

- ol and disulfide groups of proteins. M.: «Nauka», 1971. (In Russ.).
3. Giustarini D., Galvagni F., Colombo G., Dalle-Donne I., Milzani A., Aloisi A.M., Rossi R. Determination of protein thiolation index (PTI) as a biomarker of oxidative stress in human serum. *Anal. Biochem.* 2017;538:38-41. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2017.09.010>
 4. Брайнина Х. З., Харина Г. В., Захарчук Н. Ф., Иванова А. В., Ходос М. Я. Определение низкомолекулярных тиолов и дисульфидов в цельной крови и ее фракциях. *Вестник Уральской медицинской академической науки.* 2009;23(1):31-38. [Braynina Kh. Z., Kharina G. V., Zakharchuk N. F., Ivanova A. V., Khodos M. Ya. Determination of low-molecular thiols and disulfides in whole blood and its fractions. *Vestnik Ural'skoy meditsinskoy akademicheskoy nauki.* 2009;23(1):31-38. (In Russ.).]
 5. Camera E., Picardo M. Analytical methods to investigate glutathione and related compounds in biological and pathological processes. *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2002;781(1-2):181-206.
 6. Дыдышко Е. И., Охременко О. С., Левичкин В. Д. Динамика показателей иммуноантиоксидантного статуса у пациентов с гипотиреозом на фоне ТЭС-терапии. *Кубанский научный медицинский вестник.* 2014;4:50-54. [Dydyshko E. I., Okhremenko O. S., Levichkin V. D. Dynamics of indicators immunobiosensor status in patients with hypothyroidism on the background of TES therapy. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik.* – *Kuban scientific medical bulletin.* 2014;(4):50-54. (In Russ.).]
 7. Нагоев Б. С., Камбачокова З. А. Состояние неспецифической резистентности организма у больных с генитальным герпесом. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2011;(1):18-20. [Nagoyev B. S., Kambachokova Z. A. State of nonspecific resistance of the body in patients with genital herpes. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* – *Russian Clinical Laboratory Diagnostics.* 2011;(1):18-20. (In Russ.).]
 8. Сыромятникова Е. Д., Грызунов Ю. А., Добрецов Г. Е., Ильяшенко К. К. Новые диагностические алгоритмы в раннем периоде острых отравлений психотропными препаратами. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2014;59(12):25-28. [Syromiatnikova E. D., Gryzunov Yu. A., Dobretsov G. E., Il'yashenko K. K. New diagnostic algorithms in the early period of acute poisoning with psychotropic drugs. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* – *Russian Clinical Laboratory Diagnostics.* 2014;59(12):25-28. (In Russ.).]
 9. Юшук Н. Д., Ахмедова М. Д., Васюк Ю. А. Диагностическое значение тиолсульфидного звена антиоксидантной системы при бруцеллезе. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2009;(7):10-11. [Yushchuk N. D., Akhmedova M. D., Vasyuk Yu. A. Diagnostic value of thiol-sulfide component of antioxidant system in brucellosis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* – *Russian Clinical Laboratory Diagnostics.* 2009;7:10-11. (In Russ.).]
 10. Ghezzi P., Bonetto V., Fratelli M. Thiol-disulfide balance: from the concept of oxidative stress to that of redox regulation. *Antioxidants & Redox Signaling.* 2005;7(7-8):964-972. <https://doi.org/10.1089/ars.2005.7.964>
 11. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. М.: МЕДпресс-информ, 2004. [Kamyshnikov V. S. Handbook of clinical and biochemical studies, and laboratory diagnosis. Moscow: «MEDpress-inform», 2004. (In Russ.).]

Сведения об авторах:

Быков Илья Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, зав. кафедрой фундаментальной и клинической биохимии; тел.: 89182125530; e-mail: ilya.bh@mail.ru

Попов Константин Андреевич, ассистент; тел.: 89288824941; e-mail: naftalin444@mail.ru

Егорова Инна Анатольевна, соискатель; тел.: 89615817511; e-mail: inna5200@yandex.ru

Сторожук Александр Петрович, доктор медицинских наук, профессор; тел.: 89182125530; e-mail: ilya.bh@mail.ru

© Коллектив авторов, 2018

УДК 611.018.63-092.9

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13063>

ISSN – 2073-8137

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗАЦИИ СЕРДЦА НИЗШИХ ПРИМАТОВ. МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА МАТРИКСА

А. С. Сотниченко¹, Е. А. Губарева¹, Е. В. Кувейда¹, И. С. Гуменюк¹,
Р. З. Накохов¹, С. В. Орлов²

¹ Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия

² Научно-исследовательский институт медицинской приматологии, Сочи, Адлер, Россия

DEVELOPMENT OF NON-HUMAN PRIMATES HEART DECELLULARIZATION METHOD. MORPHOLOGICAL EVALUATION OF MATRIX

Sotnichenko A. S.¹, Gubareva E. A.¹, Kuevda E. V.¹, Gumenyuk I. S.¹,
Nakohov R. Z.¹, Orlov S. V.²

¹ Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia

² Research Institute of medical Primatology, Sochi, Adler, Russia

Одно из направлений тканевой инженерии – разработка методик создания биоинженерных каркасов внутренних органов, сходных по основным биологическим характеристикам с нативными органами. Цель исследования – описать модифицированный детергент-энзиматический протокол с применением дезоксихолата натрия и ДНКазы для

децеллюляризации сердца низшего примата. Результаты морфологических методов исследования подтвердили полное отсутствие клеток и клеточных ядер и сохранность основных структурных белков внеклеточного матрикса в сердце после проведения децеллюляризации. Указанный протокол может быть использован в исследованиях по рецеллюляризации биологического каркаса аллогенными и аутологичными стволовыми клетками низших приматов.

Ключевые слова: тканевая инженерия, децеллюляризация, сердце

One of the directions of tissue engineering is the development of techniques for the creating bioengineered scaffolds for inner organs similar to the native organs in major biological characteristics. The aim of the study was to describe a modified detergent-enzymatic protocol using sodium deoxycholate and DNase for decellularization of the heart of the non-human primate. Morphological methods of research demonstrated the complete absence of cells and cells nuclei in heart and intactness of the major proteins of the extracellular matrix after decellularization. This protocol can be used in studies on the recellularization of biological scaffolds with allogenic and autologous stem cells of non-human primates.

Keywords: tissue engineering, decellularization, heart

Для цитирования: Сотниченко А. С., Губарева Е. А., Кувевда Е. В., Гуменюк И. С., Накохов Р. З., Орлов С. В. РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗАЦИИ СЕРДЦА НИЗШИХ ПРИМАТОВ. МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА МАТРИКСА. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2018;13(2):406-410. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13063>

For citation: Sotnichenko A. S., Gubareva E. A., Kuevda E. V., Gumenyuk I. S., Nakohov R. Z., Orlov S. V. DEVELOPMENT OF NON-HUMAN PRIMATES HEART DECELLULARIZATION METHOD. MORPHOLOGICAL EVALUATION OF MATRIX. *Medical News of North Caucasus*. 2018;13(2):406-410. (In Russ.). DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13063>

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота

В связи с дефицитом донорских органов проблема органной трансплантации в ближайшем будущем не будет решена кардинально. При этом трансплантации при ряде тяжелых заболеваний, таких как хроническая сердечная недостаточность, являются единственным эффективным способом лечения. В связи с этим ведутся разработки методик получения альтернативных донорских тканей и органов [1, 2]. Одним из перспективных методов решения данной проблемы является тканевая инженерия, которая, в частности, предлагает для этой цели использовать ацеллюлярные внеклеточные матриксы органов человека, засеянные аутологичными стволовыми клетками [3, 4, 5].

Разработка методик создания подобных органов – довольно длительный процесс, требующий всестороннего изучения и выбора способов получения тканеинженерных каркасов, их морфологических, механических свойств, возможности их последующей рецеллюляризации и влияния, которое данные матриксы будут оказывать на стволовые клетки.

Для этих целей на первом этапе исследований используют органы мелких лабораторных животных (мышей, крыс), далее результаты транслируют на модели более крупных животных, таких как свиньи и низшие приматы, и лишь на последнем этапе методика отработывается на человеческих органах [6, 7–10].

Цель исследования – оценить результаты разработки оптимального протокола получения ацеллюлярного внеклеточного матрикса сердца низшего примата (*Macaca mulatta*) и прелиминарные данные морфологического анализа полученного каркаса.

Материал и методы.

Децеллюляризация сердца. Для создания ацеллюлярного матрикса сердца использовали органы 4 самцов макак-резусов (*Macaca mulatta*), полученные во время аутопсии животных, умерших от естественных причин. Эксплантацию органов производили на базе Научно-исследовательского института медицинской приматологии. Средний возраст животных составил $8,3 \pm 3,2$ года, вес $15,2 \pm 3,1$ кг. Сердца сразу после эксплантации были промыты физиологическим раствором и помещены в фосфатный буфер, содер-

жащий 1 % раствор пенициллина-стрептомицина при постоянной температуре $+4$ °С, для транспортировки в лабораторию фундаментальных исследований в области регенеративной медицины на базе Кубанского государственного медицинского университета. Все протоколы исследования получили предварительное одобрение локальным этическим комитетом.

Перед началом децеллюляризации органы очищали от окружающей жировой ткани, аорту канюлировали на расстоянии 8–10 см от сердца, левую общую сонную артерию, левую подключичную артерию и плечевого ствол лигировали, после чего фиксировали орган в биореакторе ORCA (Harvard Apparatus, США). Три органа были использованы для проведения и отработки протокола децеллюляризации, четвертый являлся нативным контролем.

Для децеллюляризации сердца низших приматов детергент-энзиматическим методом проводили ретроградную перфузию сердца через аорту деионизированной водой в течение 12 часов. Далее следовали 2 цикла обработки 4 % раствором дезоксихолата натрия + 2мМ раствор ЭДТА в течение 24 часов и фосфатным буфером без кальция и магния – 6 часов, после чего орган перфузировали раствором свиной панкреатической ДНКазы-I в фосфатном буфере с кальцием и магнием в течение 24 часов. Завершали децеллюляризацию отмывкой органа от децеллюляризирующих растворов фосфатным буфером без кальция и магния в течение 24 часов. Перфузию сердца растворами в течение всей процедуры осуществляли, поддерживая постоянное давление в аорте на уровне 110 мм рт. ст. Общая продолжительность обработки составила 120 часов. Все растворы были стерильными, комнатной температуры.

Морфологическая характеристика нативного и децеллюляризованного матрикса. Полученные образцы нативного и децеллюляризованного сердца фиксировали в 10 % нейтральном забуференном формалине, дегидратировали и заключали в парафин по стандартной методике. С помощью микротомы получали срезы толщиной 5 мкм. Для общегистологической оценки препаратов проводили окраску срезов гематоксилином и эозином (Sigma-Aldrich, США). Клеточные ядра визуализировали с использованием флуорофора

(4',6-диамидино-2-фенилиндола) DAPI (Sigma-Aldrich, США). Для изучения структуры внеклеточного матрикса срезы окрашивали по Ван Гизону (Первая лабораторная компания, Россия). Качественную оценку содержания гликозаминогликанов проводили после окрашивания срезов альциановым синим (Richard-Allan Scientific, США). Для проведения иммуногистохимического анализа в качестве первичных были выбраны поликлональные антитела к коллагену I типа (ab6308, Abcam, США), коллагену IV типа (ab6586, Abcam, Англия), ламинину (ab11575, Abcam, США), фибронектину (ab6328, Abcam, США), эластину (ab21610, Abcam, США). В целях детекции была выбрана система ABC с DAB-хромогеном. Препараты дополнительно докрасивали гематоксилином Майера. Изучение микропрепаратов проводили на микроскопе «Olympus CX 41» (Япония).

Для количественной оценки результатов иммуногистохимического исследования применили метод сравнительного морфометрического анализа с помощью разработанной программы DAB Proteomics analyzer (свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2016660185 от 08.09.2016). Алгоритм опубликован под свободной лицензией GPL v.3.0 (https://github.com/meklon/DAB_analyzer). Было отобрано не менее 6 случайных полей зрения для каждого изучаемого белка в децеллюляризованном и нативном органе соответственно. Перед автоматической обработкой микрофотографии нормализовали по экспозиции и балансу белого с помощью программы RawTherapee. На первом этапе обработки с помощью разработанного программного обеспечения выделяли канал DAB-хромогена в мультиокрашенных срезах с помощью алгоритма цветовой деконволюции. На втором – оценивали площади позитивно окрашенных DAB-хромогеном участков образцов с оптической плотностью выше пороговой. Полученные данные подвергались статистической обработке и сохранялись программой в соответствующие файлы.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли дополнительно методами вариационной статистики с использованием программы GraphPad Prism 6.04 (GraphPad Software, США). Результаты морфометрии образцов для каждой пары изучаемых белков оценивали на наличие статистически значимых различий с помощью t-теста Стьюдента.

Работа выполнена в рамках государственного задания МЗ РФ на научные исследования и разработки по теме «Разработка экспериментальных образцов тканеинженерных конструкций на основе децеллюляризованных матриксов для применения в регенеративной медицине».

Результаты и обсуждение. По оригинальному протоколу, разработанному авторским коллективом для получения ацеллюлярного матрикса сердца крысы [11, 12], проводили обработку органа детергент-энзиматическим методом с применением 4 % раствора дезоксихолата натрия и ДНКазы общей продолжительностью 24 часа. Однако данная методика оказалась не применима для использования у приматов. Ввиду разницы в размерах органов потребовалась значительная модификация процедуры. С этой целью были внесены коррективы в протокол децеллюляризации. Во-первых, иные, чем в сердце крысы, диаметр сосудов и масса миокарда потребовали в несколько раз увеличить время перфузии сердца детергентами и энзимами. Во-вторых, поддержание постоянного давления в аорте, равного системному артериальному давлению у взрослой особи макаки-

резуса, позволило улучшить доставку рабочего раствора во все камеры сердца и избежать неполной децеллюляризации в отдаленных от устья коронарных сосудов участках сердца, таких как верхушка и перегородка. В то же время действующие вещества и концентрация рабочих растворов в оригинальном протоколе позволяли максимально сохранять структуру внеклеточного матрикса, поэтому указанные параметры изменены не были.

Начальные морфологические макроскопические изменения в сердце произошли после первого цикла обработки раствором дезоксихолата натрия и были наиболее выражены в правом желудочке, имеющем наименьшую толщину стенки. Однако левый желудочек был практически без изменений, что потребовало проведения повторного цикла перфузии детергентом и повлекло за собой увеличение общего времени проведения процедуры. Завершали децеллюляризацию воздействием свиной панкреатической ДНКазы-I и последующей отмывкой матрикса фосфатным буферным раствором. Итогом проведения децеллюляризации было получение ацеллюлярного сердечного скаффолда молочно-белого цвета, размером и формой не отличающегося от нативного сердца (рис. 1).

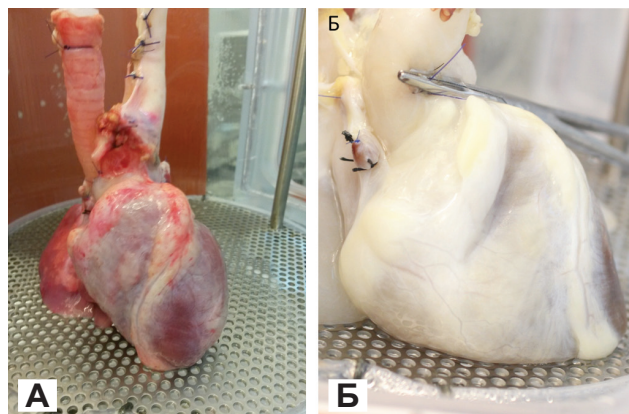


Рис. 1. Макроскопический вид нативного сердца (А) и сердца после проведения децеллюляризации (Б)

Окрашивание гематоксилином и эозином не выявило сохранных клеток и клеточных ядер в полученном матриксе, а также его значительного повреждения в результате процедуры (рис. 2 А, Г). Окраска пикрофуксином по Ван Гизону, тропная к волокнам внеклеточного матрикса, позволила визуализировать коллагеновые волокна как в нативном сердце, так и в полученном ацеллюлярном матриксе. В исходных образцах их основная локализация была вокруг кардиальных сосудов и вокруг кардиомиоцитов. В то же время в децеллюляризованном матриксе также отчетливо визуализировались базальные мембраны сосудов и тонкая сеть коллагеновых волокон со сходной с нативной тканью ориентацией и взаимным расположением (рис. 2 Б, Д). Флуорохромирование ядерного материала DAPI подтвердило данные рутинных методик гистологического окрашивания. В нативном матриксе клеточные ядра обнаруживали в большом количестве, а в ацеллюлярном была выявлена лишь незначительная аутофлуоресценция волокон, составляющих скаффолд (рис. 2 В, Е). Гликозаминогликаны во всех полученных образцах были выявлены по положительному окрашиванию срезов альциановым синим (данные не представлены). Указанные данные полностью соответствовали критериям адекватной децеллюляризации ткани, определенным Р. М. Сроу и соавт. [3].

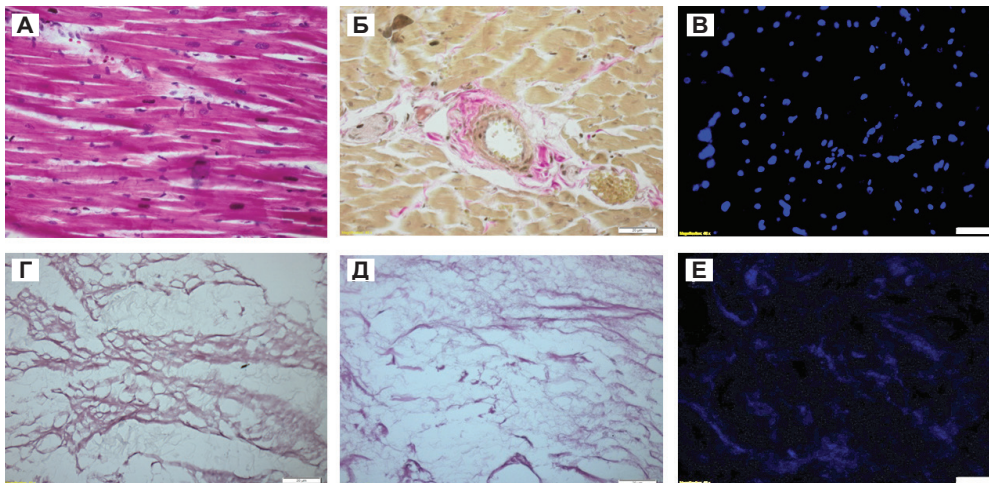


Рис. 2. Морфологическая характеристика сердца низшего примата до (А, Б, В) и после (Г, Д, Е) децеллюляризации: окрашивание гематоксилином и эозином (А, Г), пикрофуксином по Ван Гизон (Б, Д) и DAPI (В, Е). Увеличение: об x40; ок. x40

децеллюляризованном – 8,42 % ($\sigma=7,06$). Коэффициент соотношения – 0,11. Площадь окрашивания ламинином в нативном сердце составила 31,06 % ($\sigma=3,43$), в децеллюляризованном – 22,04 % ($\sigma=6,89$). Коэффициент соотношения сохранившегося ламинина во внеклеточном матриксе после проведения децеллюляризации составил 0,71. Указанный коэффициент для эластина составил 0,55. Содержание эластина в нативном сердце составило 88,25 %

Дополнительно было проведено иммуногистохимическое исследование матрикса для изучения качественного и количественного белкового состава. Важным условием проведения децеллюляризации органов и тканей является не только сохранение структурных белков, но и минимизация их потерь и повреждение в результате процедуры. Было подтверждено наличие в матриксе следующих белков: коллагенов I, III, IV типов, ламинина, фибронектина и эластина. Для количественной интерпретации полученных в результате иммуногистохимического анализа данных была использована методика оценки площади позитивной реакции в разных полях зрения.

Площадь окрашивания коллагеном I типа в нативном сердце составила 55,74 % ($\sigma=2,98$), в децеллюляризованном – 39,12 % ($\sigma=7,06$). Коэффициент соотношения сохранившегося коллагена I типа во внеклеточном матриксе после проведения децеллюляризации составил 0,7. Указанный коэффициент для коллагена III типа составил 0,76. Площадь окрашивания коллагеном III типа в нативном сердце – 74,11 % ($\sigma=3,39$), в децеллюляризованном – 56,63 % ($\sigma=3,17$). Площадь окрашивания коллагеном IV типа в нативном сердце составила 72,45 % ($\sigma=5,02$), в децеллюляризованном – 45,11 % ($\sigma=11,11$). Коэффициент соотношения – 0,61. Площадь окрашивания фибронектином в нативном сердце составила 71,73 % ($\sigma=8,19$), в

($\sigma=5,37$), в децеллюляризованном – 44,72 % ($\sigma=5,06$) (рис. 3). Для каждой пары исследуемых белков различие было статистически значимо ($P<0,05$).

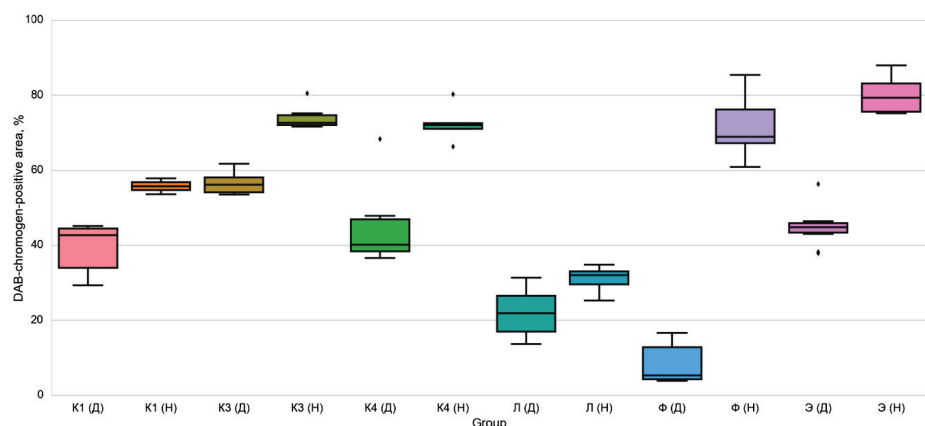


Рис. 3. Количественный анализ белкового состава нативных и децеллюляризованных сердец: Н – нативное сердце; С – децеллюляризованное сердце; К1 – коллаген I типа; К3 – коллаген 3 типа; К4 – коллаген 4 типа; Л – ламинин; Ф – фибронектин; Э – эластин

Заключение. Предложен модифицированный детергент-энзиматический протокол децеллюляризации сердца низшего примата общей продолжительностью 120 ч, позволяющий удалить клетки и клеточные ядра, обладающие антигенной активностью. Напротив, основные структурные белки внеклеточного матрикса, такие как коллагены I, III, IV типов, ламинин, эластин, за исключением фибронектина, сохранялись в ацеллюлярном матриксе. Целью следующего этапа исследований будет тестирование цитотоксических свойств получаемого матрикса и дальнейшая оценка возможности его использования в тканевой инженерии.

Литература/References

- Gilbert T. W. Strategies for tissue and organ decellularization. *Journal of cellular biochemistry*. 2012;113(7):2217-2222. <https://doi.org/10.1002/jcb.24130>
- Guyette J. P., Gilpin S. E., Charest J. M. Perfusion decellularization of whole organs. *Nature protocols*. 2014;9(6):1451-1468. <https://doi.org/10.1038/nprot.2014.097>
- Crapo P. M., Gilbert T. W., Badylak S. F. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials*. 2011;32(12):3233-3243. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.01.057>

- Scarritt M. E., Pashos N. C., Bunnell B. A. A review of cellularization strategies for tissue engineering of whole organs. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*. 2015;3:43. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2015.00043>
- Weymann A., Loganathan S., Takahashi H. Development and evaluation of a perfusion decellularization porcine heart model. *Circ J*. 2011;75(4):852-860. <https://doi.org/10.1253/circj.CJ-10-0717>
- Friedrich L. H., Jungebluth P., Sjöqvist S. Preservation of aortic root architecture and properties using a detergent-enzymatic perfusion protocol. *Biomaterials*.

- 2014;35(6):1907-1913. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.11.053>
- Lee P. F., Chau E., Cabello R. Inverted orientation improves decellularization of whole porcine hearts. *Acta Biomaterialia*. 2017;49:181-191. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.11.047>
 - Ott H. C., Matthiesen T. S., Goh S. K. Perfusion-decellularized matrix: using nature's platform to engineer a bio-artificial heart. *Nature medicine*. 2008;14(2):213-221. <https://doi.org/10.1038/nm1684>
 - Remlinger N. T., Wearden P. D., Gilbert T. W. Procedure for decellularization of porcine heart by retrograde coronary perfusion. *Journal of Visualized Experiments*. 2012;(70):50059-50059. <https://doi.org/10.3791/50059>
 - Sánchez P. L., Fernández-Santos M. E., Costanza S. Acellular human heart matrix: a critical step toward whole heart grafts. *Biomaterials*. 2015;61:279-289. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.04.056>
 - Макиарини П., Губарева Е. А., Сотниченко А. С., Гилевич И. В. Способ моделирования биоинженерного каркаса сердца в эксперименте на крысе. Патент РФ на изобретение № 2550286. 03.06.14 [Makkiarini P., Gubareva E. A., Sotnichenko A. S., Gilevich I. V. Sposob modelirovaniya bioinzhenernogo karkasa serdtsa v eksperimente na krise. Patent RU 2550286. 03.06.2014. (In Russ.)].
 - Сотниченко А. С., Губарева Е. А., Гилевич И. В. Децеллюляризованный матрикс сердца крысы как основа для создания тканеинженерного сердца. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2013;8(3):86-94. [Sotnichenko A. S., Gubareva E. A., Gilevich I. V. Decellyulyarizirovannij matriks serdtsa krisi kak osnova dlya sozdaniya tkaneinzhenernogo serdtsa. *Kletochnaya transplantologiya i tknevaya inzheneriya*. – *Cell transplantology and tissue engineering*. 2013;8(3):86-94. (In Russ.)].

Сведения об авторах:

Сотниченко Александр Сергеевич, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории фундаментальных исследований в области регенеративной медицины; тел.: 89628518962; e-mail: alex24.88@mail.ru

Губарева Елена Александровна, кандидат медицинских наук, зав. лабораторией; тел.: 89181327857; e-mail: g_lena82@list.ru

Кувейда Елена Вячеславовна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник; тел.: 89189351760; e-mail: elenakuevda@yandex.ru

Гуменюк Иван Сергеевич, научный сотрудник; тел.: 89183924111; e-mail: meklon@gmail.com

Накохов Рамазан Заурбиевич, младший научный сотрудник; тел.: 89649169763; e-mail: nrz00009@gmail.com

Орлов Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, директор; тел.: 89186034838; e-mail: orloff-sv@mail.ru

© Коллектив авторов, 2018

УДК 616.313.014.01

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13064>

ISSN – 2073-8137

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БОЛЬШИХ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПАРОДОНТИТЕ

А. Г. Сирак¹, Е. В. Щетинин¹, С. В. Сирак¹, Н. Н. Диденко¹, В. Я. Апчел², В. И. Попов²

¹ Ставропольский государственный медицинский университет, Россия

² Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

IMMUNOHISTOCHEMICAL FEATURES OF THE LARGE SALIVARY GLANDS OF RATS WITH EXPERIMENTAL PERIODONTITIS

Sirak A. G.¹, Shchetinin E. V.¹, Sirak S. V.¹, Didenko N. N.¹, Apchel V. Ya.², Popov V. I.²

¹ Stavropol State Medical University, Russia

² Military Medical Academy, Saint-Petersburg, Russia

Представлены результаты комплексного гистохимического изучения белков и полисахаридов больших слюнных желез при экспериментальном пародонтите у крыс. Установлено, что концевые отделы околоушных желез выстланы белковыми железистыми клетками, а концевые отделы подчелюстных желез образованы железистыми клетками двоякого рода – белковыми и слизистыми, отличающимися друг от друга как в функциональном, так и в морфологическом отношении. При пародонтите в составе секрета слизистых клеток имелось лишь незначительное количество белка, а белковые клетки интенсивно секретируют мукополисахариды, начиная уже с 10-х суток эксперимента. Установлено, что присутствие сиаловых кислот в слизистых клетках подчелюстной и подъязычной желез и в секреторных клетках околоушной железы является своеобразным маркером острого пародонтита, а отсутствие в указанных структурах сиаловых кислот может быть одним из признаков хронизации воспаления в тканях пародонта.

Ключевые слова: слюнные железы, пародонтит, эксперимент

The paper presents the results of a complex histochemical study of proteins and polysaccharides of large salivary glands in experimental periodontitis in rats are presented. It was established that the terminal sections of the parotid glands are lined with protein glandular cells, and the terminal sections of the submandibular glands are formed of glandular cells of two kinds – protein and mucous, differing from each other, both in functional and morphological aspects.

With parodontitis, only a small amount of protein was present in the secretion of mucosal cells, and protein cells intensively secreted mucopolysaccharides starting from the 10th day of the experiment. It was found that the presence of sialic acids in