс-индуцирующего фактора, формирующего нефункциональную окклюзию челюстей. Наряду с тяжелыми деструктивными процессами, развивающимися в глубине челюстной кости, у некоторых животных основных групп наблюдались атрофические изменения вершин межальвеолярных перегородок. По-видимому, эти явления отражают участие различных патогенетических механизмов в формировании патологии пародонта при воздействии стресс-индуцирующего фактора на всю зубочелюстную систему в целом. Несомненная роль нарушений обмена веществ, проявляющаяся в увеличении веса животных опытных групп, нуждается в более детальном исследовании, учитывающем роль других гуморальных факторов хронического стресса в морфогенезе дистрофических изменений в тканях пародонта.

Резюме

Таким образом, комплекс проведенных биохимических исследований состояния ПОЛ-АОС, содержания кальция, фосфора, активности гиалуронидазы и содержания сульфатированных гликозаминогликанов в крови и процессов образования как минерального, так и органического костного компонентов нижней челюсти у крыс показал, что у экспериментальных животных с СИУ ФНОЧ происходят необратимые изменения метаболизма. Данные патологические процессы приводят к нарушению механизмов образования как органического, так и неорганического компонента костной ткани. Пусковым механизмом этих процессов, на наш взгляд, является снижение неспецифической резистентности организма, основным звеном которой является функциональное состояние АОС и ее способности к утилизации кислореактивных продуктов ПОЛ. Основанием для такого мнения являются полученные нами данные о том, что у экспериментальных животных, подвергнутых ХС, происходит постепенное снижение функциональной мощности и буферной емкости основных

функциональных звеньев АОС и интенсификация процессов ПОЛ, которые согласно существующим представлениям, способствуют усилению резорбтивных процессов в костных тканях челюстных костей.

Содержание данной главы освещено в научных статьях, опубликованных в специализированных журналах, в том числе включенных в Перечень российских рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук:

1. Sirak S.V. Osteoporotic sheep mandibular model for comparative alveolar bone healing research / S.V.Sirak, E.V.Shchetinin, D.Bobryshev, T.Fritsch, B.Giesenhagen, G.G.Petrosyan, N.N.Didenko, R.G.Romanenko, W.D.Grimm // Медицинский вестник Северного Кавказа. - 2017. - Т.12. - №3. - С. 284-289. <https://doi.org/10.14300/mnnc.2017.12091>.
2. Сирак А.Г. Экспериментальная оценка структуры эндотелия сосудов пародонта в динамике воспалительного процесса / А.Г.Сирак, Е.В.Щетинин, Н.И.Быкова, Г.Г.Петросян, С.В.Сирак, Р.Г.Романенко // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2018. –№1. – С.96-99.

ГЛАВА 5.

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИОКСИДАНТА ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ТКАНЯХ ПАРОДОНТА НА ФОНЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СТРЕСС-ИНДУЦИРУЮЩЕГО УСТРОЙСТВА

Проблема профилактики и лечения заболеваний пародонта привлекает внимание специалистов стоматологического профиля и исследователей в связи с высокой распространенностью этой патологии. Для фармакотерапии воспалительно-деструктивных заболеваний пародонта используется достаточно большой арсенал лекарственных средств, однако зачастую они не решают проблемы, поскольку не учитывают широкий спектр механизмов, задействованных в развитии данного патологического состояния, вызванного в частности длительным стрессом.

Для комплексного лечения и профилактики заболеваний пародонта в последнее время используют лекарственные средства метаболического типа действия, обладающих широким спектром фармакологической активности. Учитывая установленные нами ранее и подробно описанные в предыдущей главе настоящего исследования патофизиологические механизмы стресс-индуцированных повреждений тканей пародонта при ХС, в данной части диссертации рассматривается целесообразность применения фармакологических препаратов антигипоксического действия для коррекции этих повреждений.

В этой связи определенный интерес представляют сведения о положительном влиянии препарата этилметилгидроксипиридина сукцинат (ЭМГПС) на резистентность организма к воздействию повреждающих факторов и кислородзависимые патологические состояния. Известно, что ЭМГПС улучшает микроциркуляцию, активизирует функциональную активность эндотелия, стабилизирует мембранные структуры клеток, оказывает антигипоксическое, мембранопротекторное действие, повышает устойчивость организма к хроническому стрессу. Препарат ингибирует процессы ПОЛ,

повышает активность супероксиддисмутазы, оптимизирует энергетический метаболизм, на молекулярном уровне повышает устойчивость тканей к гипоксии. ЭМГПС, активируя антиоксидантную систему и тормозя процессы окисления липидов, уменьшает чувствительность сосудов к катехоламинам, кроме этого улучшает реологические свойства крови, положительно влияет на состояние местного кровотока.

В доступной литературе практически отсутствуют сведения о фактическом состоянии тканей пародонта при хроническом стрессе на фоне использования ЭМГПС. В этой связи новые данные о некоторых метаболических процессах в тканях пародонта в условиях хронического стресса (ХС), смоделированного с помощью разработанного СИУ ФНОЧ представляют особый интерес для исследователей.

Экспериментальные исследования в группе животных с СИУ, которым ежедневно внутрибрюшинно вводили ЭМГПС (50 мг/кг массы тела), дали возможность установить, что через 15 суток масса тимуса уменьшалась на 17,8% по сравнению с контролем ($p < 0,05$), на фоне введения физиологического раствора (эквивалентное количество) масса тимуса уменьшалась на 1,6% относительно контроля, данные статистически недостоверны ($p > 0,05$); масса надпочечников после 90 суток введения ЭМГПС выросла на 26,4% ($p < 0,05$), а после введения физиологического раствора - на 1,1% ($p > 0,05$) относительно контроля (рис. 5.1).

Позитивные изменения при использовании ЭМГПС происходили и в отношении слизистой оболочки желудка: уже после 15 суток использования СИУ, количество язв желудка в третьей группе уменьшилось на 56,4 и 54,8% ($p < 0,05$) по сравнению с крысами, которым не вводили препарат (2-я и 3-я группы соответственно). Через 90 суток количество язв желудка в 4-ой группе, в среднем, уменьшилось втрое относительно крыс, не получавших препарат (2-я и 3-я группы). В этих группах к окончанию эксперимента (90 суток) со стороны ротовой полости отмечались все клинические проявления, характерные для катарального гингивита. В частности, при осмотре, обращали на себя внимание

гиперемия десен с ярко выраженным сосудистым рисунком и как следствие явления отечности слизистой оболочки, при механическом зондировании обнаруживалась кровоточивость десен, а на зубах имелся налет.

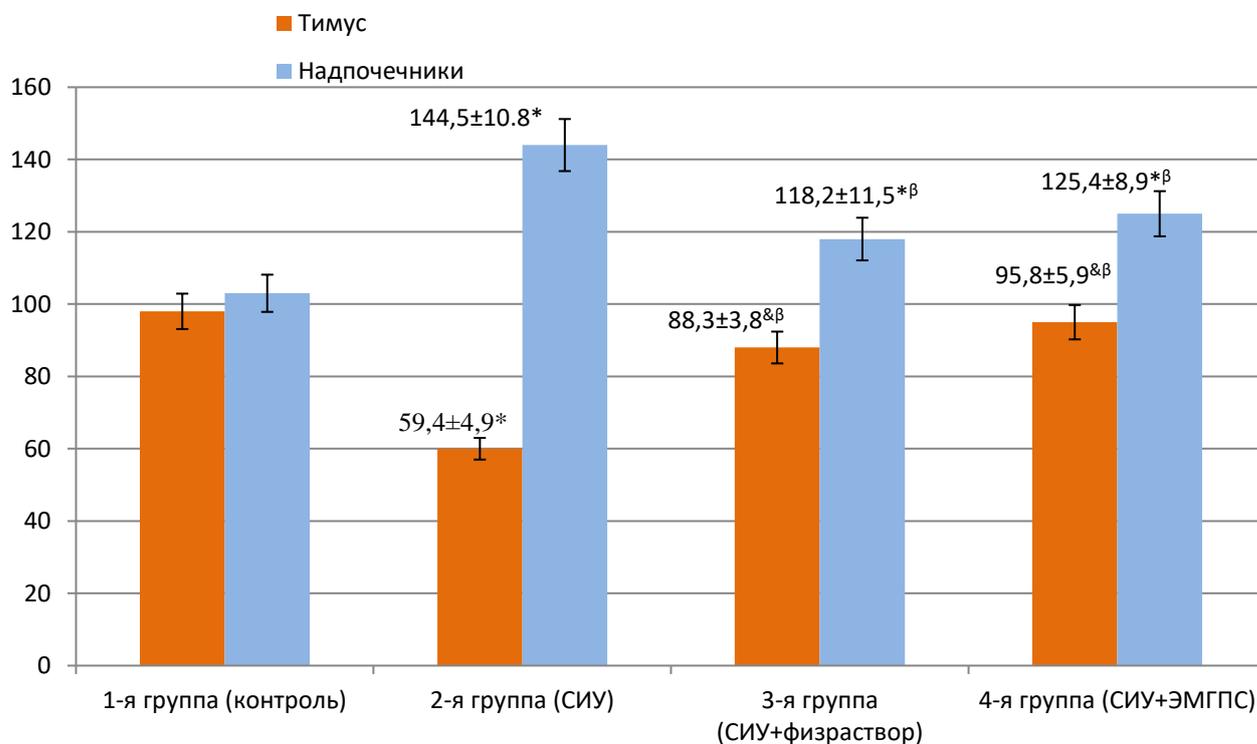


Рисунок 5.1 – Изменения массы тимуса и надпочечников при ХС; * - разница достоверна относительно 1-ой группы ($p < 0,05$); β - разница достоверна относительно 2-ой группы ($p < 0,05$); & - разница недостоверна относительно 1-ой группы (контроль, $p > 0,05$)

У животных, которым вводили ЭМГПС (4-я группа), признаков клинического воспаления десен зарегистрировано значительно меньше, выявлены изменения десен в цвете и незначительный отек слизистой в области маргинального пародонта.

5.1. Гистоморфологическая оценка изменений в ткани альвеолярного отростка челюстей и мягких тканей пародонта крыс при ХС

С целью предупреждения и коррекции развития стрессорных повреждений в тканях пародонта при ХС использовался ЭМГПС.

Следует отметить, что использование ЭМГПС в 4-ой группе животных к 90-м суткам после начала эксперимента приводило к достоверным изменениям в выраженности дистрофического процесса в пародонте крыс (табл. 5.1), что проявлялось в тенденции к уменьшению (в среднем, на 21,4 и 19,3% по отношению к показателям во второй и третьей группах животных) относительного обнажения корней зубов ($ОГК_{ср}$) и, соответственно, дистрофического процесса в челюсти.

Таблица 5.1 – Выраженность дистрофического процесса в пародонте у крыс при ХС (% $ОГК_{ср}$)

Группа животных	1-й моляр		2-й моляр		3-й моляр	
	$ОГК_{ср}$	λ	$ОГК_{ср}$	λ	$ОГК_{ср}$	λ
1-я группа, n=18 (контроль)	17,8±4,2	-	12,9±3,4	-	9,6±2,3	-
2-я группа, n=20 (СИУ)	56,4±7,3*	39,8	56,4±6,3*	44,6	57,6±8,3**	48,4
3-я группа, n=20 (СИУ+физраствор)	55,9±8,3*	38,4	52,3±5,6*	40,2	54,4±4,9*	44,7
4-я группа, n=20 (СИУ+ ЭМГПС)	42,5±5,4*	25,8	48,3±7,5*	36,8	35,6±6,8**	26,4

Примечание: * - достоверные сдвиги показателей, относительно контрольной группы при $p < 0,05$; ** - достоверные сдвиги показателей, относительно 2-й группы при $p < 0,05$

При исследовании гистологической структуры костной составляющей тканей пародонта во второй и третьей группах уже на 30 сутки после начала эксперимента отмечается костная структура, имеющая рыхлое строение в промежуточном слое, далеко от образования костной формации компактной консистенции (рис. 5.2 – а). Для 4-ой группы характерна минимальная интенсивность резорбции молодой формирующейся костной ткани при мало меняющемся количестве макрофагов и нейтрофилов. Это может быть следствием абсолютного недостатка, или относительной недостаточности активности ферментных систем с коллагенолитическим действием

(металлпротеиназа, коллагеназа и др.). В 4-ой группе к 30-м суткам эксперимента с использованием СИУ остеоны организованы, межтрабекулярные пространства заполнены нежным остеидным веществом. Новообразованные костные структуры приобретают зрелый вид только ближе к периферии, их граница с костной тканью альвеолярной кости не определяется (рис. 5.2 – б).

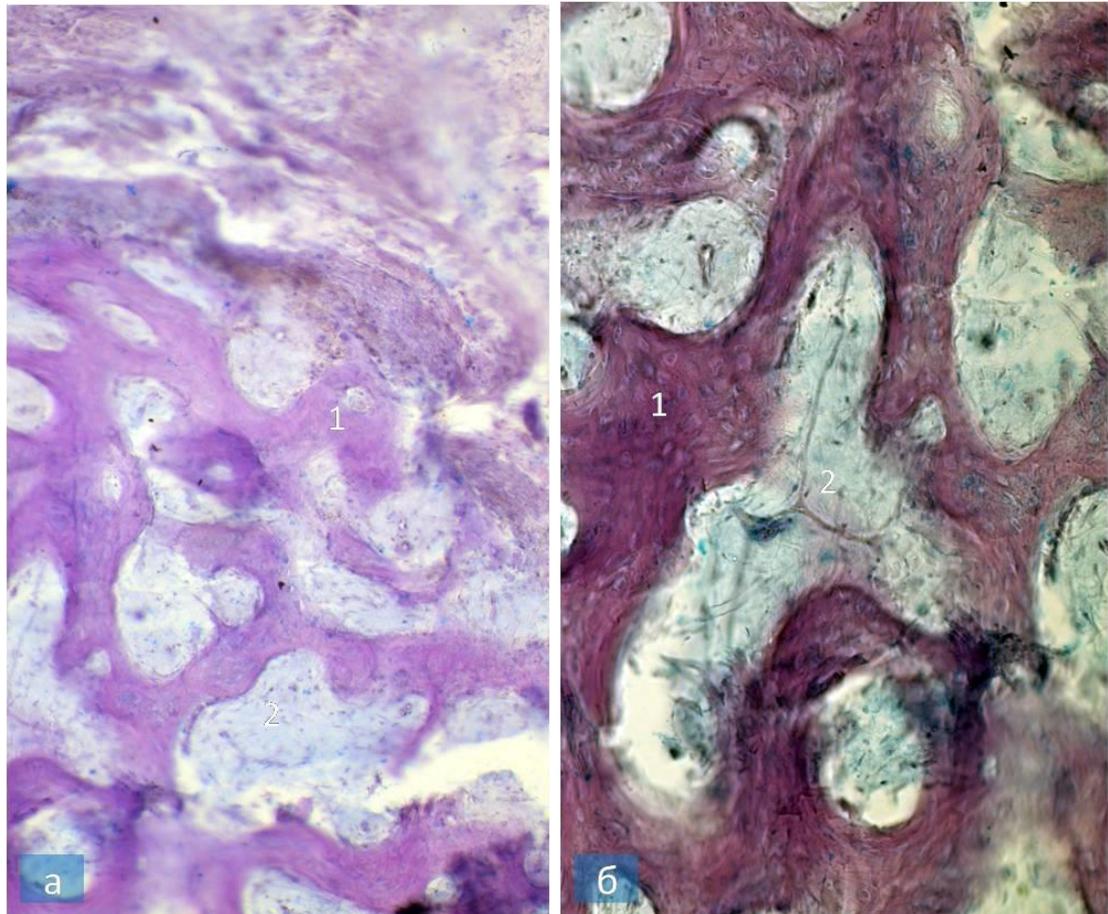


Рисунок 5.2 – Микропрепараты костных тканей пародонта. Гистологическая структура костного компонента тканей пародонта при ХС во 2-ой (СИУ) (а) и 4-ой (СИУ+М) (б) группах через 30 суток после начала эксперимента. а – рыхлая костная структура (1), с малодифференцированными клетками в межтрабекулярных пространствах (2); б – организованные остеоны (1), межтрабекулярные пространства со зрелым остеидным веществом (2).

Окраска по Маллори. Ок. 20, об. 20

На 60-е сутки эксперимента по моделированию ХС с использованием СИУ установлено, что во 2-ой и 3-ей группах (СИУ и СИУ+физраствор

соответственно) наблюдаются схожие процессы, в основе которых - замещение костного матрикса грубоволокнистой соединительной тканью на фоне резорбции костной составляющей трабекул (рис. 5.3 – а). В 4-ой группе наоборот, отмечено упорядоченное строение костных трабекул с формированием в межтрабекулярном пространстве пролифератов фибробластов с признаками активизации ангиогенеза микрососудистого русла (рис. 5.3 – б).

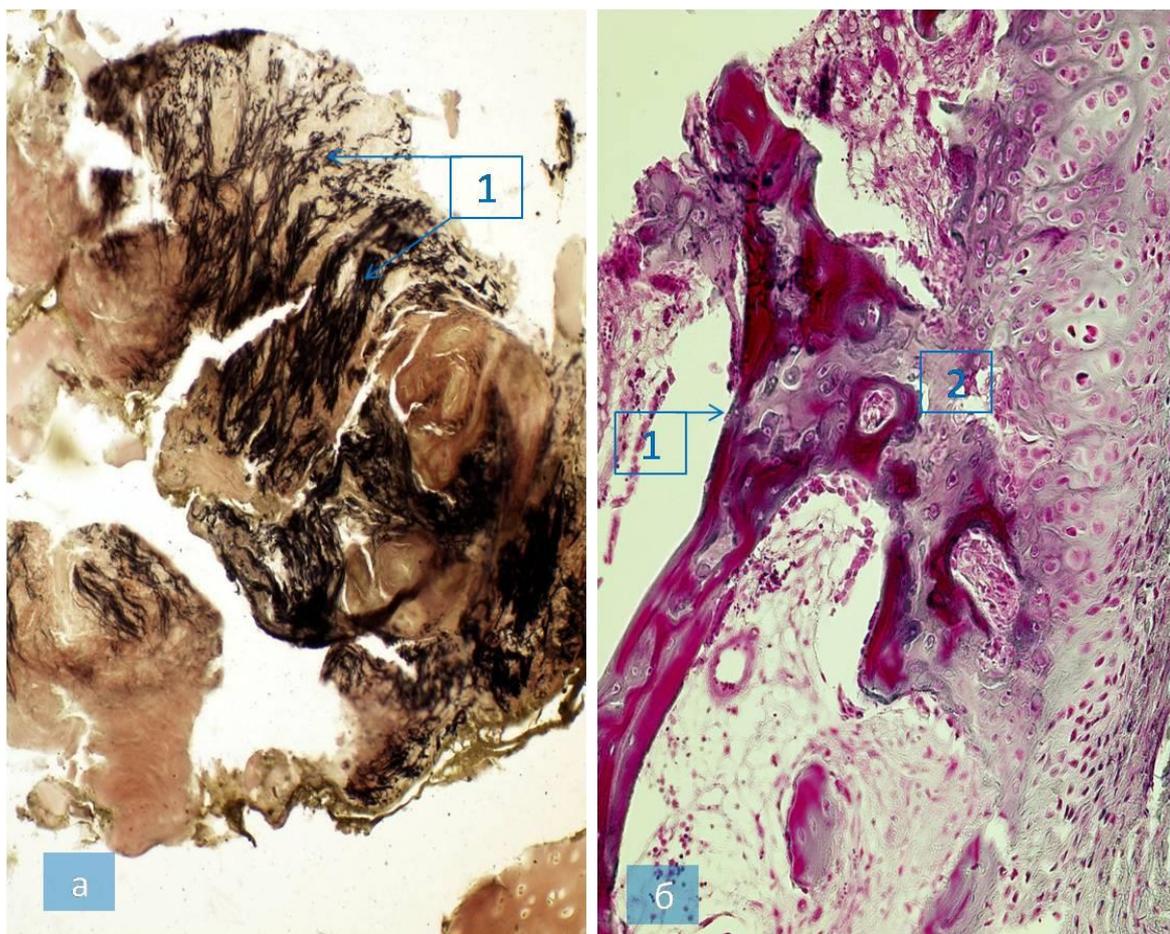


Рисунок 5.3– Микропрепараты костных тканей пародонта. Гистологическая структура костного компонента тканей пародонта при ХС в 3-ей (СИУ+физраствор) (а) и 4-ой (СИУ+ ЭМГПС) (б) группах через 60 суток после начала эксперимента. а – резорбция трабекул и заполнение межтрабекулярных пространств костного матрикса врастающей грубоволокнистой соединительной тканью (1); б – плотное расположение костных трабекул (1) с активным формированием в межтрабекулярном пространстве микрососудистого русла (2). Окраска по Ван-Гизон (а), по Маллори (б). Ок. 20, об. 20

К 90-м суткам после начала эксперимента установлено, что в структуре костной составляющей тканей пародонта во 2-ой и 3-ей группах основное место занимала склеротизированная соединительная ткань, в основном, в виде грубых пучков коллагеновых волокон (рис. 5.4 – а). В 4-ой группе данные явления выражены слабее, в анализируемых срезах превалирует организация костных структур в единый блок, состоящий из коротких и прямых остеоидных балочек (рис. 5.4 – б).

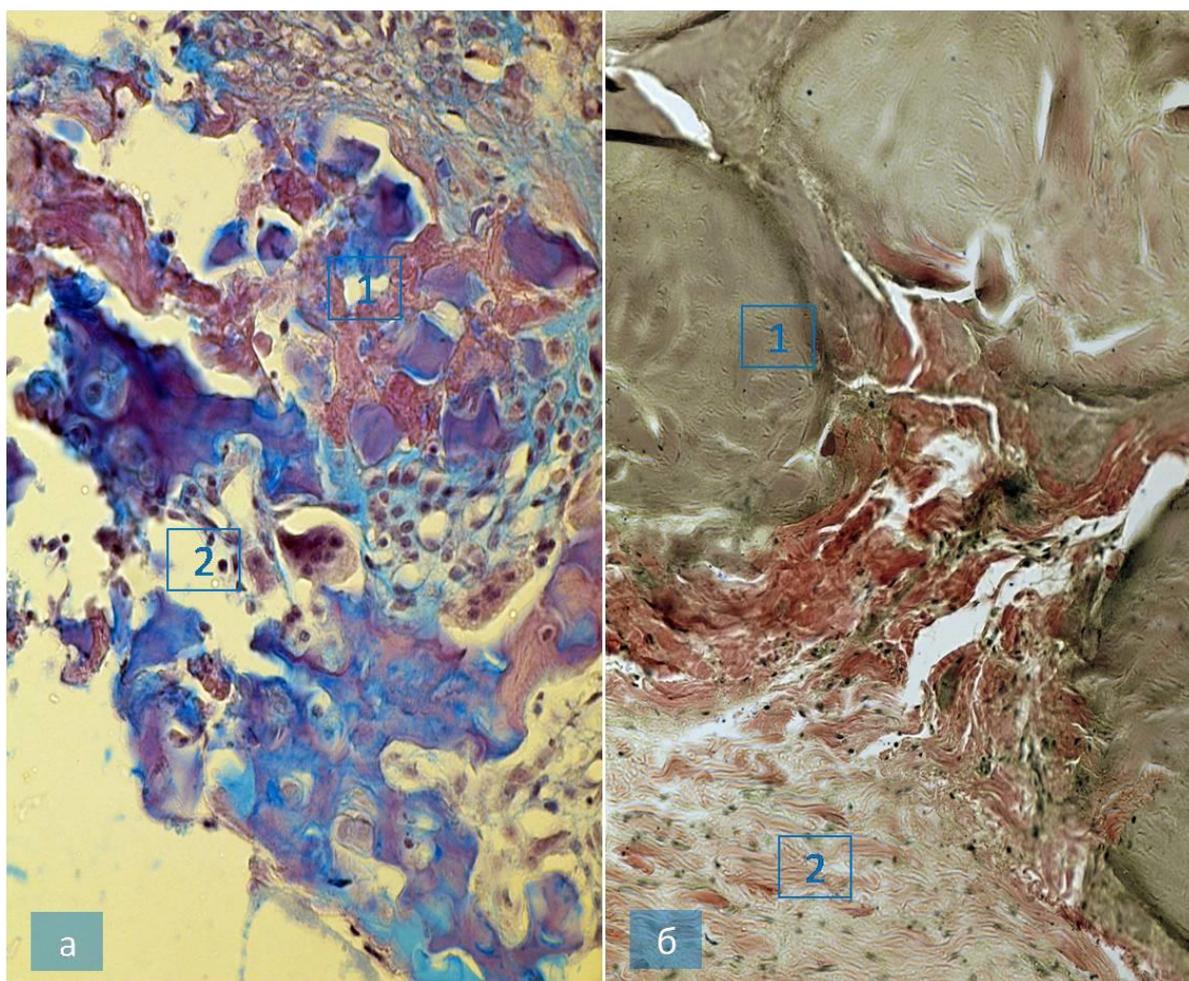


Рисунок 5.4 – Микропрепараты костных тканей пародонта. Гистологическая структура костного компонента тканей пародонта при ХС в 3-ей (СИУ+физраствор) (а) и 4-ой (СИУ+ ЭМГПС) (б) группах через 90 суток после начала эксперимента. а – склеротизированная соединительная ткань (1), в основном, в виде грубых пучков коллагеновых волокон (2); б – организация костных структур в единый блок, состоящий из коротких и прямых остеоидных балочек. Окраска по Маллори (а) и Ван-Гизон (б). Ок. 20, об. 20

Кроме вышеназванных процессов, во всех группах, кроме 4-ой не выявлено сколько-нибудь существенного улучшения клеточной ультраструктуры и достоверного снижения гипергидратации исследуемых биологических объектов в различные сроки наблюдения (рис. 5.5 – а). В свою очередь, изменения ультраструктуры клеток тканей пародонта (в основном, митохондрий), к сроку 60-90 суток после начала эксперимента в 4-ой группе носили наиболее выраженный характер.

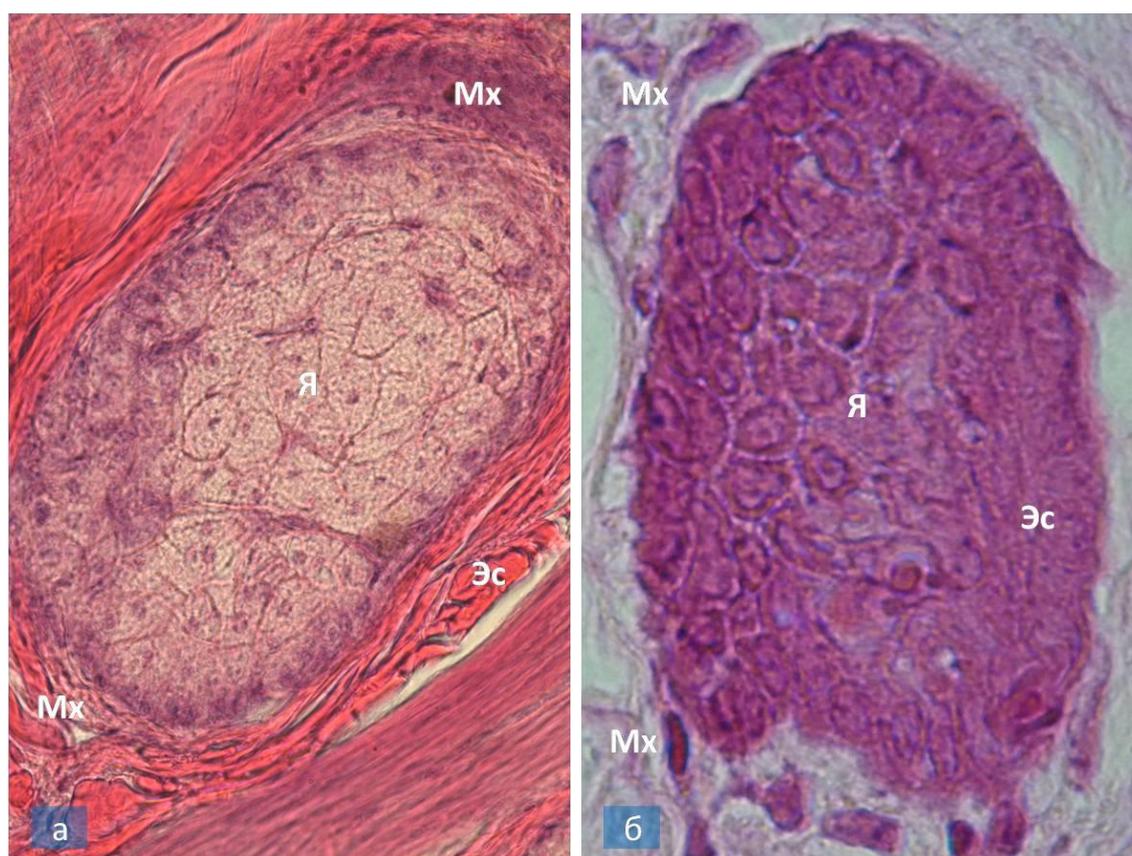


Рисунок 5.5 – Микропрепараты мягких тканей пародонта. Ультраструктура клеток мягких тканей пародонта при хроническом стрессе во 2-ой (СИУ) (а) и 4-ой (СИУ+ ЭМГПС) (б) группах через 90 суток после начала эксперимента. а – увеличение количества расширенных канальцев ретикулама эндоплазматической сети (Эс) в клетках мягких тканей пародонта с грубыми митохондриальными мембранами; б – выраженное увеличение ультраструктур митохондриального аппарата клеток прикрепленной десны с усилением проявления митофагии, появление значительного количества митохондрий с электронно-плотным матриксом во всей органелле. Я – ядро, Эс –

эндоплазматическая сеть, Мх – митохондрии. Контрастирование цитратом свинца (а) и альциановым синим (б). Электронная микроскопия. Ув. х 6400

Проведенные исследования выявили значительное увеличение количества ультраструктур митохондриального аппарата клеток прикрепленной десны с увеличением проявлений митофагии, в виде появления большого количества митохондрий с электронно-плотным матриксом во всей органелле (рис. 5.5 – б).

Подобный клеточный рециклинг митохондрий, необходимый для длительного функционирования клетки, свидетельствует об оптимизации энергетического метаболизма и трофических процессов в тканях в препаратах тканей пародонта 4-ой группы к сроку наблюдения в 90 суток.

Что касается действия ЭМГПС на мягкие ткани пародонта при ХС, то проведенные исследования выявили значительное улучшение структуры и уменьшение гидратации биологических барьеров (табл. 5.2).

Таблица 5.2 - Влияние ХС на толщину гистогематического барьера прикрепленной десны (ГБПД) и гематосаливарного барьера подчелюстной слюнной железы (ГБСЖ)

Группа животных	ГБПД		ГБСЖ	
	λ	$\lambda_{\text{ср}}$	λ	$\lambda_{\text{ср}}$
1-я группа, n=18 (контроль)	349±35	288±41	289±32	284±17
2-я группа, n=20 (СИУ)	582±39*	544±43*	412±29*	333±34*
3-я группа, n=20 (СИУ+физраствор)	519±47* ^β	492±55* ^β	392±44*	328±35*
4-я группа, n=20 (СИУ+ ЭМГПС)	498±43* ^β	412±47* ^{β&}	353±47*	319±52*

*Примечание: * - достоверные сдвиги показателей, относительно контрольной группы при $p < 0,05$; ^β - достоверные сдвиги показателей, относительно 2-ой*

группы при $p < 0,05$; & - достоверные сдвиги показателей, относительно 3-ей группы при $p < 0,05$

В препаратах определялось уменьшение количества расширенных канальцев саркоплазматического ретикулума в мягких тканях пародонта, что можно связать с частичным устранением их кальциевого повреждения.

Таким образом, применение с целью коррекции стрессорных повреждений в тканях пародонта при ХС ЭМГПС сопровождалось статистически достоверными изменениями степени дистрофических процессов в пародонте крыс.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что ЭМГПС оказывает выраженное влияние на митохондриальный аппарат клеток мягких тканей пародонта, улучшая трофику в деснах, что влияет на ультраструктуру тканей, включая биологические барьеры, с уменьшением проявлений отека.

5.2. Результаты исследования кислородного режима и местного кровотока в тканях пародонта при ХС

Проведенные исследования выявили улучшение условий для транспорта и утилизации кислорода в костных тканях пародонта крыс 4-ой группы, что указывает на реализацию антигипоксических свойств ЭМГПС и оптимизацию трофических процессов в кости, с положительным влиянием на процессы остеointеграции и регенерации (рис. 5.6). Установлено, что в 4-ой группе уровень потребления кислорода тканью альвеолярного отростка челюсти к 30-м суткам возрос на 26,8-28,5% ($p < 0,05$), а к 60-м суткам – на 44,6-48,9% ($p < 0,05$) относительно уровня, определенного у крыс 2-ой и 3-ей групп соответственно. К 90-м суткам после начала эксперимента данный показатель увеличился в еще большей степени – на 54,2-59,4% ($p < 0,05$).

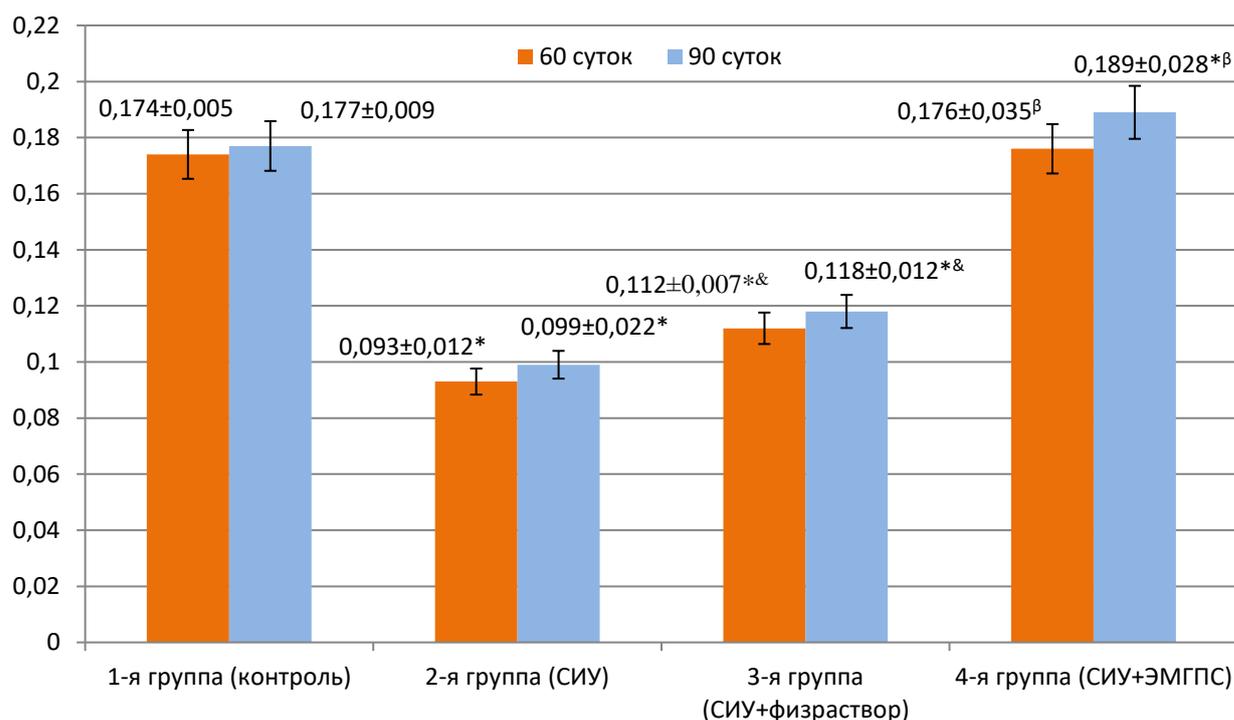


Рисунок 5.6 – Скорость потребления кислорода костной тканью пародонта в условиях длительного ХС (VO_2 мл 100 г – 1). * - разница достоверна относительно 1-ой группы ($p < 0,05$); ^β - разница достоверна относительно 2-ой группы ($p < 0,05$); & - разница недостоверна относительно 1-ой группы (контроль, $p > 0,05$)

Применение ЭМГПС уменьшало степень метаболических стресс-индуцированных нарушений и в мягких тканях пародонта крыс (рис. 4.7). Так, напряжение кислорода в десне (интегральный показатель степени тканевой гипоксии) при ХС в 4-ой группе к 60-м суткам снижалось на 32,4% по сравнению с контрольной группой, в то время как в условиях хронического стресса, вызванного применением СИУ в течение 90 суток, это снижение составило во 2-ой и 3-ей группах 38,4-42,6% (данные статистически недостоверны, $p > 0,05$). В 4-ой группе напряжение кислорода в десне уменьшалось всего на 14,8%, по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Выявленное в ходе исследования положительное влияние ЭМГПС в определенной степени можно объяснить разносторонним действием препарата на энергетический обмен тканей и местное кровообращение.

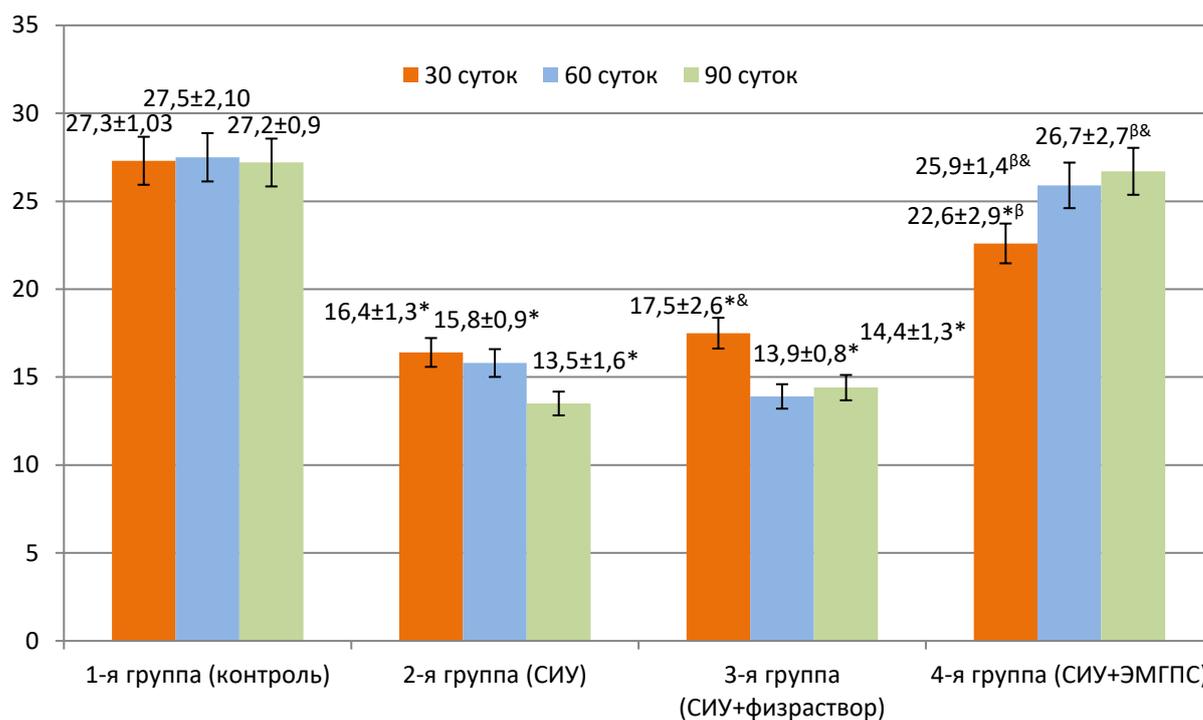


Рисунок 5.7– Напряжение кислорода в мягких тканях пародонта в условиях ХС (VO_2 мл 100 г – 1). * - разница достоверна относительно 1-ой группы ($p < 0,05$); ^β - разница достоверна относительно 2-ой группы ($p < 0,05$); [&] - разница недостоверна относительно 1-ой группы (контроль, $p > 0,05$)

В ходе проведенной экспериментальной работы получены сведения, что применение ЭМГПС при ХС предупреждает развитие патологических изменений в стенках сосудов пародонта в виде нарушения их функциональных свойств и способствует существенному улучшению состояния местного кровообращения, поскольку поддерживает достаточный уровень доставки кислорода к клеткам тканей пародонта (табл. 5.3).

Предотвращение развития гипоксии в тканях пародонта, безусловно, улучшает условия для утилизации кислорода в митохондриях и способствует сохранению энергетического потенциала клеток.

Исследование энергетического обмена в тканях пародонта крыс показало, что ЭМГПС оказывает стимулирующий эффект на процессы окислительного фосфорилирования, которые обусловлены оптимизацией работы дыхательной цепи МХ через преимущественную активацию НАД-зависимых субстратов и

может использоваться с целью направленной метаболической коррекции негативных нарушений кислородного обеспечения десен, вызванных длительным хроническим стрессом.

Таблица 5.3 – Показатели функционального состояния сосудов и скорости объемного кровотока в пародонте крыс при ХС

Группа животных	1-я группа, n=18 (контроль)	2-я группа, n=20 (СИУ)	3-я группа, n=20 (СИУ+ физраствор)	4-я группа, n=20 (СИУ+ ЭМГПС)
Исследуемый показатель				
Реографический систолический индекс, %	15,6±3,4	14,9±2,8 $p_1 > 0,05$	13,4±1,2 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	15,9±2,6 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$
Индекс периферического сопротивления, %	84,8±4,6	94,5±1,5 $p_1 < 0,05$	84,7±3,3 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	94,6±7,4 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
Реографический диастолический индекс, %	52,9±3,8	49,6±4,6 $p_1 > 0,05$	66,9±4,8 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	64,8±5,6 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$
Объемный кровоток, мл/мин	0,388±0,018	0,197±0,022 $p_1 < 0,05$	0,212±0,029 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$	0,494±0,026 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$

Примечания: p_1 - достоверность показателя относительно данных контрольной группы; p_2 – достоверность показателя относительно данных 2-ой группы

5.3. Результаты исследования процессов митохондриального дыхания в клетках тканей пародонта в условиях ХС

Исследование влияния ХС на фоне ежедневного введения ЭМГПС на энергетический обмен в тканях десны крыс позволило установить существенный протекторный эффект данного препарата. При окислении сукцината натрия (СН)

зарегистрирована нормализация показателей функционирования митохондрий. Окисление α -кетоглутарата (КГТ) при этих условиях сопровождалось тенденцией роста величины P/O наряду с нормализацией других показателей энергообеспечения (табл. 5.4).

Таблица 5.4 – Результаты исследования митохондриального дыхания в клетках тканей пародонта в условиях ХС (субстрат окисления – 1 ммоль/л СН)

Группа животных	V_3 , нг- атом О мин ⁻¹ . мг ⁻¹ белка	V_4 , нг- атом О. мин ⁻¹ . мг ⁻¹ белка	V_3/ V_4	P/O
1-я группа, n=18 (контроль)	51,93±4,22	21,83±4,12	3,04±0,55	2,14±0,16
2-я группа, n=20 (СИУ)	56,23±5,72*	28,73±6,11*	2,93±0,42	1,94±0,07
3-я группа, n=20 (СИУ+физраствор)	57,33±4,88*	27,95±2,68*	3,08±0,47	1,87±0,09
4-я группа, n=20 (СИУ+ ЭМГПС)	49,32±4,71 ^{β&}	19,93±2,87 ^{β&}	3,14±0,61	2,21±0,16 ^{β&}

*Примечание: * - достоверные сдвиги показателей, относительно контрольной группы при $p < 0,05$; β - достоверные сдвиги показателей, относительно 2-ой группы при $p < 0,05$; & - достоверные сдвиги показателей, относительно 3-ей группы при $p < 0,05$*

Полученные данные свидетельствуют о том, что ЭМГПС оказывает стимулирующие эффекты на процессы окислительного фосфорилирования, которые обусловлены интенсификацией работы дыхательной цепи МХ через преимущественную активацию НАД-зависимых субстратов и может использоваться с целью направленной метаболической коррекции негативных нарушений кислородного обеспечения тканей пародонта, вызванных ХС. Следовательно, ЭМГПС повышает поглощение кислорода в тканях пародонта, улучшает микроциркуляцию и тканевую оксигенацию, увеличивает

энергетический потенциал клеток, улучшает работу внутриклеточных метаболических систем с активизацией синтетических процессов. Препарат улучшает процессы окислительного фосфорилирования, что обеспечивает существенный энергетический задел для клеток пародонта, что в условиях длительного воздействия стрессирующего фактора, при нарушениях регионарного кровообращения увеличивает возможности осуществлять свою метаболическую активность без существенных ограничений.

При тканевой гипоксии различного генеза ЭМГПС вмешивается в процессы митохондриального дыхания, реализуя пропорциональную активацию антиоксидантных механизмов, что и перезапускает метаболизм клеток, переключая его на процессы анаэробного гликолиза без образования избытка свободных радикалов (табл. 5.5).

Таблица 5.5 – Результаты исследования митохондриального дыхания в клетках тканей пародонта в условиях ХС (субстрат окисления – 1 ммоль/л КГТ)

Группа животных	V_3 , нг- атом О мин ⁻¹ . мг ⁻¹ белка	V_4 , нг- атом О. мин ⁻¹ . мг ⁻¹ белка	V_3/ V_4	P/O
1-я группа, n=18 (контроль)	44,33 ± 3,91	18,02 ± 2,42	2,94 ± 0,41	2,96 ± 0,12
2-я группа, n=20 (СИУ)	37,62 ± 3,94*	15,48 ± 1,09*	2,03 ± 0,22	2,04 ± 0,08
3-я группа, n=20 (СИУ+физраствор)	37,76 ± 2,91*	16,05 ± 1,27*	2,14 ± 0,28	1,99 ± 0,03
4-я группа, n=20 (СИУ+ ЭМГПС)	42,65 ± 2,77 ^{β&}	18,43 ± 1,17 ^{β&}	3,45 ± 0,18 ^{*β&}	2,95 ± 0,06 ^{β&}

Примечание: * - достоверные сдвиги показателей, относительно контрольной группы при $p < 0,05$; ^β - достоверные сдвиги показателей, относительно 2-ой группы при $p < 0,05$; [&] - достоверные сдвиги показателей, относительно 3-ей группы при $p < 0,05$

При использовании другого субстрата окисления - α -кетоглутарата (КГТ) установлено, что ЭМГПС производил несколько меньшее положительное влияние на митохондриальное дыхание, о чем свидетельствуют изменение эффективности процесса окислительного фосфорилирования (запас АТФ в митохондриях) (рис. 5.8).

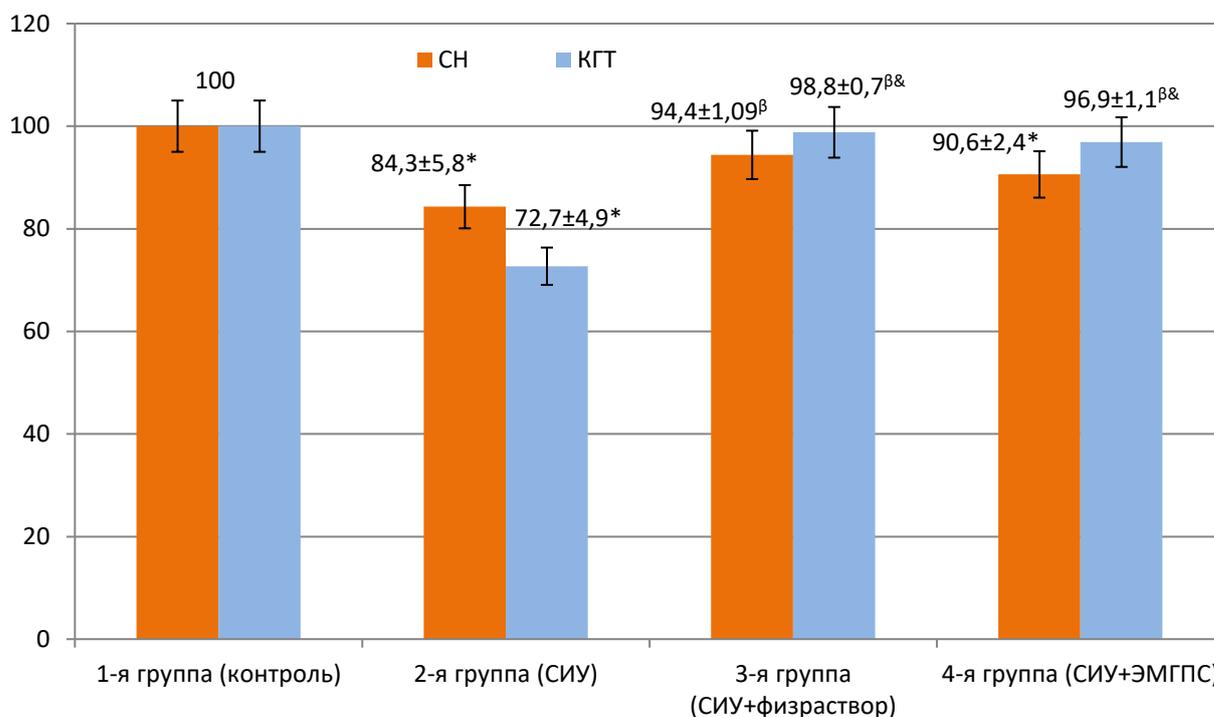


Рисунок 5.8 – Изменение эффективности окислительного фосфорилирования митохондрий тканях пародонта в условиях ХС (P/O). * - разница достоверна относительно 1-ой группы ($p < 0,05$); ^β - разница достоверна относительно 2-ой группы ($p < 0,05$); & - разница недостоверна относительно 1-ой группы (контроль, $p > 0,05$)

При исследовании влияния ЭМГПС на состояние антиоксидантно-прооксидантной системы при ХС установлено, что использование данного препарата усиливает анаэробный гликолиз, активируя антиоксидантную систему и тормозя процессы окисления липидов, снижает угнетение процессов окисления липидов, оказывает положительное влияние на энергетическую мощность митохондрий.

Применение ЭМГПС в течение действия ХС приводило к снижению интенсивности свободнорадикальных процессов. Так, содержание МДА в пародонте фиксировалось на минимальных значениях, в среднем, на 18,5% меньше, чем у животных контрольной группы и на 22,9 и 23,8% у животных 2-ой и 3-ей группы (СИУ и СИУ+физраствор) соответственно.

У животных 4-ой группы отмечалось увеличение активности СОД на 27,8% ($p < 0,05$), каталазы на 24,6% ($p < 0,05$) по сравнению с крысами, которые подвергались ХС без применения ЭМГПС. Содержание восстановленного глутатиона (ВГ) в 4-ой группе к 90-м суткам эксперимента выросло на 45,8% ($p < 0,05$), в то время как активность глутатионпероксидазы (ГП) имела незначительную тенденцию к снижению.

Следовательно, в ходе эксперимента удалось показать, что использование ЭМГПС способствует уменьшению стресс-индуцированных нарушений метаболических процессов в мягких и твердых тканях пародонта. Кроме того, для препарата характерна высокая супероксиддисмутазная активность, что обуславливает его антиоксидантное действие. Следовательно, применение этого препарата при хроническом стрессе, смоделированном с использованием СИУ особенно важно, учитывая активацию перекисных процессов – рост вторичных продуктов ПОЛ и снижение активности антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы и каталазы в тканях пародонта в условиях ХС. Полученные данные могут служить экспериментальным обоснованием целесообразности использования ЭМГПС в стоматологической практике для коррекции метаболических нарушений в твердых и мягких тканях пародонта.

Резюме

Таким образом, в ходе экспериментальной работы получены результаты, свидетельствующие, что при длительном хроническом стрессе в тканях пародонта происходит развитие воспалительно-деструктивных патологических изменений, которые сопровождаются: дистрофическими процессами в костной

ткани челюстей; нарушениями и отеком мягких тканей пародонта; развитием гипоксии тканей пародонта; нарушениями местного кровотока, которые оказывают заметное влияние на трофические процессы, в частности на процессы энергообеспечения в тканях десен, и в значительной мере обуславливаются эффективностью транскрипционных факторов, принимающих участие как в биогенезе митохондрий, так и в поддержании адекватной интенсивности окислительного фосфорилирования; снижением эффективности формирования компенсаторно-приспособительных реакций, связанных с сохранением прооксидантно-антиоксидантного баланса в исследуемых тканях. Такой широкий спектр механизмов, задействованных в развитии стресс-реакции в тканях пародонта при хроническом стрессе, указывает на сложность выбора корректирующих мероприятий для устранения выявленных повреждений, а также на необходимость поиска эффективных подходов к лечению заболеваний тканей пародонта, вызванных длительным стрессом, в том числе с использованием антигипоксических мембранопротекторных средств.

Содержание данной главы освещено в научных статьях, опубликованных в специализированных журналах, в том числе включенных в Перечень российских рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук:

1. Сирак, С.В. Оценка структурных изменений тканей пародонта в динамике хронического стресса у животных / С.В. Сирак, Е.В. Щетинин, Г.Г. Петросян, Р.Г. Романенко, А.Г. Тарабрина // Пародонтология. – 2018. - №3. – С.21-26.
2. Сирак, С.В. Возможности оценки стимуляции регенерации костной ткани на фоне экспериментального стресса / С.В. Сирак, Е.В. Щетинин, Р.Г. Романенко // Медицинский вестник Северного Кавказа. - 2022. - Т. 17, № 2. - С. 188-191

ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Целью настоящего исследования явилось установление механизмов развития стресс-индуцированных нарушений метаболизма тканей пародонта для патогенетического лечения хронического пародонтита.

В ходе реализации поставленной цели проведено экспериментальное моделирование с использованием комплексного междисциплинарного подхода, позволяющего в динамическом режиме изучать изменения структуры и функции зубочелюстной системы на местном и системном уровнях при моделировании хронического стресса с помощью нового стресс-моделирующего устройства.

Основным методом патологической физиологии остается патофизиологический эксперимент. Особенности моделирования патологических состояний на современном этапе развития науки заключаются в соблюдении нескольких требований [35,92,109,114,126,128,144]. Во-первых, любое модельное состояние должно воспроизводиться в мельчайших подробностях с возможностью получения результатов, характеризующих особенности развития, течения и исходов моделируемого процесса. Во-вторых, результаты, получаемые в ходе эксперимента должны экстраполироваться в сложившуюся клиническую практику и отвечать на вопросы конкретных клинических дисциплин и разделов.

Полученные в ходе опытно-конструкторских и исследовательских работ результаты позволяют в полной мере убедительно характеризовать полученную модель хронического стресса у крыс как воспроизводимую и характеризующую определенный раздел работы врача-стоматолога с распространенным контингентом пациентов ортодонтического и имплантологического профиля.

В частности, довольно простое в изготовлении и, главное, в применении, устройство, способно удерживаться на крысе длительное время, обеспечивая, с одной стороны, определенное качество жизни животного, с другой, формирование модельного состояния. Полученные в ходе эксперимента

клинические, функциональные и морфологические результаты не вызывают сомнения в их точности и правомерности.

Наличие инородного предмета досточного большого объема, на наш взгляд, далеко от возможного воспроизведения в клинической практике, но характеризует формирование стресс-индуцированной патологии у пациентов, с неправильно сконструированными, либо, в силу длительных механических жевательных воздействий, изменившими свой профиль ортодонтическими конструкциями, включая имплантируемые объекты. Поместив крупный объект объект во рту крысы нам удалось обеспечить в кратчайшие сроки сформировать структурные изменения, которые в клинической практике растягиваются на долгие месяцы и годы. Такая модель позволяет в период 90-120 дней у животного спрогнозировать течение патологии пародонта у пациента на многие годы вперед, что дает возможность формировать программы профилактики, лечения и реабилитации данной группы пациентов, особенно, учитывая их возрастной ценз.

Данное положение наиболее актуально, учитывая то факт, что патогенез заболеваний пародонта в настоящее время окончательно не установлен, но в последнее время особое внимание уделяется изучению нервно-трофического влияния на ткани пародонта, обусловленного, в первую очередь, хроническим стрессом [16,32,43,103,104,106].

Большой выбор медикаментозных средств, используемых в стоматологической практике при заболеваниях пародонта различного характера свидетельствует о значительном внимании патофизиологов, стоматологов и фармакологов к этому вопросу. Не вызывает сомнений тот факт, что весь комплекс лечебных мероприятий необходимо направлять на ликвидацию этиологических факторов, коррекцию патогенетических звеньев патологического процесса в тканях пародонта и активизацию саногенетических механизмов. При этом общие патогенетические мероприятия должны быть направлены на нормализацию реактивности организма и регенераторных процессов тканей пародонта, а общие принципы лечения пародонтита должны

основываться на знании причин и механизмов развития заболевания с учетом данных общего и стоматологического статуса.

В социальном обществе воздействие хронического стресса на жизнедеятельность организма не вызывает сомнений. Учитывая вмешательство стресса на различных уровнях функционирования организма – органный, тканевой, клеточный – социальные условия существования несомненно оказывают влияние на структуру и функции тканей пародонта. Фармакологические и нефармакологические факторы коррекции нарушенных функций как при измененной, так и неизменной структурной организации пародонта должны применяться в случае получения в ходе патофизиологического эксперимента достоверных данных с учетом требований доказательной медицины.

Известно, что на протяжении всего онтогенеза в организме и костной ткани наблюдаются многочисленные адаптивные изменения. К числу таких адаптивных сдвигов входят изменения внутренней архитектоники кости, что проявляется в частичном или полном рассасывании костного вещества, возникновение новых костных трабекул и новообразование костного вещества на основе предыдущих структур [62,83,118]. Исследование механизмов, которые лежат в основе остеопатий, обусловленных воспалением или хроническим стрессом, имеют большое значение для разработки профилактических мероприятий при лечении пародонтита. В свою очередь, создание модельных состояний хронического стресса, применительно к зубочелюстной системе, рассматривается как обязательный компонент обоснования эффективности или бесполезности фармакологической модификации функции пародонта.

В результате исследования получены новые объективные данные о роли стресс-индуцированных нарушений метаболизма тканей пародонта для оценки развития, течения и исходов патологических процессов в зубочелюстной системе и в тканях пародонта (рис. 6):

- изменения метаболизма, приводящие к нарушению механизмов образования как органического, так и неорганического компонента костной ткани;

- снижение функциональной мощности и буферной емкости основных функциональных звеньев АОС и интенсификация процессов ПОЛ, способствующих усилению резорбтивных процессов в костных тканях челюстных костей;

- нарушение местного кровообращения в мягких тканях пародонта с ростом индекса периферического сопротивления и уменьшением объемного кровотока;

- снижение скорости транспорта кислорода кровью в системе микроциркуляции челюстно-лицевой области;

- применение с целью коррекции стрессорных повреждений в тканях пародонта при хроническом стрессе ЭМГПС сопровождалось статистически достоверными изменениями степени дистрофических процессов в пародонте.

Таким образом, предложенный и апробированный метод использования стресс-индуцирующего устройства позволил на длительное время создать нефизиологическую окклюзию челюстей у крысы, которая обеспечила формирование хронического очага возбуждения, приведшего к существенным изменениям структуры и функции тканей пародонта.

Важно, что разработанное и апробированное стресс-индуцирующее устройство позволяет многократно использовать его для получения соответствующей модели патофизиологического эксперимента в течение продолжительного периода времени, с целью оценки как ранних, так и отсроченных во времени патологических изменений как местного, так системного характера.

Следующим этапом исследования стало исследование функционального состояния антиоксидантной системы, перекисного окисления липидов и минерального обмена в крови и костной ткани животных при экспериментальном ХС.

Полученные данные свидетельствуют о том, что в исследуемых группах животных наблюдалось усиление образования начального продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ) при увеличении длительности эксперимента. Наиболее интенсивно их количество увеличивается в периоде с 15 по 30-е сутки (2-я и 3-я группы), но самый высокий уровень их содержания отмечается в 4-ой группе (60 суток), а к 90-м суткам (5-я группа), их содержание начинает снижаться. При этом необходимо отметить, что скорость накопления малонового диальдегида несколько выше, чем скорость накопления диеновых конъюгатов, то есть становится очевидным, что с увеличением продолжительности воздействия стрессового фактора преобладает процесс образования именно промежуточных продуктов ПОЛ.

Анализ полученных данных показал, что с увеличением продолжительности воздействия стрессового фактора (СИУ ФНОЧ) в организме животных наблюдалось снижение не только функциональной способности, но и буферной емкости антиоксидантной системы защиты. Усиление активности супероксиддисмутазы на фоне двукратного повышения содержания диеновых конъюгатов, является свидетельством того, что в начальном периоде развития стресса соотношения в системе ПОЛ/АОС переходят на новый стационарный уровень. На основании полученных экспериментальных данных и проведенных расчетов сделано предположение о том, что каждому периоду стрессовой реакции (от 15 до 90 суток) соответствует свой стационарный уровень взаимоотношений между АОС и ПОЛ.

Так, на начальном периоде формирования нефизиологической окклюзии (15 суток), когда интенсивность метаболических процессов достаточно высокая, функциональная способность и буферная емкость всех звеньев АОС является очень мощной и поэтому способна содержать ПОЛ на низком стационарном уровне. После прохождения пика данных (30-60 суток) отмечается постепенное снижение мощности АОС, что сопровождается интенсификацией ПОЛ и смещением равновесия в сторону накопления избыточных количеств его как начальных, так и конечных продуктов. Возможно, что такие сдвиги равновесия

в системе ПОЛ-АОС является одним из пусковых механизмов инволюционных изменений организма в целом, так и в отдельных его системах, и в том числе, и в костной ткани.

С целью выяснения этих предположений проведены исследования содержания фосфора и кальция в сыворотке крови крыс. Как свидетельствуют проведенные экспериментальные исследования содержание кальция в сыворотке крови у экспериментальных животных имеет достаточно существенные отличия.

Так в период от 15 до 30 суток содержание кальция в сыворотке крови возрастает на 26,4% по отношению к контролю, в период от 30 до 60 суток - на 29,6% и в период от 60 до 90 суток - на 58,6% по отношению к контролю.

Следовательно, во временном отношении наиболее значительным изменениям подвергается содержание кальция в период от 60 до 90 суток после начала использования СИУ ФНОЧ. Не исключен тот факт, что данный процесс связан с состоянием всех метаболических процессов организма в целом. Таким образом, приведенные данные и их соответствующий анализ является свидетельством того, что после начала использования СИУ ФНОЧ происходит значительное угнетение обмена кальция и увеличение его содержания в сыворотке крови. Этот факт подтверждает высказанное выше предположение о том, что с при ХС наблюдается сдвиг минерального обмена.

Анализ особенностей изменений содержания неорганического фосфора в сыворотке крови животных с СИУ показал следующее. Как свидетельствуют проведенные экспериментальные исследования, содержание неорганического фосфора в сыворотке крови животных 2-ой группы составляет $3,82 \pm 0,07$ ммоль/мл, в 3-ей – $4,43 \pm 0,6$, в 4-ой – $4,92 \pm 0,7$ и в 5-ой – $5,32 \pm 0,8$, т.е. отмечается тенденция к росту содержания фосфора в сыворотке крови крыс в условиях ХС. Проведенные расчеты темпов роста содержания фосфора в сыворотке крови по срокам эксперимента показывает, что он не является одинаковым: в период от 15 месяца до 30 суток количество неорганического фосфора в сыворотке крови возрастает на 32,4%, от 30 до 60 – на 18,9% и от 60 до 90 суток – на 54,9% по отношению к контролю. Если проанализировать проведенные расчеты, то

оказывается, что в период ХСот 60 до 90 суток рост содержания неорганического фосфора в сыворотке крови является самым высоким. В период от 30 до 60 суток интенсивность роста содержание неорганического фосфора несколько ниже, чем в первом периоде.

Поскольку фермент гиалуронидаза является одним из факторов межклеточной проницаемости и катализирует превращение гиалуроновой кислоты для оценки роли механизмов формирования органического матрикса костной ткани проведены исследования активности гиалуронидазы и содержание суммарных гликозаминогликанов в крови экспериментальных животных.

На основании полученных результатов исследования и проведенного анализа установлено, что такая отчетливая активация гиалуронидазы на протяжении первых 60 суток эксперимента обусловлена гормональными и метаболическими перестройками в результате использования СИУ ФНОЧ, а изменения, происходящие в период с 60 по 90 сутки обусловлены инволюционными изменениями организма. Это тем более значимо, если экстраполировать это данные на отдельные категории пациентов, старше 60 лет.

Связывая полученные результаты с описанными данными литературы, следует отметить, что в процессе эксперимента в организме крыс наблюдаются инволюционные изменения, поэтому усиление активности гиалуронидазы способствует нарушению проницаемости мембран вследствие уменьшения содержания гиалуроновой кислоты, которая как известно, является своеобразным биологическим фильтром и выполняет роль биологического цемента [5,80]. Полученные данные согласуются с результатами исследования Р.М. Washington (2020), в ходе которого пришли к аналогичным выводам о том, что под влиянием гиалуронидазы указанная фильтрующая система нарушается, и в межклеточном пространстве накапливаются избыточные количества межклеточной воды и появляются различные молекулы, в том числе и крупные - развивается отек [152].

Результаты собственного исследования количественного содержания сульфатированных гликозаминогликанов (сГАГ) в сыворотке крови животных разных групп показали что значения количественного содержания сГАГ в сыворотке крови у экспериментальных животных имеют существенные различия: у животных 2-ой группы содержание сГАГ в сыворотке крови составляет $37,12 \pm 0,8$ мкмоль/л, в 3-ей группе – $46,82 \pm 4,8$, в 4-ой – $54,63 \pm 1,8$ и 5-ой – $32,47 \pm 2,6$ мкмоль/л, т.е. на протяжении первых 15 суток в сыворотке крови крыс содержание сульфатированных гликозаминогликанов растет на 12,8%, а в течение следующего месяца содержание сульфатированных гликозаминогликанов в сыворотке крови крыс увеличивается еще на 35,74%! Совсем другая картина наблюдается через 90 суток: в этот период содержание сульфатированных гликозаминогликанов уменьшается по сравнению с 60-ми сутками животные на 48,14% и по сравнению с 30-ми сутками на 28,52%.

Таким образом, в отличие от предыдущих показателей в данном случае впервые наблюдается резкое уменьшение содержания гликозаминогликанов по сравнению с крысами, выведенными из эксперимента на 30-е и 60-е сутки. Данный факт является свидетельством деструктивных изменений в костной ткани не только неорганического, но и органического компонента.

Следовательно, проведенный комплекс биохимических исследований состояния системы перекисного окисления – антиоксидантной систем, содержания кальция, фосфора, активности гиалуронидазы и содержания сульфатированных гликозаминогликанов в крови и процессов образования как минерального, так и органического компонента костной ткани нижней челюсти у крыс показал, что у экспериментальных животных с СИУ НФОЧ происходят необратимые изменения метаболизма. Функционально измененные процессы приводят к нарушению механизмов образования как органического, так и неорганического компонента костной ткани. Пусковым механизмом резорбции костных тканей челюстных костей является интенсификация процессов ПОЛ с постепенным снижением мощности и буферной емкости основных функциональных звеньев АОС в динамике развития ХС.

Данные биохимического исследования подтверждаются результатами патогистологической оценки стресс-индуцированных нарушений структуры тканей пародонта в эксперименте на животных. Полученные данные свидетельствуют о глубоких дистрофических изменениях, развивающихся в околозубных тканях у крыс в отдаленные сроки после начала эксперимента. Эти изменения проявлялись в виде резорбции костной ткани - губчатого вещества альвеолярного отростка. При этом десна и верхушки межальвеолярных перегородок длительное время (15-30 суток) оставались неизменными. Нарастание деструктивных явлений суток в глубине челюсти к сроку 60-90 приводило к атрофии альвеолярного отростка и в отдельных случаях, выпадению зубов. Проведенные методом растровой электронной микроскопии исследования показали, что длительное использование разработанного устройства приводит к формированию нефизиологической окклюзии в виде истирания режущих краев зубов и межбугорковых контактов уже к 30-м суткам эксперимента, что особенно ярко проявлялось к сроку наблюдения 60-90 суток, когда наблюдалось выраженное истончение и деструкция краев зубных альвеол, а также распространение патологического процесса деструкции на альвеолярную кость.

Статистический анализ показал, что число животных основных групп наблюдения с явлениями атрофии альвеолярного отростка (ААО) существенно не изменяется от срока к сроку исследования, различия недостоверны ($p > 0,5$). Также недостоверно и различие между степенью поражения тканей пародонта в опытных группах в каждый срок после начала эксперимента ($p > 0,5$). Необходимо еще раз отметить, что при математическом анализе данных учитывали всех животных с любой степенью атрофии альвеолярного отростка, большей или равной 1 баллу. Средний уровень ААО в опытной группе ($56,2 \pm 3,4\%$) статистически незначимо отличался от уровня ААО в контрольной группе - $54,9 \pm 3,7\%$ ($p > 0,5$). Степень поражения альвеолярного отростка у крыс основных групп незначительно изменялась от срока к сроку исследования и

несущественным образом отличалась от данных, полученных у животных группы контроля ($p > 0,05$).

Таким образом, статистический анализ показал, что ни частота возникновения, ни степень атрофического процесса, начинающегося с вершин межальвеолярных перегородок, не имеет прямой корреляционной связи с длительностью воздействия на организм стресс-индуцирующего фактора, показатели незначительно изменяются за 90 суток опыта и не отличаются статистически достоверно от соответствующих показателей у животных контрольной группы.

При анализе состояния костной ткани челюстей у крыс всех исследуемых групп отмечено, что степень ААО существенно образом связана с весом крыс ($p < 0,05$), что вполне согласуется с известными литературными данными, о том, что при стандартных условиях содержания в виварии у крыс наблюдается прямая зависимость между возрастом и весом.

Результаты вариационно-статистического анализа данных, полученных в основных группах, показали, что корреляционная зависимость между весом крыс и степенью атрофии альвеолярного отростка у животных закономерно нарастает по срокам после начала эксперимента. Если до 30 суток эта зависимость мало существенна ($r_{0-15} = +0,354$, $p > 0,05$), то в следующий период эксперимента и особенно, через 90 суток, зависимость выявляется в полной мере, о чем свидетельствуют показатели коэффициентов корреляции и достоверности связей ($r_{15-30} = +0,615$, $p < 0,05$; $r_{60} = +0,975$, $p < 0,05$; $r_{90} = +0,982$, $p < 0,05$). Положительные значения коэффициентов корреляции указывают на прямой характер зависимости: с увеличением веса крыс основных групп наблюдения, возрастает степень атрофии альвеолярного отростка.

Как показали полученные данные, в основных группах животных, особенно 4-ой и 5-ой (60 и 90 суток соответственно) обнаруживается прямая корреляционная зависимость между весом крыс и числом животных с атрофией альвеолярного отростка, в то время как в контрольной группе этой зависимости не отмечается. Высокий уровень достоверности связи через 15-30 и 60-90 дней

после начала использования стресс-индуцирующего устройства подчеркивает объективный характер зависимости.

Таким образом, очевидно, что прибавка в весе животных основных групп наблюдения отражает не возрастные особенности организма, как в контрольной группе (у интактных животных), а особенности трофики организма, находящегося в стрессовой ситуации. В отдаленный период реконвалесценции (90 суток) выявлен прирост весовых характеристик, который совершенно непропорционален технологическим параметрам питания, что и приводит к развитию ожирения. Патогенез ожирения при стресс-индуцированном поражении тканей пародонта изучен пока недостаточно, поэтому неясно, почему оно возникает не у всех животных. Вместе с этим, следует отметить, что именно у тех крыс, у которых в отдаленные сроки после начала эксперимента (60-90 суток) развивается патологическое ожирение, чаще возникает и более глубоко распространяется атрофия альвеолярного отростка, начинающаяся с вершин межальвеолярных перегородок.

Полученные данные экспериментального исследования указывают на сложный характер патологических изменений в пародонте, возникающих после воздействия стресс-индуцирующего фактора, формирующего нефункциональную окклюзию челюстей. Наряду с тяжелыми деструктивными процессами, развивающимися в глубине челюстной кости, у некоторых животных основных групп наблюдались атрофические изменения вершин межальвеолярных перегородок. По-видимому, эти явления отражают участие различных патогенетических механизмов в формировании патологии пародонта при воздействии стресс-индуцирующего фактора на всю зубочелюстную систему в целом. Несомненная роль нарушений обмена веществ, проявляющаяся в увеличении веса животных опытных групп, нуждается в более детальном исследовании, учитывающем роль других гуморальных факторов хронического стресса в морфогенезе дистрофических изменений в тканях пародонта. Этот факт несомненно важен и для клинической практики, учитывая роль

инсулинорезистентности и роста случаев развития у пациентов сахарного диабета второго типа, что может усугублять течение патологии пародонта.

В ряде случаев получены противоречивые, на первый взгляд данные, которые характеризуют сложный характер патологических изменений в пародонте, возникающих после воздействия стресс-индуцирующего фактора. Наряду с тяжелыми деструктивными процессами, развивающимися в глубине челюстной кости, у некоторых животных наблюдались атрофические изменения вершин межальвеолярных перегородок. По-видимому, эти явления отражают участие различных патогенетических механизмов в формировании патологии пародонта при воздействии стресс-индуцирующего фактора на всю зубочелюстную систему в целом. Несомненная роль нарушений обмена веществ, проявляющаяся в выявленном увеличении веса животных, нуждается в более детальном исследовании, учитывающем роль других гуморальных факторов хронического стресса в морфогенезе дистрофических изменений в тканях пародонта.

Сегодня для фармакотерапии воспалительно-деструктивных заболеваний пародонта используется достаточно большой арсенал лекарственных средств, однако зачастую они не решают проблемы, поскольку не учитывают широкий спектр механизмов, задействованных в развитии данного патологического состояния, вызванного в частности длительным стрессом [2,11,46,51,91,99].

Для комплексного лечения и профилактики заболеваний пародонта в последнее время используют лекарственные средства метаболического типа действия, обладающих широким спектром фармакологической активности [10,61,62,74,101,108].

В этой связи определенный интерес представляют сведения о положительном влиянии ЭМГПС на резистентность организма к воздействию повреждающих факторов и кислородзависимые патологические состояния. Известно, что ЭМГПС улучшает микроциркуляцию, активизирует функциональную активность эндотелия, стабилизирует мембранные структуры клеток, оказывает антигипоксическое, мембранопротекторное действие,

повышает устойчивость организма к хроническому стрессу. Препарат ингибирует процессы ПОЛ, повышает активность супероксиддисмутазы, оптимизирует энергетический метаболизм, на молекулярном уровне повышает устойчивость тканей к гипоксии. Препарат, активируя антиоксидантную систему и тормозя процессы окисления липидов, уменьшает чувствительность сосудов к катехоламинам, кроме этого улучшает реологические свойства крови, положительно влияет на состояние местного кровотока [10,44,56,125,151].

В доступной литературе практически отсутствуют сведения о фактическом состоянии тканей пародонта при хроническом стрессе на фоне использования ЭМГПС.

Установлено, что применение с целью коррекции стрессорных повреждений в тканях пародонта при ХС ЭМГПС сопровождалось статистически достоверными изменениями степени дистрофических процессов в пародонте крыс.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что ЭМГПС оказывает выраженное влияние на митохондриальный аппарат клеток мягких тканей пародонта, улучшая трофику в деснах, что влияет на ультраструктуру тканей, включая биологические барьеры, с уменьшением проявлений отека

Применение ЭМГПС уменьшало степень метаболических стресс-индуцированных нарушений и в мягких тканях пародонта крыс. Так, напряжение кислорода в десне (интегральный показатель степени тканевой гипоксии) при ХС в 4-ой группе к 60-м суткам снижалось на 32,4% по сравнению с контрольной группой, в то время как в условиях хронического стресса, вызванного применением СИУ в течение 90 суток, это снижение составило во 2-ой и 3-ей группах 38,4-42,6%. В 4-ой группе напряжение кислорода в десне уменьшалось всего на 14,8%, по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Выявленное в ходе исследования положительное влияние ЭМГПС в определенной степени можно объяснить разносторонним действием препарата на энергетический обмен тканей и местное кровообращение.

В ходе проведенной экспериментальной работы получены сведения, что применение ЭМГПС при ХС предупреждает развитие патологических изменений в стенках сосудов пародонта в виде нарушения их функциональных свойств и способствует существенному улучшению состояния местного кровообращения, поскольку поддерживает достаточный уровень доставки кислорода к клеткам тканей пародонта (табл. 5.3).

Предотвращение развития гипоксии в тканях пародонта, безусловно, улучшает условия для утилизации кислорода в митохондриях и способствует сохранению энергетического потенциала клеток.

Исследование энергетического обмена в тканях пародонта крыс показало, что ЭМГПС оказывает стимулирующий эффект на процессы окислительного фосфорилирования, которые обусловлены оптимизацией работы дыхательной цепи в митохондриях через преимущественную активацию НАД-зависимых субстратов и может использоваться с целью направленной метаболической коррекции негативных нарушений кислородного обеспечения десен, вызванных длительным хроническим стрессом. При тканевой гипоксии ЭМГПС вмешивается в процессы митохондриального дыхания, реализуя пропорциональную активацию антиоксидантных механизмов, что и перезапускает метаболизм клеток, переключая его на процессы анаэробного гликолиза без образования избытка свободных радикалов.

В ходе эксперимента удалось доказать, что использование ЭМГПС способствует уменьшению стресс-индуцированных нарушений метаболических процессов в мягких и твердых тканях пародонта. Кроме того, для препарата характерна высокая супероксиддисмутазная активность, что обуславливает его антиоксидантное действие. Следовательно, применение этого препарата при хроническом стрессе, смоделированном с использованием СИУ особенно важно, учитывая активацию перекисных процессов – рост вторичных продуктов ПОЛ и снижение активности антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы и каталазы в тканях пародонта в условиях ХС. Полученные данные могут служить экспериментальным обоснованием целесообразности использования ЭМГПС в

стоматологической практике для коррекции метаболических нарушений в твердых и мягких тканях пародонта, как средства, обеспечивающего вмешательство в ключевые патогенетические звенья вмешательства стресса в процессы регенрации в тканях пародонта (рис. 6.1).

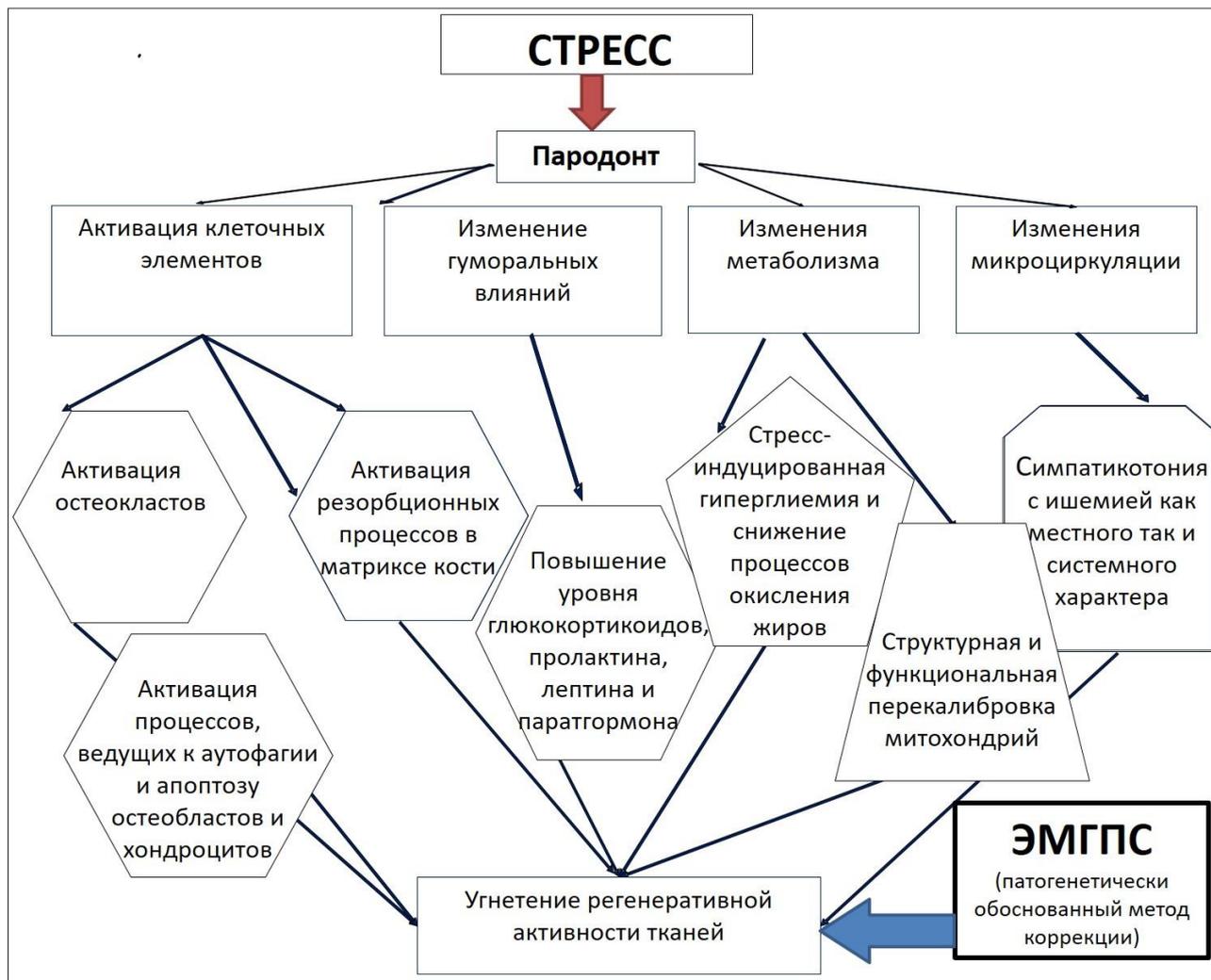


Рисунок 6.1 – Патогенетические аспекты угнетения регенеративной активности тканей пародонта и место ЭМГПС в механизмах патогенетической коррекции последствий хронического стресса

Перспективы дальнейшей разработки темы исследования

Результаты исследования дают основу для совершенствования методологии изучения механизмов саногенеза нарушений метаболизма тканей пародонта с целью поиска перспективных средств их коррекции. Кроме этого, как один из альтернативных подходов, считаем возможным использование

разработанного СИУ ФНОЧ при создании моделей патофизиологического эксперимента на животных.

ВЫВОДЫ

1. В результате проведения экспериментальных и опытно-конструкторских работ предложено и апробировано стресс-индуцирующее устройство для формирования нефизиологической окклюзии челюстей у экспериментального животного (патент РФ № 182498 от 28.08.2018), состоящее из специально сконструированного фиксирующего жилета с отверстиями для передних лап и шеи с застежкой на контактную ленту, отличающееся от известных прототипов тем, что дополнительно содержит металлический шарик диаметром 3, 5 или 7 мм, имеющий сквозное отверстие, через которое свободно пропущена круглая арамидная нить толщиной 1 мм с двумя симметрично расположенными силиконовыми ограничителями, жестко прикрепленная к металлическому кольцу, вшитому в воротник фиксирующего жилета.

2. Результаты патогистологического исследования свидетельствуют о глубоких дистрофических изменениях, развивающихся в околозубных тканях у крыс в отдаленные сроки после начала эксперимента. При электронномикроскопическом исследовании установлено нарушение непрерывности кортикальной пластинки по краю зубной альвеолы, истирание режущих краев зубов и межбугорковых контактов, распространение патологического процесса деструкции на альвеолярную кость с выраженным гиперцементозом в области межальвеолярных перегородок.

3. В результате проведенных биохимических исследований установлено, что к 90-м суткам использования у экспериментальных животных СИУ НФОЧ происходят нарушения механизмов образования как органического, так и неорганического компонента костной ткани. У экспериментальных животных, подвергнутых ХС, происходит постепенное снижение функциональной мощности и буферной емкости основных функциональных звеньев АОС и интенсификация процессов ПОЛ, которые способствуют усилению резорбтивных процессов в костных тканях челюстных костей.

4. Установлена прямая корреляционная связь между весом крыс и числом животных с атрофией альвеолярного отростка, возникающей при воздействии стресс-индуцирующего фактора, формирующего нефункциональную окклюзию челюстей. Корреляционная зависимость нарастает по срокам после начала эксперимента: до 30 суток зависимость мало существенна ($r_{0-15}=+0,354$, $p>0,05$), через 90 суток зависимость максимальная ($r_{15-30}=+0,615$, $p<0,05$; $r_{60}=+0,975$, $p<0,05$; $r_{90}=+0,982$, $p<0,05$) в доверительном интервале коэффициента корреляции $\chi=0,325-0,992$ (на 30-е и 90-е сутки соответственно).

5. Установлено, что в основе механизмов антигипоксических мембранопротекторных свойств этилметилгидроксипиридина сукцината при коррекции патологических изменений в тканях пародонта при экспериментальном хроническом стрессе лежит высокая супероксиддисмутазная активность препарата, обуславливающая антиоксидантное действие на фоне роста вторичных продуктов ПОЛ и снижения активности антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы и каталазы в тканях пародонта в условиях ХС формирующего нефункциональную окклюзию челюстей.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Предложенное и апробированное стресс-индуцирующее устройство может быть использовано в практике проведения патофизиологического эксперимента в качестве воспроизводимой модели для изучения ранних и отсроченных реакций органов и систем на хронический стресс.
2. После устранения функциональной дизокклюзии зубных рядов рекомендуется применение антиоксидантов для уменьшения выраженности общих признаков стресс-реакции в организме, а также для улучшения местного кровообращения и нормализации кислородного режима в тканях прикрепленной десны.
3. В связи с широким спектром механизмов, задействованных в развитии стресс-реакции в тканях пародонта при нарушении окклюзионных контактов зубных рядов, в комплекс лечебных мероприятий для устранения выявленных повреждений рекомендуется дополнительно включать фармакологические средства с антигипоксическими и мембранопротекторными свойствами.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ААО – атрофия альвеолярного отростка;

АОС – антиоксидантная система;

БПД – гистогематический барьер прикрепленной десны;

ВГ - восстановленный глутатион;

ГБСЖ – гематосаливарный барьер подчелюстной слюнной железы;

ГБД – гистогематический барьер прикрепленной десны;

ГП – глутатионпероксидаза;

ДК – диеновые конъюгаты;

КГТ – α -кетоглутарат;

МЕ – единица активности – количество фермента (гиалуронидазы), катализирующие превращение 1 мкмоля субстрата за 1 мин;

МДА – малоновый диальдегид;

ПОЛ – перекисное окисление липидов;

СДГ – сукцинатдегидрогеназа;

СИУ – стресс-индуцирующее устройство;

СИУ ФНОЧ – стресс-индуцирующее устройство для формирования нефизиологической окклюзии челюстей;

СН – сукцинат натрия;

СОД – супероксиддисмутаза;

Р/О – коэффициент окислительного фосфорилирования;

ЭМГПС – этилметилгидроксипиридина сукцинат.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамова, А.Ю. Влияние экспериментального хронического стресса на состояние углеводного обмена у крыс с разными характеристиками поведения / А.Ю. Абрамова, А.С. Перцов, Е.В. Коплик, С.С. Перцов // Бюллетень медицинской науки. - 2018. - № 1. - С. 21-25.
2. Авдеев, А.В. Влияние синбиотика и адаптогена на активность фосфатаз в пародонтите и сыворотке крови при экспериментальном пародонтите / А.В. Авдеев // Вестник стоматологии. - 2012. - №1. – С.4-7.
3. Аверкин, Н.С. Морфометрические параметры аорты у крыс разного возраста и в условиях хронического стресса / Н.С.Аверкин, М.Г.Федорова, Д.А. Степанов, И.В. Латынова, Ж.С. Вишнякова, А.Д. Самарцев, А.В. Титаренко // Современные проблемы науки и образования. - 2020. - № 1. - С. 56.
4. Антонов, Е.В. Стресс и артериальная гипертензия: крысы линии нисаг (isiah) / Е.В.Антонов, Ю.В.Александрович, А.А.Серяпина, Л.О.Климов, А.Л. Маркель // Вавиловский журнал генетики и селекции. - 2015. - Т. 19. № 4. - С. 455-459.
5. Артрушкевич, В.Г. Диагностика и лечение заболеваний пародонта при нарушении минерального обмена / В.Г. Артрушкевич // Автореф. дис. ... докт. мед.наук. – Москва, 2010. - 48 с.
6. Антоненко, М.Ю. Эффективность включения этиотропных препаратов в комплексную гигиену полости рта на ранних этапах развития заболеваний пародонта / М.Ю.Антоненко, Л.Ф.Сидельникова, М.О. Дудникова // Современная стоматология. - 2010. - №1. – С.49-53.
7. Апчел В.Я., Цыган В.Н. Стресс и стрессустойчивость человека. Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова. Санкт-Петербург, 1999.
8. Афанасьева, Е.Ю. Механический стресс как фактор ремоделирования дыхательных путей при хронических респираторных заболеваниях, сопровождающихся синдромом бронхиальной обструкции / Е.Ю. Афанасьева,

Д.Е. Наумов // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. - 2020. - № 75. - С. 104-114.

9. Багметова, В.В. Коррекция психоэмоциональных нарушений у крыс, подвергшихся острому стрессу, путем применения нового производного гамма-аминомасляной кислоты / В.В. Багметова, Л.Е. Бородкина, И.Н. Тюренков // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. - 2013. - Т. 11. № 5. - С. 18.

10. Батурин, В.А. Влияние мексидола и α -токоферола на содержание внутриклеточного кальция и магния у крыс при болевом стрессе / В.А. Батурин, С.А. Сергеев, В.В. Фишер // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2016. - Т. 79. № 8. - С. 15-17.

11. Бедросова, К.А. Влияние бензофуурокаина на гипоксический синдром, окислительный стресс и метаболизм оксида азота при генерализованном пародонтите в эксперименте / К.А. Бедросова, П.А. Галенко-Ярошевский, В.Л. Попков, Г.В. Сукоян // Кубанский научный медицинский вестник. - 2013. - №6. – С.59

12. Белоклицкая, Г.Ф. Изменение бактериального спектра биотопа пародонтального кармана у больных генерализованным пародонтитом под влиянием уз-скейлинга и его комбинации с пародонтотропными средствами гигиены / Г.Ф. Белоклицкая, Я.С. Горбань // Современная стоматология. - 2009. №5. – С.27-32.

13. Белоклицкая, Г.Ф. Оценка клинической эффективности магнито-лазерной терапии в сочетании с антигомотоксическим препаратом «Траумель С» в комплексном лечении больных генерализованным пародонтитом с никотиновой зависимостью / Г.Ф. Белоклицкая, Т.Б. Волинская // Медицинский алфавит. - 2015. - №5. - С.23-28.

14. Бережанская, С.Б. Стресс и патогенетические механизмы развития гипоксически-ишемического поражения головного мозга плода и новорожденного / С.Б. Бережанская, Д.И. Созаева, Е.Я. Каушанская, Л.В.

Кравченко, О.З. Пузикова // Вестник Казахского национального медицинского университета. - 2021. - № 4. - С. 358-364.

15. Блашкова, С.Л. Повышение эффективности лечения гиперчувствительности твердых тканей зубов у пациентов с заболеваниями пародонта / С.Л. Блашкова, Н.А. Макарова // Пародонтология. - 2017. – №1. – С.37-40.

16. Большедворская, Н.Е. Этиопатогенетические особенности воспалительных заболеваний пародонта / Н.Е. Большедворская, Е.М. Казанкова // Безопасность здоровья человека. - 2017. - № 3. - С. 26-35.

17. Брусенцова, А.Е. Функциональная активность нейтрофилов и макрофагов при экспериментальном пародонтите и хроническом болевом синдроме / А.Е. Брусенцова, Ю.Д. Ляшев, Н.В. Цыган, Е.Б. Артюшкова, А.Ю. Ляшев // Российский журнал боли. - 2022. - Т. 20. № 2. - С. 5-10.

18. Будзинский, Н.Э. Определение антимикробной активности мирамистина, иммобилизованного на композиционном полисорбе, на микрофлору корневых каналов при остром и обострившемся хроническом периодонтите и процесс остеопикации в эксперименте на животных / Н.Э. Будзинский, С.В. Сирак, Е.М. Максимова, А.Г. Сирак // Фундаментальные исследования. - 2013. - № 7-3. - С. 518-522.

19. Вагнер, В.Д. Оценка эффективности профилактических мероприятий и профессиональной гигиены при лечении заболеваний пародонта / В.Д. Вагнер, З.Э. Ревазова // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. - 2015. - №3. – С.95-102.

20. Валеева, Е.В. Влияние хронического стресса на биохимические показатели у крыс разного возраста / Е.В. Валеева, И.Х. Валеева, И.И. Семина, Д.О. Никитин, А.Г. Мухамеджанова, Р.Д. Мухаметшина, А.Д. Мухаметшина, О.А. Кравцова // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. - 2020. - Т. 16. № 3. - С. 18-24.

21. Вётош, А.Н. Внутриклеточные механизмы чувствительности к кислороду / А.Н. Вётош // Биохимия. - 2020. - Т. 85. № 1. - С. 49-63.

22. Галиуллина, Э.Ф. Новые подходы к этиологии заболеваний пародонта в свете современной концепции их патогенеза (обзор литературы) / Э.Ф. Галиуллина // Пародонтология. - 2017. - Т. 22. № 2. - С. 21-24.
23. Герелюк, В.И. Закрытый кюретаж и нехирургическая пародонтальная терапия как основы базовой терапии патологии пародонта / В.И. Герелюк, Т.И. Матвийкив, М.М. Илькив // Современная стоматология. - 2017. - №3. - С.28.
24. Глазунов, О.А. Стоматологический статус мужчин зрелого и пожилого возраста с генерализованным пародонтитом / О.А. Глазунов, А.Е. Корнейчук // Вестник стоматологии. - 2016. - №1. – С.21-24.
25. Голобородова, И.В. Целекоксиб: аспекты безопасного обезболивания после стоматологических вмешательств у больных с заболеваниями желудочно-кишечного тракта / И.В. Голобородова, Н.С. Сметнева, Ю.Л. Васильев // Медицинский алфавит. - 2017. - Т.3. № 24. - С. 11-14.
26. Горбунова, И.Л. Обоснование эффективности местной антибактериальной терапии в комплексном лечении больных хроническим генерализованным пародонтитом / И.Л. Горбунова, И.П. Ивашкеева, К.А. Ефименко, Д.О. Колобова, А.А. Баранник, А.С. Деревянко // Уральский медицинский журнал. - 2018. - №1. - С. 34-38.
27. Григорьянц, Л.А. Использование препарата Цифран СТ в хирургической стоматологии для лечения и профилактики послеоперационных воспалительных осложнений / Григорьянц Л.А., Герчиков Л.Н., Бадалян В.А., Сирак С.В., Григорьянц А.Г. // Стоматология для всех. - 2006. - № 2. - С. 14-16.
28. Губина, О.Ф. Определение взаимосвязи особенностей течения хронического генерализованного катарального гингивита и изменений состава биопленки зубной бляшки у курсантов Уфимского юридического института Министерства внутренних дел Российской Федерации в условиях психоэмоционального стресса / О.Ф. Губина, О.Ф. Ситдикова, М.Ф. Кабирова // Проблемы стоматологии. - 2020. - Т. 16. № 3. - С. 38-45.
29. Демьяненко, С.А. Особенности лечения воспалительных заболеваний пародонта у лиц, страдающих алкогольной зависимостью, при использовании

ингибитора свободнорадикальных процессов / С.А. Демьяненко, Н.В. Марченко, В.Н. Кириченко // Пародонтология. - 2017. - №2. – С.61-65.

30. Диденко, Н.Н. Стресс-индуцированные морфологические изменения околоушных слюнных желез крыс с нефизиологической окклюзией челюстей и возможности их коррекции / Н.Н. Диденко, Е.С. Сирак, Е.Е. Щетинина, А.В. Погожева, Г.Г. Петросян // Вестник молодого ученого. - 2021. - Т. 10. № 1. - С. 3-7.

31. Долгих, В.Р. Динамика ключевых клеток в полости рта на фоне хронического эмоционально-информационного стресса в эксперименте / В.Р. Долгих, И.Н. Усманова, А.С. Клыбан // Вестник Новгородского государственного университета. - 2019. - № 3. - С. 11-14

32. Дурягина, Л.Х. Морфометрическое и микроскопическое исследование степени дистрофии альвеолярного отростка у экспериментальных животных в качестве модели для изучения результатов профилактики генерализованного пародонтита в условиях хронического стресса / Л.Х. Дурягина // Крымский терапевтический журнал. - 2012. - № 2. - С. 98-102

33. Зайченко, А.В. Влияние экстракта из листьев персика обыкновенного на состояние иммунологической реактивности крыс при хроническом иммобилизационном стрессе / А.В. Зайченко, О.Я. Мищенко, Х.Ш. Шарифов, Е.Ю. Кошева, Е.Л. Халева // Вестник фармации. - 2019. - № 3. - С. 102-108.

34. Иванкина, Н.И. Профессиональная профилактика в практике стоматолога / Иванкина Н.И. // Cathedra - кафедра. Стоматологическое образование. - 2013. - №44. – С.48-50.

35. Иванова, Ю.Д. Моделирование хронического стресса у крыс самцов, подвергнутых длительной изоляции / Ю.Д. Иванова, М.В. Мальцев, А.В. Кузубов, Н.А. Мохамед-Амин // Природные системы и ресурсы. - 2021. - Т. 11. № 1. - С. 12-19.

36. Иорданишвили, А.К. Гигиена полости рта и ткани пародонта у лиц, страдающих гипосаливией вследствие патологии слюнных желёз, и пути их

улучшения / А.К. Иорданишвили, В.В. Лобейко, Д.В. Балин, А.В. Полевая // Институт стоматологии. - 2015. - №2. – С.32-35.

37. Иорданишвили, А.К. Особенности личностного реагирования на болезнь при патологии пародонта / А.К. Иорданишвили, В.А. Гук // Пародонтология. - 2016. - №4. С.32-36.

38. Карадулева, Е.В. Кардиопротективный эффект модифицированных пероксиредоксинов при ретроградной перфузии изолированного сердца крысы в условиях окислительного стресса / Е.В. Карадулева, Э.К. Мубаракшина, М.Г. Шарапов, А.Е. Волкова, О.Ю. Пименов, В.К. Равин, Ю.М. Коккоз, В.И. Новоселов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2015. - Т. 160. № 11. - С. 584-588.

39. Кидун, К.А. Изменение биохимических показателей сыворотки крови у крыс линии вистар, перенесших хронический стресс / К.А. Кидун, А.Н. Литвиненко, Т.С. Угольник, Н.М. Голубых, Е.К. Солодова // Проблемы здоровья и экологии. - 2019. - № 4. - С. 62-67.

40. Кирбаева, Н.В. Влияние метаболического стресса на содержание коэнзима q10 в тканях активных и пассивных крыс / Н.В. Кирбаева, Н.Э. Шаранова, В.А. Батурина, В.М. Жминченко, С.С. Перцов, А.В. Васильев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2016. - Т. 161. № 5. - С. 593-595.

41. Кожевникова, Л.М. Влияние социально-изоляционного стресса на половые различия возрастных изменений чувствительности сосудов к аргининвазопрессину и экспрессию вазопрессиновых и глюкокортикоидных рецепторов в аорте и миокарде крыс / Л.М. Кожевникова, И.Ф. Суханова // Патогенез. - 2022. - Т. 20. № 1. - С. 42-51.

42. Колесникова, Л.Р. Сравнительный анализ морфологии зубочелюстной системы при хроническом стрессе у нормотензивных и гипертензивных крыс / Л.Р. Колесникова, М.А. Даренская, Л.И. Колесникова, Л.А. Гребенкина, Л.И. Корытов, Ю.К. Батороев, Е.И. Белинская, И.М. Михалевич, С.И. Колесников // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2019. - Т. 167. № 1. - С. 10-13.

43. Корневская, Н.А. Влияние стресса на состояние тканей челюстно-лицевой области / Корневская Н.А., Городецкая И.В. // Вестник Витебского государственного медицинского университета. - 2009. - Т. 8. № 3. - С. 155-163
44. Лемецкая, Т.И. Влияние мексидола на мягкие ткани полости рта в условиях стоматологической патологии / Т.И. Лемецкая, Т.В. Сухова, Ю.А. Петрович // Стоматология. - 2008. - Т. 87. № 6. - С. 31-35.
45. Льянова, Д.К. Характеристика параметров воспалительных цитокинов в процессе развития пародонтита на фоне сахарного диабета / Д.К. Льянова, Т.К. Льянова // Евразийское Научное Объединение. - 2017. - Т. 1. № 2. - С. 72-76.
46. Лопачев, А.В. Нейропротекторное действие карнозина на первичную культуру клеток мозжечка крысы в условиях окислительного стресса / А.В. Лопачев, О.М. Лопачева, Д.А. Абаимов, О.В. Королева, Е.А. Владыченская, А.А. Ерухимович, Т.Н. Федорова // Биохимия. - 2016. - Т. 81. № 5. - С. 678-689.
47. Лукиных, Л.М. Оценка эффективности комплексного этиопатогенетического лечения воспалительных заболеваний пародонта / Л.М. Лукиных, Н.В. Круглова // Dental Forum. - 2013. - №2. - С.5-9.
48. Лысенко, В.И. Оксидативный стресс как неспецифический фактор патогенеза органных повреждений (обзор литературы и собственных исследований) / В.И. Лысенко // Медицина неотложных состояний. - 2020. - Т. 16. № 1. - С. 24-35.
49. Макеев, А.А. Структурно-функциональная организация пластинки роста тела позвонка стареющих крыс в условиях окислительного стресса / А.А. Макеев // Морфология. - 2016. - Т. 149. № 3. - С. 130.
50. Макарова, О.А. Стресс-индуцированные нарушения в системе крови и их коррекция медиаторами и метаболитами стресс-лимитирующих систем / О.А. Макарова // Автореф. дис. ... канд. мед.наук. - Иркутск, 2003. - 24 с.
51. Маскурова, Ю.В. Эффективность применения антиоксидантов в комплексном лечении пародонтита средней и тяжелой степени на фоне постоянного стресса у сотрудников МВД / Ю.В. Маскурова, Т.В. Гайворонская,

- А.Г. Уварова // Российский стоматологический журнал. - 2016. - Т. 20. № 6.- С. 337-340.
52. Михальченко, Д.В. Стресс как фактор-предиктор развития периимплантита / Д.В. Михальченко, С.В. Поройский, Ю.А. Македонова // Georgian Medical News. - 2019. - № 294. - С. 46-50.
53. Мураева, Н.А. Влияние хронического стресса на массу тела и иммунных органов экспериментальных животных раннего возраста / Н.А. Мураева // Волгоградский научно-медицинский журнал. - 2019. - № 4. - С. 3-7.
54. Нагаева, М.О. Роль морфо-конституциональных факторов и системной патологии в развитии стоматологических заболеваний / М.О. Нагаева, В.В. Мирошниченко // Медицинская наука и образование Урала. - 2017. - Т. 18. № 1. - С. 160-165.
55. Никитин, В.В. Малоинвазивная процедура профессиональной гигиены полости рта у пациентов с дентальными имплантатами / В.В. Никитин, С.И. Муравьев, Г.С. Пашкова, С.С. Шевченко, К.Е. Исаджанян, С.А. Андреева // Dental Forum. - 2015. - №4. – С.108-114.
56. Новикова, Л.Б. Применения препарата Мексидол® в острейшем и остром периодах ишемического инсульта / Л.Б. Новикова, К.М. Шарапова, Л.Р. Шарафутдинова // Терапия. - 2019. - Т. 5. № 5. - С. 226-229.
57. Новицкая, И.К. Гипоксия в патогенезе пародонтита (обзор литературы) / И.К. Новицкая, М.Б. Друм, Н.В. Горбатовская // Вестник стоматологии. - 2017. - № 1. - С. 69-75.
58. Островский, А.В. Оценка эффективности методов профессиональной и индивидуальной гигиены полости рта у больных генерализованным пародонтитом / А.В. Островский, Ю.Г. Чумакова // Вестник стоматологии. - 2014. - №2. – С.22-28
59. Орехова, Л.Ю. Состояние пародонта у больных с метаболическим синдромом / Л.Ю. Орехова, Е.Д. Кучумова, А.А. Бармашева, Е.С. Худовекова, И.А. Станиславская // Пародонтология. - 2011. - № 2. – С.28-31.

60. Островский, А.В. Биохимические показатели ротовой жидкости у больных хроническим катаральным гингивитом и генерализованным пародонтитом начальной степени / А.В. Островский // Вестник проблем биологии и медицины. - 2014. - №2. – С.56-59.
61. Островская, И.Г. Влияние экзогенного мелатонина на метаболические процессы в пульпе резцов крыс при иммобилизационном стрессе / И.Г. Островская, С.С. Перцов, Т.П. Вавилова, А.Ю. Абрамова, А.В. Митронин, О.Г. Рубцова, К.В. Самусенкова, А.Д. Смирнова // Эндодонтия Today. - 2017. - № 1. - С. 16-19.
62. Перцов, С.С. Воздействие мелатонина на активность антиоксидантных ферментов в эритроцитах крови крыс при остром эмоциональном стрессе / С.С. Перцов, Л.С. Калиниченко, Е.В. Коплик, Л.Г. Наглер, Е.С. Алинкина, А.И. Козаченко // Биомедицинская химия. - 2015. - Т. 61. № 3. - С. 394-399.
63. Петров, И.А. Применение орального ирригатора у беременных с начальными формами воспалительных заболеваний пародонта / И.А. Петров, О.Е. Белова, А.Ф. Чернавский // Проблемы стоматологии. - 2016. - №2. – С.43-49.
64. Петросян, Г.Г. Стресс-индуцированные нарушения структуры тканей пародонта в эксперименте на животных / Г.Г. Петросян, С.В. Сирак, Р.Г. Романенко, А.Г. Тарабрина, Е.В. Щетинин // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2018. – Т.13, №1. – С.73-77.
65. Попова, А.Н. Сравнение различных методов профессиональной гигиены полости рта при лечении катарального гингивита / А.Н. Попова, С.В. Крайнов // Colloquium-journal. - 2017. - №8. – С.17-19.
66. Попович, И.Ю. Системное воспаление низкой интенсивности как причина и следствие воспалительно-дистрофических болезней пародонта / И.Ю. Попович, М.С. Расин, Т.А. Петрушанко // Вестник проблем биологии и медицины. - 2017. - Т. 1. № 4 . - С. 65-69.
67. Раваева, М.Ю. Показатели микроциркуляции крыс, находящихся в условиях комбинированного действия хронического и острого стресса / М.Ю.

- Раваева, Е.Н. Чуян, Е.А. Бирюкова, Р.Н. Аблаева, С.Н. Файчак // Орбиталь. - 2018. - № 2. - С. 23-29.
68. Рустамов, Э.А. Результаты применения профессиональной гигиены во время лечения воспалительных заболеваний пародонта у подростков / Э.А. Рустамов // International Scientific Review. - 2016. - №4. – С.251-253.
69. Рубцова, Н.Г. Индивидуальная гигиена полости рта и микроскопическая оценка структуры щетинок зубных щеток при их ежедневном использовании / Н.Г. Рубцова, С.В. Сирак, А.Г. Сирак // Эндодонтия Today. - 2013. - № 3. - С. 68-72.
70. Сабирова, А.И. Современные представления о факторах риска развития и прогрессирования заболеваний тканей пародонта / А.И. Сабирова, И.А. Акрамов, З.Д. Рамазанова, В.В. Сергеева, Л.К. Ибишева // The Scientific Heritage. - 2021. - № 73-2.- С. 23-31.
71. Савельева, Н.Н. Влияние эстрогенной недостаточности и ее сочетания с хроническим стрессом на состояние пародонта старых крыс / Н.Н. Савельева, О.В. Гончаренко, С.А. Шнайдер, Е.К. Ткаченко // Запорожский медицинский журнал. - 2019. - Т. 21. № 1. - С. 90-94.
72. Савинова, Н.В. Динамика метаболизма коллагена в тканях крыс с экспериментальным диабетом, протекающим на фоне хронического эмоционального стресса / Н.В. Савинова, О.В. Данилова, С.Е. Переведенцева, С.Р. Трофимова, Н.Г. Наумова // Молекулярная медицина. - 2021. - Т. 19. № 4. - С. 52-58.
73. Саидов, М.З. Аутофагия, апоптоз, некроптоз, пироптоз и нетоз в патогенезе иммуновоспалительных ревматических заболеваний / М.З. Саидов // Медицинская иммунология. - 2022. - Т. 24, № 4. - С. 659-704. doi: 10.15789/1563-0625-AAN-2482
74. Сериков, В.С. Влияние мелатонина на стресс-индуцированные изменения в пародонте крыс с различными типологическими особенностями / В.С. Сериков, Ю.Д. Ляшев, А.Е. Карлаш, А.В. Солин // Пародонтология. - 2014. - Т. 19. № 2. - С. 27-31.

75. Сирак, А.Г. Профилактика кариеса зубов и воспалительных заболеваний пародонта с использованием зубных эликсиров / А.Г. Сирак, С.В. Сирак // Современные проблемы науки и образования. - 2013. - №4. - С. 110.
76. Сирак, А.Г. Экспериментальная оценка структуры эндотелия сосудов пародонта в динамике воспалительного процесса / А.Г. Сирак, Е.В. Щетинин, Н.И. Быкова, Г.Г. Петросян, С.В. Сирак, Р.Г. Романенко // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2018. – №1. – С.96-99.
77. Смирнова, Т.С. Особенности строения щитовидной железы при хроническом стрессе на ранних этапах постнатального онтогенеза / Т.С. Смирнова, Л.И. Кондакова, О.В. Фёдорова, Н.А. Мураева // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. - 2020. - № 1. - С. 28-30.
78. Солодова, Е.К. Морфологические изменения в семенниках крыс линии Вистар под влиянием неспецифического хронического стресса / Е.К. Солодова, К.А. Кидун, Т.С. Угольник // Проблемы здоровья и экологии. - 2019. - № 2. - С. 70-74.
79. Урбанович, В.И. Влияние стресса на нейротканевые отношения в десне / В.И. Урбанович, Т.А. Вылегжанина // Стоматолог. Минск. - 2018. - № 2. - С. 62-68.
80. Усманова, И.Н. Особенности клинического состояния тканей пародонта у лиц молодого возраста / И.Н. Усманова, М.А.М. Аль Кофиш, Л.И. Кузнецова, А.И. Шангареева, С.М. Кашина, И.Р. Усманов, Е.В. Ткаченко, А.Г. Осипенко // Проблемы стоматологии. - 2021. - Т. 17. № 3. - С. 58-63.
81. Фёдорова, А.О. Влияние стресса и его коррекции на лимфоцитопоз у крыс / А.О. Фёдорова, Н.С. Кухаренко, В.А. Коноплёв, С.П. Ковалёв // Международный вестник ветеринарии. - 2021. - № 2. - С. 148-154.
82. Хаспеков Л.Г. Современные представления о роли стресса в патогенезе хронических нейродегенеративных заболеваний / Л.Г. Хаспеков // Биохимия. - 2021. - Т. 86. № 6. С. - 894-903.

83. Цикунов, С.Г. Витальный стресс вызывает длительные расстройства поведения и обмена липидов у самок крыс / С.Г. Цикунов, А.Г. Пшеничная, Н.Н. Ключева, Т.В. Виноградова, А.Д. Денисенко // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. - 2016. - Т. 14. № 4. - С. 32-41.
84. Цыган В.Н. Адаптация при стрессе и ее значение в развитии посттравматического стресса / В.Н. Цыган, А.Д. Фесюн, В.В. Васильченко // *Проблемы реабилитации*. - 2000. - №1. - С. 79.
85. Шаравьева, И.Л. Влияние различных видов стресса на апоптоз CD4+/CD8+ лимфоцитов в условиях блокады опиатных рецепторов *in vivo* / И.Л. Шаравьева, С.В. Гейн // *Российский иммунологический журнал*. - 2021. - Т. 24. № 2. - С. 203-208.
86. Янкелевич, И.А. Влияние хронического эмоционально-физического стресса на показатели нейроэндокринной и иммунной систем / И.А. Янкелевич, Т.А. Филатенкова, М.В. Шустов // *Медицинский академический журнал*. - 2019. - Т. 19. № 1. - С. 85-90.
87. Ярмошук, И.Р. Денситометрические изменения показателей при хирургическом лечении генерализованного пародонтита у больных с остеопенией / И.Р. Ярмошук, Н.М. Рожко, Л.И. Пелехан // *Актуальные научные исследования в современном мире*. - 2017. - №2-3. – С.95-99.
88. Ярмошук, И.Р. Биохимические изменения под влиянием хирургического лечения больных генерализованный пародонтит с остеопенией / И.Р. Ярмошук, М.В. Тарнавская, Ю.И. Солоджук // *Актуальные научные исследования в современном мире*. - 2016. - №10-4. – С.64-69.
89. Ярова, С.П. Реологические свойства ротовой жидкости у больных хроническим пародонтитом / С.П. Ярова, А.А. Бессмертный, Т.С. Осипенкова, Ю.В. Бессмертная // *Вестник проблем биологии и медицины*. - 2012. - №2. – С.191-194.
90. Яценко, О.П. Изучение тканеспецифической экспрессии сплайс-вариантов МРНК и IL-4 и IL-6 у мыши и человека / О.П. Яценко // *Автореф. дис. ... канд. мед.наук.* – Новосибирск, 2011. - 25 с.

91. Aguiar, J.C.A. Fluoxetine reduces periodontal disease progression in a conditioned fear stress model in rats / J.C.A. Aguiar, E.P.P. Gomes, T. Fonseca-Silva // *Journal of Periodontal Research*. – 2013. – V.48, N5. – P.632-637.
92. Barr, C. Noninflammatory Stress-Induced Remodeling of Mandibular Bone: Impact of Age and Pregnancy / C. Barr, R. Sharafieh, G. Schwarz, R. Wu, U. Klueh, D.Kreutzer // *J Oral Maxillofac Surg*. – 2021. – V.79, N5. – P.1147-1155. doi: 10.1016/j.joms.2020.12.003
93. Becker, B.E. Personality differences and stressful life events. Differences between treated periodontal patients with and without maintenance / B.E. Becker, C.L. Karp, W. Becker, L. Berg // *Journal of Clinical Periodontology*. -1988. – V.15, N1. – P.49-52. doi: 10.1111/j.1600-051X.1988.tb01554.x
94. Bertoldi, C. Non-bacterial protein expression in periodontal pockets by proteome analysis / C. Bertoldi, E. Bellei, C. Pellacani, D. Ferrari, A. Lucchi, A. Cuoghi, S. Bergamini, E. Monari // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2013. – V.40, N6. – P.573-582. doi: 10.1111/jcpe.12050
95. Bertoldi, C. Risk factors and socioeconomic condition effects on periodontal and dental health: A pilot study among adults over fifty years of age / C. Bertoldi, M. Lalla, J.M. Pradelli, P. Cortellini, A. Lucchi, D. Zaffe // *European Journal of Dentistry*. – 2013. – V.7, N3. – P.336-346. doi: 10.4103/1305-7456.115418
96. Borkowska, E.D. The relationship of health beliefs and psychological mood to patient adherence to oral hygiene behavior / E.D. Borkowska, T.L.P. Watts, J. Weinman // *Journal of Clinical Periodontology*. – 1998. – V.25, N3. – P.187-193. doi: 10.1111/j.1600-051X.1998.tb02427.x
97. Bosma-Den Boer, M.M. Chronic inflammatory diseases are stimulated by current lifestyle: How diet, stress levels and medication prevent our body from recovering / M.M. Bosma-Den Boer, M.-L. Van Wetten, L. Pruijboom // *Nutrition and Metabolism*. – 2012. – V.9. - art. no. 32. doi: 10.1186/1743-7075-9-32
98. Breivik, T. Effects of hypothalamic-pituitary-adrenal axis reactivity on periodontal tissue destruction in rats / T. Breivik, P.K. Opstad, P. Gjermo, P.S. Thrane

- // Eur. J. Oral Sci. - 2000. – V.108, N2. – P.115-22. doi: 10.1034/j.1600-0722.2000.00774.x
99. Breivik, T. Chronic glycine treatment inhibits ligature-induced periodontal disease in Wistar rats / T. Breivik, Y. Gundersen, F. Fonnum, P. Vaagenes, P.K. Opstad // Journal of Periodontal Research. – 2005. – V.40, N1. – P.43-47. doi: 10.1111/j.1600-0765.2004.00767.x
100. Calil, C.M. Effects of stress hormones on the production of volatile sulfur compounds by periodontopathogenic bacteria / C.M. Calil, G.M. Oliveira, K. Cogo, A.C. Pereira, F.K. Marcondes, F.C. Groppo // Brazilian Oral Research. – 2014. – V. 28, N3. – P. 189-196. doi: 10.1590/1807-3107BOR-2014.vol28.0008
101. Castro, M.M.L. Antioxidants as Adjuvants in Periodontitis Treatment: A Systematic Review and Meta-Analysis / M.M.L. Castro, N.N. Duarte, P.C. Nascimento, M.B. Magno, N.C.F. Fagundes, C. Flores-Mir, M.C. Monteiro, C.K. Rösing, L.C. Maia, R.R. Lima // Oxid. Med. Cell. Longev. – 2019. – V.2019. – P.9187978. doi: 10.1155/2019/9187978
102. Chen, J. Mechanical stress potentiates the differentiation of periodontal ligament stem cells into keratocytes / J. Chen, W. Zhang, L.J. Backman // British journal of ophthalmology. – 2018. - V.102, N4. – P. 562-569. doi: 10.1136/bjophthalmol-2017-311150
103. Coelho, J.M.F. Is there association between stress and periodontitis? / J.M.F. Coelho, S.S. Miranda, S.S. da Cruz, S.C. Trindade, J.S. Passos-Soares et al. // Clin. Oral Investig. – 2020. – V.24, N7. – P.2285-2294. doi: 10.1007/s00784-019-03083-9
104. Davis, C.H. Mental Stress and Oral Diseases / C.H. Davis, C.D. Jenkins // Journal of Dental Research. – 1962. – V.41, N5. – P.1045-1049. doi: 10.1177/00220345620410050601
105. D'Ambrosio, F. Chronic Stress and Depression in Periodontitis and Peri-Implantitis: A Narrative Review on Neurobiological, Neurobehavioral and Immune-Microbiome Interplays and Clinical Management Implications / F. D'Ambrosio, M. Caggiano, L. Schiavo, G. Savarese, L. Carpinelli, A. Amato, A. Iandolo // Dent. J. – 2022. – V.10, N.3. – P.49. doi: 10.3390/dj10030049

106. Decker, A.M. The psychobiological links between chronic stress-related diseases, periodontal/peri-implant diseases, and wound healing / A.M. Decker, Y.L. Kapila, H.L. Wang // *Periodontol 2000*. – 2021. - V.87, N1. – P.94-106. doi: 10.1111/prd.12381
107. Eickholz, P. Tooth loss after active periodontal therapy. 1: Patient-related factors for risk, prognosis, and quality of outcome / P. Eickholz, J. Kaltschmitt, J. Berbig, P. Reitmeir, B. Pretzl // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2018. – V.35, N2. -P. 165-174. doi: 10.1111/j.1600-051X.2007.01184.x
108. Feng, L.S. Cadherin-11 modulates cell morphology and collagen synthesis in periodontal ligament cells under mechanical stress / L.S. Feng, Y.M. Zhang, X.X. Kou, R.L. Yang, D.W. Liu, X.D. Wang, Y. Song, H.F. Cao, D.Q. He, Y.H. Gan // *Angle Orthodontist*. – 2017. – V.87, N2. – P. 193-199. doi: 10.2319/020716-107.1
109. Genco, R.J. Models to evaluate the role of stress in periodontal disease / R.J. Genco, A.W. Ho, J. Kopman, S.G. Grossi, R.G. Dunford, L.A. Tedesco // *Annals of periodontology - the American Academy of Periodontology*. – 1998. – V.3, N1. – P. 288-302. doi: 10.1902/annals.1998.3.1.288
110. Genco, R.J. Relationship of stress, distress, and inadequate coping behaviors to periodontal disease / R.J. Genco, A.W. Ho, S.G. Grossi, R.G. Dunford, L.A. Tedesco // *Journal of Periodontology*. – 1999. – V.70, N7. – P. 711-723. doi: 10.1902/jop.1999.70.7.711
111. Green, L.W. Periodontal disease as a function of life events stress / L.W. Green, W.W. Tryon, B. Marks, J. Huryn // *Journal of Human Stress*. – 1986. – V.12, N1. – P. 32-36. doi: 10.1080/0097840X.1986.9936764
112. Grimm, W.D. Quantifying analysis of advanced glycosylation end products (AGES) expression in periodontitis patients with diabetes type II / W.D. Grimm, E.V. Shchetinin, D.V. Bobrishev, S.V. Sirak // *Medical News of North Caucasus*. - 2015. - V. 10. №2. - P.178-183. doi: 10.14300/mnnc.2015.10042
113. Haririan, H. Salivary neuropeptides, stress, and periodontitis / H. Haririan, O. Andrukhov, M. Bottcher, E. Pablik, G. Wimmer, A. Moritz, X. Rausch-Fan // *Journal of Periodontology*. – 2018. – V.89, N1. – P. 9-18. doi: 10.1902/jop.2017.170249

114. Harris, R.B.S. Chronic and acute effects of stress on energy balance: are there appropriate animal models? / R.B.S. Harris // *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*. – 2015. – V.308, N4. – P. R250-R265. doi: 10.1152/ajpregu.00361.2014
115. Highfield, J. Diagnosis and classification of periodontal disease / J. Highfield // *Australian Dental Journal*. – 2009. – V.54. – P. S11-S26. doi: 10.1111/j.1834-7819.2009.01140.x
116. Huang, S.G. The Role of Psychologic Stress-Induced Hypoxia-Inducible Factor-1 alpha in Rat Experimental Periodontitis / S.G. Huang, F.L. Lu, Z.F. Zhang, X.Y. Yang, Y. Chen // *Journal of Periodontology*. – 2011. – V.82, N6. – P. 934-941. doi: 10.1902/jop.2010.100610
117. Hugoson, A. Effect of three different dental health preventive programmes on young adult individuals: A randomized, blinded, parallel group, controlled evaluation of oral hygiene behaviour on plaque and gingivitis / A. Hugoson, D. Lundgren, B. Asklöw, G. Borgklint // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2007. – V.34, N5. – P. 407-415. doi: 10.1111/j.1600-051X.2007.001069.x
118. Kelly, R.R. Impacts of Psychological Stress on Osteoporosis: Clinical Implications and Treatment Interactions / R.R. Kelly, L.T. McDonald, N.R. Jensen, S.J. Sidles, A.C. LaRue // *Front. Psychiatry*. – 2019. – V.10. – P.200. doi: 10.3389/fpsy.2019.00200
119. Kumano, H. Osteoporosis and stress / H. Kumano // *Clin. Calcium*. – 2005. – V.15, N9. – P.1544-1547.
120. Liezmann, C. Stress, atopy and allergy: A re-evaluation from a psychoneuroimmunologic perspective / C. Liezmann, B. Klapp, E.M.J. Peters // *Dermato-Endocrinology*. – 2011. – V.3, N1. – P. 37-40. doi: 10.4161/derm.3.1.14618
121. Lima, P.O. Influence of gender and stress on the volatile sulfur compounds and stress biomarkers production / P.O. Lima, C.M. Calil, F.K. Marcondes // *Oral Diseases*. – 2013. – V.19, N4. – P. 366-373. doi: 10.1111/odi.12011

122. Linden, G.J. Stress and the progression of periodontal disease / G.J. Linden // *Journal of Clinical Periodontology*. – 1996. – V.23, N7. – P. 675-680. doi: 10.1111/j.1600-051X.1996.tb00593.x
123. Lopes Castro, M.M. Blood Oxidative Stress Modulates Alveolar Bone Loss in Chronically Stressed Rats / M.M. Lopes Castro, P.C. Nascimento, D. Souza-Monteiro, S.M. Santos, M.B. Arouck, V.B. Garcia, R.F. Araújo Jr, A.A. de Araujo et al. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – V.21, N10. – P. 3728. doi: 10.3390/ijms21103728
124. Martino, M.M. Extracellular matrix-inspired growth factor delivery systems for bone regeneration / M.M. Martino, P.S. Briquez, K. Maruyama, J.A. Hubbell // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2015. – V.94. – P. 41-52. doi: 10.1016/j.addr.2015.04.007
125. Melnik, E.V. Validated HPLC-MS/MS method for quantification of ethylmethylhydroxypyridine succinate in rat brain and its application to a pharmacokinetic study / E.V. Melnik, A.E. Petukhov, S.V. Kozin, T.Y. Pomerantseva, G.V. Ramenskaya // *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* – 2018. – V.1096. – P.180-186. doi: 10.1016/j.jchromb.2018.08.029
126. Miller, G.E. Chronic psychological stress and the regulation of pro-inflammatory cytokines: A glucocorticoid-resistance model / G.E. Miller, S. Cohen, A.K. Ritchey // *Health Psychology*. – 2002. – V.21, N6. – P. 531-541. doi: 10.1037//0278-6133.21.6.531
127. Minhoto, G.B. Effect of chronic unpredictable stress on the progression of experimental apical periodontitis in rats / G.B. Minhoto, R.D. Khoury, E.I.F. Orozco, R.F. Prado, M.C. Valera // *Int Endod J.* – 2021. – V.54, N.8. – P.1342-1352. doi: 10.1111/iej.13515
128. Natali, A.N. A transversally isotropic elasto-damage constitutive model for the periodontal ligament / A.N. Natali, P.G. Pavan, E.L. Carniel, C. Dorow // *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*. – 2003. – V.6, N5-6. – P. 329-336. doi: 10.1080/10255840310001639840
129. Newton, J.T. Managing oral hygiene as a risk factor for periodontal disease: A systematic review of psychological approaches to behaviour change for improved

- plaque control in periodontal management / J.T. Newton, K. Asimakopoulou // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2015. – V.42, NS16. – P. S36-S46. doi: 10.1111/jcpe.12356
130. Ng, J.S. Potential mechanisms linking psychological stress to bone health / J.S. Ng, K.Y. Chin // *Int J Med Sci*. – 2021. – V.18, N.3. – P.604-614. doi: 10.7150/ijms.50680
131. Paśnik-Chwalik, B. Impact of periodontitis on the Oral Health Impact Profile: A systematic review and meta-analysis / B. Paśnik-Chwalik, T. Konopka // *Dent. Med. Probl.* – 2020. – V.57, N4. – P.423-431. doi: 10.17219/dmp/125028
132. Pedro, D. In Vitro Evaluation of the Effect of Chemical and Thermal Stress of the Mechanical Properties of Periodontal Curettes under Simulated Conditions of Sharpening Wear / D. Pedro, R. Puglisi, P. Levi, A. Pascuald, J. Narte // *Oral Health & Preventive Dentistry*. – 2017. – V.15, N.4. – P.379-384. doi: 10.3290/j.ohpd.a38733
133. Petit, C. Influence of psychological stress on non-surgical periodontal treatment outcomes in patients with severe chronic periodontitis / C. Petit, V. Anadon-Rosinach, L. Rettig, C. Schmidt-Mutter, N. Tuzin, J.L. Davideau, O.Huck // *J Periodontol*. – 2021. – V.92, N2. – P.186-195. doi: 10.1002/JPER.20-0105
134. Pitzurra, L. Stress and periodontitis / L. Pitzurra, B.G. Loos // *Ned. Tijdschr. Tandheelkd.* 2020;127(6):358-364. doi: 10.5177/ntvt.2020.06.20032
135. Plemmenos, G. Pathogenic Molecular Mechanisms in Periodontitis and Peri-Implantitis: Role of Advanced Glycation End Products / G. Plemmenos, C. Piperi // *Life (Basel)*. 2022. – V.12, N2. – P.218. doi: 10.3390/life12020218
136. Saletu, A. Controlled clinical and psychometric studies on the relation between periodontitis and depressive mood / A. Saletu, H. Pirker-Frühauf, F. Saletu, L. Linzmayer, P. Anderer, M. Matejka // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2005. – V.32, N12. – P. 1219-1225. doi: 10.1111/j.1600-051X.2005.00855.x
137. Schmidt, J. Association of Oral Health Conditions in Adolescents with Social Factors and Obesity / J. Schmidt, M. Vogel, T. Poulain, W. Kiess, C. Hirsch, D. Ziebolz, R. Haak // *Int. J. Environ. Res. Public. Health*. 2022. – V.19, N5. – P.2905. doi: 10.3390/ijerph19052905

138. Semenoff, T.A.D. Effect of chronic stress in newborn rats on the progression of ligature-induced-periodontitis in adulthood / T.A.D. Semenoff, A. Rosa, A.H. Borges, A.N. Porto, C. Caporossi, A.S. Segundo // *Acta Cirurgica Brasileira*. – 2013. – V.28, N9. – P. 652-656. doi: 10.1590/S0102-86502013000900005
139. Semenoff-Segundo, A. Effect of chronic stress on ligature-induced periodontitis in inbred and noninbred rats: a radiographic study / A. Semenoff-Segundo, A.H. Borges, M.C. Bandeca // *The journal of contemporary dental practice*. – 2014. – V.15, N5. – P. 556-560.
140. da Silva, J.C. The effect of periodontal therapy on oxidative stress biomarkers: A systematic review / J.C. da Silva, F. Muniz, H.J.R. Oballe, M. Andrades, C.K. Rösing, J. Cavagni // *J. Clin. Periodontol.* 2018. – V.45, N10. – P.1222-1237. doi: 10.1111/jcpe.12993
141. Singh, N. Vitamin E supplementation, superoxide dismutase status, and outcome of scaling and root planing in patients with chronic periodontitis: a randomized clinical trial / N. Singh, S. Chander Narula, R. Kumar Sharma, S. Tewari, P. Kumar Sehgal // *J. Periodontol.* 2014. – V.85, N2. – P.242-249. doi: 10.1902/jop.2013.120727.
142. Sirak, S.V. Treatment and rehabilitation of patients with subtotal mandible defects / Sirak S.V., Sletov A.A., Shchetinin E.V., Mikhalchenko D.V. // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. - 2015. - T. 6. - № 6. - C. 1803-1810.
143. Sirak, S.V. Prevention of complications in patients suffering from pathological mandibular fractures due to bisphosphonate-associated osteonecroses / Sirak S.V., Shchetinin E.V. // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. - 2015. - T. 6. - № 5. - C. 1678-1684.
144. Sirak S.V. Osteoporotic sheep mandibular model for comparative alveolar bone healing research / Sirak S.V., Shchetinin E.V., Bobryshev D., Fritsch T., Giesenhagen B., Petrosyan G.G., Didenko N.N., Romanenko R.G., Grimm W.D. // *Medical News of North Caucasus*. - 2017. - V.12. - № 3. - P. 284-289. doi: 10.14300/mnnc.2017.12091

145. Sletov, A. A Treatment of patients with surround defects mandible / A.A. Sletov, S.V. Sirak, D.V. Mihalchenko, A.V. Zhidovinov // International Journal of Applied and Fundamental Research. - 2016. - № 5. - P. 9.
146. Solis, A.C.D. Impact of post-traumatic stress disorder on oral health / A.C.D. Solis, A.C. Araujo, F. Corchs, M. Bernik, E.P. Duran, C. Silva, F. Lotufo-Neto // Journal of Affective Disorders. – 2017. – V.219. – P. 126-132. doi: 10.1016/j.jad.2017.05.033
147. Son, H. A Chronic Immobilization Stress Protocol for Inducing Depression-Like Behavior in Mice / H. Son, J.H. Yang, H.J. Kim, D.K. Lee // J. Vis. Exp. – 2019. – P.147. doi: 10.3791/59546
148. A Tanveer, S. Association of Self-Perceived Psychological Stress with the Periodontal Health of Socially Deprived Women in Shelter Homes / S. A Tanveer, A. Afaq, M.N. Alqutub, N. Aldahiyan, A.M. AlMubarak, A.C. Shaikh, M. Naseem, F. Vohra, T.Abduljabbar // Int J Environ Res Public Health. – 2021. – V.18, N10. – P.5160. doi: 10.3390/ijerph18105160
149. Thant, L. Extracellular Matrix-Oriented Proteomic Analysis of Periodontal Ligament Under Mechanical Stress / L. Thant, M. Kaku, Y. Kakihara, M. Mizukoshi, M. Kitami, M. Arai, K. Kitami, D. Kobayashi, Y. Yoshida, T. Maeda, I. Saito, K. Uoshima, M. Saeki // Front Physiol. – 2022. – V.13. – P.899699. doi: 10.3389/fphys.2022.899699
150. Voronina, T.A. Geroprotective effects of ethylmethylhydroxypyridine succinate in an experimental study / T.A. Voronina // Zh. Nevrol. Psikhiatr. Im. S. S. Korsakova. – 2020. – V.120, N4. – P.81-87. doi: 10.17116/jnevro202012004181
151. Wang, G. Effect of hyperbaric oxygen on HIF-1 alpha expression in rat experimental periodontitis with psychological stress / G. Wang, R. Wang, J. Li, S.G. Huang // International journal of clinical and experimental medicine. – 2017. – V.10, N8. – P. 11866-11875.
152. Washington, P.M. Hyaluronidase reduced edema after experimental traumatic brain injury / P.M. Washington, C. Lee, M.K.R. Dwyer, E.E. Konofagou, S.G. Kernie,

B. Morrison // *J. Cereb. Blood Flow. Metab.* – 2020. - V. 40, N10. – P.2026-2037. doi: 10.1177/0271678X19882780

153. Yamamoto, R. Changes in the microcirculation in periodontal tissue due to experimental peri-implantitis / R. Yamamoto, K. Amano, S.W. Takahashi, M. To, S. Takahashi, M. Matsuo // *J. Oral Biosci.* – 2021. – V.63, N2. – P.153-160. doi: 10.1016/j.job.2021.03.002

154. Zhang, H. To evaluate the serum cortisol, salivary cortisol, and serum interleukin-1 B level in patients of chronic periodontitis with smoking and stress and without smoking and stress / H. Zhang, B. Chen, C. Pan, A. Zhang // *Medicine (Baltimore)*. – 2021. – V.100, N.31. – P.e26757. doi: 10.1097/MD.00000000000026757

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ

№ 182498

**СТРЕСС-ИНДУЦИРУЮЩЕЕ УСТРОЙСТВО ДЛЯ
ФОРМИРОВАНИЯ НЕФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ
ОККЛЮЗИИ ЧЕЛЮСТЕЙ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО
ЖИВОТНОГО**

Патентообладатели: *Сирак Сергей Владимирович (RU), Щетинин Евгений Вячеславович (RU), Петросян Григорий Григорьевич (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 № 2018103520

Приоритет полезной модели 30 января 2018 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре полезных
моделей Российской Федерации 21 августа 2018 г.

Срок действия исключительного права
на полезную модель истекает 30 января 2028 г.



*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

Г.П. Ивлиев

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) **RU** (11)**182 498⁽¹³⁾ U1**(51) МПК
G09B 23/28 (2006.01)ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**(12) ФОРМУЛА ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ**(52) СПК
G09B 23/28 (2006.01)

(21)(22) Заявка: 2018103520, 30.01.2018

(24) Дата начала отчета срока действия патента:
30.01.2018Дата регистрации:
21.08.2018Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: 30.01.2018

(45) Опубликовано: 21.08.2018 Бюл. № 24

Адрес для переписки:
355000, г. Ставрополь, ул. Узорная, 12, Сирак
С.В.(72) Автор(ы):
Сирак Сергей Владимирович (RU),
Щетинин Евгений Вячеславович (RU),
Петросян Григорий Григорьевич (RU),
Романенко Роман Геннадьевич (RU),
Вафиади Аксиныя Антоновна (RU),
Быкова Наталья Ильинична (RU),
Тарабрина Анна Геннадьевна (RU)(73) Патентообладатель(и):
Сирак Сергей Владимирович (RU),
Щетинин Евгений Вячеславович (RU),
Петросян Григорий Григорьевич (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 2530750 C1, 10.10.2014. RU
2015133700 A, 17.02.2017. RU 2520155 C1,
20.06.2014. RU 2472231 C1, 10.01.2013.**(54) СТРЕСС-ИНДУЦИРУЮЩЕЕ УСТРОЙСТВО ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ НЕФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ
ОККЛЮЗИИ ЧЕЛЮСТЕЙ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЖИВОТНОГО**

(57) Формула полезной модели

Стресс-индуцирующее устройство для формирования нефизиологической окклюзии челюстей у экспериментальной крысы, включающее фиксирующий жилет с двумя отверстиями для передних лап и одним отверстием для шеи с застежкой на контактную ленту, дополнительно содержащее металлический шарик, выполненный с возможностью размещения во рту экспериментальной крысы, в области неба между зубными рядами на уровне боковых зубов и имеющий отверстие посередине, через которое свободно пропущена круглая арамидная нить толщиной 1 мм с двумя симметрично расположенными силиконовыми ограничителями, жестко прикрепленная к металлическому кольцу, вшитому в воротник фиксирующего жилета.