

На правах рукописи

РОМАНЕНКО
Роман Геннадьевич

СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННЫЕ НАРУШЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА
ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА И СПОСОБЫ ИХ КОРРЕКЦИИ

3.3.3. Патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Ставрополь – 2022

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России)

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор
ЩЕТИНИН Евгений Вячеславович

Официальные оппоненты:

Бобынцев Игорь Иванович, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра патологической физиологии, заведующий кафедрой;

Каде Азамат Халидович, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра общей и клинической патофизиологии, заведующий кафедрой;

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «___» _____ 2022 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета 24.2.318.01 на базе Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», Института «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» по адресу: 295051 г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на официальном сайте ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», Института «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» и на сайте <http://cfuv.ru/>

Автореферат разослан «___» _____ 2022 года.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, доцент

Зяблицкая Евгения Юрьевна

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.Дурагина, 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.Сабирова, 2021; G.B.Minhoto, 2021; S.A Tanveer, 2021).

Существуют исследования, которые доказывают сопряченность 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 гомеостази 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; N.Nagigian, 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; M.M.L.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 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 костной 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 формирования 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 антиоксидентного 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 объема 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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Решение поставленных в настоящем научном исследовании задач проведено в эксперименте и клинике, а также в лабораторных условиях (табл. 1).

Таблица 1 – Объем экспериментальных, лабораторных и клинических исследований

Объекты исследования	Наименования проведенных исследований	Кол-во
Лабораторные исследования		
СИУ (стресс-индуцирующее устройство)	Опытно-конструкторские и экспериментальные исследования по разработке стресс-индуцирующего устройства для формирования нефизиологической окклюзии челюстей у экспериментального животного (крысы)	1
Экспериментальные исследования		
Крысы	Исследование метаболических изменений в костной ткани челюстей при хроническом стрессе, обусловленном использованием стресс-индуцирующего устройства для формирования нефизиологической окклюзии челюстей	100
Крысы	Исследование эффективности применения антиоксиданта для коррекции патологических изменений в тканях пародонта на фоне использования стресс-индуцирующего устройства	78
Электронно-микроскопические исследования		
Зубоальвеолярные блоки	Исследование уровня прикрепления десны, степени оголения корней зубов, степени атрофии альвеолярного отростка челюсти крыс	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
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
Рентгенологические исследования		
Крысы	Рентгенологическое исследование для калибровки используемых методов исследования, предварительный этап при подготовке электронно-микроскопического исследования, контроль на этапах эксперимента	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

Материалы и методы экспериментальной части исследования. Материалы и методы первой серии эксперимента на животных. Моделирование патологических изменений в тканях пародонта при экспериментальном хроническом стрессе. Для обеспечения возможности неинвазивного моделирования воспаления тканей пародонта, в результате опытно-конструкторских и лабораторных исследований разработано 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. 1). Устройство выполнено 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. 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 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.

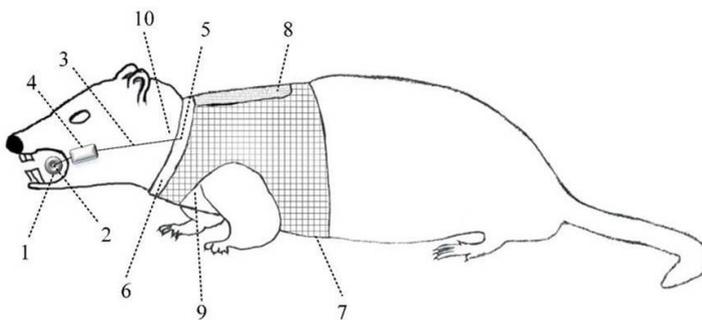


Рисунок 1 – схема стресс-индуцирующего устройства для формирования нефизиологической окклюзии челюстей у экспериментального животного, выполненного в виде металлического шарика (1), имеющего отверстие посередине (2), через которое свободно пропущена круглая арамидная нить (3) толщиной 1 мм с двумя симметрично 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

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 не ограничена: с закрепленным на теле и во рту устройством животное свободно пьет, принимает пищу, однако, благодаря его конструктивным особенностям, не может жевать на обе стороны челюстей одновременно (мешает металлический шарик во рту), поэтому пережевывает пищу то на одной, то на другой стороне.

Исследования проведены на белых лабораторных годовалых крысах-самцах (всего 100 животных). Все животные разделены на 5 равных групп по 20 особей в каждой: 1-я – интактные животные (контрольная группа, без устройства, сроки выведения из эксперимента – 15, 30, 60 и 90 суток); 2-я группа – животные с установленным стресс-индуцирующим устройством для формирования нефизиологической окклюзии челюстей в течение 15 суток; 3-я группа – животные с установленным стресс-индуцирующим устройством для формирования нефизиологической окклюзии челюстей в течение 30 суток, 4-я группа – животные с установленным стресс-индуцирующим устройством для формирования нефизиологической окклюзии челюстей в течение 60 суток, 5-я группа – животные с установленным стресс-индуцирующим устройством для формирования нефизиологической окклюзии челюстей в течение 90 суток.

Животных выводили из эксперимента передозировкой эфира. 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.

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 PremierPRO2000 (Италия).

При рентгенологическом и электронно-микроскопическом исследовании макропрепаратов количественно определяют степень атрофии альвеолярного отростка верхней челюсти и альвеолярной части нижней челюсти при помощи балльной системы. Резорбцию межальвеолярной перегородки определяли в 1 балл, резорбцию межкорневой перегородки и обнажение бифуркации в 2 балла, атрофию альвеолярного отростка на 1/2 длины корня в 3 балла, зуб удерживается мягкими тканями или отсутствует – 4 балла; протяженность дефекта обозначали коэффициентом 1, 2 или 3 по числу зубов, вовлеченных в процесс. Отсутствие атрофического процесса обозначали как 0.

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 на животных проведено на 78 половозрелых белых лабораторных крысах-самцах массой 180-200 г. Животные распределены на следующие группы: 1 –

интактные животные (контрольная группа, без устройства, сроки выведения из эксперимента здесь и далее, во всех группах одинаковые – 15, 30, 60 и 90 суток), $n=18$; 2 – 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 ЭМГПС (50 мг/кг массы тела), $n=20$. В течение эксперимента все крысы находились в унифицированных условиях со стандартным рационом питания, естественным циклом свет/темнота (продолжительность освещения: ~16 час) и имели свободный доступ к воде и корму при температуре помещения 20-22 °С.

При оценке степени деструктивных изменений в тканях пародонта крыс осматривали слизистую оболочку полость 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 ($\times 10$) 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 альвеолярного отростка челюсти использовали платиновый электрод по методу E.Kravetz. Костные блоки помещали в цилиндрическую термостойкую ячейку объемом 5 мл³, заполненную физиологическим раствором (37°С, pH 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 оценки эффективности окислительного фосфорилирования использовали коэффициент окислительного фосфорилирования (Р/О). Коэффициентом окислительного фосфорилирования является 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 (Охуgraph System-3, Чехия).

Материалы и методы биохимических исследований. Для оценки интенсивности процессов перекисного 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). 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-lat (Англия).

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.

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.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Разработанное стресс-индуцирующее устройство для формирования нефизиологической окклюзии челюстей у экспериментального животного предназначено для всестороннего изучения патологических изменений в тканях полости рта, происходящих как на локальном (например, в тканях пародонта), так и системном уровне (например, в зубочелюстной системе организма) при нарушении физиологической окклюзии.

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 рассасывания и воспаления. Десна и периодонт животных 2-ой экспериментальной группы находились в состоянии, сходном таковыми животных контрольной группы (без устройства). 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.

Через 30 суток после начала использования 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.

Отмечалась умеренная клеточная инфильтрация десневых сосочков (рис. 2 – 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. 2 – б).

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. 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. 3 – а). Обнаружены участки отложения молодой кости в виде оксифильных пластинок с клетками (рис. 3 – б).

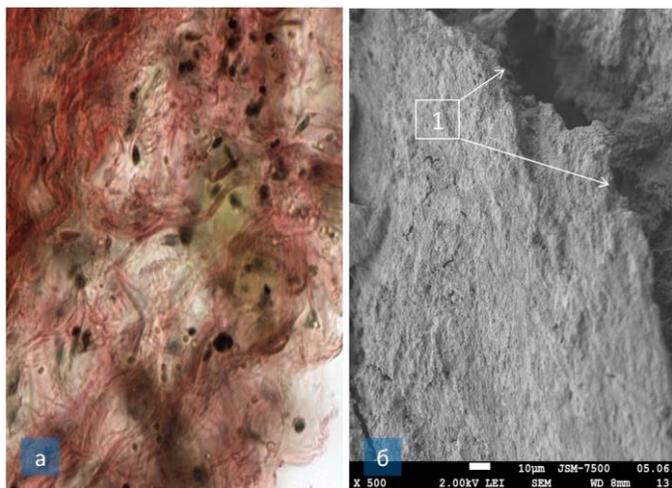


Рисунок 2 – микропрепараты, полученные при патогистологическом исследовании зубальвеолярных сегментов на уровне 1 моляра крыс 3-ей группы через 30 суток после начала эксперимента. а – умеренная клеточная инфильтрация в мягких тканях десны. Окраска по Ван-Гизон. Ок. 10, об. 20; б – нарушение непрерывности и целостности кортикальной пластинки в области периодонтальной щели (1). РЭМ.х500

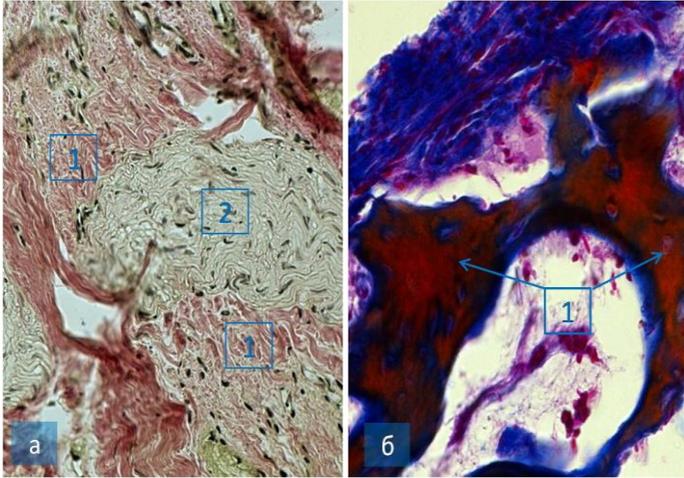


Рисунок 3 – микропрепараты, полученные при патогистологическом исследовании зубоальвеолярных сегментов на уровне 1-го (а) и 2-го (б) моляра крыс 4-ой группы через 60 суток после начала эксперимента. а – истонченные костные балки с расширенными костномозговыми пространствами (1), многочисленные базофильные 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). На рентгенограммах обнаруживались очаги разрежения в альвеолярном отростке и в теле челюсти, резко выраженный гиперцементоз. При электронно-микроскопическом исследовании выявлялись 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. При электронно-микроскопическом исследовании установлено слияние множественных очагов разрежения на фоне усиления резорбции костной ткани с выраженным гиперцементозом в области межальвеолярных перегородок.

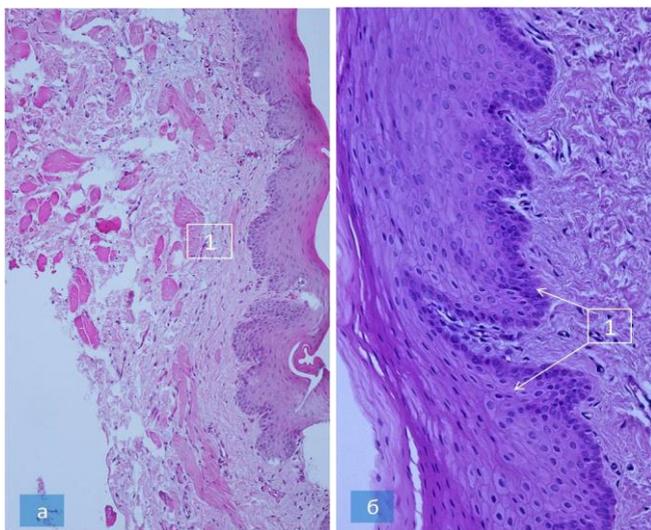


Рисунок 4 – микропрепараты, полученные при патогистологическом исследовании зубоальвеолярных сегментов крыс на уровне 1-го моляра 1-ой (контрольная) (а) и 4-ой группы (б) через 60 суток после начала эксперимента. а – ткани пародонта (1) и соединительнотканная структура десны у животного контрольной группы; 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)

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. 5 – а, б). 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 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.

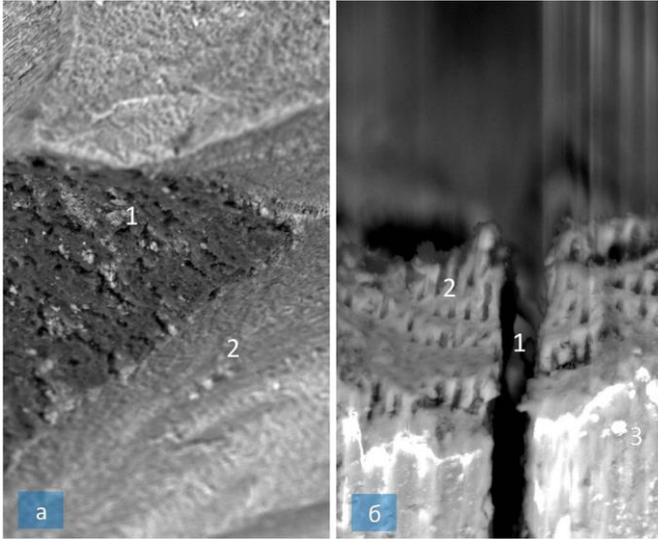


Рисунок 5– микропрепараты, полученные при патогистологическом исследовании зубоальвеолярных сегментов на уровне 1моляра крыс 4-ой (а) и 5-ой группы (б) через 60 (а) и 90 (б) суток после начала эксперимента. а – слияние множественных очагов разрежения (1) в альвеолярной кости (2); б – усиление резорбции костной ткани (1) с выраженным гиперцементомозом (2) в области межальвеолярных перегородок. РЭМ.х2000

Таблица 2 – 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)

При анализе состояния костной ткани челюстей всех исследуемых животных (как в контрольной, так и в основных группах) 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. 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 ($\Gamma_{0-15} = +0,354$, $p > 0,05$), то еще через 30 суток после начала 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. 2).

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, испытывающего стресс. В поздний период реконвалесценции (90 суток) прибавление веса оказывается непропорциональным характеру питания, что приводит к развитию ожирения.

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.

Гистоморфологическая оценка изменений в костной 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 препарат 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. 3), 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 обнажение корней зубов (ОГК_{ср}) и, соответственно, дистрофического процесса в челюсти.

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. Для 4-ой группы характерна минимальная интенсивность резорбции молодой формирующейся костной ткани на фоне стабильного количества макрофагов и нейтрофилов, что обусловлено отсутствием клеточной активности таких коллагенолитических ферментов, как коллагеназа, кетапсин и металлпротеиназа. В 4-ой группе к 30-м суткам эксперимента с использованием СИУ остеоны организованы, межтрабекулярные пространства заполнены нежным остеоидным веществом. Новообразованные костные структуры приобретают зрелый вид только ближе к периферии, их граница с костной тканью альвеолярной кости не определяется.

Таблица 3 – Выраженность дистрофического процесса в пародонте у крыс при ХС (%)

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: * - данные статистически достоверны относительно контрольной группы ($p < 0,05$); ** - данные статистически достоверны относительно 2-ой группы ($p < 0,05$)

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. 6 – 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. 6 – б). 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.

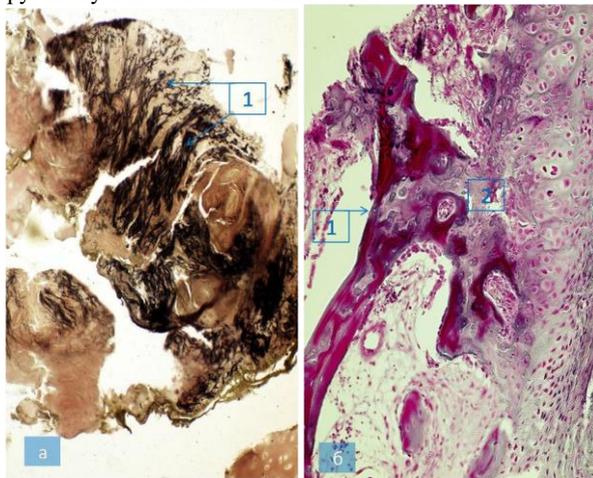


Рисунок 6 – Микропрепараты костных тканей пародонта. Гистологическая структура костного компонента тканей пародонта при ХС в 3-ей (СИУ+физраствор) (а) и 4-ой (СИУ+ ЭМГПС) (б) группах через 60 суток после начала эксперимента. а – резорбция трабекул изаполнениемежтрабекулярных пространств костного матрикса 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

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.

Что касается действия ЭМГПС на мягкие ткани пародонта при ХС, то проведенные исследования выявили значительное улучшение структуры и уменьшение гидратации биологических барьеров. 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 препарата 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, а, следовательно, на улучшение трофики в деснах, кроме этого, влияет на ультраструктуру тканей, включая биологические барьеры, с уменьшая проявления отека.

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. 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% ($p < 0,05$).

Применение препарата 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% (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.

Как показали результаты проведенного исследования, применение препарата 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. 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.

Результаты исследования процессов митохондриального дыхания в клетках тканей пародонта в условиях ХС. Исследование влияния ХС на фоне ежедневного введения препарата 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 Р/О наряду с нормализацией других показателей энергообеспечения.

При исследовании влияния препарат 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.

Таким образом, комплекс проведенных биохимических исследований показал, что у экспериментальных животных со стресс-индуцирующим устройством происходят необратимые изменения метаболизма. Данные патологические процессы приводят к нарушению механизмов образования как органического, так и неорганического компонента костной ткани. Пусковым механизмом этих процессов может служить снижение неспецифической резистентности организма, основным звеном которой является функциональное состояние АОС. Основанием для такого мнения является снижение функциональной мощности и буферной емкости основных функциональных звеньев АОС и интенсификация процессов ПОЛ в пародонте экспериментальных животных, подвергнутых ХС, что способствует усилению резорбтивных процессов.

Разработка эффективных методов профилактики и лечения заболеваний тканей пародонта остается одной из актуальных задач патофизиологии, клинической фармакологии и стоматологии. Большой выбор медикаментозных средств для лечения воспалительно-дистрофических заболеваний пародонта 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.

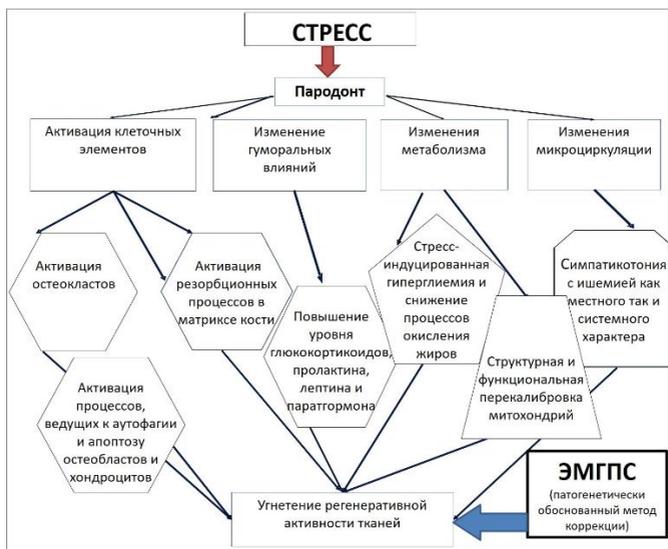


Рисунок 7 – Патогенетические аспекты угнетения регенеративной активности тканей пародонта и место ЭМГПС в механизмах патогенетической коррекции последствий хронического стресса

Создание модельных состояний хронического стресса, применительно к зубочелюстной системе, рассматривается как обязательный компонент обоснования эффективности или бесполезности фармакологической модификации функции пародонта. 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.

С данным контексте показательны результаты оценки метаболической активности препарата ЭМГПС на модели хронического стресса. Использование препарата способствует уменьшению стресс-индуцированных нарушений метаболических процессов в мягких и твердых тканях пародонта. Антиоксидантное действие ЭМГПС связано с высокой супероксиддисмутазной активностью. Полученные данные могут служить экспериментальным обоснованием целесообразности использования препарата в стоматологической практике для коррекции метаболических нарушений в твердых и мягких тканях пародонта.

Перспективы дальнейшей разработки темы исследования

Результаты исследования дают основу для совершенствования методологии изучения механизмов саногенеза в метаболизме тканей пародонта с целью поиска перспективных средств их коррекции. Кроме этого, как один из альтернативных подходов, считаем возможным использование разработанного стресс-индуцирующего устройства для формирования нефизиологической окклюзии полости рта при создании моделей патофизиологического эксперимента на животных.

ВЫВОДЫ

1. В результате проведения экспериментальных и опытно-конструкторских исследований разработано стресс-индуцирующее устройство для формирования нефизиологической окклюзии челюстей у экспериментального животного (положительное решение о выдаче патента РФ на изобретение по заявке №2018103520(005143) от 30.01.2018), включающее фиксирующий жилет с двумя отверстиями для передних лап и одним отверстием для шеи с застёжкой на контактную ленту, отличающееся от известных прототипов тем, что дополнительно содержит металлический шарик диаметром 3, 5 или 7 мм, 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.

2. Результаты патогистологического исследования свидетельствуют о глубоких дистрофических изменениях, развивающихся в околозубных тканях у крыс в отдаленные сроки после начала эксперимента. При электронно-микроскопическом 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 стресс-индуцирующего устройства для формирования нефизиологической окклюзии 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 ЭМПСа 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. Рекомендуется применение разработанного стресс-индуцирующего устройства для формирования нефизиологической окклюзии челюстей в качестве эффективной модели исследования стресс-индуцированных механизмов патологии пародонта, альвеолярной кости и зубочелюстной системы в целом.

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 мембрано-протекторными свойствами.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИСЕРТАЦИИ

1. **Романенко Р.Г.** Использование иммуномодулирующих средств в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита / Романенко Р.Г., Вафиади А.А., Тарабрина А.Г., Романенко А.Р. // В сборнике: «Неделя науки - 2017». Материалы всероссийского молодежного форума с международным участием. - 2017. - С. 297-298.

2. **Романенко Р.Г.** Особенности метаболизма тканей пародонта в условиях хронического стресса / Романенко Р.Г., Тарабрина А.Г., Романенко А.Р., Вафиади А.А. // В сборнике: «Неделя науки - 2017». Материалы всероссийского молодежного форума с Международным участием. - 2017. - С. 342-343.

3. ****Sirak S.V.** Osteoporotic sheep mandibular model for comparative alveolar bone healing research / Sirak S.V., Shchetinin E.V., Bobryshev D., Fritsch T., Giesenhausen B., Petrosyan G.G., Didenko N.N., **Romanenko R.G.**, Grimm W.D. // **Медицинский вестник Северного Кавказа**. - 2017. - Т. 12. - № 3. - С. 284-289. <https://doi.org/10.14300/mnnc.2017.12091>.

4. ****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(13). – С.73-77.

5. ****Сирак С.В.** Стресс-индуцированные нарушения метаболической активности тканей пародонта в эксперименте на животных и возможности их коррекции /С.В.Сирак, Г.Г.Петросян, Е.В.Щетинин, Р.Г.Романенко, А.Г.Тарабрина, А.В.Миролюбов // **Медицинский вестник Северного Кавказа**. – 2018. –№2(13). – С.395-399.

6. ****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(13). – С.96-99.

7. ***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. - №2. – С.21-26.

8. ***Сирак С.В.** Оценка ферментных систем десны на фоне применения милдроната при экспериментальном пародонтите / С.В.Сирак, Е.В.Щетинин, Н.И.Быкова, **Р.Г.Романенко**, А.Г.Тарабрина // **Пародонтология**. – 2018. - №3. – С.44-46.

9. *****Патент 182498** Российская Федерация, МПК⁷ G 09В 23/28 (2006.01). Стресс-индуцирующее устройство для формирования нефизиологической окклюзии челюстей у экспериментального животного / Авторы: С.В. Сирак; Е.В. Щетинин; Г.Г.Петросян; **Р.Г. Романенко**; заявители и патентообладатели Сирак С.В., Щетинин Е.В., ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России; Заявка № 2018103520 (005143) заявл. 30.01.2018; дата гос. регистрации в реестре полезных моделей РФ 21.08.2019; опубл. 21.08.2019; Бюл. № 24. – 12 с.

10. **Романенко Р.Г.** Экспериментальное исследование влияния препарата мирамистина иммобилизованного на композиционном полисорбе на заживление раневой поверхности / Будзинский Н.Э., Арутюнова А.П., Кобылкина Т.Л., Ленев В.Н., **Романенко Р.Г.**, Хацукова А.К., Еникеев А.М. // Тезисы статей в сборнике V Международной научно-практической конференции «Междисциплинарный подход к диагностике, лечению и профилактике заболеваний тканей пародонта у пациентов с сахарным диабетом». – 2022. – С.26-27.

11. **Романенко Р.Г.** Эффективность применения антиоксидантного препарата при экспериментальном хроническом пародонтите / Кобылкина Т.Л., Гатило И.А., Максимова Е.М., Перикова М.Г., **Романенко Р.Г.**, Школин А.С., Еникеев А.М. // Тезисы статей в сборнике V Международной научно-практической конференции «Междисциплинарный подход к диагностике, лечению и профилактике заболеваний тканей пародонта у пациентов с сахарным диабетом». – 2022. – С.52-53.

12. ****Сирак, С.В.** Возможности оценки стимуляции регенерации костной ткани на фоне экспериментального стресса / С.В. Сирак, Е.В. Щегинин, **Р.Г. Романенко // Медицинский вестник Северного Кавказа.** - 2022. - Т. 17, № 2. - С. 188-191.

* – работа, опубликована в изданиях, включенных в Перечень российских рецензируемых научных журналов, не входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук;

** – работа, опубликована в изданиях, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, в которых могут быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук;

*** – патент

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 мкмоль субстрата за 1 мин;

МДА – малоновый диальдегид;

МТ – митохондрия;

ПОЛ – перекисное окисление липидов;

СДГ – сукцинатдегидрогеназа;

СН – сукцинат натрия;

СОД – супероксиддисмутаза;

Р/О – коэффициент окислительного фосфорилирования;

ЭМГПС - этилметилгидроксипиридина сукцинат