Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Государственный научный центр Российской Федерации –
ИНСТИТУТ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОБЛЕМ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

Шеблаева Анна Сергеевна

Экспериментальное обоснование применения аутопробиотика для восстановления микробиоценоза полости рта человека в условиях искусственной среды обитания

Специальность: 3.3.7 – Авиационная, космическая и морская медицина

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

Ильин Вячеслав Константинович

доктор медицинских наук, профессор,

член-корреспондент РАН

Москва - 2024

СОДЕРЖАНИЕ

Введение 5

Актуальность темы исследования 5

Цель работы 5

Задачи 8

1 Обзор литературы 11

1.1 Факторы, определяющие нормальную микрофлору и функциональность полости рта здорового человека 11

1.2 Формирование пародонтопатогенной микрофлоры, ее состав и влияние на слизистые оболочки полости рта в условиях герметично замкнутого пространства 25

1.3 Средства коррекции дисбиоза зубочелюстной системы: пробиотики 31

1.4 Обоснование перспективности использования аутопробиотиков на основе саливарного стрептококка (*S. salivarius*) 36

2 Материалы и методы исследования 46

2.1 Объем исследований 46

2.2 Моделирование условий космического полета 46

2.3 Методы исследований 51

2.3.1 Метод масс-спектрометрии микробных маркеров 51

2.3.2 Бактериологический метод 55

2.3.3 Метод иммуноферментного анализа 59

2.3.4 Метод полимеразной цепной реакции 63

2.3.5 Метод ультразвуковой допплеровской флоуметрии 70

2.3.6 Методика изготовления аутопробиотического препарата *S. salivarius*..... 77

2.4 Статистическая обработка результатов 78

3 Результаты исследований и обсуждения 79

3.1 14-суточный эксперимент по нахождению участников в герметично замкнутом помещении, имитирующем капсулу космического корабля («Эскиз»)79

3.1.1 Результаты метода масс спектрометрии микробных маркеров 79

3.1.2 Результаты бактериологического метода 90

3.1.3 Результаты метода иммуноферментного анализа 95

3.1.4 Результаты ультразвуковой допплерографии 98

3.2 Сравнение классического бактериологического метода и метода масс-спектрометрии микробных маркеров у участников 7 суточной иммерсии (Immersion-7)..... 101

3.2.1 Выводы 121

3.3 Применение аутопробиотического препарата саливарного стрептококка в условиях измененной среды обитания эксперимента «Sirius 2021–22»..... 122

3.3.1 Результаты бактериологического метода 128

3.3.2 Результаты иммуноферментного анализа 131

3.3.3 Выводы 1333

3.4 Сравнение методов ПЦР диагностики и метода масс-спектрометрии микробных маркеров «Эквивалентность» 133

3.5 Сравнение аутопробиотического препарата саливарного стрептококка и официнального препарата «ДентоБЛИС» с участием добровольцев в условиях изменённой среды обитания в эксперименте «Гипобария» 137

3.5.1 Результаты, полученные методом ИФА 139

3.6 Обсуждение результатов 143

Выводы 150

Список сокращений и условных обозначений 152

Список литературы 153

Приложение А (справочное) Выписка о регистрации БД RU 2022620059 182

ВВЕДЕНИЕ

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В процессе полета космонавты подвергаются постоянным стрессогенным факторам, таким как: радиационное облучение, микрогравитация, следствием которой является перераспределение жидкостных сред организма, а также шумы, вибрации, ограничение подвижности, изоляция, и многое другое (Стржижовский, 1998; Уйба и др., 2017; Ушаков и др. 2016; Баевский и др. 2013; Ларина и др. 2011; Garrett-Bakelman et al., 2019; Little et al., 2010; Yu et al., 2011; Crucian et al., 2015; Donaubauer et al., 2020; Wu et al., 2009). Все эти факторы приводят к изменению функциональной работы организма, в первую очередь это относится к сердечно-сосудистой системе, нарушении органов чувств, мышечно-скелетным деформациям, когнитивным нарушениям, нарушении центральной нервной системы и др. (Носков, 2000; Bettinelli et al., 2002; Prisk et al., 2014; Elliott et al. 1994;Сапецкий А.О. и др., 2017, Баранов и др. 2011).

Зубочелюстная система, включающая пародонт, является одним из звеньев комплексной системы организма. Воздействие на человека ряда факторов, присущих условиям космического полета, может приводить к изменению некоторых показателей функционального состояния полости рта вследствие формирования различного вида дисбиозов и вторичных иммунодефицитных состояний, приводящих к развитию воспалительных реакций слизистой полости рта и десен, снижению кровоснабжения пародонта как следствие синдрома вегетативной сосудистой дисфункции (Воронков и др., 2003). При наличии хронического стресса эти процессы могут привести к манифестации воспалительного процесса, приводящего к деструкции костной ткани, а также к экзогенной инфекции и эндогенным ее очагам, формирующимся на поверхности слизистых оболочек открытых полостей зубочелюстной системы (Шумилина и др., 2002). Общей тенденцией изменения физиологических показателей полости рта у обследуемых космонавтов было снижение скорости слюноотделения в 1,5

раза, которое приводило к ухудшению естественного очищения полости рта, увеличению содержания осадка в слюне более 5 %, обильному отложению зубного налета и камня, что сопровождалось изменениями состояния микрофлоры и антиинфекционной резистентности слизистых оболочек полости рта (Дубинин, 1985, Мальнева, 1997., Ильин и др., 2005; Ильин и др., 2019). Таким образом можно предположить, что экстремальные условия среды обитания, стрессогенные факторы могут стать провокационными для начала развития воспалительных процессов в ротовой полости и изменения микробиоценоза в сторону дисбиотических процессов, активации патогенных представителей микробиоценоза. Провокатором местного врожденного иммунного ответа являются бактерии (Свитич и др., 2013; Зорина, 2011), которых насчитывается более 700 видов (Junemann et al., 2012). Организм человека отвечает специфической и неспецифической формами реакции на воспаление. К специфической форме реакции относятся реакция антиген – антитело, где процессы, вызываемые антигенными воздействиями, в конечном счете производят в организме так называемые антитела непосредственно к данному антигену. Обеспечивается специфическая защита Т- и В-лимфоцитами. К неспецифической реакции относят более локальный ответ макрофагов и микрофагов, выделяющих лейкины, лизоцим, интерферон и т.д., системы комплемента, антимикробной устойчивости кожи и слизистых оболочек. (Рахманов, 1994; Макарова и др., 2008; Петров и др., 2000; Хаитов, 2000). Клетками, являющимися иммунным ответом, являются эпителиальные клетки, продуцирующие интерлейкин 8 (IL-8), который в свою очередь является хемоатрактантом для нейтрофилов и продуцирует рост таких цитокинов как IL-1, IL-6 и TNF-α (Trevani et al., 2003) и соответствующее снижение провоспалительных цитокинов, включая интерлейкин 10 (IL-10) (Gemmell et al., 2004; Page et al., 1997). В условиях космических полетов штаммы, являющиеся условно патогенными, могут стать вирулентными вследствие снижения защитных сил организма с последующим нарушением колонизационной резистентности, проявляющейся нарушением трех основных барьеров, первый

из которых представлен протективной микрофлорой, второй состоит из эпителия покровных тканей и слизистых, третий представлен факторами клеточного и гуморального иммунитета (Ильин и др., 2014). В то же время имеются данные о состоянии организма в условиях гипоксии, где показано, что в условиях высокогорья снижается титр антител и снижается количество антителообразующих клеток (Гранов, 1991). Пребывание человека в условиях гипоксии приводит к снижению реактивности тимусзависимых лимфоцитов. Данные изменения носят стойкий характер. (Мураталиев и др., 2003).

Одним из методов повышения иммунной системы и нормализации микробиоценоза являются пробиотики. (Ильин и др., 2022; Stahl et al., 2016; Кайбышева и др., 2019; Грудянов и др., 2006). Пробиотики представляют собой апатогенные для человека бактерии, обладающие антагонистической активностью в отношении патогенных и условно-патогенных бактерий, обеспечивающие восстановление нормальной микрофлоры (Долгорукова и др., 2019). В настоящее время пробиотики используются в качестве активных добавок к пище, пробиотических продуктов, а так же в клинической практике, где нашли свое применение при таких заболеваниях как синдром раздраженного кишечника, заболевания желудочно – кишечного тракта, заболевания дыхательных путей, в акушерстве и гинекологии и др. (Симаненков и др., 2019; Соловьева и др., 2011; Донец 2015; Глушанова 2005). Прием пробиотиков также содействовал снижению воспалительных реакций в применении их для подготовки космонавтов в условиях искусственной среды обитания (Ильин и др., 2019). Таким образом, применение пробиотиков показало хороший результат, однако представляется, что для узких профессиональных групп было бы целесообразно использовать пробиотики, основанные на аутологичных микроорганизмах, представителях протективной микрофлоры представителей этих групп. Поэтому позволительно предположить большую эффективность от применения аутопробиотика, который, в отличие от пробиотика, имеет более персонифицированный характер, создается индивидуально с помощью культивации штаммов, образцы которых берут у конкретного пациента, тем

самым предполагая, что штаммы, имеющиеся в организме индивида, будут усваиваться и удерживаться в организме лучше, нежели другие штаммы микроорганизмов. Согласно мнению Б. А. Шендерова (Шендеров, 1998), еще в период внутриутробного развития организм ребенка готовится принять микрофлору матери в качестве «своей», или, другими словами, у него формируется иммунологическая толерантность к нормальной микрофлоре (Ильин и др., 2013). На данный момент аутопробиотики используются как дополнительный источник микроорганизмов при заболеваниях пародонта, аутоиммунных заболеваниях, в эндокринологии, а также при антибиотикорезистентности у этиологического агента (Ипполитов, 2016; Ермоленко и др., 2017; Агеевец, 2012; Дятлов, 2013; Baroud, 2012). Можно предполагать, что использование аутопробиотика на основе протективной микрофлоры пародонта (Streptococcus salivarius) будет так же иметь успех при включении этой методики в комплекс методов, направленных на поддержание гомеостаза в условиях длительных пилотируемых полетах, применительно к задачам профессиональных и микробиологических рисков.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Цель работы: экспериментальное обоснование применения аутопробиотика на основе саливарного стрептококка в целях коррекции микробиоценоза слизистых оболочек рта и пародонта в экспериментах с участием человека.

ЗАДАЧИ

- Оценка эффективности аутопробиотикотерапии в процессе восстановления микробиоценоза полости рта у участников экспериментов, находящихся в условиях измененной среды обитания.
- Оценка роста и накопления условно-патогенной микробиоты методом масс-спектрометрии микробных маркеров в условиях измененной среды обитания.

- Изучение возможности и состоятельности работы методом масс спектрометрии микробных маркеров в ротовой полости у участников экспериментов, находящихся в условиях измененной среды обитания

НАУЧНАЯ НОВИЗНА

Впервые была проведена сравнительная оценка бактериологического метода и метода хроматомасс-спектрометрии (МСММ) при оценке микрофлоры пародонта у лиц, находящихся в искусственно изменённой среде обитания. Впервые методом масс спектрометрии микробных маркеров при длительной изоляции в гермообъекте изучался качественный и количественный состав условно-патогенной микрофлоры полости рта у испытуемых. Расширенный высокочувствительный анализ показал динамику изменений количества патогенной микрофлоры в зависимости от длительности нахождения в герметично замкнутом объекте, имитирующем капсулу космического корабля, а также рост таких условно патогенных представителей как: *Streptococcus mutans, Fusobacterium spp., Prevotella spp., Porphyromonas spp., Porphyromonas gingivalis, Candida spp., Actinomyces spp., Peptostreptococcus anaerobius, Corynebacterium spp., Veilonella spp., Enterococcus faecalis, Actinomyces viscosus, Klebsiella spp.*

Впервые была проведена оценка эффективности препаратов на основе штаммов саливарного стрептококка М-18. Проведенные исследования аутопробиотического препарата *S.salivarius* показали его большую эффективность в отношении условно-патогенной микробиоты полости рта следующих культур: *Staphylococcus aureus, Prevotella spp., Corynebacterium spp., Klebsiella spp.*

Проведенное исследование микробиоценоза полости рта на основании методов бактериологического, метода масс-спектрометрии микробных маркеров и метода иммуноферментного показало улучшение биоценоза пародонта у участников эксперимента в измененной среде обитания.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Было экспериментально обосновано применение аутопробиотика *S.salivarius* у лиц, длительное время находящихся в измененной среде обитания. Получены экспериментальные данные, свидетельствующие о перспективности в исследовании данного штамма.

Метод масс-спектрометрии микробных маркеров позволяет контролировать и проводить периодический мониторинг условно-патогенной микробиоты полости рта в условиях измененной среды обитания, а также в условиях, связанных с трудностью отбора материала, его хранения и транспортировки.

Показано, что метод масс-спектрометрии микробных маркеров применительно к исследованию пародонта и слюны адекватен по количественной и видовой составляющей бактериологическим и ПЦР методам исследования.

Практическое применение метода масс-спектрометрии микробных маркеров позволяет врачу-клиницисту проводить обширное (57 образцов штаммов) исследование за один раз и назначить персонализированную терапию.

ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ

1. Аутопробиотики на основе саливарного стрептококка являются более эффективным средством коррекции микрофлоры полости рта у лиц в искусственной среде обитания, нежели аллогенные аналоги.
2. Метод масс-спектрометрии микробных маркеров является быстрым, эффективным и информативным способом исследования микрофлоры пародонта.

АПРОБАЦИЯ РАБОТЫ

Основные результаты и положения диссертации докладывались и обсуждались: на 56 Научных Чтениях памяти К.Э. Циолковского (Калуга, Россия, сентябрь 2021), на XIV Международной научно-практической конференции «Пилотируемые полёты в космос» (Звездный городок, ноябрь 2021); на I Всероссийской междисциплинарной научно-практической конференции по микробиологической стоматологии «Современная микробиология для клинической стоматологии. Достижения, проблемы, перспективы» (Ставрополь, Россия, 2021), 71 международных общественно-научных чтениях, посвященных памяти Ю. А. Гагарина (г. Гагарин Смоленской области, март 2022), на XVIII конференции по космической биологии и авиакосмической медицине с международным участием «Земля – Орбита – Дальний космос» (г. Москва, ноябрь 2023).

По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ, в том числе 3 статьи в журналах из перечня журнала ВАК РФ и баз данных Scopus/Web of Science, 4 тезисов докладов, 1 свидетельство о регистрации базы данных.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 ФАКТОРЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ НОРМАЛЬНУЮ МИКРОФЛОРУ И ФУНКЦИОНАЛЬНОСТЬ ПОЛОСТИ РТА ЗДОРОВОГО ЧЕЛОВЕКА

К факторам, определяющим нормальную микрофлору, следует отнести основные: слизистые оболочки полости рта, включающие пародонт, микробную составляющую полости рта или микробиоценоз, включающий местный иммунитет, скорость слюноотделения, количество осадка в слюне, pH слюны.

Слизистые оболочки полости рта являются одними из первых оболочек макроорганизма, формирующих физический и экологический барьер, предотвращающих проникновение патогенных и условно-патогенных

микроорганизмов, являясь первичным барьером колонизационной резистентности организма (Красноженов и др., 2022). Слизистые оболочки полости рта выполняют следующие функции: защита организма от физических, химических, термических воздействий, быстрая регенерация за счет врожденных иммунных факторов и эпителиоцитов, находящихся на поверхности жевательного слоя, бактерицидные свойства. (Барер и др., 2010; Шабашова и др., 2015). Язык так же, как и щеки, миндалины и десны, покрыт слизистой оболочкой. В корне языка находится язычная миндалина, представляющая собой скопление лимфоидной ткани, которая входит в состав лимфоэпителиального кольца вместе с другими миндалинами. Эта область покрыта многослойным плоским неороговевающим эпителием с криптами (углублениями), в которых содержатся микроорганизмы, слущенные эпителиоциты, лимфоциты и зернистые лейкоциты (Разнатовский, 2016). Важнейшую роль в формировании колонизационный резистентности играет слюна или ротовая жидкость. Защитные свойства слюны чрезвычайно разнообразны, она на 99% состоит из воды и лишь на 1% наполняют минеральные и неорганические вещества, но тем не менее она играет важную роль в различных физиологических процессах. Так, например, при гипосаливации (уменьшении секреции слюны) возникает синдром ксеростомии (сухости ротовой полости), тем самым происходит уменьшение противомикробной, реминерализующей и противокариесогенной функции. Ксеростомия также часто сопровождает сильные стрессы и часто наблюдается при облучениях головы (Ship, 2002). Слюна имеет органические примеси, которые имеют в своем составе различные эпителиальные клетки, микробные ассоциации, сывороточные компоненты и др. Наличие превышения или уменьшения в составе слюны тех или иных веществ может кардинально влиять на буферные функции, противомикробную, реминерализирующую и др. функции. На состав ротовой жидкости влияет множество факторов (Грицук и др., 2011; Рувинская, 2012; Радыш, 2012; Wellens B. T et al, 2006; Rohleder et al, 2009; Larsen et al, 1999) таких как:

1. концентрация в крови различных веществ;

2. нервная проводимость в регуляции саливации, за которую отвечают мозговые центры головного мозга, в том числе осмолярность крови и ионный состав;

3. пищевой рацион (например увеличение в рационе питания углеводов ведет к росту альфа-амилазы);

4. гормональная регуляция;

5. наличие хронических заболеваний;

6. генетические, возрастные и гендерные факторы.

Также были проведены исследования слюны после физической нагрузки (8 профессиональных спортсменов мужчин), где обнаружилось, что после физических упражнений происходит снижение марганца и повышается уровень натрия и магния (Chiharro et al, 1999). Изменение средних значений pH нестимулированной слюны ниже нормальных (норма pH от 6,2 до 7,4) (Amerongen, 2002) влияет на кариесрезистентность зубов, увеличению микробной ассоциации (*Leptotrichia buccalis, Fusobacterium spp., Candida spp*.) и часто ассоциировано с общесоматическими заболеваниями организма (Беленова, 2010). Десневая жидкость является важным компонентом системы пародонта, она по составу схожа с плазмой крови (Beem et al., 1991). Гингивальная жидкость проходит вдоль гингивы (области, покрывающей зону от альвеолярной кости до уровня эмалевого-цементного соединения) и вдоль всех зубов, выполняет протективную функцию для пародонта и содержит в своем составе различные альбумины, иммуноглобулины, лейкоциты и др. (Biestrok et al., 1991; Page et al., 1997). Сама по себе десневая область также имеет достаточно хорошую проницаемость, имея широкие межклеточные пространства. Но вместе с тем это является и «слабым звеном» эпителия, т. к. помимо проникновения лейкоцитов в ткань, также происходит проникновение и бактериального продукта, вызывающего воспалительную реакцию, которая усиливается за счет диффузии гингивальной жидкости, увеличивающейся в период воспаления (Агаева, 2010). Необходимо упомянуть о летучих веществах - метилмеркаптан и

диметилсульфид, которых продуцируют бактерии полости рта (Paryavi-Gholami et al.,1999; Morita, 2001; Hofman, 2001) (Рисунок 1).

Наличие этих веществ в большом количестве способно вызывать гингивит и пародонтит. Так, например было установлено, что при заболеваниях пародонта увеличивалось количество диметилсульфида в 30 раз, ацетата в 4 раза, бутирата и пропионата почти в 5 раз (Щербакова и др., 2005; Иванова и др., 2008). Для борьбы с воспалительными реакциями эпителиальные клетки реагируют на внешние раздражители выработкой мощных антимикробных пептидов – b-дефензинов, а также рядом цитокинов, факторов роста и ферментов. Все эти факторы образуют первую линию микробной защиты. (Bensch et al., 1995; Diamond et al., 1993,1994; Elsbach, 1994; Ganz, 1994; Hancock, 1997; Harder et al., 1997; Miyasaki et al., 1997).

Рисунок 1 - Серосодержащие аминокислоты и их роль в возникновении воспалительной реакции пародонта

Помимо защитных функций пародонта, слюны и десневой жидкости в ротовой полости присутствует иммунная защита против инородных агентов, реагирующая избирательно на попавшие антигены. Местный иммунитет в ротовой полости представлен специфическими и неспецифическими факторами защиты (Таблица 1).

Таблица 1 - Специфические и неспецифические факторы местного иммунитета в ротовой полости (Зеленова и др., 2004)

Местный иммунитет ротовой полости			
Барьерно-защитная функция		**Защитная функция слюны**	
Неспецифические факторы защиты	**Специфические факторы защиты**	**Неспецифи-ческие факторы защиты**	**Специфические факторы защиты**
- особенности строения СОПР; - состояние нормальной микрофлоры (колонизационная резистентность); - лимфоциты, макрофаги; - десквамация буккального эпителия	- sIgA, фиксированный на слизистой	- лизоцим; - лактоферрин; - пероксидаза; - бета-лизины; - тетрапептид сиалин; - кислые гликопротеины; - белки, богатые пролином и гистидином; - нуклеазы; - муцин; - интерферон	- sIgA

Главным фактором и первым, реагирующим на воспаление, является секреторный IgA, он преобладает в основном на поверхности слизистых оболочек и в слюне (Mazanec et al., 1992). Этот иммуноглобулин является антителом и реализует специфическую антибактериальную защиту путем препятствия адгезии бактериальных клеток, лизирует и связывает антигены, препятствует проникновению аллергенов в слизистую, стимулирует выработку лизоцима, витамина А и интерферона (Abu-Ghazaleh, 1989; Egmond van M. et al., 2001; Nakahara et al., 2003; Mestecky et al., 2005; Woof et al., 2004). Антитела IgA показали способность к лизису солидных опухолей и злокачественных лимфом (Dechant et al., 2001; Djjk et al., 2001; Huls et al., 1999; Ma et al., 1998). Общий объем продукции IgA в организме человека превышает выработку антител всех остальных классов, вместе взятых, и составляет 66 мг в сутки на 1 кг веса тела, что при массе тела 75 кг близко к 5 г в сутки (Solomon, 1980). IgA имеет способность препятствовать миграции вирусов при взаимодействии их с антителами и ограничивает их активность (Fujioka et al., 1998). При проведении экспериментов в гермозамкнутом пространстве IgA показывает динамику нарастания воспалительного процесса в течение первых 7 суток, затем включаются другие цитокины.

Цитокины, как и иммуноглобулины, участвуют в процессе микробиоценоза ротовой полости, они также содержатся в слюне и при воспалительных процессах уровень провоспалительных цитокинов возрастает как в слюне, так частично и в крови. Есть предположение, что цитокины могут проходить гематосаливарный барьер в направлении «слюна-кровь» (Игнатов и др., 2010). К цитокинам относят интерлейкины (ИЛ), интерфероны (ИНФ), факторы некроза опухоли (ФНО), колониестимулирующие факторы (КСФ), хемокины, факторы роста. В процессах регуляции ротовой полости участвуют IL-6, IL-8, IL-1β, IL-4 и др. В ротовой полости цитокины участвуют в регуляции иммунного ответа, апопотозе (уничтожении) клеток, в регуляции воспалительных процессов и др. Слизистая оболочка полости рта является открытой биологической системой, общающейся напрямую с внешней средой. Считается, что нормальная микрофлора

препятствует адгезивным свойствам патогенной микробиоты на слизистую оболочку полости рта и препятствует началу местного воспалительного процесса (Булгакова, 2010; Царев, 2004; Tan et al., 2006; Данилевский, Борисенко, 2000). Микробный состав в норме представлен более 700 видами бактерий, которые составляют основу микробиоценоза полости рта, слюны и слизистой оболочки полости рта (Царев, Ушаков, 2006; Aas, 2005; Kreth et al., 2009; Paster, 2006; Papaioannou, 2009; Löhr et al., 2011). Эти бактерии также участвуют в процессах пищеварения, усвоения витаминов и иммунного ответа организма, тем самым поддерживая защитный баланс, без развития воспалительного процесса в слизистой оболочке полости рта (Шабашова, 2012; Зорина и др., 2011; Вечерковская, 2015). Ротовая полость занимает одно из первейших мест по видовому и количественному составу бактерий (Sommer et al., 2013; Zaura et al., 2009; Войда, Солонина, 2012; Добреньков, 2015), уступая лишь толстому кишечнику. В норме у человека постоянно присутствует индивидуальная (индигенная), присущая только конкретному человеку микрофлора, которая находится в постоянном балансе с привнесенной (факультативной) микробиотой извне. (Боровский и др., 2001; Разумова и др., 2007; Almstahl, 2005). Она заселена аутохтонными микроорганизмами (специфическими микроорганизмами, характерными для данного конкретного биотопа), являющимися микробиотопами и аллохтонными микроорганизмами (из других характерных биотопов организма), которые отличаются от других биотопов организма по качественному и количественному составу (уровню метаболизма, pH среды, газовому и др.) (Матисова, 2010; Veckman et al., 2003; Bickel, 1985; Eggert, 1991). В совокупности все эти микробиоценозы есть экосистема организма и естественная аутомикрофлора, является единым неотделимым природным комплексом, в котором среда данного биотопа является ведущей в изменчивости ее бактериальной составляющей. (Прилепская, Байрамова, 1996; Otte, Podolsky, 2004). Антагонистическая активность нормальной и условно-патогенной флоры провоцирует выработку метаболитов с антисептической активностью (перекись водорода), бактерицидных веществ (низина, диплококцина, ацидофилина,

лактоцидина, лактолина, бревина и др.), а также органических кислот (молочной, уксусной, кетоглутаровой и янтарной). К нормофлоре в первую очередь относятся аэробные и анаэробные кокки (пепто- и стрептококки), которые населяют ротовую полость от 30–60 % от всей микробиоты ротовой полости, являющиеся факультативными анаэробами (таблица 2).

Окраска по Граму	**Морфология**	**Название рода**
Облигатные анаэробы		
Грамотрицательные	Кокки	*Veillonella*
	Палочки	*Bacteroides* *Porphyromonas* *Prevotella* *Fusobacterium* *Leptotrichia*
	Спирохеты	*Treponema* *Borrelia*
Грамположительные	Кокки	*Peptostreptococcus* *Peptococcus*
	Палочки	*Bifidobacterium* *Propionibacterium*
Аэробы и факультативные анаэробы		
Грамотрицательные	Кокки	*Neisseria*
	Спирохеты	*Leptospira*
Грамположительные	Кокки	*Streptococcus* *Staphylococcus*
Грамположительные	Палочки	*Lactobacillus* *Corynebacterium*

Стрептококки представлены α- и γ-гемолитическими видами. Они разделены на пять различных групп:

1 Группа *Mutans* (основными представителями являются *S. mutans* и *S. sobrinus*).

2 Группа *Salivarius* (*S. salivarius*).

3 Группа *Anginosus* (*S. anginosus* и *S. intermedius*).

4 Группа *Sanguinis* (*S. sanguinis* и *S. gordonii*).

5 Группа *Mitis* (*S. mitis* и *S. oralis*) (Facklam, 2002).

Также к представителям нормальной флоры ротовой полости можно отнести непатогенные нейсерии, коринебактерии, молочнокислые бактерии, грибы, эшерихии, цитробактерии, клебсиеллы, кандиду, микрококки, бранхамеллу, моракселлу и др. (Haffajee, Socransky, 2000). Коринебактерии имеют характерную особенность понижать окислительно-восстановительный потенциал, провоцируя рост анаэробов (Правосудова, Мельников, 2013). Замечено, при росте воспалительного процесса в полости рта исчезают такие представители протективной группы бактерий, как: *Veillonella*, *Lactobacillus* и *Enterobacteria*. Во рту представителями рода *Veillonella* чаще всего встречаются *V. parvula* и *V. alcalescens* (Al-Otaibi, Al-Mohizea, 2014). Эти бактерии умеют преобразовывать уксусную, пировиноградную и молочную кислоты до статочных продуктов: углекислоты и воды, тем самым удаляя продукты жизнидеятельности условно-патогенных бактерий. Многие молочнокислые бактерии имеют свойство менять pH среду, они являются прямыми антагонистами пародонтопатогенов. К ним относят в первую очередь лактобактерии, вызывающие молочнокислое брожение. Их типичными представителями в ротовой полости являются *Lactobacillus acidophilus, L. fermentum, L. brevis, L. casei*. Эти представители, продуцируя молочную кислоту, образуя пленки на слизистых, тем самым препятствуя росту дизентерийной и кишечной палочки (Банченко, 2000). Распределение по количеству и составу микробиоты может отличаться на разных участках (Рисунок 2). Так, например *Streptococcus spp.* характерен наиболее для ротовой полости и

дыхательных путей, *S. mutans* обладает высоким аффинитетом к эмали зуба, а *S. salivarius* чаще встречается в области миндалин и поверхности пародонта.

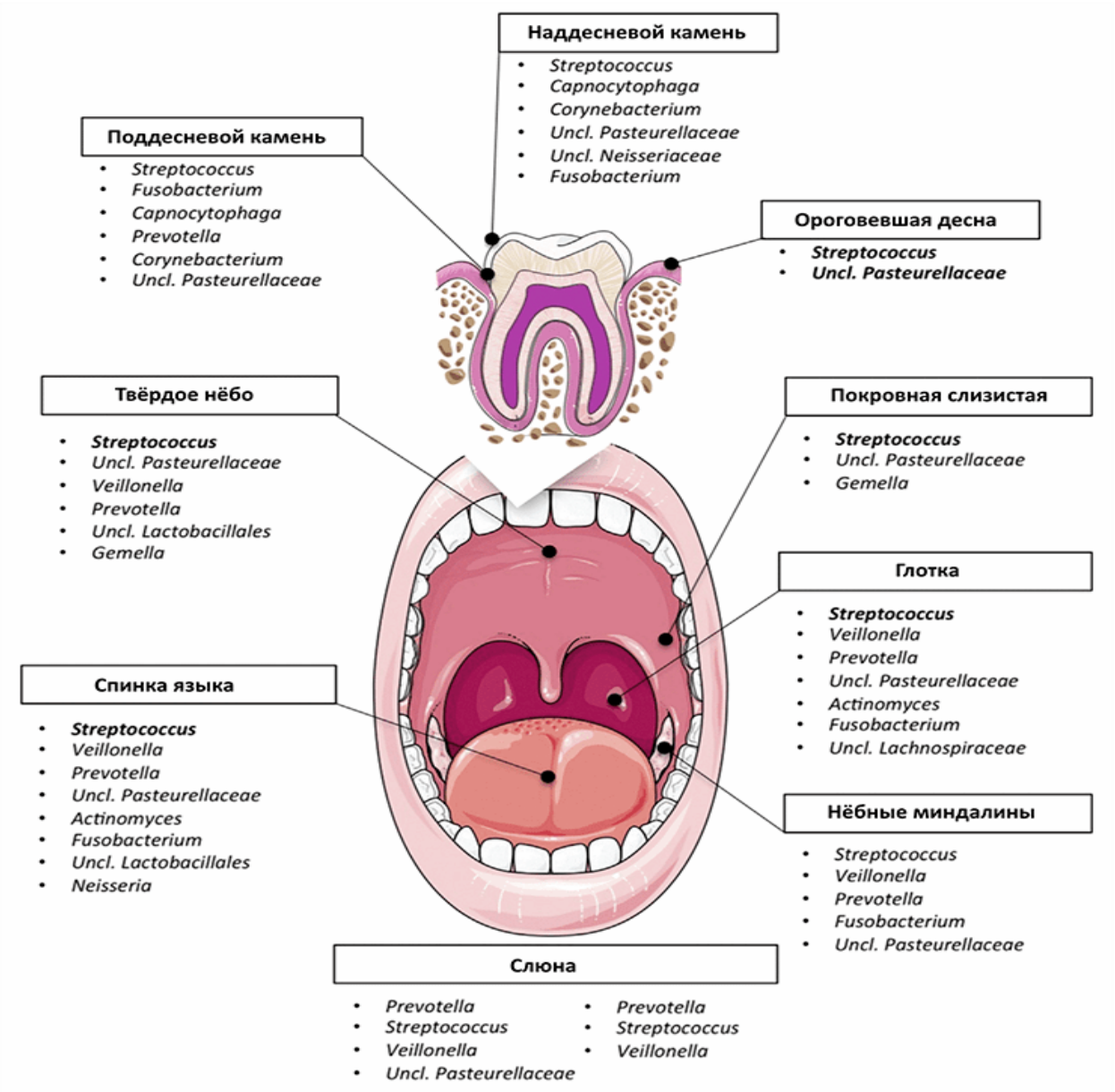


Рисунок 2. Основной состав микробиоты ротовой полости (Sampaio-Maia et al., 2016)

У представителей нормальной микрофлоры значения титров обычно не превышают концентрации 10^2–10^4 КОЕ/мм^2. Так, например, представители *Fusobacterium spp.* постоянно присутствуют в полости рта, но становятся патогенами лишь при высоких концентрациях и в смешанных культурах со

спирохетами (Банченко, 2000). Представителями актиномицет в ротовой полости чаще всего являются *A. israeli, A. naeslundi, A. viscosus, A. odontolyticus*. При нормальных значениях они не представляют опасности для макроорганизма, но если по каким-либо причинам резидентная микрофлора нарушена или уничтожена, в частности при ослабленном иммунитете, то условно патогенная микробиота может стать оппортунистической, т. е. характерной для патологического процесса, вызывая такие стойкие хронические гнойные воспаления и актиномикоз, возникающие при иммунодефицитных состояниях (Агапов и др., 2002). Это связано с тем, что среда ротовой полости является прекрасным резервуаром для размножения огромного количества бактерий, отвечая их главным потребностям, таким как влажность и температурные показатели, благоприятствующие росту бактерий, а также наличие питательных веществ, провоцирующих их быстрый рост (Haake, 2010., Pöllänen, 2013) Замечено, что при развитии воспалительных реакции пародонта, резко возрастает обсемененность условно-патогенной микробиотой (УПМ) (Мартиросян и др., 2012; Николаева и др., 2007). К основным индукторам воспалительных процессов в полости рта можно отнести следующих микроорганизмов: *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans, Fusobacterium nucleatum, Prevotella intermedia, Treponema denticola , Porphyromonas gingivalis, Actinomyces spp., Candida spp., Streptococcus sangius, Streptococcus mutans, Corynebacterium spp., Fusobacterium spp., Propionibacterium spp, Prevotella spp, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus, Actinomyces viscosus, Peptostreptococcus anaerobius, Candida glabrata., A. naeslundi., Klebsiella spp., Neisseria spp., N. sicca, N. subflava, H. influenzae, P. gingivalis, P. intermedia, P. oralis, Proteus spp., S. hominis, Streptococcus spp., S. mitis, S. constellatus, S. intermedius, C. albicans.* (Червинец и др., 2021; Мирсаева и др., 2018; Гладин и др., 2021; Ильин и др., 2023). Бактериальная составляющая чаще всего контаминируется в области зубодесневого соединения в виде зубных отложений, где постепенно со временем превращается в десневую бляшку, тем самым отодвигая десну от корня зуба и образовывая так называемый десневой карман. Со временем в десневом кармане происходит воспалительная реакция как

ответ на скопление бактериального и зубного налета, провоцирующая дальнейшее воспаление, переходящее на костную составляющую (Мураками и др., 2019). При наличии очага хронического воспаления в пародонтальных карманах чаще присутствуют стафилококки и стрептококки, грибы и коринебактерии (Таблица 3).

Бактерии пытаются прикрепиться различными способами к эпителиальным клеткам макроорганизма. Для этого необходима адгезия (фиксация, прикрепление) к клетке мишени. Образование биопленки происходит поэтапно: непосредственная адгезия бактерий, их размножение на поверхности до образования колоний, формирование незрелой биопленки, затем формирование смешанной биопленки (Арутюнов, 2012; Маянский, 2011; Hentzer, 2001; Tetz, 2010). Выделяют неспецифическую и специфическую адгезию. Неспецифическая адгезия происходит с помощью гидрофобных и гидрофильных взаимодействий, а также при помощи электростатических сил. Например, *S. mitis* имеет лучшее прикрепление к поверхности слюны, таким белкам как муцин, нежели чем к альбумину (Leonhardt, 1995). Специфическая адгезия возможна при наличии специфических адгезинов, которые находятся на поверхности микробной клетки для фиксации на слизистой оболочке полости рта (Зубарева и др., 2010). Также адгезины способны к коагрегации и влиянию колоний на адгезивные свойства друг друга (Николаев, 2000). Такой подход характерен не только для слизистой полости рта, но и для других биотопов, подтверждая универсальность взаимодействия лиганд-рецепторных систем для узнавания специфических клеток (Gionchetti et al., 2003; Hart et al., 2004; Lammers et al., 2003; Jiang, Pisetsky 2003).

Таблица 3 - Видовой состав микрофлоры содержимого пародонтальных карманов (Мирсаева и др., 2018)

Вид	**Количество штаммов, абс.**	**Удельный вес, %**	**Частота встречаемости, %**
Стрептококки			
S. mitis	31	17,21±1,12	61,35±1,56
S. mutans	30	16,67±1,34	62,48 ± 1,45
S. agalactis	26	14,44±1,22	50,80±1,45
S. salivarius	23	12,78±1,34	47,64±1,14
S. sanguis	17	9,44±1,56	34,39±1,04
Стафилококки			
Коагулазположительные	11	6,11±1.56	22,22±1,09
Коагулазотрицательные	10	5,56±1,26	23,75±1,56
Дрожжеподобные грибы	21	11,68±1,33	41,79±1,76
Коринебактерии	11	6,11±1,65	23,45±1,89
Всего	180	100	

При дисбиотических нарушениях, создается так называемый фон, в виде каскада воспалительных реакций. Со стороны гуморальных процессов организма происходит выброс макрофагами провоспалительных (интерлейкины 1, 2, 6, 8, ФНОα, интерферон γ) и противоспалительных (интерлейкины 4, 10, TGFβ) факторов в ответ на образование ядерного фактора NF-кв (Межирова и др., 2011; Медвинский и др., 2003; Левит и др., 2006; Amado, 2010) (Рисунок 3).

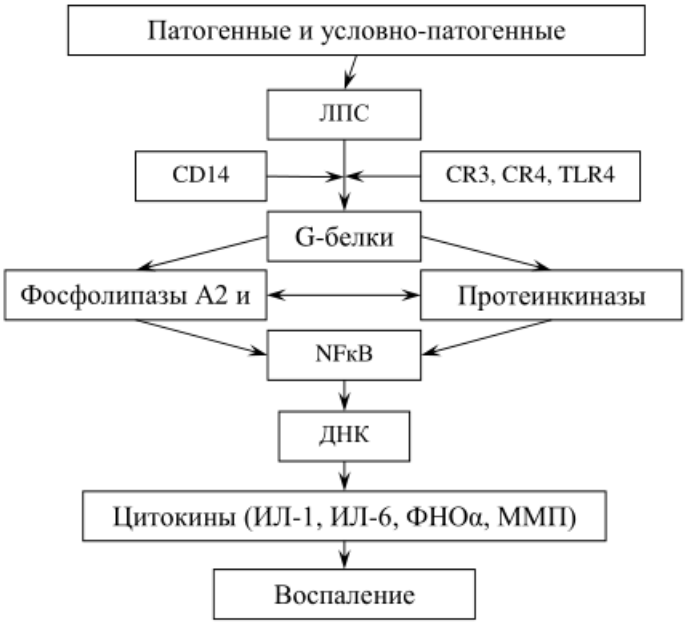


Рисунок 3 - Схема развития воспаления (Левицкий и др., 2008)

Десневой эпителий вырабатывает Toll-подобные-рецепторы (TLR), эти рецепторы способны распознавать липополисахариды, продуцируемые патогенной и условно-патогенной полости рта. TLR рецепторы в свою очередь продуцируют цитокины, хемокины, пептиды β-дефензины (hBD), и другие медиаторы, отвечающие за процесс, регулирующий воспаление (Beklen et al., 2014; Lin et al., 2015; Sun et al., 2010; Sunandhakumari et al., 2018; Ковальчук и др., 2011). Таким образом, гуморальная и иммунная системы напрямую связаны с процессом воспаления, провокаторами которого чаще всего является УПМ, например, *S.aureus, S.intermedius* (Bartold, 2013; Fritschi, 2008). Считается, что они выделяют гликозилтрансферазу - фермент, превращающий сахарозу в декстран, что способствует их адгезии к тканям и формированию бляшки (Литусов, 2016). У представителей условно- патогенной микрофлоры значения уровня обсемененности обычно не превышают концентрации 10^2– 10^4 КОЕ/мл. Так, например, фузобактерии, постоянно присутствуют в полости рта, но становятся патогенами лишь при высоких концентрациях и в смешанных культурах со спирохетами (Банченко, 2000).

1.2 ФОРМИРОВАНИЕ ПАРОДОНТОПАТОГЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ, ЕЕ СОСТАВ И ВЛИЯНИЕ НА СОПР УСЛОВИЙ ГЕРМЕТИЧНО ЗАМКНУТОГО ПРОСТРАНСТВА

В условиях герметично замкнутого пространства космического корабля на человека влияет множество факторов космического полета, вызывающий сдвиги в организме и ряде систем жизнеобеспечения (Рисунок 4). Это в первую очередь касается жидкостных систем организма, таких как кроветворная и лимфатическая. Происходит перераспределение жидкостных сред, вследствие невесомости, что приводит к изменению гормональной системы, выбросу антидиуретического гормона и уменьшению объёма циркулирующей крови (Perhonen, 2001; Patel, 2020). Помимо снижения объёма циркулирующей крови, происходят и дисбиотические сдвиги в организме, в которые вовлечена вся гастродуоденальная система, включающая ротовую полость и кишечник (Turroni et al., 2020; Crucian, 2016; Thornton, 1987; Jiang et al., 2019; Kirkpatrick et al., 2020). Нарушаются все три барьера колонизационной резистентности организма, при нарушении которых в первую очередь снижается уровень протективной микробиоты вследствие усиленного микробного обмена, а также усугубленного герметичностью пространства, замкнутости воздухообменных систем кондиционирования и его рециркуляции. Таким образом продукты распада жизнидеятельности попадая в воздух вместе со слюной и кожными выделениями, находясь в общем пространстве кабины, являются провокаторами для повторной реинфекции, что является риском для экипажа корабля. Помимо этого, к ослаблению первого барьера присоединяется экзогенная контаминация и стресс-индуцированный дисбактериоз. О втором барьере говорилось выше, к нему помимо перераспределения жидкостей организма и связанного с этим изменения процессов организма присовокупляется нарушение кальциевого обмена, физиологической функции кишечника и др. К нему же следует отнести покровной эпителий кожи и слизистых. С нарушением третьего барьера происходит снижение клеточного и гуморального иммунитета, в виде снижения иммунного

ответа (снижении фагоцитоза и киллерной активности, снижение бактерицидной активности, а также продукции интерлейкинов).

Рисунок 4 - Нарушения колонизационной резистентности в условиях космического полета (Ильин и др., 2014)

Так, например Ю. Г. Нефедов, С. Н. Залогуев, В. М. Шилов и В.В. Борщенко показали, что нахождение в гермозамкнутом помещении приводит к изменению микробного пейзажа слизистых полости рта, что выражалось в росте гемолитических форм микробов и увеличении числа стафилококков, продуцирующих гемолизины, пламокоагулазы, гуалуронидазу, фибринолизин, лейцитиназу, и др. продукты воспаления (Рисунок 5). С ростом воспаления наблюдалось снижение показателей естественного иммунитета, это проявлялось в снижении выработки лизоцима слюны и общей выработки слюны в целом, а также фагоцитарной реакции крови.

В исследованиях В. Я. Прохорова и В. М. Шилова (1967) было уставлено, что происходит процесс перекрестной контаминации микроорганизмами между людьми в условиях гермообъекта, что играет существенную роль в

эпидемиологии длительного пилотируемого пребывания экипажа. Для контроля микробной обсемененности и мониторинга у членов экипажа берутся микробиологические пробы, но не все тесты способны отвечать условиям космического полета и невесомости. Необходимо соблюдать правильное хранение образцов в течение всего полета (температура, время транспортировки, герметичность и др.). Для предотвращения возможных рисков, связанных с полетом, одним из решений было проведение наземных экспериментов, моделирующих факторы космического полета. В наземных экспериментах «иммерсия», при нахождении в условиях герметично замкнутого пространства, а также в условиях гипобарии наблюдаются те же изменения, что и в ходе пилотируемых космических полетах (Скедина и др., 2018; Ильин и др., 2022).

Имеются также данные, что повышенное нервно-функциональное напряжение, гипокинезия, повышенные нагрузки, длительное пребывание в условиях изоляции с измененными параметрами газовой среды и микроклимата к формированию дисбактериоза (Рисунок 6).

При исследовании состояния полости рта космонавтов в эксперименте «Пародонт-2» наблюдалось снижение определенных иммуноглобулинов и определялось наличие пародонтопатогенов: *P. intermedia, Tannerlla forsythia, Treponema denticola, A. actinomycetemcomitans, P. gingivalis*. Была выявлена прямая взаимосвязь между *T. denticola* и переходом локализованного процесса воспаления в генерализованный, а также зависимость от обнаружения *P. intermedia* в ротовой полости и прогрессированием заболевания. (Ильин и др., 2014). У участников эксперимента, находящихся в гермозамкнутых помещениях (14-суточный эксперимент «Эскиз») и «сухой иммерсии» рост условно-патогенной микробиоты наблюдался на выходе из эксперимента, у участников 12-месячного эксперимента «Sirius 2021–2022» также наблюдались скачки нагрузки микробных ассоциаций на 14 и 30 сутки нахождения в эксперимента. У всех испытуемых в обоих экспериментах наблюдался эффект «накопления» условно-патогенной микробиоты, особенно ярко он проявлялся к 120 суткам

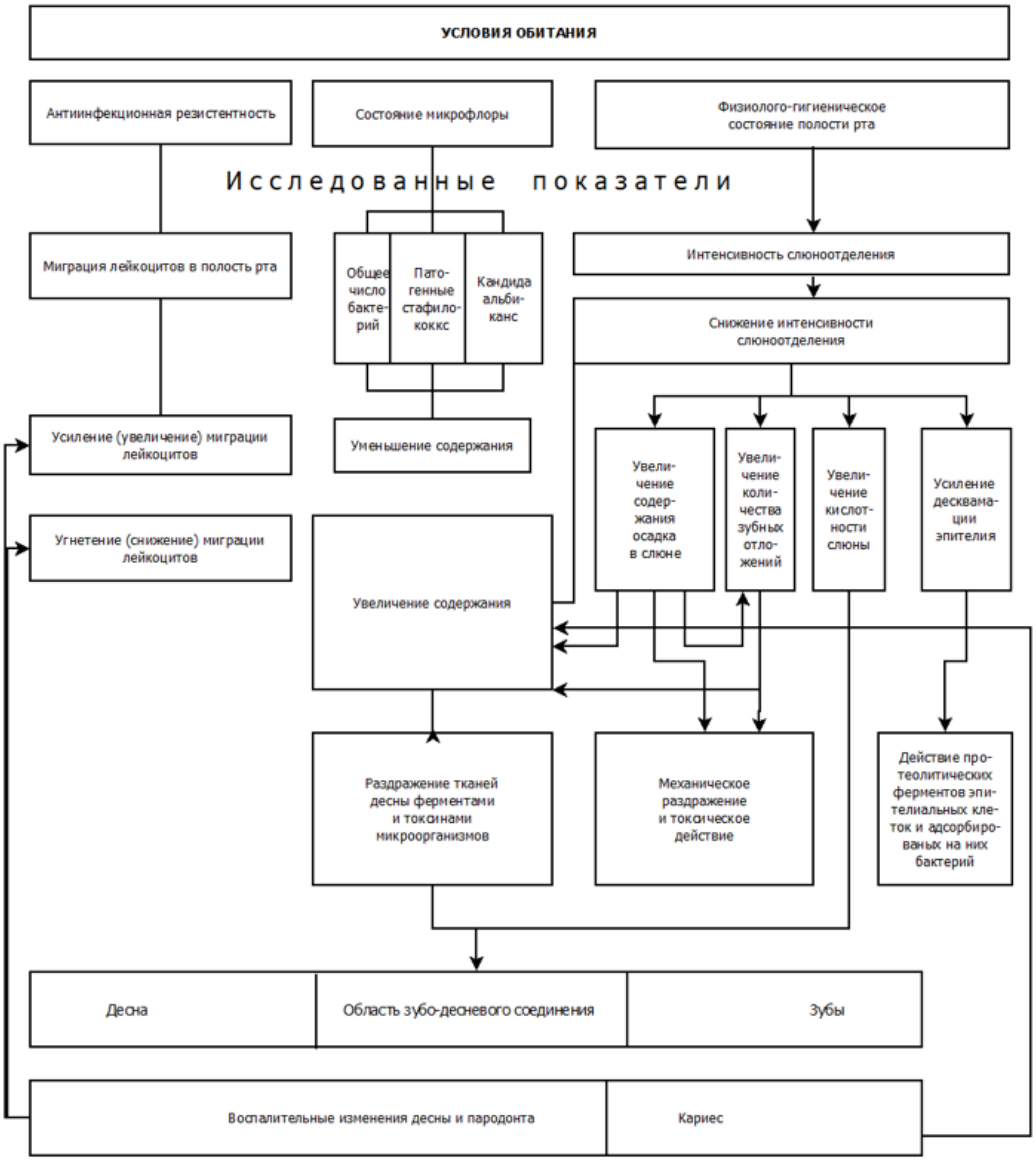


Рисунок 5 - Изменение микробного пейзажа слизистых полости рта у операторов, находящихся в ГЗП (Нефедов и др., 1966)

эксперимента, что связано с длительностью нахождения в герметично замкнутом помещении (Ильин и др., 2022). Это же подтверждают и другие исследования, например, местный гуморальный иммунитет реагирует на условия изоляции (эксперимент «Эскиз»,) в виде повышения sIgA, IgM как наиболее ранних классов антител, дающих иммунный ответ на внедрение многих антигенов (Таблицы 4, 5).

Рисунок 6 - Формирование дисбактериоза при нахождении в гермозамкнутых помещениях (Лизько, 1996)

В процессе экспериментов, в условиях герметично замкнутых помещений, виден скачок роста провоспалительных (IL-6, IL-8, IL-1β) и снижение противовоспалительного (IL-4) цитокинов, что также свидетельствует о процессе воспаления. (Караулов и др., 2013; Черний и др., 2007). Таким образом, в условиях герметично замкнутого пространства происходит сдвиг в вегетативной нервной системе, приводящей к изменению саливации, снижению барьерных функций полости рта, изменения скоростного кровотока в артериальной и капиллярных звеньях, изменения в системе местного иммунитета, изменения в микробной ассоциации в сторону дисбиоза. Это является актуальной проблемой, в решении которой развиваются новые методы исследования и производятся новые препараты. Одним из таких решений для уменьшения микробной ассоциации является прием пробиотических продуктов.

Таблица 4 - Содержание иммуноглобулинов в ротовой жидкости испытателей-добровольцев в условиях 14 суточной изоляции

Сроки отбора проб	**Концентрация иммуноглобулинов, г/л**		
	sIgA	**IgA**	**IgM**
Фон *	0.032 ± 0.005	0.334 ± 0.043	0.017 ± .002
Выход *	0.124 ± 0.078 *	0.364 ± 0.089	0.034 ± 0.011 *
+ 6 сутки *	0.038 ± 0.010	0.517 ± 0.094 *	0.020 ± 0.003
+ 18 сутки *	0.075 ± 0.031 *	0.373 ± 0.063	0.020 ± 0.003

Примечания:

- * обозначены статистически значимые различия по сравнению с соответствующим показателем фона ($p < 0,05$);

- фон – за неделю до начала эксперимента; выход – 2 недели от начала эксперимента; + 6 сутки – через 6 дней после окончания эксперимента; + 18 сутки – через 18 дней после окончания эксперимента.

Таблица 5 - Относительное содержание иммуноглобулинов в ротовой жидкости испытателей-добровольцев в условиях 14 суточной изоляции в процентах от общего количества

Сроки отбора проб	**Процент от общего количества**		
	sIgA	**IgA**	**IgM**
Фон *	8,4	87,2	4,4
Выход *	23,8	69,7	6,5
+ 6 сутки	7,1	96,3	3,7
+ 18 сутки	16,0	79,7	4,3

Примечание - Фон – за неделю до начала эксперимента; выход – 2 недели от начала эксперимента; + 6 сутки – через 6 дней после окончания эксперимента; + 18 сутки – через 18 дней после окончания эксперимента.

1.3 СРЕДСТВА КОРРЕКЦИИ ДИСБИОЗА ЗУБОЧЕЛЮСТНОЙ СИСТЕМЫ: ПРОБИОТИКИ

Еще во времена древнего Египта, врачи использовали молочные продукты для лечения желудка и восстановления пищеварения. Сыр, хлеб, пиво, вино, все эти продукты проходили так называемый процесс брожения или ферментации и имели в своем составе живые микроорганизмы. Считается, что эти микроорганизмы, будучи введенными в организм человека, обладают антимикробными свойствами, а также усиливают клеточный иммунитет хозяина (Nowak et al., 2019). Эти микроорганизмы и есть пробиотики, что означает “для жизни” (Pradhan et al., 2020). Но до того, как пробиотики получили свое название, они прошли свой долгий путь от бактерий, впервые открытых в 1857г. Л. Пастером, который доказал, что за процесс брожения отвечают именно бактерии, а не дрожжи, как считалось ранее. Первые отдельно выделенные штаммы бактерии были молочнокислые - *Nissle (Escherichia coli Nissle)* (Nissle, 1918). В дальнейшем пробовали использовать различные штаммы, но сложность состояла в первую очередь в идентификации культур. В 1899 г. Анри Тиссье (Henry Tissier) выделил *Bacillus bifidus communis*, он предполагал, что этот штамм способен вытеснять в организме ребенка патогенную микробиоту, способную вызвать диарею. (Tissier, 1906). В 1908 г. И. И. Мечников в своей книге «Этюды о природе человека» (Мечников, 1905) утверждал о пользе молочнокислых бактерий и приводил примеры долгожительства людей, проживающих на Балканах, он напрямую это связывал с их употреблением молочнокислой закваски. Этот продукт «кисело млеко», выведенный на основе штамма *Lactobacillus bulgaricus*, до сих пор введен в употребление (Мечников, 1907). Бифидобактерии вследствие развития уксусной и молочной кислоты проявляют свой антибактериальный эффект преобразовывая среду в кислую. Так же наблюдалось восстановление нормальной кишечной микрофлоры, после проведенной антибиотикотерапии. Считается, что основным действующим началом являются живые микробные клетки (Шендеров, 2001; Долинов, 1969; Малахов, 1999; Козьминых Ю.В. и др.,

2002). Следующим был Альфред Ниссле в 1917г., открывший *Escherichia coli,* этот штамм был способен подавлять сальмонеллёз и дизентерию (Nißle, 1918). Необходимо также упомянуть об энтерококках, к ним относят такие виды как: *E. faecalis, E. faecium, E. avium, E. casseliflavus, E. durans,E. gallinarum, E. raffinosus, E. hirae, E. malodoratus* и *E. mundtii*. Установлена обособленность трех видов энтерококков: *E. faecium, E.faecalis* и *E.durans* (Klein, 2003). Энтерококки, так же, как и стрептококки одними из первых заселяют слизистую кишечника (Бондаренко, 2007), они участвую в синтезе витаминов, являются протективной группой бактерий – являются антагонистами стафилококков и имеют устойчивость к β-лактамным антибиотикам и аминогликозидам (Рыбальченко, 2008; Чертков, 2008). На основе энтерококков были сделаны такие пробиотические средства как «Линекс», «Бифиформ» и др. (Таблица 6).

Штаммы энтерококка прекрасно показали себя в лечении инфекционных заболеваний желудочно-кишечного тракта у детей (Alam, 2003), а также при лечении пенициллинами и цефалоспоринами, в предотвращении клинических проявлений антибиотик-ассоциированного дисбактериоза кишечника (Бельмер, 2004). Данный штамм и в настоящее время эффективен в лечении *H. Pylori* при язвенных поражения желудка и двенадцатиперстной кишки без применения антибиотиков (Симаненков, 2004; Симаненков и др., 2002). В 1930г. Минору Широта впервые смог выделить отдельную культуру *Lactobacillus casei*, это привело к тому, что штамм стал пробиотическим продуктом и продается до настоящего времени в странах Азии и Европы (Sako, 2011). На данный момент существует огромное количество различных пробиотических препаратов на основе штаммов *Lactobacillus, Bifidobacterium, Enterococcus, Bacillus, Escherichia, Saccharomyces*, на их основе производятся не только молочнокислая продукция, производятся соки, злаки, шоколад, сухофрукты и др. (De Prisco, 2016). В нынешнее время вопрос применения пробиотиков уже не оставляет сомнений своей полезности, это доказывают различные проведенные исследования.

Таблица 6 - Пробиотические штаммы на основе энтерококков (Гончар, 2013)

Пробиотические штаммы энтерококков, используемые в медицинской практике	
Пробиотические средства, содержащие пробиотические штаммы энтерококков	**Штаммовый состав пробиотических средств на основе энтерококков**
Линекс	*B.infantis, L.acidophylus, E. Faecium M74*
Бифиформнолакт	*B. longum, E. Faecium SF-68*
Лиминолакт	*E. faecium L3*
Bio-three (Тоа, Япония)	*Bacillus mesentericus, E. faecalis, Clostridium butyricum*
SymbioPharm Herborn (Германия)	*E.faecalis SF-68*
Bioflorin (Sanofi-aventis, Швейцария)	*E. faecium*

Пробиотические препараты давно зарекомендовали себя в лечении в самых различных областях медицины таких как: педиатрия, где лечение кишечных заболеваний, диареи и синдрома раздраженной кишки. Были показаны прекрасные результаты не только при самопричинном заболевании желудочно-кишечного тракта, но и после курса антибиотикотерапии, а также для поддержания и стабилизации нормальной микрофлоры у недоношенных детей (Соловьева и др., 2017; Амерханова, 2006; Кафарская, 2016; Deshpande, 2011; Гончар и др., 2021; Ермоленко и др., 2023). В стоматологии этот вопрос сейчас является особенно актуальным в связи с ростом воспалительных заболеваний ротовой полости, (стоматиты, пародонтиты, пародонтозы, заболевания слизистой оболчки полости рта и т.д.) (Twetman, 2012), а также необходимости поддержания функциональной микрофлоры полости рта, уменьшению количества патогенных бактерий, снижению количества зубного налета, нормализации pH кислотности

ротовой полости. В гинекологии пробиотики нашли свое применение в практике для лечения вагинозов и кандидозов (Vujic, 2013). Хорошо себя зарекомендовали пробиотики и в лечении заболеваний, связанных с бактерией *Helicobacter pylori*, о чем доказывают проведенные исследования (Циммерман, 2010). Такая высокая терапевтическая активность в первую очередь связана со способностью пробиотиков к адгезии (прикреплению) клеткам хозяина с помощью гликоконъюгированных рецепторов, тем самым занимая микробную нишу и вытесняя патогенные микроорганизмы, путем выделения биоцинов, а также молочной и уксусной кислоты (Servin, 2003). Доказано, что пробиотики имеют антитоксическое действие, снижают уровень воспалительных цитокинов, таких как IFN-γ, TNF-α, IL-8, IL-12 (Di Caro, 2005). В настоящее время все пробиотики делятся на: монопробиотики (содержащие один компонент в своем составе), полипробиотики (многокомпонентные), полипробиотики (разнокомпонентные), синбиотики (комбинированные) (Мазанкова и др., 2004; Алехина и др., 2007, Ардатская и др., 2015) Рынок пробиотических препаратов обширен, но вопрос, который ставится перед производителем пробиотических препаратов, это – выживаемость. Выживаемость продукта зависит от нескольких факторов, это фактор производства и технологии препарата, условия его хранения, количественный состав, т. к. минимальное количество должно быть не менее 10^7 КОЕ (Saavedra, 2001). Также необходимо учитывать, что большинство штаммов погибают в кислой среде желудка. Надо понимать, что пробиотические штаммы не способны к «самозасеиванию» кишечника, в отличие от индигенной микрофлоры, тем самым необходимо периодическое заселение микробиома слизистых, после агрессивных влияющих факторов, например антибиотикотерапии. В отличие от пробиотических препаратов, аутопробиотик является индивидуальным продуктом, взятым от конкретного пациента в тот период, когда пациент здоров и обладает устойчивым микробиоценозом. Таким образом, препарат аутопробиотика готовится заранее и принимается пациентом, в тот момент, когда ему это необходимо. Такой персонализированный подход в первую очередь полностью исключает отрицательный иммунный ответ к своим

клеткам, а также выраженной антагонистической активности к представителям собственной микробиоты. Адгезия собственных аутопробиотических клеток больше по сравнению с пробиотическим продуктом. (Шендеров, 1997; Симаненков и др., 2015; Суворов, 2012) Часто под лечением пробиотиком и аутопробиотиком мы понимаем лечение кишечных патологий, но это не совсем так. Такие заболевания как кариес, кандидоз, воспалительные заболевания слизистой оболочки рта могут быть не только иметь прямую следственную связь, от внедрения чужеродного агента, до возникновения очага поражения, но также косвенно играть немаловажную роль в развитии того или иного заболевания. Сдвиг всего лишь нескольких параметров, таких как, например, pH, или увеличение кальцификата в слюне, могут постепенно привести к обильным зубным отложениям и воспалительной реакции, вследствие присоединения условно-патогенной микробиоты полости рта, что в будущем может спровоцировать уход десневого края, расшатыванию зубов и в конечном итоге их потере. Для предотвращения этого, микробиоту ротовой полости стали активно изучать и данный момент в базе Human Oral Microbiome Database начитывается более 700 родов прокариот (Gao et al., 2018).

1.4 ОБОСНОВАНИЕ ПЕРСПЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АУТОПРОБИОТИКОВ НА ОСНОВЕ САЛИВАРНОГО СТРЕПТОКОККА (*S. SALIVARIUS*)

Выбор того или иного штамма зависит от многих факторов, к ним необходимо отнести:

- безопасность применяемого штамма;
- отсутствие аллерголизации организма на данный штамм;
- выживаемость и приживляемость в том или ином биотопе организма хозяина;
- синтез антимикробных веществ данным штаммом;
- доступность препарата (цена изготовления);
- относительная легкость производства;
- возможность длительного хранения.

Эти и многие другие факторы сильно влияют на выбор пробиотического препарата *S. salivarius* отвечает полностью вышеперечисленным требованиям т. к. является одним из ранних колонизаторов ротовой полости и эту протективную группу бактерий, было решено взять именно из ротовой полости, а не из кишечника, как делалось ранее, в связи с целесообразностью их изъятия из естественной среды обитания. Критерием выбора именно *S. salivarius* явилось его частота встречаемости в ротовой полости, его апатогенность, а также его ингибурющая активность против основных патогенов ротовой полости, а именно *Streptococcus spp., Porphyromonas spp., Actynomyces spp., Aggregatibacter spp.* Были описаны колонизационные взаимодействия между *S.salivarius* и *S.mutans* в области зубов при первичном колонизационном заселении и ограничении патогенной активности *S.mutans* (Tanzer et al., 1985), а также во время адгезии *Streptococcus pyogenes* к слою клеток глотки человека (Guglielmetti et al., 2010). Штаммы выделенные из *S. salivarius* (K12, M18) обладают пробиотическим свойствами и имеют доказанный статус безопасности (Таблица 7).

Также было проведен ряд исследований, подтверждающими эффективность S. salivarius (Cosseau et al., 2008; Horz et al., 2007; Burton et al., 2013; Stowik et al., 2016). Например, описанный в литературе пробиотический штамм S. salivarius M18 вырабатывает бактериоцины, декстраназу и уреазу являющиеся прямыми антагонистами кариеса, а также уменьшает количество нарастания зубной бляшки за счет закисления pH среды (Burton J. P. et al., 2013). На основе штамма S. salivarius, был изготовлены препараты «ДентоБЛИС» и «БактоБЛИС» (Medico domus d.o.o. (Сербия) (Рисунок 7).

После длительной работы с пробиотическим штаммом *S. salivarius* было решено провести дальнейшее его изучение в качестве аутопробиотического препарата, как естественное продолжение для увеличения его эффективности в индивидуальном порядке.

На основании вышесказанного можно сделать вывод о том, что естественные барьеры, формирующие колонизационную резистентность в условиях измененной среды обитания претерпевают изменения, которые можно квалифицировать как факторы, п редполагающие к развитию заболеваний зубочелюстной системы. В этих условиях наиболее перспективным является выбор средств экологически комплементарных человеческому организму, главным из которых представители пробиотической группы, учитывая такие свойства как отсутствие проблем с адгезией, проблем аллергического характера. В этих условиях, наиболее предпочтительным представителем аутопробиотиков, среди протективной группы оцененных нами в литературном обзоре, несомненно, был *S.salivarius*, поскольку он является не только ранним колонизатором именно ротовой полости, но и достаточно прост в транспортировке, применении в условиях измененной среды обитания.

Таблица 7 - Штаммы *S. salivarius*, изучаемые в качестве потенциальных пробиотиков (Андреева и др., 2019)

Штамм	**Предполагаемые области применения / нозологические формы**	**Наличие на рынке**	**Синтезируемые антибактериальные субстанции**	**Безопасность**	**Эффективность**
1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
K12	Здоровье полости рта Галитоз Острый средний отит Стрептококковый тонзиллофарингит Кандидоз полости рта	Да	Саливарцин А Саливарцин В	GRAS-статус Клинические исследования с использованием высоких доз. Отсутствие генов вирулентности стрептококка Чувствительность к антибиотикам Низкая мутагенность	**Клинические данные** Исследования колонизации у человека Небольшие клинические исследования Острый средний отит Рецидивирующий тонзиллит Галитоз Определение

Продолжение таблицы 7

1	2	3	4	5	6
K12	Противовоспалительные эффекты в профилактике и лечении ИВДП			Более 50 млн доз, проданных за более чем 10 лет Геномная последователь-ность	бактериоцинов в полости рта человека Повышенные уровни γ-интерферона в слюне **In Vitro:** Противовоспали-тельные эффекты, снижающие выраженность воспаления, вызванного различными патогенными бактериями

Продолжение таблицы 7

1	2	3	4	5	6
					Исследование активности против *Candida* Хорошая адгезия к эпителиальным клеткам линий FaDu и Нер-2 Ингибирование многих патогенных бактерий, включая *S. pneumoniae*, *M. catarrhalis*, *S. pyogenes* Исследование активности против *S.pyogenes*
M18	Кариес	Да	Саливарцин А	Исследования у	**Клинические**

Продолжение таблицы 7

1	2	3	4	5	6
	Гингивит Заболевания пародонта Противовоспали-тельные эффекты Стрептококковый тонзиллофарингит		Саливарцин М Саливарцин MPS Саливарцин 9	человека Чувствительность к антибиотикам Геномная последо-вательность	**данные:** Снижение количества *S.mutans* у колонизированных лиц **In vitro:** Ингибирование *S.mutans* и *S. pyogenes* Иммунологические исследования: противовоспалительные эффекты при пародонтальном патоген-индуцированном воспалении.

Продолжение таблицы 7

1	2	3	4	5	6
					Исследования продукции декстраназы Исследования продукции уреазы
ST3	Противовоспали-тельные эффекты Стрептококковый тонзиллофарингит	Нет	Неизвестны	Чувствительность к антибиотикам Неспособность к гидролизу мочевины	Хорошая адгезия к эпителиальным клеткам линии FaDu Ингибирование *S. pyogenes* Исследование активности против *S. pyogenes* Иммунологические исследования – противовоспалительные эффекты

Продолжение таблицы 7

1	2	3	4	5	6
24SMB	Острый средний отит Стрептококковый тонзиллофарингит	Нет	Неизвестны	Отсутствие генов вирулентности стрептококка Чувствительность к антибиотикам Отсутствие нежелательной ферментативной активности	In vitro: адгезия к эпителиальным клеткам линии HEp-2 Ингибирование *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*
T30	Острый средний отит	Нет	Неизвестны	Специфические исследования не проводились	**In vitro**: Ингибирование *S. pneumoniae*, *M. catarrhalis*, *H. influenzae*, *S. pyogenes*
Tove-R	Кариес	Нет	Неизвестны	Специфические	**Клинические**

Продолжение таблицы 7

1	2	3	4	5	6
				исследования не проводились	**данные**: Исследования на животной модели продемонстрировали эффективность в профилактике колонизации *S. mutans* и снижении количества *S. mutans*. Способность колонизировать бактериальный зубной налет.
K58	Стрептококковый тонзиллофарингит	Нет	Эноцин	Специфические исследования не проводились	Ингибитор, способный препятствовать утилизации

Продолжение таблицы 7

1	2	3	4	5	6
					пантотената, активный в отношении *S. pyogenes.* Выделен у ребенка, устойчивого к колонизации *S. pyogenes*.

Рисунок 7 - Пробиотический препарат на основе штамма *S. salivarius*

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 ОБЪЕМ ИССЛЕДОВАНИЙ

В исследовании участвовало 62 человека, из них 42 человека находились непосредственно в условиях измененной среды обитания (герметично замкнутом помещении, иммерсионная ванная и условия высокогорья с уровнем подъёма свыше 5 тысяч над уровнем моря). В данных исследованиях использовались следующие методы: бактериологический метод, метод масс-спектрометрии микробных маркеров, метод доплерографии, метод иммуноферментного анализа.

Для сравнения и корреляции двух методов между собой (метод полимеразной цепной реакции и метод масс-спектрометрии микробных маркеров) было случайно выбрано 20 волонтеров. При оценке микробного сообщества у спонтанной популяционной выборки выявлялась условно патогенная микробиота, сравнивались показатели точности нахождения микрофлоры и ее количества. Сравнение методов было необходимо, чтобы понимать, насколько метод эффективен по сравнению с «золотым стандартом» на данный момент в виде метода метод полимеразной цепной реакции. Так же метод масс-спектрометрии микробных маркеров сравнивался с бактериологическим методом, с той же самой целью (эксперимент “Immersion-7”). Это было необходимо, т. к. условия измененной среды обитания и условия космического полета связаны с трудностями отбора проб, их хранения и транспортировки образцов. Это делает использование бактериологического метода и метода ПЦР слабоприменимым на практике.

2.2 МОДЕЛИРОВАНИЕ УСЛОВИЙ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА

Организация и проведение наземных экспериментальных исследований заключается в первую очередь в имитировании различных условий космического полета, это важный этап предполетной подготовки и изучения предваряющих полет факторов риска, такими как гиподинамия, длительная изоляция в

ограниченном замкнутом помещении, психологическая нагрузка в виде снижения уровня контактов до определённого округа людей (членов экипажа), сенсорная депривация, повышенная ответственность и монотония, условия кондиционирования гермозамкнутых помещений, со стороны физиологических показателей экипаж испытывает состояние невесомости и перераспределения жидкостных средств организма, что ведет к изменению кровеносной системы, изменению работы отолитового аппарата, нахождение человека длительно в замкнутом объеме ведет к количественному и качественному изменению нормальной микрофлоры. Изучение этих и других факторов практически невозможно в условиях космического полета, связи с трудностью исследования методами, предполагающими наличие большого количества различной технической оснащенности в виде аппаратуры, и оборудования, дефицита времени членов экипажа во время полета, трудностями использования определенной техники и изучения отдельных аспектов в течение полета. Для этих целей развитые страны стали использовать специальные помещения, максимально имитирующие космические станции или их части, а также отдельно частично используемые объекты для имитации отдельных состояний (Sandal et al., 2004; Bell et al., 2019; Basner et al., 2013; Фролов и др., 2009; Файхтингер, 2018; Смолеевский и др., 2018; Гущин и др., 2010) (Рисунок 8).

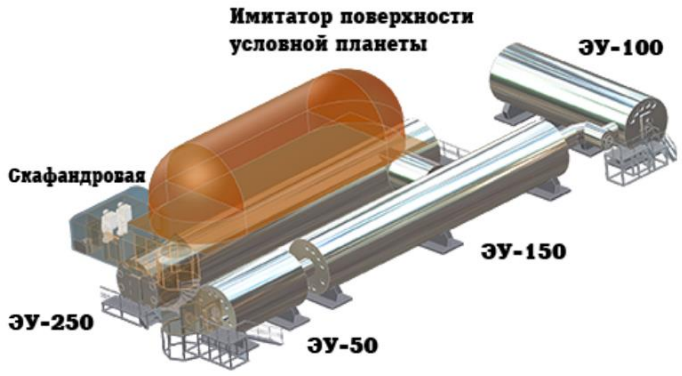


Рисунок 8 - Наземный экспериментальный комплекс (НЭК)
ГНЦ РФ – ИМБП РАН

Эксперименты «Эскиз» и «Sirius 2021-2022» проводились в специальном медико-техническом экспериментальном комплексе (НЭК) ГНЦ РФ – ИМБП РАН, предназначенном для моделирования условий космического полета. Данный комплекс является полностью изолированным и рассчитан на длительное пребывание человека в нем. Комплекс полностью оснащен автономной системой жизнеобеспечения. В гермообъекте поддерживается постоянная температура (23 ± 2) °С, поддерживается постоянная влажность и система воздухообеспечения (O_2 (21 ± 2) %, CO_2 от 0,2 % до 0,6 %). Питание стандартное, сбалансированное по белкам, жирам, углеводам с ценностью от 2790 ккал/сут до 2800 ккал/сут. Водопотребление осуществляется без ограничений, гигиенические процедуры проводились в виде обтираний гигиеническими полотенцами и гигиеническими салфетками. Участники были предварительно обучены самостоятельно брать пробы друг у друга. Основной отбор проб и направления экспериментальных исследований представлен в таблице 8.

Таблица 8 - Модельные эксперименты

Эксперимент	**Периодичность исследования**	**Длительность исследований**	**Количество испытуемых**	**Методы исследования**	**Биотопы**
1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
Эксперимент «Эскиз»	Фон * Выход * + 6 сутки * + 18 сутки *	14 суток	6	Метод масс спектрометрии микробных маркеров, метод доплерографии (УЗДП), бактериологи-ческий метод, метод ИФА	Десневая жидкость (пародонт)
Эксперимент «Сравнение ПЦР метода и метода масс спектрометрии микробных маркеров»	Однократно	1 день	20	Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), метод масс спектрометрии микробных маркеров	Десневая жидкость (пародонт)

Продолжение таблицы 8

1	2	3	4	5	6
Эксперимент «Immersion-7»	Фон * Выход * + 7 сутки	7 суток	10	Бактериологический метод; метод масс спектрометрии микробных маркеров	Десневая жидкость (пародонт)
Эксперимент «Sirius 2021–22»	Фон * Затем каждые 30сутки	240 дней	6	Метод масс спектрометрии микробных маркеров, бактериологический метод, ИФА метод	Зев, пародонт
«Гипобария»	Фон * 14 сутки * + 7 сутки *	14 суток	21	Метод масс спектрометрии микробных маркеров	пародонт

Примечание – Фон * - за 7 суток до эксперимента; выход * - сразу после выхода из эксперимента; + 6 сутки * - 6 сутки после выхода из эксперимента; + 18 сутки * - 18 сутки после выхода из эксперимента; + 7 * - неделя после окончания эксперимента; 14 сутки *- спустя две недели после выхода из эксперимента.

2.3 МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.3.1 МЕТОД МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ МИКРОБНЫХ МАРКЕРОВ

В работе использовался некультуральный подход к идентификации микроорганизмов методом масс-спектрометрии микробных маркеров (МСММ). В разработке методического подхода принимали участие академик РАМН Баранов В.М., д-р биол. наук Осипов Г.А., д-р мед. наук Мухамедиева Л.Н., д-р мед. наук проф. Белобородова Н.В., Пахомова А.А. и канд. биол. наук Родионова Т.А.

Отбор биоматериала проводился различными способами в зависимости от условий эксперимента. В некоторых случаях для исследования методом масс-спектрометрии проводилось взятие нестимулированной слюны в течение двух минут с помощью стандартной стерильной пробирки для забора слюны.

В других случаях пробы брались в области десневой борозды нижних зубов с язычной стороны. При отборе проб методом масс спектрометрии микробных маркеров использовались одноразовые стерильные зонды с тампоном в пробирке без среды. В связи с отсутствием необходимости в сохранении жизнеспособных микроорганизмов в пробе и чисто химической процедуре пробоподготовки принципиальное значение для средств отбора имеет их химическая чистота. Из применяемых стандартных средств выбираются те, что не содержат транспортных стабилизирующих сред. Основные манипуляции с образцами в рамках пробоподготовки – это дозирование, перемешивание и нагрев. Пример комплекта оборудования представлен на рисунке 9. Для нагрева использовали твердотельный термостат (поддержание температуры 80 °С с точностью ± 0,1 °С), для перемешивания лабораторный одноместный встряхиватель типа «Вортекс» на одну пробу (Рисунок 9).

Рисунок 9 - Пример комплекта для пробоподготовки

Все пробы помещали в стеклянные виалы, стандартные для метода масс спектрометрии микробных маркеров. Слюну отбирали в объеме 60 мкл, помещали в виал, добавляли 60 мкл метанола, подсушивали 20 минут при температуре 80 °С. Головку тампона с мазком отрезали от штока и помещали в виал целиком, также поступали со щеточкой с материалом зубодесневой борозды. Образцы крови, высушенные по методу сухой капли (Dry Blood Spot) на бумаге, вырезали по контуру и тоже помещали в стандартный виал для ГХМС. Далее с каждой пробой проводили один и тот же набор операций (Рисунок 10). Добавляли 400 мкл раствора соляной кислоты в метаноле концентрацией 1,2 моль/литр с внутренним стандартом изотопно-меченой тридекановой кислоты (300 нг), закрывали крышкой и помещали в термостат (80 °С, 45 мин) (Рисунок 10).

Вынимали из термостата, охлаждали до комнатной температуры, добавляли 400 мкл гексана, закрывали крышкой и встряхивали на аппарате «Вортекс» (30 сек), оставляли на 10 минут для разделения слоев, затем верхнюю гексановую фазу с помощью пипетки переносили в чистый виал и высушивали в термостате (80 °С, 15 мин).

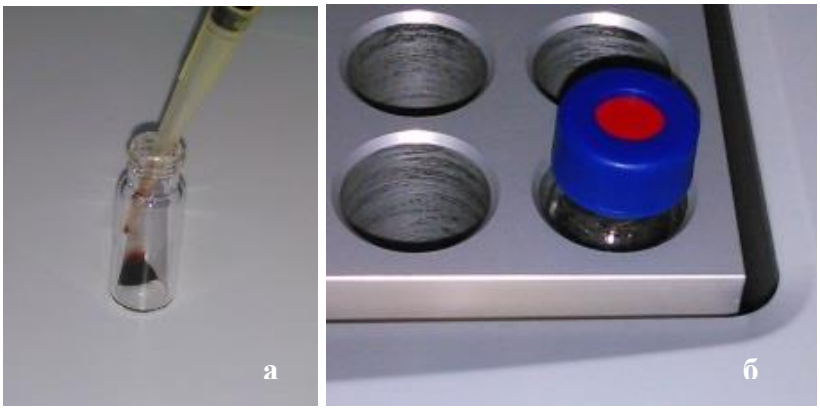


Рисунок 10 - Предварительное высушивание (на примере крови)

а) добавление раствора соляной кислоты в метаноле;

б) установка препарата в термостат

К сухому остатку в охлажденном до комнатной температуры виале добавляли 20 мкл NO-бис(триметил-силил)-трифторацетамида, закрывали крышкой, помещали в термостат (80 °С, 5 мин), охлаждали до комнатной температуры, затем к реакционной смеси добавляли 40 мкл гексана, полученный раствор переносили в коническую вставку и герметично закрывали в виале (Рисунок 11).

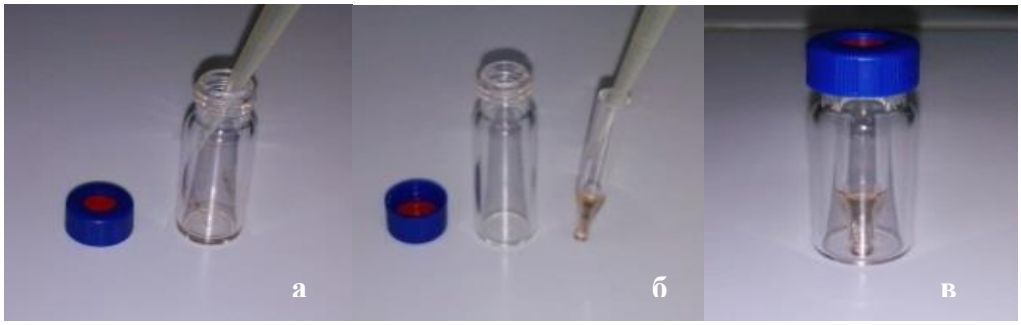


Рисунок 11 - Подготовка образца к анализу методом масс спектрометрии микробных маркеров

а) добавляли 20 мкл NO-бис(триметил-силил)-трифторацетамида;

б) добавляли 40 мкл гексана;

в) перенос раствора в коническую вставку

В таком виде образец готов к анализу. Проба пригодна для анализа в течение недели, если она герметично закрыта, и не происходит ее испарения.

Для анализа использовали микробиологический анализатор МАЭСТРО (ООО «Интерлаб», Россия), который представляет хромато-масс-спектрометрический комплекс, оснащенный системой автоматического ввода проб и полным пакетом необходимого программного обеспечения (Рисунок 12).

Рисунок 12 - Микробиологический анализатор МАЭСТРО

После завершения анализа зарегистрированные масс-хроматограммы просматривают с помощью программы анализа данных. Параметры поиска и количественного расчета 70 маркерных соединений введены предварительно, ручная проверка используется для выявления потенциально возможных ложноположительных/ложноотрицательных результатов.

В завершении по результатам анализа с помощью программы формирования отчета из стандартного пакета микробиологического анализатора МАЭСТРО осуществляется реконструкция микробного сообщества и выводится на печать отчет.

2.3.2 БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД

Пробы микрофлоры для БАК анализа отбирались в области нижних моляров. Все пробы брались утром натощак до чистки зубов. С помощью стерильного ватного тампона протиралась область зубодесневого прикрепления, без контаминации с ротовой жидкостью и помещалось в пробирку со средой Де Ингли (Рисунок 13).

Рисунок 13 - Транспортная система Де Ингли,
применяемая при заборе исследуемого материала

Затем образцы проб при сохранении температурного режима, необходимого для жизнидеятельности бактерий, в течение 12 часов транспортировались в лабораторию молекулярно-биологических исследований НИМСИ ФГБОУ ВО МГМСУ им. А. И. Евдокимова для дальнейшего исследования микробного фона с использованием бактериологического и молекулярно-биологического методов исследования.

Для проведения БАК анализа и выявления видовой идентификации выполнялись посевы на следующих питательных средах (Рисунок 14):

a) Стафилококковый агар №110 (M521). Состав питательной среды (грамм/литр): триптон – 10,5; дрожжевой экстракт – 2,0; желатин – 31,11; лактоза – 2,05; D-маннит – 10,1; натрия хлорид – 75,0; калия дигидроортофосфат – 5,0; агар – 15,0. Посевы помещали в термостат при температуре 36,7 °С на 48 часов.

b) Основа колумбийского кровяного агара (M144), с 5 % (об/об) дефибринированной крови и селективной добавкой для выделения неспоровых анаэробов. Состав питательной среды (грамм/литр): пептон – 22,0; крахмал – 1,1; натрия хлорид – 4,0; агар – 15,0. Посев предварительно помещали в анаэростат HiAnaerobic System Mark VI 67 («Himedia», Индия), а затем в термостат при температуре 36,9 °С на 12 суток.

c) Mitis Salivarius Agar (M259) – селективная питательная среда для стрептококков с добавлением теллурита калия в виде добавки. Состав питательной среды (г/л): гидролизат казеина – 13,0; перевар животной ткани – 5,3; глюкоза – 1,1; сахароза – 53,0; калия гидрофосфат – 4,0; трипановый синий – 0,075; кристаллический фиолетовый – 0,0008; агар-агар – 15,0. Посев помещали в термостат при температуре 36,7 °С на 48 часа.

d) Хромогенный агар для грибов Candida (M1297). Состав питательной среды (грамм/литр): пептический перевар животной ткани – 15,0; калия гидрофосфат – 1,0; хромогенная смесь – 11,2; хлорамфеникол – 0,5; агар – 15,0. Посев помещали в термостат при температуре 30,2 °С на 48 часов.

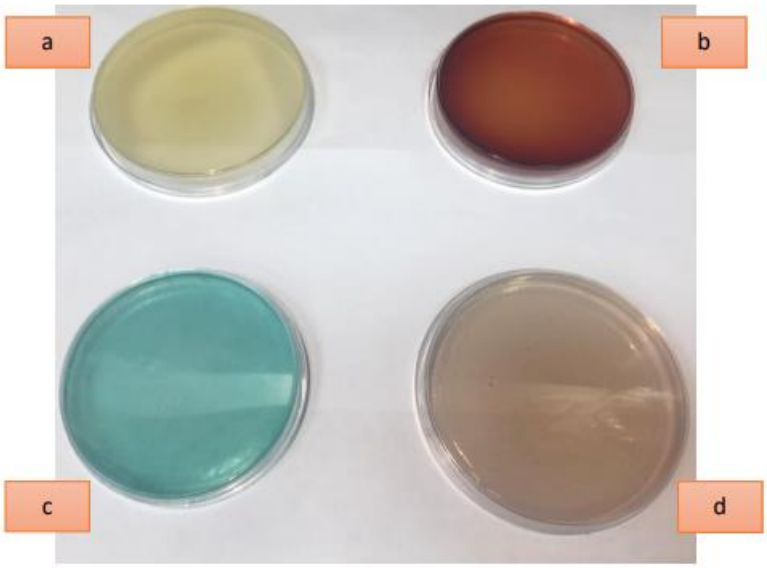


Рисунок 14 - Питательные среды для посева

Посев проводили с применением техники секторального количественного культивирования по методу Голда, где материал вначале втирается в сектор А (Рисунок 15), затем чашка делится на примерно три равных сектора и из сектора А, стерильной бактериальной петлей проводят 3-4 штриха в первый сектор, затем петлю прокаливают (фламбируют) и уже из первого сектора проводят 3-4 штриха во второй сектор. По такому же принципу проделывается манипуляция с третьим сектором. Таким образом происходит выделение чистой культуры.

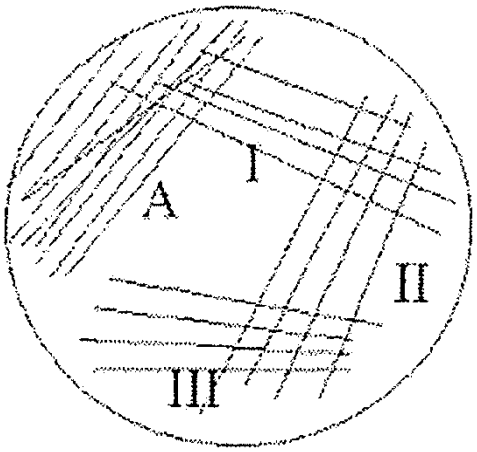


Рисунок 15 - Пример техники секторального культивирования на чашке Петри

Создание условий анаэробиоза достигалось при помощи вакуумного насоса, прямой заменой кислорода на поверочную газовую смесь: H_2 – 10 %; CO_2 – 10 %; NO_2 – (ГСО ПГС 10700–2018 (АО «Линде Газ Рус», Россия)). Для контролирования сохраняемых условий анаэробиоза использовался индикатор разрежения для анаэростатов Anaero Indicator Tablet R.T. («Himedia», Индия). Культивирование проводили в термостатах при температурном диапазоне от 36,7 до 37,4 °С. Проводился учет макроскопических характеристик, а также морфологическая оценка с использованием техники световой микроскопии. Проводились тесты на протеазную активность, лецититиназную активность, тест на аэротолерантность, тест на каталазу и оксидазу. Поверочная идентификация чистоты культуры проводилась с помощью биохимических идентификационных тестов Biochem-Identification T-Kits («Himedia», Индия) и систем API («BioMérieux», Франция).

Результаты подсчитывались с помощью следующей формулы:

$$\mathbf{N = 2 \times n \times k,}$$

где n – число колоний микроорганизмов в последнем секторе, на котором отмечен рост; k – множитель, равный 10^2 ; 10^4 ; 10^6 КОЕ соответственно для секторов 1, 2 и 3.

При необходимости применялась техника ПЦР-идентификации (Давыдова и др., 2013).

2.3.3 МЕТОД ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

Концентрация иммуноглобулинов (sIgA, IgM) и цитокинов (IL-6, IL-8, IL-1β, I-L4, INFγ, TNFα) в ротовой жидкости определялась иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью наборов реагентов для проведения иммуноферментного анализа производства ЗАО «Вектор – Бест» (Рисунок 16).

Рисунок 16 - Набор для проведения иммуноферментного анализа

Этот метод основан на реакции антиген-антитело, где в качестве метки антител ферментов используется пероксидаза хрена, щелочная фосфатаза, способные разлагать субстрат (перекись водорода), что приводит к окрашиванию продукта. Интенсивность окраски хромогена, соответствует количеству образовавшихся комплектов антиген-антитело-фермент. Метод проводится в две стадии, во время первой инкубации происходит связывание содержащегося в анализируемом образце иммуноглобулина или цитокина с чувствительными антителами только к данному иммуноглобулину (sIgA или Ig M и т. д.), находящегося на внутренней поверхности лунок стрипированного планшета. (Галкина и др., 2000; Железнякова и др., 2004). Для проведения экспериментов с метод икой ИФА проводилось взятие проб ротовой жидкости. Пробы брались по

следующей схеме: на верхней челюсти, снаружи между 1 и 2 резцами справа, между 1 и 2 резцами слева. На нижней челюсти по такой же схеме. Пробы отбирались стерильными тампонами, которые прикладывались к месту отбора на 2 минуты. Взятие проб безболезненно и не травматично. Эта методика была применена при определении иммуноглобулинов в ротовой жидкости космонавтов непосредственно в условиях длительного космического полета. Были получены данные об изменении концентрации иммуноглобулинов до, вовремя и по окончании полета (Ильин и др., 2019).

Все пробы ротовой жидкости брались с помощью стерильных ватных тампонов. Затем в лаборатории вата со слюной отделялась от основной части штифта и заливалась физиологическим раствором NaCl 0,9 % по 0,5 мл в каждую пробирку по типу eppendorf (Рисунки 17, 18).

Далее пробы ставились в специальный шейкер и центрифугировались (центрифуга universal 32R) до разделения сред. Подготовка реагентов шла в соответствии с инструкцией, включающая калибровочные и контрольные образцы. Во все лунки вводилось по 100 мкл рабочего раствора для разведения сывороток. Раствор вносился в дублях, начиная с верхних лунок первых двух стрипов по 20 мкл калибровочных образцов 0; 0,25; 0,49; 1,05; 2,1; и 4,2 мг/мл. В следующую пару лунок вносилось по 20 мкл контрольного образца. В остальные лунки вносится по 20 мкл разведенных анализируемых образцов, каждый раз меняя наконечник. Затем стрипы инкубировались при температуре 37 ℃ в течение 20 мин, в конце инкубации проводилась промывка планшета 5 раз промывочным раствором, чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. Затем в лунки планшета вводилось 100 мкл коньюгата, затем повторялась инкубация и промывка. После этого в лунки вносилось 100 мкл раствора тетраметилбензидина. После внесения снова проводилась инкубация и внесение стоп-реагента во все лунки по 100 мкл. Затем проводилось измерение через 2–3 мин после остановки реакции и расчет результатов. Результаты анализа вычислялись по среднему арифметическому значению оптической плотности (ОП). Строился калибровочный график, где по оси абсцисс строилась ось

координат оптической плотности, по оси у ось концентрации IgA мг/мл (Рисунок 19). Результаты сравнивались с уже имеющимися данными уровня содержания иммуноглобулинов в различных биологических жидкостях (Таблица 9).

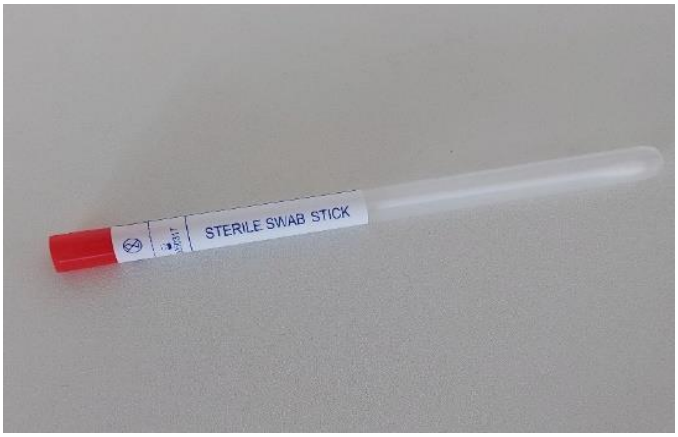


Рисунок 17 - Стерильный тампон для взятия проб

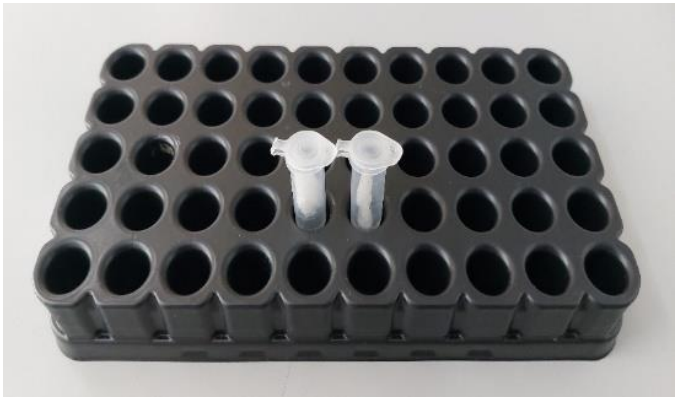


Рисунок 18 - Подготовка пробирок эппендорфов.
Вата со слюной в физ. растворе NaCl 0,9 %

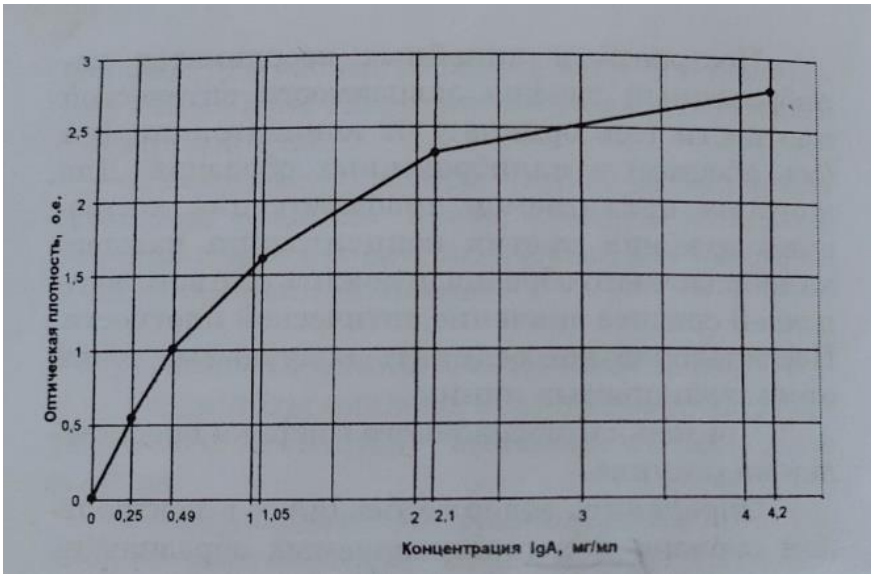


Рисунок 19 - Калибровочный график на примере IgA

Таблица 9 - Абсолютные значения уровня содержания иммуноглобулинов в различных биологических жидкостях у здоровых лиц (Тополян, 1999)

Биологические жидкости	**Содержание иммуноглобулинов классов:**				
	IgA, г/л	**IgM, г/л**	**IgG, г/л**	**sIgA, г/л**	**IgE, кЕ/л**
1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
ЦСЖ	0,006 ± 0,0013	0,0049 ± 0,001	0,037 ± 0,004	н/опр	0 ± 0
Слюна	0,069 ± 0,028	0,055 ± 0,011	0,042 ± 0,017	0,768 ± 0,275	н/опр
Назальный смыв	0,014 ± 0,006	0,025 ± 0,017	0,042 ± 0,017	0,071 ± 0,022	0 ± 0
Ларингеальный секрет	0,071 ± 0,022	0,063 ± 0,044	0,085 ± 0,44	1,31 ± 1,87	н/опр
Слезная жидкость	0,165 ± 0,02	0,038 ± 0,008	0,185 ± 0,06	н/опр	н/опр

Продолжение таблицы 9

1	2	3	4	5	6
Эякулят	1,01 ± 0,67	0,9 ± 0,46	0,51 ± 0,2	2,21 ± 1,01	0 ± 0
Сыворотка крови	2,15 ± 0,85	1,63 ± 0,46	12,3 ± 2,97	0,79 ± 0,22	50,0 ± 12,5

2.3.4 МЕТОД ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ

При отборе проб методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовали стерильный стоматологический бумажный пин. С помощью стерильного пина отбирались пробы в области десневой борозды нижних зубов с язычной стороны. Затем пин помещался в 0,5 мл стерильного физиологического раствора, содержащемся в пробирке по типу Eppendorff (Рисунок 20). Исследуемые образцы в охлажденном состоянии доставлялись в лабораторию в течение нескольких часов.

ДНК выделяли с помощью набора реагентов «Пробоподготовка Универсальная» (ООО НПФ «Генлаб», Россия) в соответствии с инструкциями фирмы-производителя. Амплификацию генетических маркеров пародонтопатогенных бактерий проводили в термоциклере «Терцик МС-2» («ДНКтехнология», Россия) с помощью мультпраймерного ПЦР набора «Мультидент-5» (ООО НПФ «Генлаб», Россия). Детекция амплифицированной смеси проводили методом горизонтального гель-электрофореза в 1,6 % агарозном геле после окрашивания бромистым этидием. В случае необходимости выделенную ДНК хранили при температуре минус 20 °С. При сравнивании различных методик, применяемых в настоящий момент (Таблица 10), необходимо отметить быстроту проводимых исследований у методов ПЦР и метод масс-

спектрометрии микробных маркеров по сравнению с бактериальным анализом, но в отличие от метода ПЦР, метод масс-спектрометрии микробных маркеров не требует специальной транспортной среды, т.к. верификация образца происходит за счет работы с жирными кислотами, присутствующими в каждом микроорганизме и являющимися неотъемлемой его частью. Хранение может производиться неограниченное количество времени и не требует специальных температурных условий, что особенно важно при проведении экспериментов в труднодоступных местах (космический полет, высокогорье, условия крайнего Севера и т. д.), где нет возможности быстрой передачи материала в лабораторию.

Рисунок 20 - Забор материала из десневой борозды
для проведения ПЦР-диагностики

Таблица 10 - Сравнение характеристик применяемых методик верификации культур

Метод /Характеристики	**Время**	**Достоинства**	**Недостатки**
1	**2**	**3**	**4**
Методы с применением масс-спектрометрии			
Метод масс-спектрометрии микробных маркеров			
Чувствительность: *высокая* Специфичность: *высокая* Субъективность оценки: *отсутствует*	2 ч	Высокая точность и универсальность определения с количественной оценкой. Полная картина смешанной инфекции. Результат не зависит от сохранности жизнеспособного микроорганизма в материале. Достоверен на фоне приема антибиотиков. Универсальность реагентов для всего спектра микроорганизмов и всех типов биоматериала.	Необходимость дополнительного обучения персонала.

Продолжение таблицы 10

1	2	3	4
		Низкая себестоимость	
MALDI-TOF			
Чувствительность: *высокая* Специфичность: б*лизка к абсолютной* Субъективность оценки: *отсутствует*	20 с *****	Высокая точность и универсальность определения. Быстрота (*без учета времени получения минимальной культуры*). Низкая себестоимость (*без учета затрат на получение минимальной культуры*)	Необходимость дополнительного обучения персонала. Необходимость первичного посева (*ограничения, как для бак-исследований*). Нет количественной оценки
Бактериологические исследования			
Культивирование/идентификация			
Чувствительность: *высокая* Специфичность: *близка к*	2 – 7 дней	Высокая точность и достоверность	Выявляет только живые микроорганизмы, способные к

Продолжение таблицы 10

1	2	3	4
абсолютной Субъективность оценки: *присутствует*		положительного результата Возможность определения чувствительности к антимикробным препаратам	росту на искусственных средах. Высокое влияние на достоверность качества проведения преаналитического этапа. Не достоверен на фоне прием антибиотиков. Необходим широкий спектр сред и диагностикумов для разных видов микробов
Молекулярно-биологические исследования			
ПЦР			
Чувствительность: *близка к абсолютной* Специфичность: *близка к абсолютной* Субъективность оценки:	6 – 8 часов	Высокая точность. Высокая достоверность отрицательного результата. Объективность оценки	Наличие широкого спектра реагентов, чувствительных к условиям хранения и транспортировки, специфичных под типы материала,

Продолжение таблицы 10

1	2	3	4
отсутствует		анализа. Доступность для рутинного применения	определяемые инфекции. Высокая себестоимость
Иммуно-серологические методики			
ИФА (IgG,IgM, IgA)			
Чувствительность: *удовлетворительная* Специфичность: *высокая* Субъективность оценки: *отсутствует*	3 ч	Быстрота. Выявляет наличие инфекции любой локализации. Дифференцирует острые и хронические формы инфекции (IgA, IgG в динамике)	Ложноотрицательный результат при иммунодефиците. Иммунологический след (IgG). Межвидовой перекрест (IgM)
ПИФ (метод прямой иммунофлюресценции)			
Чувствительность: у*довлетворительная* Специфичность: у*довлетворительная*	2 ч	Не требует жестких условий по организации лаборатории и дорогого оборудования. Удовлетворительная	Низкая воспроизводимость при межлабораторном контроле. Малоэффективен при хронической инфекции

Продолжение таблицы 10

1	2	3	4
Субъективность оценки: высокая		точность при невысокой цене	
Ферментативный метод			
Чувствительность: *низкая* Специфичность: *удовлетворительная* Субъективность оценки: *присутствует*	10 мин	Быстрота	Высокая себестоимость, низкая чувствительность, эффективны только для острой формы
Микроскопия			
Чувствительность: *низкая* Специфичность:*высокая* Субъективность оценки: *высокая*	1 ч	Быстрота. Самая низкая себестоимость	Субъективизм в оценки. Низкая чувствительность

2.3.5 МЕТОД УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ДОППЛЕРОВСКОЙ ФЛОУМЕТРИИ

Оценка кровотока в тканях пародонта проводилась методом ультразвуковой допплеровской флоуметрии (УЗДФ). Этот метод был открыт в 1842 г. К.А. Допплером (C.A. Doppler), ученый выявил зависимость эффекта изменения частоты отраженного движущегося объекта сигнала на величину, пропорциональную скорости движения отражателя. УЗДФ дает исследователю не только визуальный контроль в виде графика кривой, но и звуковой контроль, что делает метод преимущественным по сравнению с лазерной допплерографией. Величина допплеровского сдвига частот пропорциональна скорости кровотока и определяется по формуле (1): $V = Fd \times C/2\ Fg \cos \alpha$ (1), где: V – скорость потока форменных элементов в сосуде; Fd – допплеровский сдвиг частоты; Fg – частота генератора; C – скорость распространения ультразвука в среде, равная 1540 м/с; α – угол между осью потока и осью отраженного УЗ луча. Для экспериментов в искусственной среде обитания применяли ультразвуковой высокочастотный допплерограф «Минимакс Допплер-К» (Санкт-Петербург) с ультразвуковым датчиком непрерывного излучения, рабочая частота которого составляла 20 МГц (Рисунок 21).

Рисунок 21 - Прибор «Минимакс Допплер-К»

С помощью специального датчика в виде ручки прибор ставится к исследуемой части пародонта, в различных точках локации кровотока ротовой полости верхней и нижней челюсти (Таблица 11). Это связано с тем, что ткани пародонта обильно кровоснабжаются артериями, артериолами, прекапиллярами, капиллярами, посткапиллярами, венулами, мелкими венами и артериоло-венулярными анастомозами. Ширина просвета сосудов микроциркуляторного русла составляет от 2 до 200 мкм (Костин, 2005; Богоявленская, 2010; Чуян, 2017).

Сигнал от кровотока поступает на приемный элемент датчика, затем сигнал фиксируется на компьютере в виде допплерограмм с цветным спектром, получаемым через быстрое преобразование Фурье (Рисунки 22 и 23).

Для удобства поиска сосудов аппарат снабжен наушниками, чтобы получить четкую спектральную картину по громкости звучания, так как в отличие от крупных сосудов, основополагающим фактором является скорость кровотока, которая зависит от реологических свойств крови, в мелких капиллярах пародонта этот фактор уже не существенен. Дело в том, что еще в 1931 г. R. Fahraens и T. Lindquist доказали, что с уменьшением диаметра сосуда, через который протекает кровь, вязкость последней снижается и реологические свойства крови в мелких сосудах зависят по большей части от агрегации форменных элементов крови и возможности функционального деформирования эритроцитов (Мчедлишвили, 1996).

Таблица 11 - Точки локации в микрососудах тканей полости рта (Гейкин, 1957; Приемский, 1968)

Номер	**Название зоны локации**	**Частота излучения датчика**	**Расположение датчика для локации микрососудов**
1	Переходная складка слизистой	20 МГц, 25 МГц	Граница (желобок) между прикрепленной десной и

	оболочки полости рта		свободной слизитой оболочкой щек или губ
2	Уздечка верзней и нижней губ	20 МГц, 25 МГц	При несильно оттянутой губе, на основании уздечки
3	Прикрепленная десна	20 МГц, 25 МГц	В любом месте зоны прямым или угловым датчиком в зависимости от доступности места исследования
4	Десневой край (сосочек и десневой желобок)	20 МГц, 25 МГц	Аналогично прикрепленной десне

Рисунок 22 - Методика проведения УЗДФ

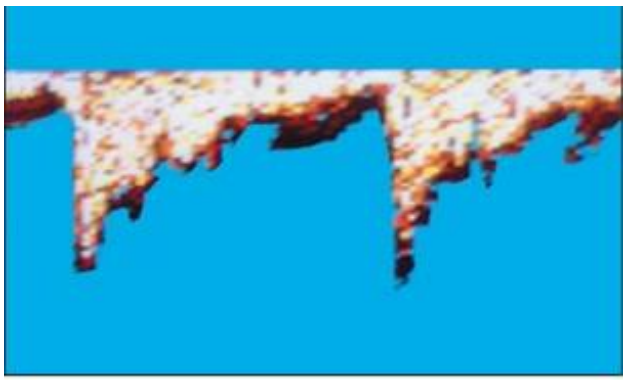


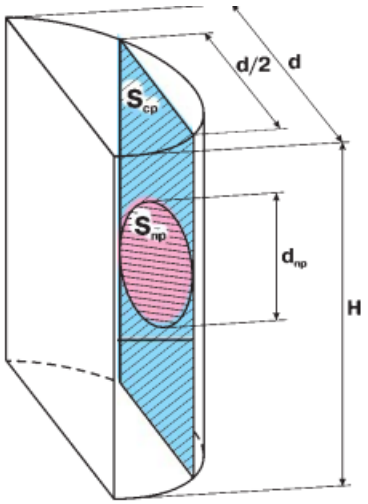
Рисунок 23 – Пример доплеровского сигнала артерии

В случае с мелкими сосудами и капиллярами, за основу прозвучивания перфузии берется однородность течения в одной конкретной точке. После отображения скорости кровотока производится качественная и количественная оценка (Рисунок 24).

Датчик прозвучивает срез сосуда и, исходя из этого, дается оценка реологических свойств крови.

Скорость рассчитывается по следующей формуле: в случае прозвучивания среза ткани, в котором отсутствует крупный сосуд, за основу принимается площадь сечения приведенного сосуда $S_{пр}$, которая приведена к площади среза полуцилиндра $S_{ср}$ (Рис. 24). $S_{пр} = S_{ср} = K_{пл} \bullet d/2 \bullet H$ (1b)

где: H – глубина прозвучивания; d – диаметр рабочей поверхности датчика; $K_{пл}$ – коэффициент, зависящий от характеристик тканей по глубине прозвучивания, т. е. плотности заполнения данных тканей микрососудами. Коэффициент плотности заполнения среза микрососудами $K_{пл}$ для 20 МГц: $K_{пл}$ = 0,21 (0,02 для слизистых). Диаметр капиллярного сосуда $d_{пр}$ = 1 мм (0,35 мм для слизистых). В итоге врач видит гистограмму, по которой можно судить о скорости кровотока в исследуемой области (Рисунок 25). Далее производится анализ спектрограмм (Рисунок 26).



d – диаметр рабочей поверхности датчика;
H – глубина прозвучивания;
$S_{СР}$ – площадь по хорде d/2 полуцилиндра;
$S_{ПР}$ – площадь приведенного сосуда;
$d_{ПР}$ – диаметр приведенного сосуда.

Рисунок 24 - Диаметр приведенного сосуда

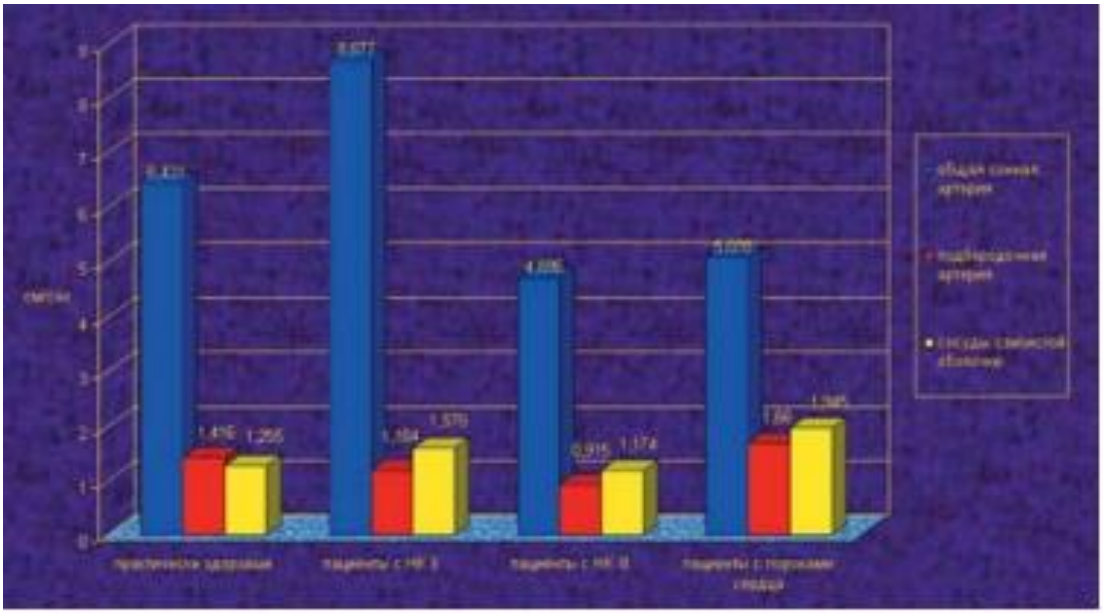


Рисунок 25 - Гистограмма реологических свойств крови (Никитин, 1995)

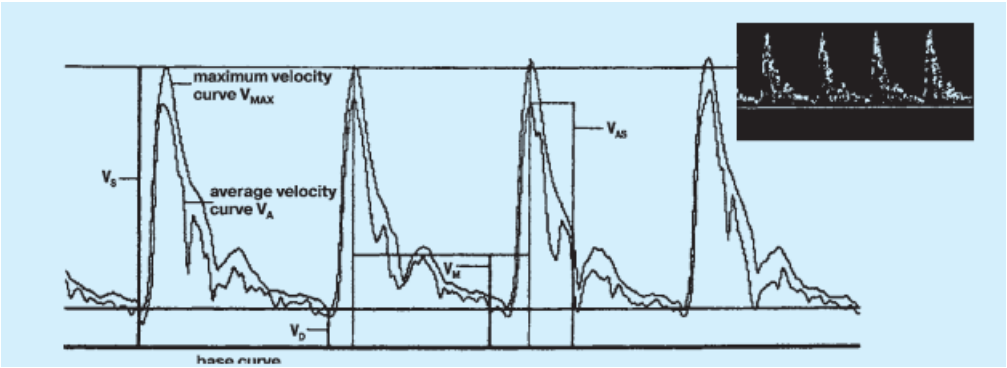


Рисунок 26 - Основные элементы при расчете спектрограмм (Никитин, 1995)

Обозначения линейных скоростей кровотока (см/сек):

- V_s-максимальная систолическая скорость по кривой максимальной скорости (огибающей);

- (V_{max}) V_{as}- максимальная систолическая скорость по кривой средней скорости;

- V_m- средняя скорость по кривой максимальной скорости;

- (VavG) V_{am} – средняя скорость по кривой средней скорости;

- (V_D) - конечная диастолическая скорость по кривой максимальной скорости;

- (VkD) – конечная диастолическая скорость по кривой средней скорости;

- (V_{min}) – максимальная диастолическая скорость по кривой средней скорости;

Объемные скорости кровотока (мл/сек):

- (Q) – средняя скорость по кривой средней скорости;

- (Q_{max}) Q_{as} – максимальная систолическая скорость по кривой средней скорости.

PI – **индекс пульсации (Гослинга)**, отражает упруго-эластические свойства артерий и снижается с возрастом;

RI – **индекс сопротивления** кровотоку дистальнее места измерения (Пурсело).

Количественный анализ доплеровских кривых основа на оценке максимальной величины скорости кровотока в систолу (V_s), величины диастолической скорости кровотока (V_d), значений кривой средней скорости кровотока в систоле, средней за сердечный сердечный цикл скорости кровотока и расчетов следующих индексов:

- индекс периферического сопротивления (индекс Пурсело), отражает состояние сопротивления кровотоку дистальнее места измерения

$$R1=(Vs-Vd)/Vs$$

- систоло-диастолический индекс (индекс Стюарта), отражает упруго-эластические свойства сосудов и меняется с возрастом

$$ISD = Vs/Vd$$

- индекс пульсации (индекс Гослинга). Отражает упруго эластические свойства артерий и снижается с возрастом

$$PI=(Vs-Vd)/Vm$$

-индекс степени стеноза артерий (индекс Арбелли), отражает степень сужения артерий при стенозах> 50% (относителен)

$$STI=0,9\ (1-Vas/Vs)*100\%$$

2.3.6 МЕТОДИКА ИЗГОТОВЛЕНИЯ АУТОПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА *S. SALIVARIUS*

Для этого за месяц до начала эксперимента участники программы сдавали нестимулированную слюну для получения аутопробиотического препарата *S. salivarius*. Слюну собирали натощак в стерильный контейнер и в течение 5 часов доставляли в условиях термоизоляции в лабораторию Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера для выращивания культуры. Посев слюны осуществляли по методу Голда в двух повторностях на колумбийский агар с бараньей кровью, желточно-солевой агар, агар Сабуро, агар Шедлера. Посевы помещали в термостат на 37 ºС (в аэробных и анаэробных условиях). Через 24 часа посевы просматривали под микроскопом при увеличении в 20 раз и отсевали единичные колонии для получения «чистой» культуры. На следующий день делали мазки из выросших культур, окрашивали по Граму и микроскопировали при увеличении в 1000 раз. Полученные «чистые» культуры идентифицировали с помощью масс-спектрометрического анализа MALDI-TOF. Спектры собирались в автоматическом режиме на масс-спектрометре MicroflexTM LT MALDI-TOF (Bruker Daltonics, Германия). Подтвержденные штаммы *S. salivarius* для каждого члена экипажа наращивали в достаточном количестве на чашках Петри с колумбийским агаром, производя посев «газонным» методом. Полученную биомассу смывали раствором для лиофилизации, достигая концентрации бактерий $1 \cdot 10^9$ КОЕ/мл, аликвотировали по 1 мл во флаконы, производили лиофильную сушку, флаконы завальцовывали. Для каждого реципиента пробиотического препарата *S. salivarius* было подготовлено достаточное количество одноразовых флаконов, содержащих по 1 мл лиофилизата собственных бактерий *S. salivarius,* необходимых на один приём. Лиофилизат перед применением необходимо разводить дистиллированной водой.

2.4 СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Статистический анализ был проведен при помощи пакета прикладных программ «Statistica 12.0», с использованием непараметрического критерия Вилкоксона для связных групп с принятым уровнем значимости p<0,05.Также в некоторых случаях (при сравнивании дифференцированных методов), использовался для расчетов тест Мак-Немара, так как условие независимости наблюдений не выполняется, но, напротив, учет признака выполняется на одних и тех же субъектах. Критерий рассчитывался по следующей формуле:

$$Q = \frac{(b-c)^2}{b+c} \qquad (1)$$

где Q – критерий Мак-Немара, b – число исследуемых с отрицательным результатом при первом наблюдении и положительным – при втором, c – число исследуемых с положительным результатом при первом наблюдении и отрицательным – при втором. Значения критерия Мак-Немара Q интерпретировались путем сравнения с критическими значениями с принятым уровнем значимости p = 0,05. Нулевая гипотеза H_0 проверяла существование статистически значимых различий между двумя выборками. Обработка статистического материала данных участников до и после приема препаратов *S. salivarius* была сделана с помощью статистического пакета Statistica 12.0, применения непараметрического критерия Уилкоксона, уровень значимости $p < 0.05$ (Ильин и др., 2022).

3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЯ

3.1 14-СУТОЧНЫЙ ЭКСПЕРИМЕНТ ПО НАХОЖДЕНИЮ УЧАСТНИКОВ В ГЕРМЕТИЧНО ЗАМКНУТОМ ПОМЕЩЕНИИ, ИМИТИРУЮЩЕМ КАПСУЛУ КОСМИЧЕСКОГО КОРАБЛЯ («ЭСКИЗ»)

3.1.1 РЕЗУЛЬТАТЫ МЕТОДА МАСС СПЕКТРОМЕТРИИ МИКРОБНЫХ МАРКЕРОВ

В ходе эксперимента 6 испытуемых–добровольцев (4 мужчин и 2 женщины) в возрасте от 24 до 45 лет, находились в замкнутом герметичном пространстве, имитирующем капсулу космического корабля. Производилась комплексная оценка влияния условий 14 - суточной изоляции человека в гермообъекте с искусственной средой обитания и после изоляционного периода на состояние естественных барьеров колонизации тканей пародонта.

Методом масс спектрометрии микробных маркеров были идентифицированы следующие группы микроорганизмов: S. mutans, Peptostreptococcus anaerobius, Fusobacterium spp., Lactobacillus spp., Prevotella spp., Porphyromonas spp., Corynebacterium spp., Actinomyces spp. Все микроорганизмы можно разделить на те, которые достигли регистрируемых величин в течение эксперимента и те, которые регистрировались с начала эксперимента и число которых оставалось стабильным или снизилось в течение эксперимента. Так, например микроорганизмы S. mutans изначально превышали количественные нормативы (фоновые значения у участников 3, 4, 5, 6) и они продолжали постепенно нарастать вплоть до 18 суток после окончания эксперимента (Рисунок 27). S. mutans входят в группу микроорганизмов, являющихся этиологическими агентами воспалительных заболеваний пародонта и кариозного процесса в полости рта. Микроорганизмы P. anaerobius количественно нарастали у всех участников, кроме 1. У 2 и 4 участников наблюдался рост пародонтопатогенных бактерий, правда со значениями, не выходящими за

пределы нормы (10^4). У остальных участников (3, 5, 6 участник) наблюдался постепенный количественный рост пародонтопатогенов с максимальными значениями $1.4 \cdot 10^8$ кл/гр, $1.5 \cdot 10^8$ кл/гр, $1.3 \cdot 10^8$ кл/гр соответственно, приходящимися на 18 сутки после окончания эксперимента (Рисунок 28), т. е. наблюдался рост пародонтопатогенов, даже после выхода обследуемых из эксперимента. Схожую картину можно проследить и у Actinomyces spp., где наблюдался значительный рост на протяжении всего эксперимента у всех участников, кроме 5 и 6, с пиковыми количественными значениями к 18 суткам после окончания эксперимента (Рисунок 29), а также *Porphyromonas spp*. у 2, 3, 4 и 6 участников с наивысшими количественными значениями, регистрировавшимися к 18 суткам после окончания эксперимента. У 1 и 5 участников максимальные количественные значения регистрировались накануне эксперимента, т. е. изначально были высокими (Рисунок 30). Значения *Candida spp.* были различны для каждого обследуемого, но у всех участников они значительно превышали норму и имели тенденцию к росту, так у 1, 4, 5 участников к 18 суткам после окончания эксперимента наблюдались самые высокие значения, у остальных участников наивысшие значения приходятся либо на выход из эксперимента (2 и 3 участники), либо на 6 сутки после окончания эксперимента (6 участник) (Рисунок 31).

К группе микроорганизмов, являющейся достаточно стабильной, либо снижающей свой рост с течением эксперимента можно отнести *Fusobacterium spp*., где у 1 участника изначально были высокие значения (10^6), которые постепенно снижались, вплоть до 18 суток после окончания эксперимента, до значений 10^1. У остальных участников эксперимента пик накопления пародонтопатогенов приходился на выход из эксперимента (2, 3, 6 участники). У 4 участника значения *Fusobacterium spp*. не превышали нормы в течение всего эксперимента, у 5 они составляли 10^2, но имели тенденцию к постепенному снижению вплоть до 18 суток после окончания эксперимента (Рисунок 32). Такая же тенденция была свойственна микроорганизмам *Prevotella spp.* и *Corynebacterium spp*. Что касается лактобацилл, являющихся протективной

группой микробного сообщества полости рта, то они изначально имели высокие фоновые значения, затем их количество постепенно снижалось в течение эксперимента и параллельно с этим наблюдалось нарастание числа пародонтопатогенов, при этом у лактобацилл самые низкие показатели наблюдались на выходе из эксперимента. После выхода из гермообъекта, возобновлялось постепенное восстановление протективной группы (Рисунок 31) и ее постепенный приход к значениям нормы.

Наибольшую динамику показали такие условные патогены как: *S. mutans, Porphyromonas spp*. и *Candida spp*., все эти микроорганизмы, а также наличие и рост таких микроорганизмов как *Corynebacterium spp., Peptostreptococcus anaerobius, Actinomyces spp.* говорит о накопительном эффекте условно-патогенной микробиоты полости рта и смещении гомеостатического баланса в сторону дисбиоза в условиях измененной среды обитания, а также нарушении барьеров колонизационной резистентности в виде снижения протективной микробиоты, на фоне роста количества пародонтопатогенов.

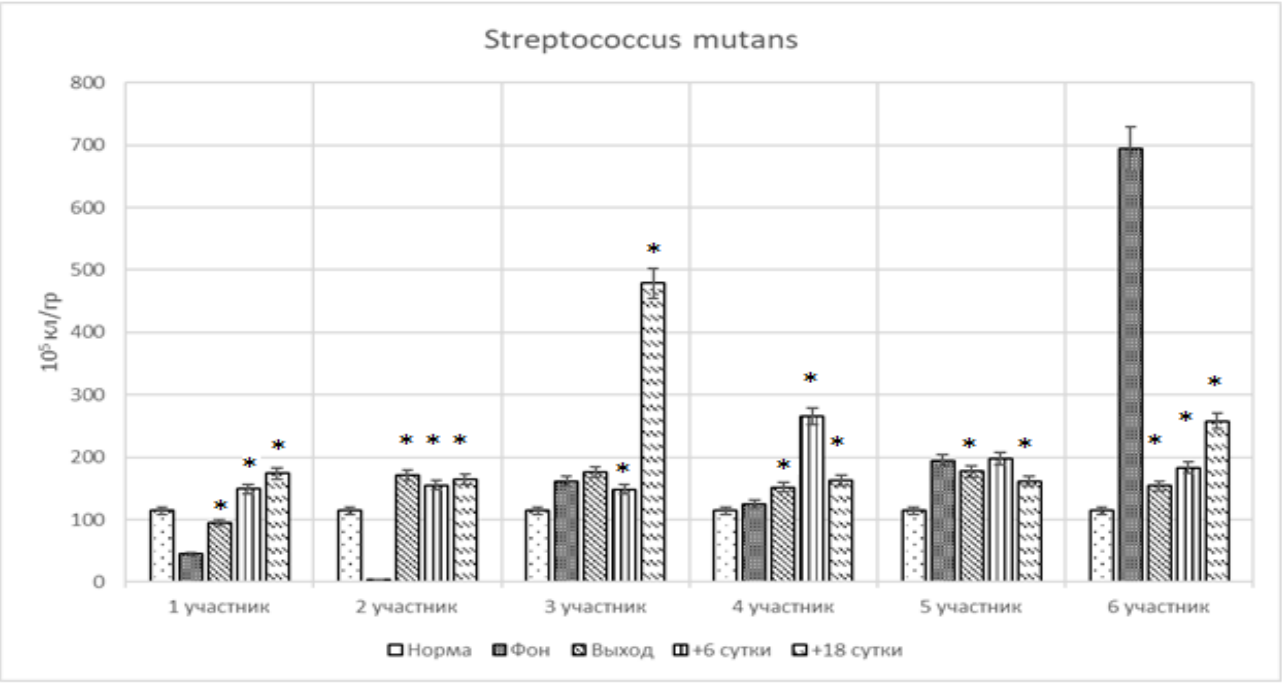


Рисунок 27 - Динамика роста *S. mutans* у участников эксперимента 14 суточной изоляции по методу масс-спектрометрии микробных маркеров. По

горизонтальной оси – сроки отбора проб и участники; по вертикальной оси - уровень содержания *S. mutans*, кл/мл

Примечание - * обозначены статистически значимые различия по сравнению с соответствующим показателем фона (p <0,05)

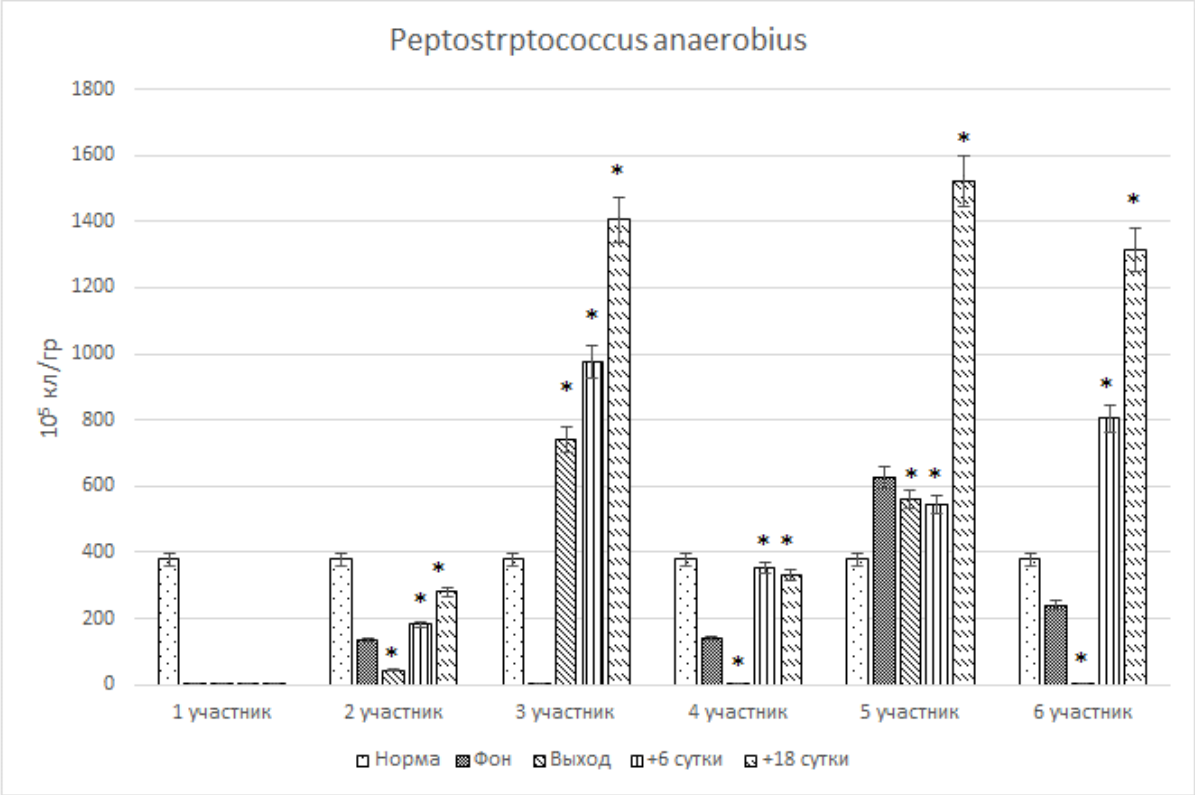


Рисунок 28 - Динамика роста *P. anaerobius* у участников эксперимента 14 суточной изоляции по методу масс-спектрометрии микробных маркеров. По горизонтальной оси – сроки отбора проб и участники; По вертикальной оси - уровень содержания *P.anaerobius*, кл/мл

Примечание - * обозначены статистически значимые различия по сравнению с соответствующим показателем фона (p <0,05)

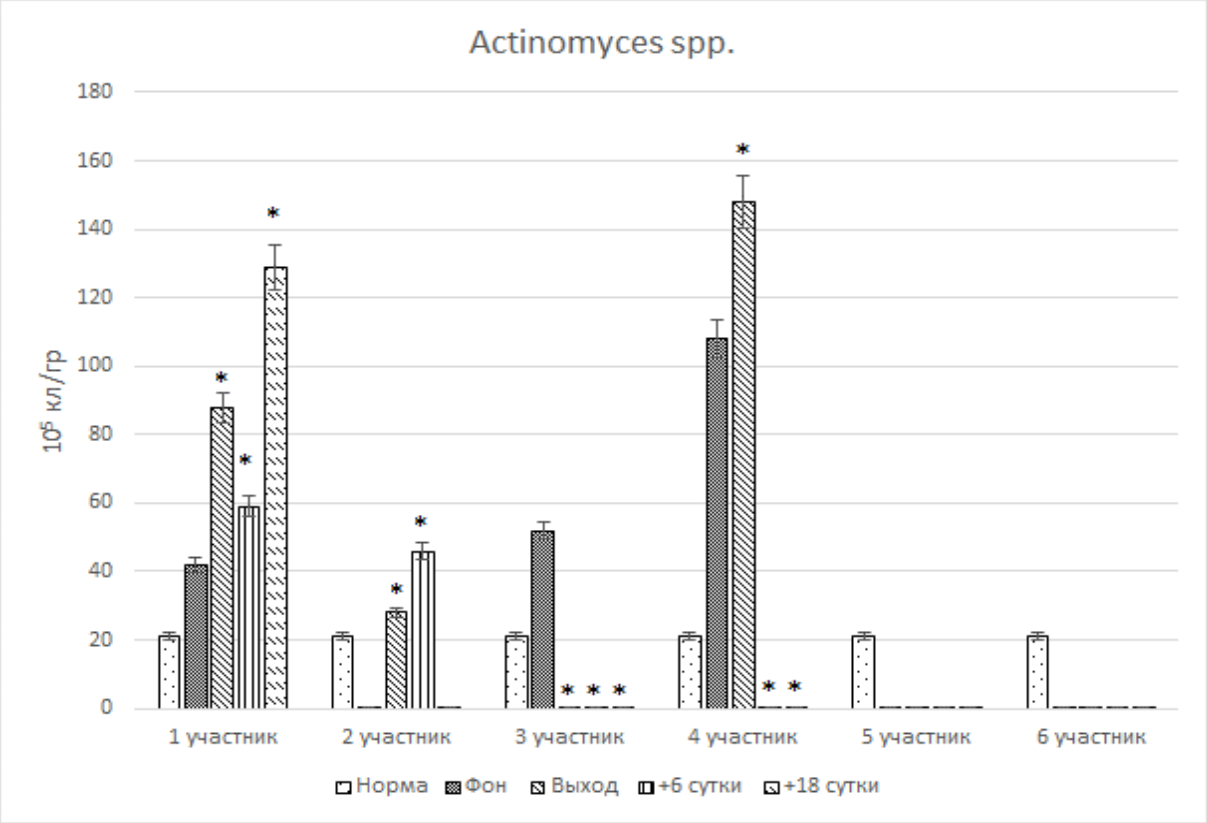


Рисунок 29 - Динамика роста *Actinomyces spp.* у участников эксперимента 14 суточной изоляции по методу масс-спектрометрии микробных маркеров. По горизонтальной оси – сроки отбора проб и участники; По вертикальной оси - уровень содержания *Actinomyces spp.*, кл/мл

Примечание - * обозначены статистически значимые различия по сравнению с соответствующим показателем фона ($p < 0,05$)

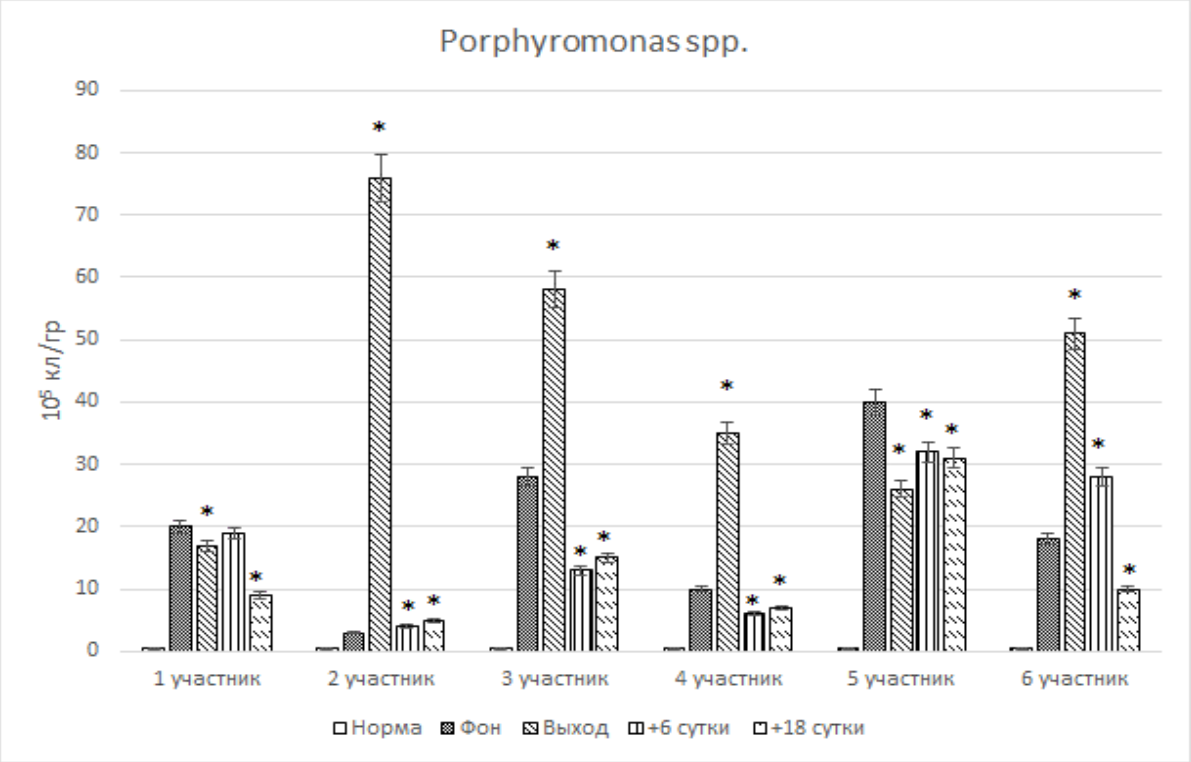


Рисунок 30 - Динамика роста *Porphyromonas spp*. у участников эксперимента 14 суточной изоляции по методу масс-спектрометрии микробных маркеров. По горизонтальной оси – сроки отбора проб и участники; По вертикальной оси - уровень содержания *Porphyromonas spp.*, кл/мл

Примечание - * обозначены статистически значимые различия по сравнению с соответствующим показателем фона ($p < 0,05$)

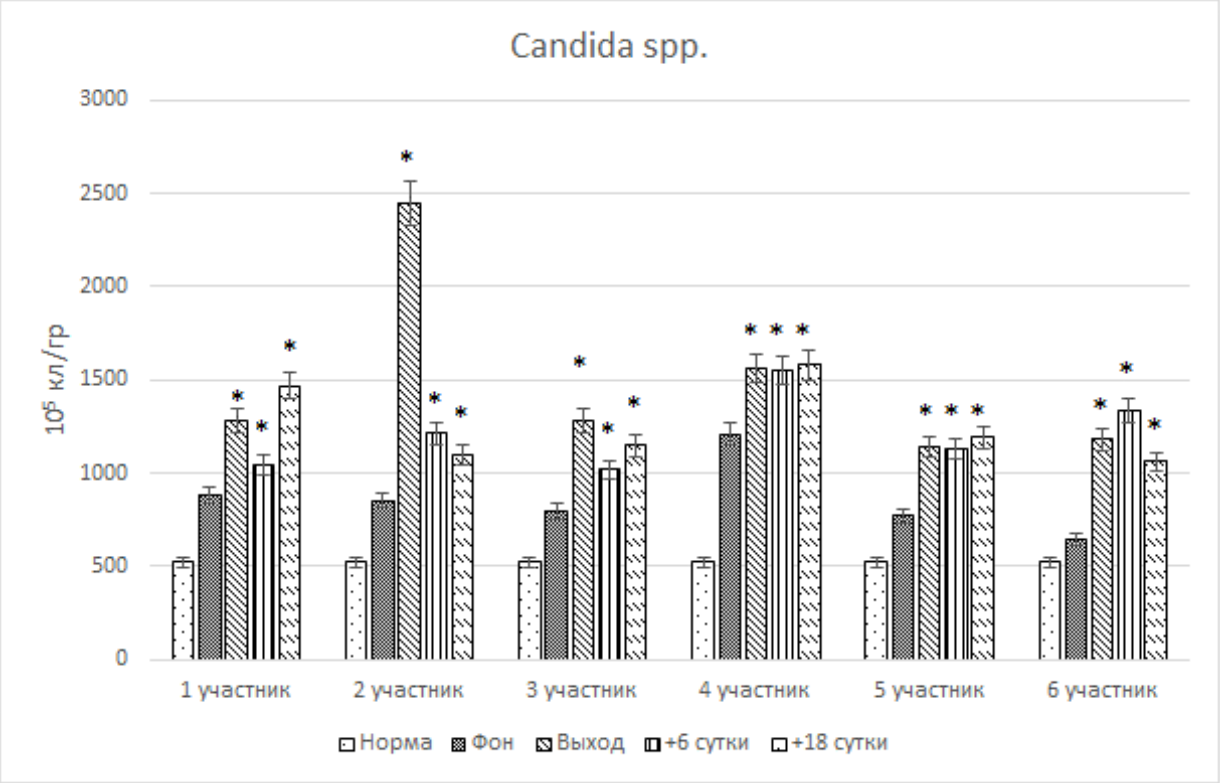


Рисунок 31 - Динамика роста *Candida spp*. у участников эксперимента 14 суточной изоляции по методу масс-спектрометрии микробных маркеров. По горизонтальной оси – сроки отбора проб и участники; По вертикальной оси - уровень содержания *Candida spp*., кл/мл

Примечание - * обозначены статистически значимые различия по сравнению с соответствующим показателем фона (p <0,05)

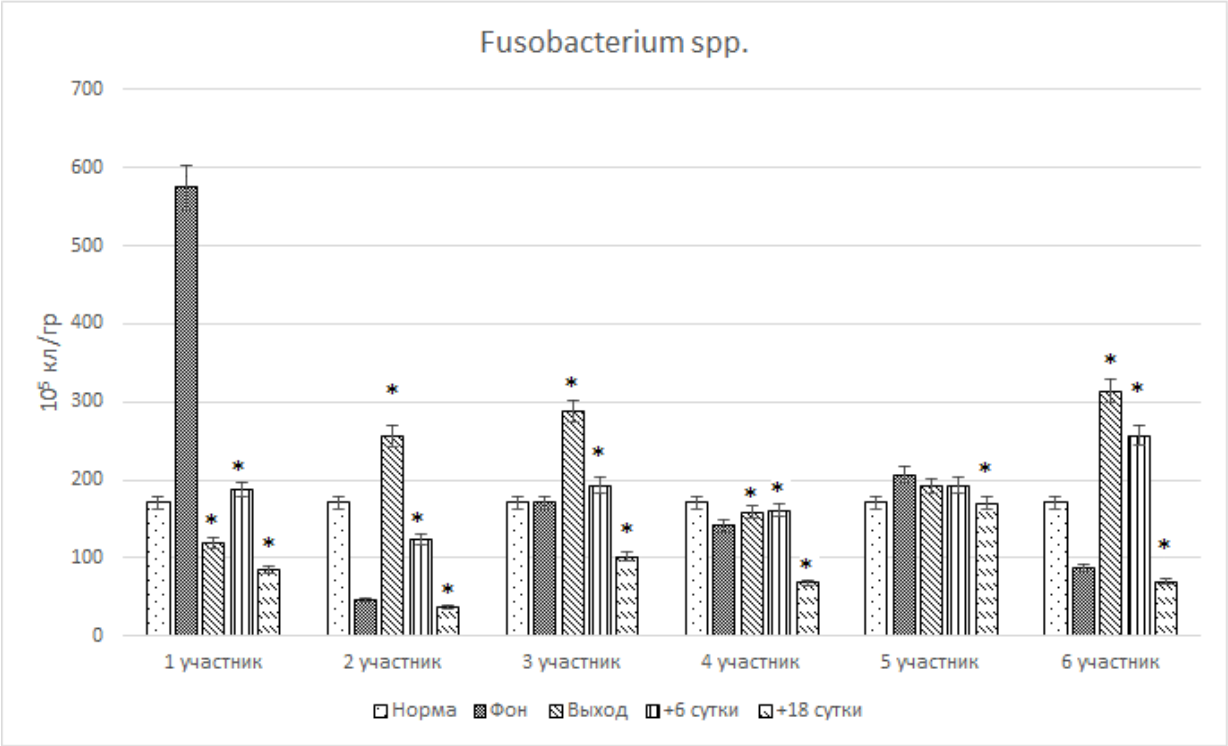


Рисунок 32 - Динамика роста *Fusobacterium spp*. у участников эксперимента 14 суточной изоляции по методу масс-спектрометрии микробных маркеров. По горизонтальной оси – сроки отбора проб и участники; По вертикальной оси - уровень содержания *Fusobacterium spp*., кл/мл

Примечание - * обозначены статистически значимые различия по сравнению с соответствующим показателем фона (p <0,05)

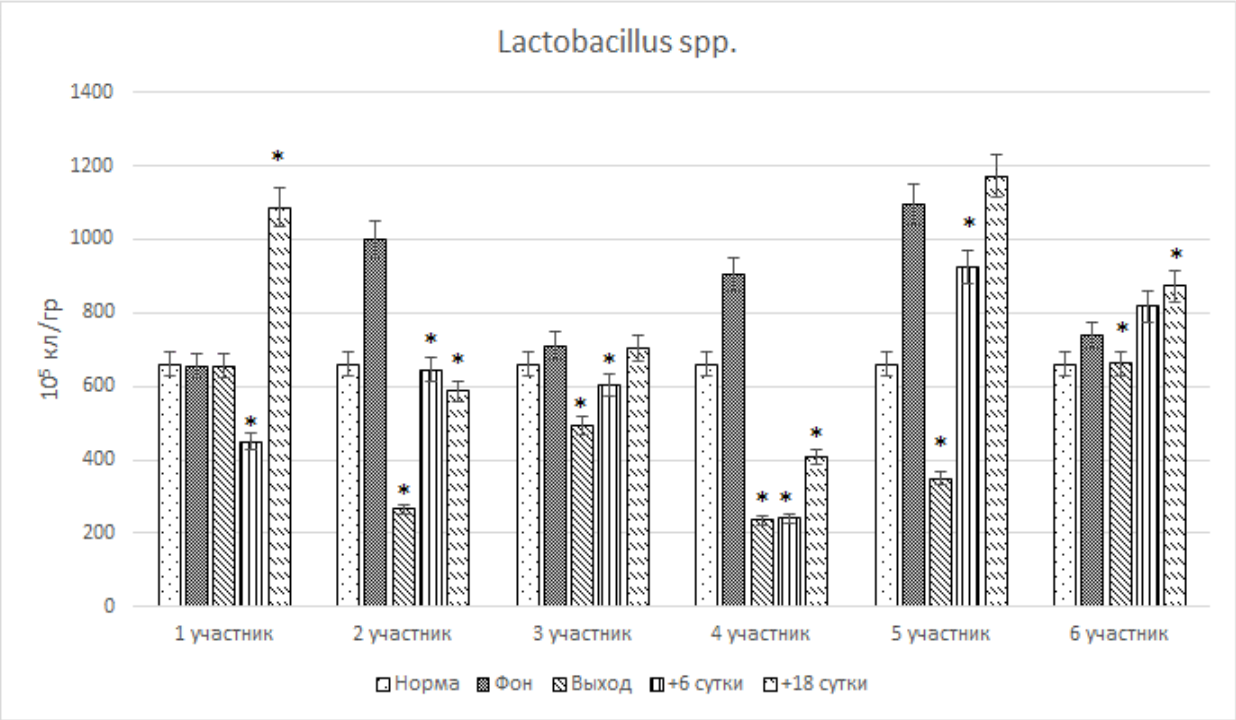


Рисунок 31. Динамика роста *Lactobacillus spp*. у участников эксперимента 14 суточной изоляции по методу масс-спектрометрии микробных маркеров. По горизонтальной оси – сроки отбора проб и участники; По вертикальной оси - уровень содержания *Lactobacillus spp*. [кл/мл].

Примечание: * - обозначены статистически значимые различия по сравнению с соответствующим показателем фона ($p < 0,05$).

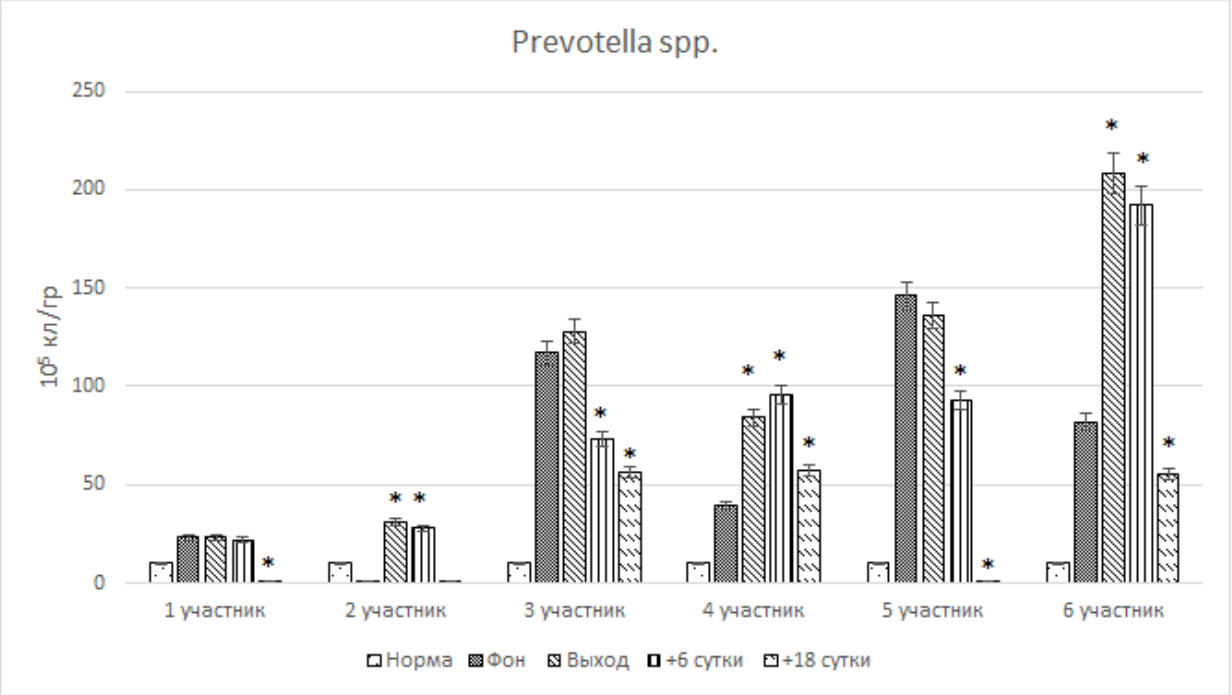


Рисунок 32 Динамика роста *Prevotella spp*. у участников эксперимента 14 суточной изоляции по методу масс-спектрометрии микробных маркеров. По горизонтальной оси – сроки отбора проб и участники; По вертикальной оси - уровень содержания *Prevotella spp*. [кл/мл].

Примечание: * - обозначены статистически значимые различия по сравнению с соответствующим показателем фона ($p < 0,05$).

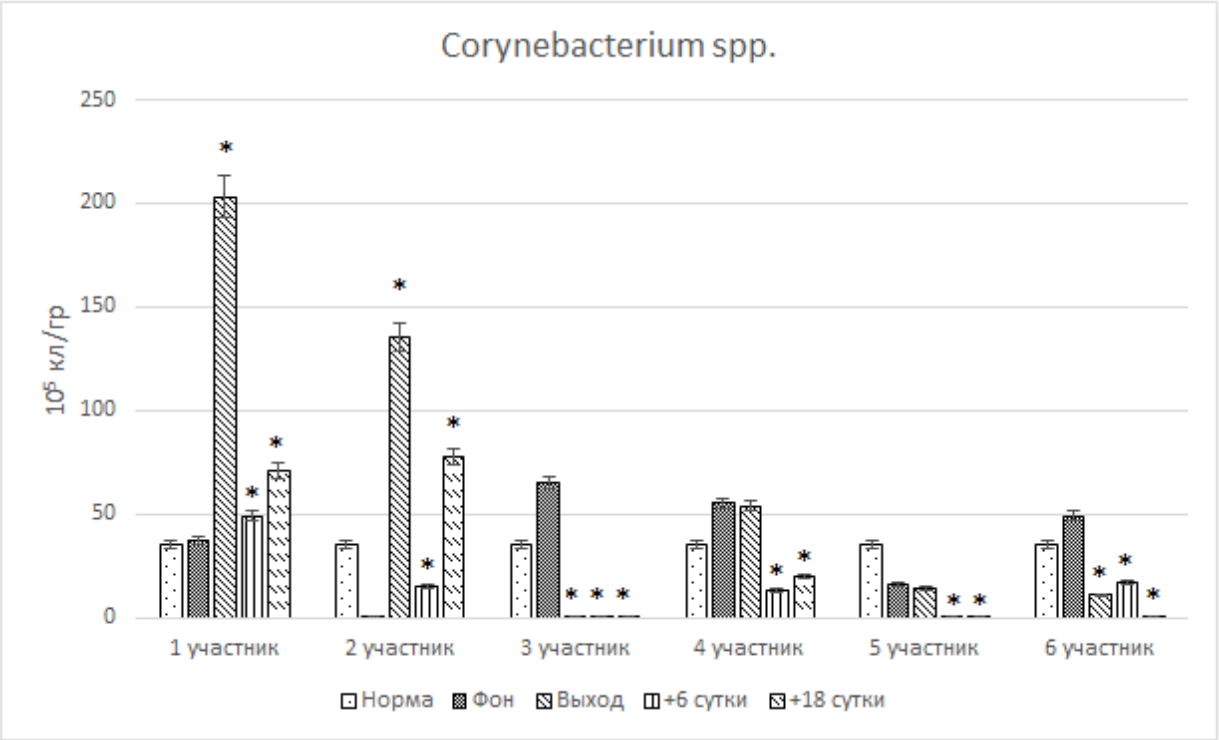


Рисунок 33. Динамика роста *Corynebacterium spp*. у участников эксперимента 14 суточной изоляции по методу масс-спектрометрии микробных маркеров. По горизонтальной оси – сроки отбора проб и участники; По вертикальной оси - уровень содержания *Corynebacterium spp*. [кл/мл].

Примечание: * - обозначены статистически значимые различия по сравнению с соответствующим показателем фона ($p < 0,05$).

3.1.2 РЕЗУЛЬТАТЫ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО МЕТОДА

С помощью бактериологического метода были изолированы и идентифицированы следующие условные патогены: *S. mutans, E. faecalis, S. epidermidis, A. viscosus, C. glabrata, Streptococcus sangius, F. nucleatum, P. anaerobius, Corynebacterium spp., K. pneumoniae, Intermedia, S. intermedius, A. Naeslundi,* а также протективная микробиота: *Lactobacillus spp., S.salivarius*.

При анализе результатов позволительно предположить два процесса изменений микробиоты: индивидуальные колебания количественного и видового состава микрофлоры пародонта, и спорадический количественный кратковременный рост представителей пародонтопатогенной микрофлоры. К первой группе микроорганизмов, присутствующих практически у каждого участника стоит отнести *S.sangius.* У всех участников эксперимента наблюдались высокие значения *S.sangius* на протяжении всего эксперимента, с наивысшими значениями 10^8 КОЕ/мл (фон) у 3, 4, 5 и 6 участников, которые продолжали оставаться высокими на выходе из эксперимента и на 6 сутках после окончания эксперимента (1-6 участники) (Рисунки 36-41). С другой стороны, наблюдались высокие значения *S. mutans* у 2 участника (10^7 КОЕ/мл) на протяжении всего эксперимента, которые снизились лишь к 18 суткам после окончания эксперимента до значений 10^6. У 4 и 6 участников *S. mutans* количественные показатели изначально были высокими (10^8), но имели тенденцию к постепенному снижению вплоть до 18 суток после окончания эксперимента. *E.faecalis* выявлен у 3 участников эксперимента (2, 3, 6) с высокими фоновыми значениями у 3 участника (10^7) с постепенным снижением до 10^3 на выходе из эксперимента. У 2 и 6 участников, наоборот, наблюдались высокие значения на выходе из эксперимента со значениями 10^7 и 10^6 соответственно. У всех участников видны периодические точечные «скачки» той или иной группы условно-патогенной микробиоты, но имеющей индивидуальный характер, так, например у 1, 4 и 6 участников, *C.glabrata* имеет единственный случай

кратковременного роста на выходе из эксперимента. Разовые случаи количественного роста *Prevotella intermedia* также наблюдались на 6 сутках по окончанию эксперимента у 3 и 4 участников.

Параллельно с незначительным ростом количества *S.salivarius* у всех участников эксперимента, отмечается рост *Lactobacillus spp* у 1, 4 и 5 участников, но также не достигающий значений нормы, регистрируемый как бактериологическим, так и хроматомасс-спектрометрическим методом. Исключение составил 5 участник, где наблюдались значения нормы *Lactobacillus spp*. в период фоновых обследований и затем исчезли полностью на протяжении всего эксперимента. При анализе графиков виден общий накопительный рост условно-патогенной микробиоты на выходе из эксперимента и общее снижение протективной микрофлоры, что подтверждают оба метода. Таким образом, результаты эксперимента свидетельствуют о нижеследующем:

1 В процессе эксперимента осуществляется количественный рост пародонтопатогенов и угнетение микроорганизмов протективных групп.

2 Бактериологический метод и метод масс-спектрометрии микробных маркеров для оценки микрофлоры пародонта являются сопоставимыми.

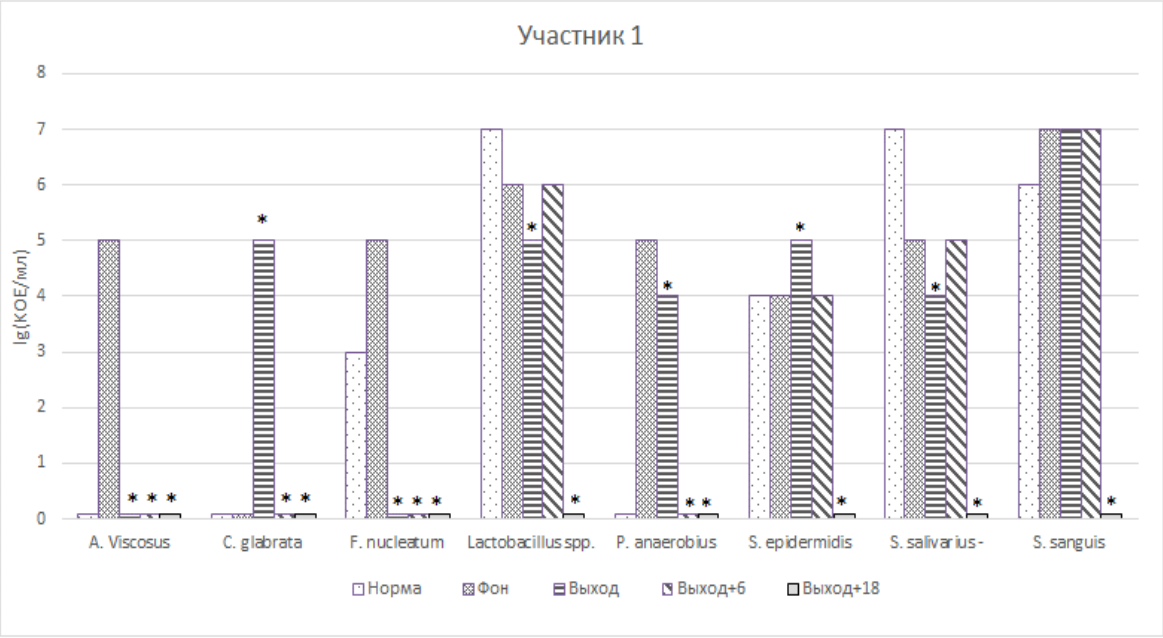


Рисунок 36 - Участник 1 эксперимента 14 суточной изоляции. Бактериологический метод. По горизонтальной оси – сроки отбора проб. По вертикальной оси - уровень содержания A. *Viscosus, C. glabrata, F. nucleatum, Lactobacillus spp., P. anaerobius, S. epidermidis, S.salivarius, S. Sangius*, КОЕ/мл

Примечание - * обозначены статистически значимые различия по сравнению с соответствующим показателем фона (p <0,05)

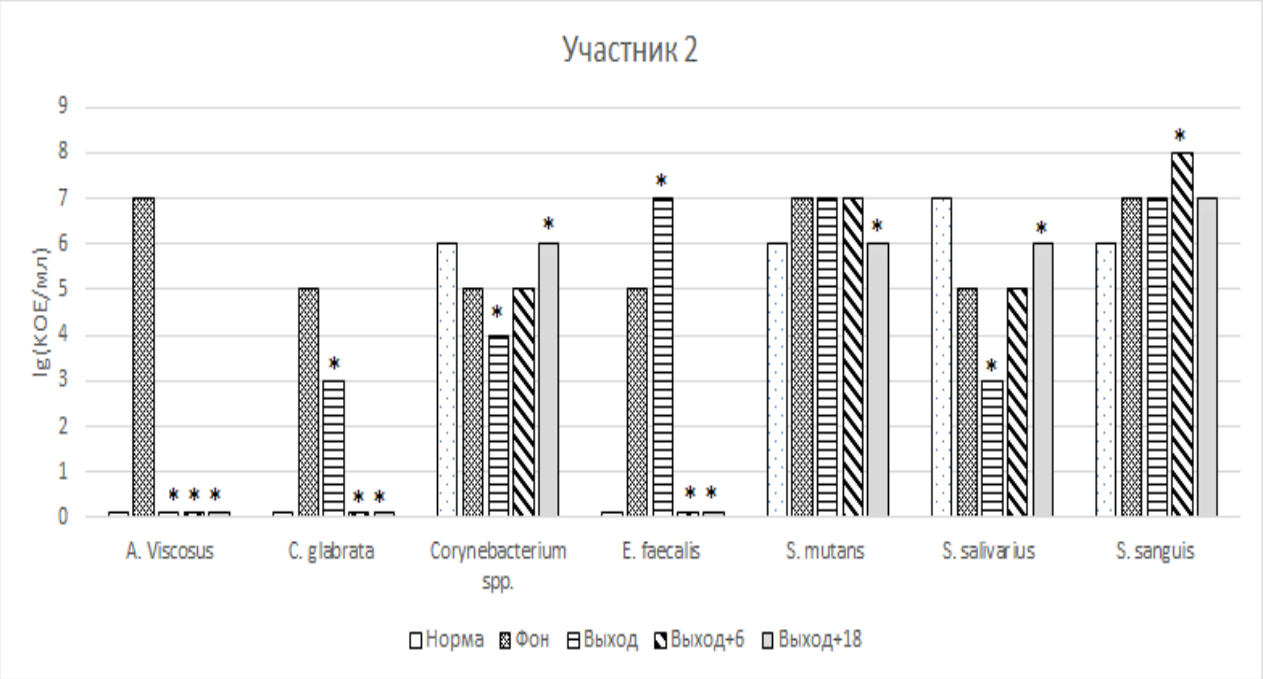


Рисунок 37 - Участник 2 эксперимента 14 суточной изоляции. Бактериологический метод. По горизонтальной оси – сроки отбора проб. По вертикальной оси - уровень содержания: *A. viscosus, C. glabrata, Corynebacterium spp., E. faecalis, S. mutans, S. salivarius, S. sangius* [КОЕ/мл].

Примечание - * обозначены статистически значимые различия по сравнению с соответствующим показателем фона (p <0,05)

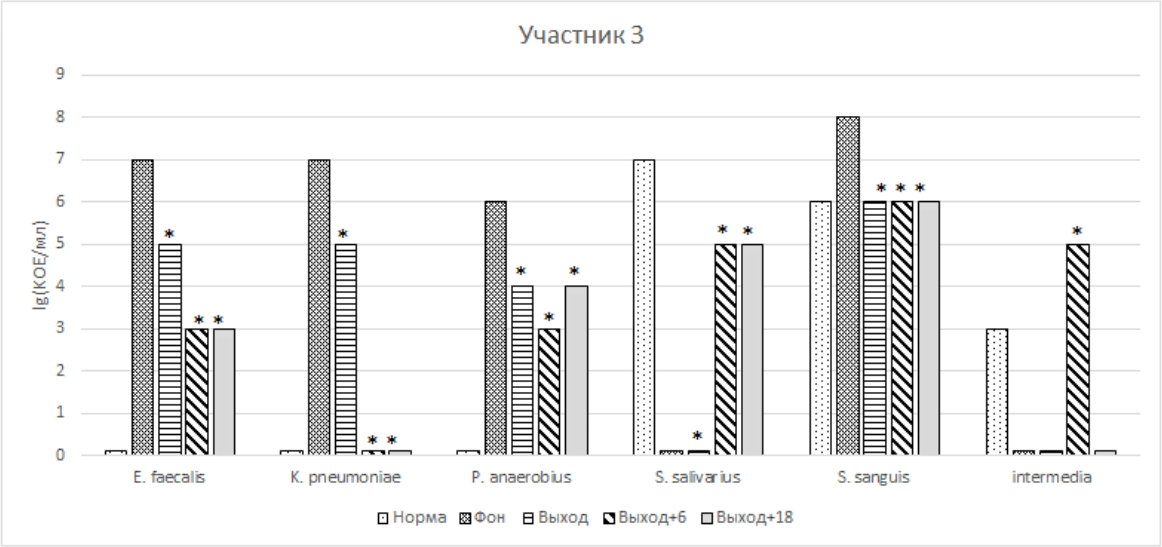


Рисунок 38 - Участник 3 эксперимента 14 суточной изоляции. Бактериологический метод. По горизонтальной оси – сроки отбора проб. По вертикальной оси - уровень содержания: *E. faecalis*, , *P. Anaerobius*, *S. salivarius*, *Intermedia.*, КОЕ/мл

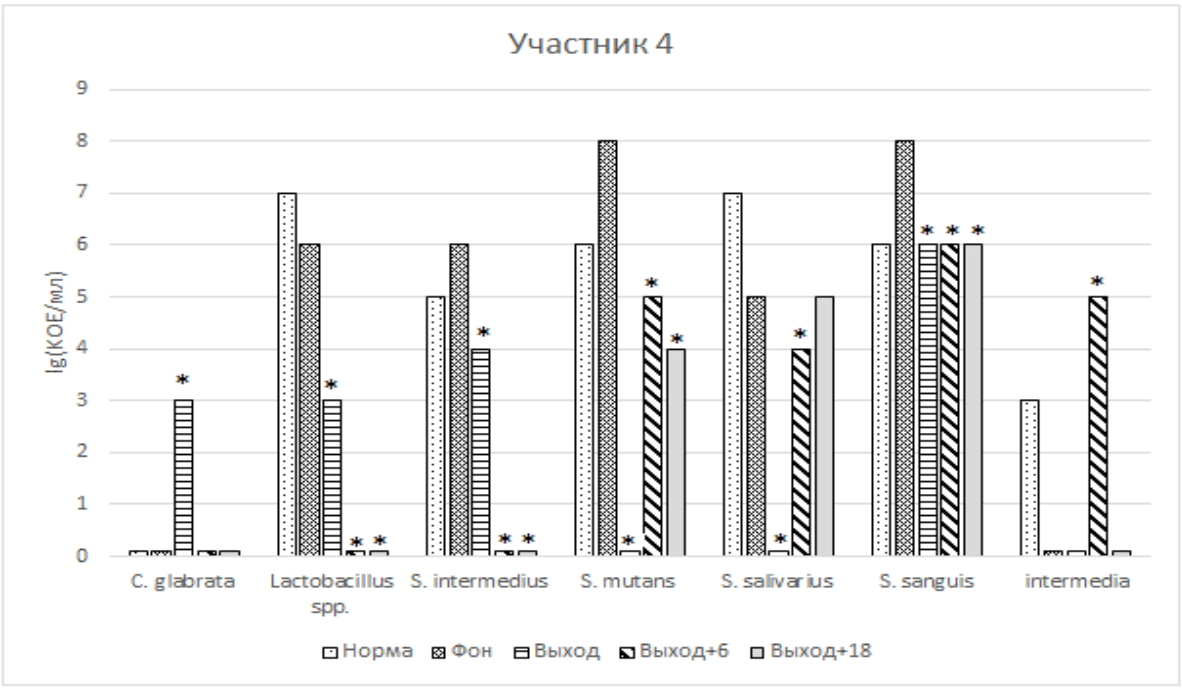


Рисунок 39 - Динамика роста микрофлоры у 4 участника эксперимента 14 суточной изоляции. Бактериологический метод – все представители облигатных пародонтопатогенов

Примечание - * обозначены статистически значимые различия по сравнению с соответствующим показателем фона (p <0,05)

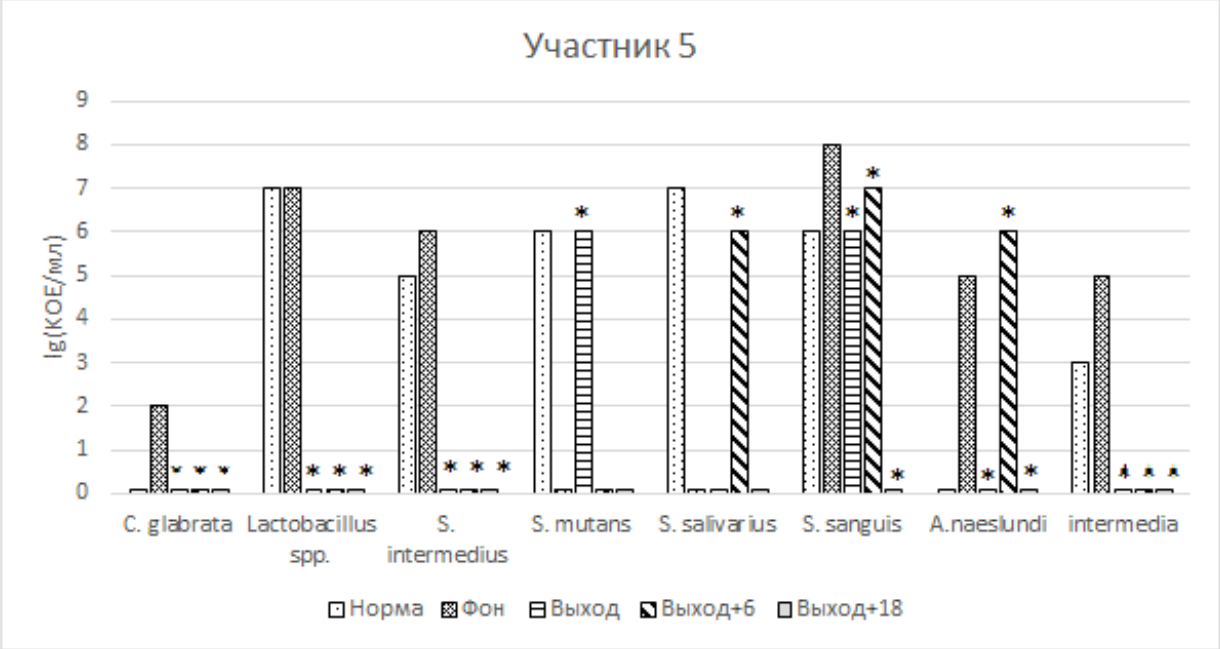


Рисунок 40 - Динамика роста микрофлоры у 5 участника эксперимента 14 суточной изоляции. Бактериологический метод – все представители облигатных пародонтопатогенов.

Примечание - * обозначены статистически значимые различия по сравнению с соответствующим показателем фона (p <0,05)

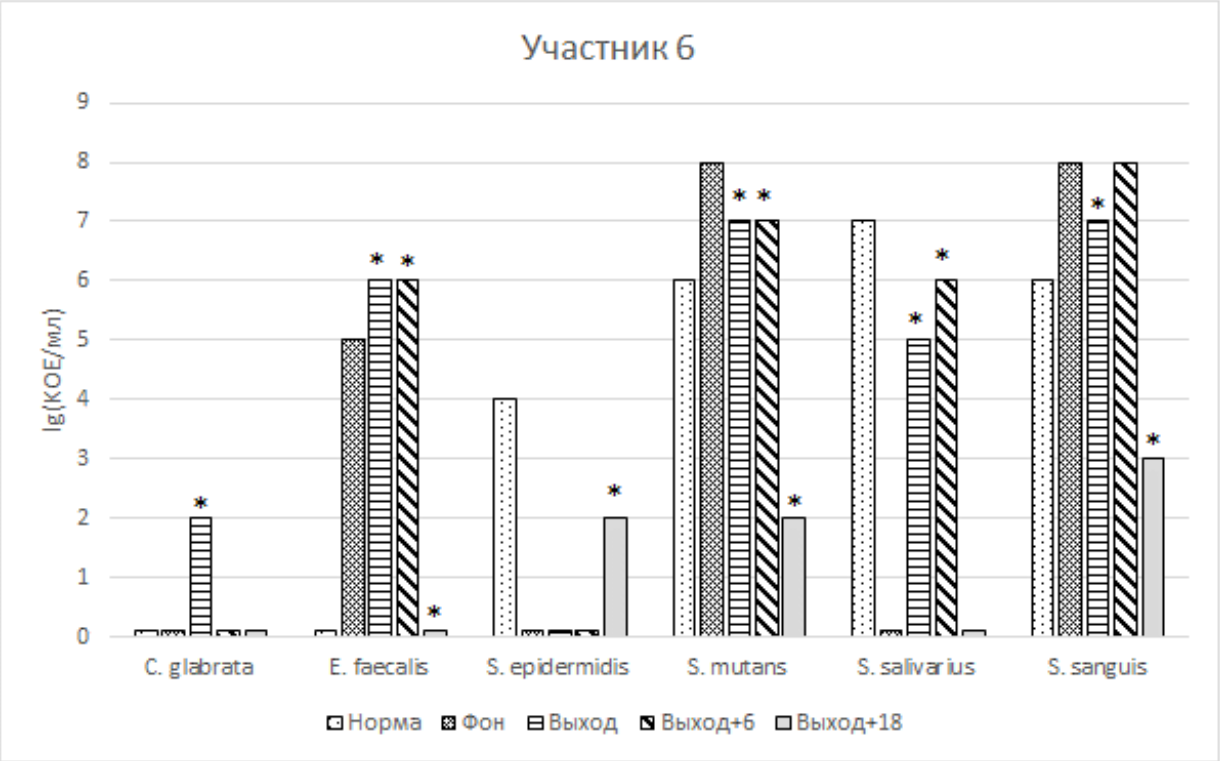


Рисунок 41 - Динамика роста микрофлоры у 6 участника эксперимента 14 суточной изоляции. Бактериологический метод – все представители облигатных пародонтопатогенов

Примечание - * обозначены статистически значимые различия по сравнению с соответствующим показателем фона ($p < 0,05$)

3.1.3 РЕЗУЛЬТАТЫ МЕТОДА ИМУННО-ФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

Как видно из таблицы 4 на выходе из эксперимента значения sIgA значительно выросли от 0,032 до 0,124 (8.4 % от общего количества до 23,8 % (Таблица 5)), что не вызывает сомнений, так как sIgA напрямую относится к СОПР, вырабатываемый слизистыми секретами полости рта, кишечника и др. и одним из первых отвечает на воздействие внешних и внутренних факторов. Также

на выходе из эксперимента достоверно увеличились значения IgM от 0,017 до 0,034 (4,4 % до 6,5 % от общего числа), который известен, как иммуноглобулин, отвечающий вторым «каскадом» реакций на факторы воспаления. К 6 и 18 суткам после окончания эксперимента эти значения снижаются, но все еще не достигают фоновых. Что касается IgA, то его наивысшие значения в отличие от sIgA и IgM, лишь к 6 суткам после окончания эксперимента, что может быть связано с общим иммунным ответом организма, в отличие от локального ответа слизистых.

Как видно из таблицы 12, уровень роста провоспалительных цитокинов IL-6, IL-8, IL-1β повышается по сравнению с фоновыми значениями (пик на выходе из эксперимента) и постепенно снижается к изначальным значениям, вплоть до 18 суток после окончания эксперимента, соответственно с показателями секреторного иммуноглобулина (sIgA, IgA, IgM). Противовоспалительный интерлейкин IL-4 показывает значимое увеличение концентрации ($p < 0,05$) к 6 суткам по окончанию эксперимента по сравнению с 14 сутками эксперимента с тенденцией к возврату к изначальным фоновым значениям. (таблицы 12 и 13), т. е. происходит постепенное восстановление микробиоты слизистой оболочки полости рта до изначальных значений, до входа в эксперимент (фоновых значений).

Таблица 12 - Содержание цитокинов в ротовой жидкости испытателей-добровольцев в условиях 14 суточной изоляции

Сроки отбора проб	**Концентрация цитокинов, пг/мл**					
	IL-8	**IL-6**	**INFγ (пг/мл)**	**TNF α**	**IL-1β**	**IL-4**
Фон *	3.397 ± 0.698	0.413 ± 0.138	0.991 ± 0.165	0.356 ± 0.062	0.673 ± 0.138	5.169 ± 0.604
Выход *	6.963 ± 1.253	1.402 ± 1.112	1.015 ± 0.145	0.566 ± 0.124 *	1.015 ± 0.257	4.773 ± 0.352
+ 6 сутки *	3.237 ± 0.666	0.262 ± 0.069	0.718 ± 0.089 *	0.579 ± 0.058 *	1.095 ± 0.282	6.244 ± 0.525
+ 18 сутки *	3.921 ± 1.193	0.196 ± 0.049	1.084 ± 0.131	0.933 ± 0.065 *	0.979 ± 0.207	5.213 ± 0.260

Примечания:

- * обозначены статистически значимые различия по сравнению с соответствующим показателем фона (p <0,05);

- * фон – за неделю до начала эксперимента; выход – 2недели от начала эксперимента; + 6сутки – через 6 дней после окончания эксперимента; + 18 сутки – через 18 дней после окончания эксперимента.

Таблица 13 - Относительное содержание цитокинов в ротовой жидкости испытателей-добровольцев в условиях 14 суточной изоляции в процентах от общего количества

Сроки отбора проб	**Процент от общего количества**					
	IL-8	**IL-6**	**INFγ**	**TNFα**	**IL-1β**	**IL-4**
Фон *	30,9	3,8	9,0	3,2	6,1	47,0
Выход *	44,2	8,9	6,5	3,6	6,5	3,03
+ 6 сутки *	26,7	2,2	5,9	4,7	9,0	51,5
+ 18 сутки *	31,8	1,6	8,8	7,6	7,9	42,3

Примечание - * фон – за неделю до начала эксперимента; выход – 2 недели от начала эксперимента; + 6сутки – через 6 дней после окончания эксперимента; + 18 сутки – через 18 дней после окончания эксперимента.

3.1.4 РЕЗУЛЬТАТЫ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ДОППЛЕРОГРАФИИ

По результатам ультразвуковой допплерографии видны изменения в артериоло-венулярном кровотоке (Рисунки 42 и 43), где, согласно графикам, идет постепенный рост объема кровотока на выходе из эксперимента, с дальнейшим ростом к 7 суткам по окончании эксперимента по сравнению с фоновыми значениями и постепенным снижением к 18 суткам по окончании эксперимента, что может говорить об адаптивных свойствах организма, после выхода их

эксперимента. Это же касается и для максимально средней скорости кровотока (Vm) и для максимальной диастолической скорости (Vd), отмечается рост показателей относительно фона на выходе и 7 сутках по окончании эксперимента (увеличением сосудистых индексов (PI, RI) после изоляции на 21 % и 8,4 %), с незначительным снижением к 18 суткам после окончания эксперимента(на 15 % и 9,2 % соответственно), после завершения эксперимента.

Характеристики объемного кровенаполнение тканей пародонта – систолическая объемная (Q_s), средняя систолическая (Q_{as}) и средняя (Q_{am}) скорости. Они отражают кровоток через артериолярное и капиллярное звенья МЦР.

Подводя итог можно сказать, что в течение эксперимента у участников наблюдалось нарушение трех барьеров колонизационной резистентности организма, связанной с накоплением условно-патогенной микробиоты. Условно патогенная микробиота в свою очередь разделялась на два кластера. Первый кластер, отвечал ростом на условия измененной среды обитания, второй кластер либо не проявлял роста, либо проявлялся единичными «всплесками» в течение всего эксперимента. В течение эксперимента обоими методами был подтвержден рост условно-патогенной микробиоты на выходе из эксперимента, либо к 6 суткам по выходу из него. Эти же данные подтверждается и методом ИФА, в виде роста провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-8, IL-1β) на выходе из эксперимента и ростом sIgA и IgM. Также в процессе эксперимента наблюдалось снижение кровенаполнения артериолярного и капиллярного звеньев микроциркуляторного русла (Qs/Qam) во время эксперимента с постепенным увеличением кровенаполнения в микроциркуляторном русле (Qs/Qam), что может быть связано с низкой активностью в процессе эксперимента и изменениями (увеличением) двигательной активности по выходу из эксперимента у испытуемых.

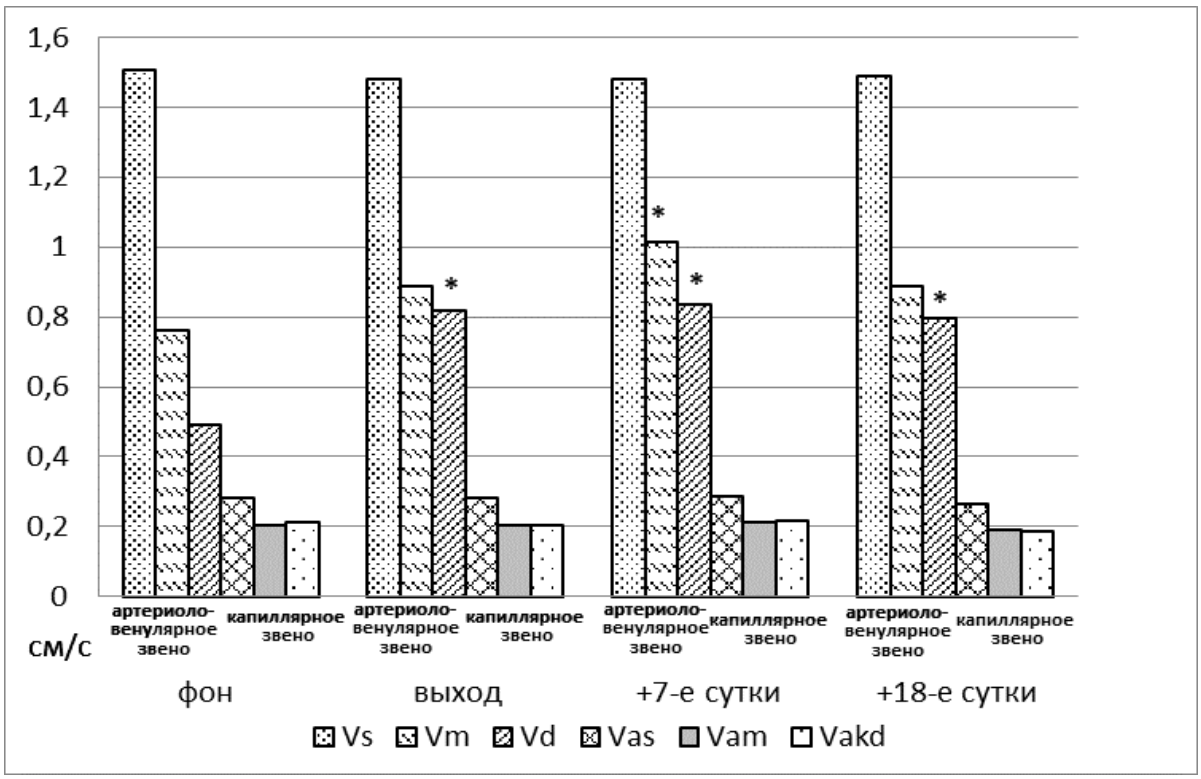


Рисунок 42 - Динамика линейных скоростей кровотока в тканях пародонта

* - $p< 0,05$

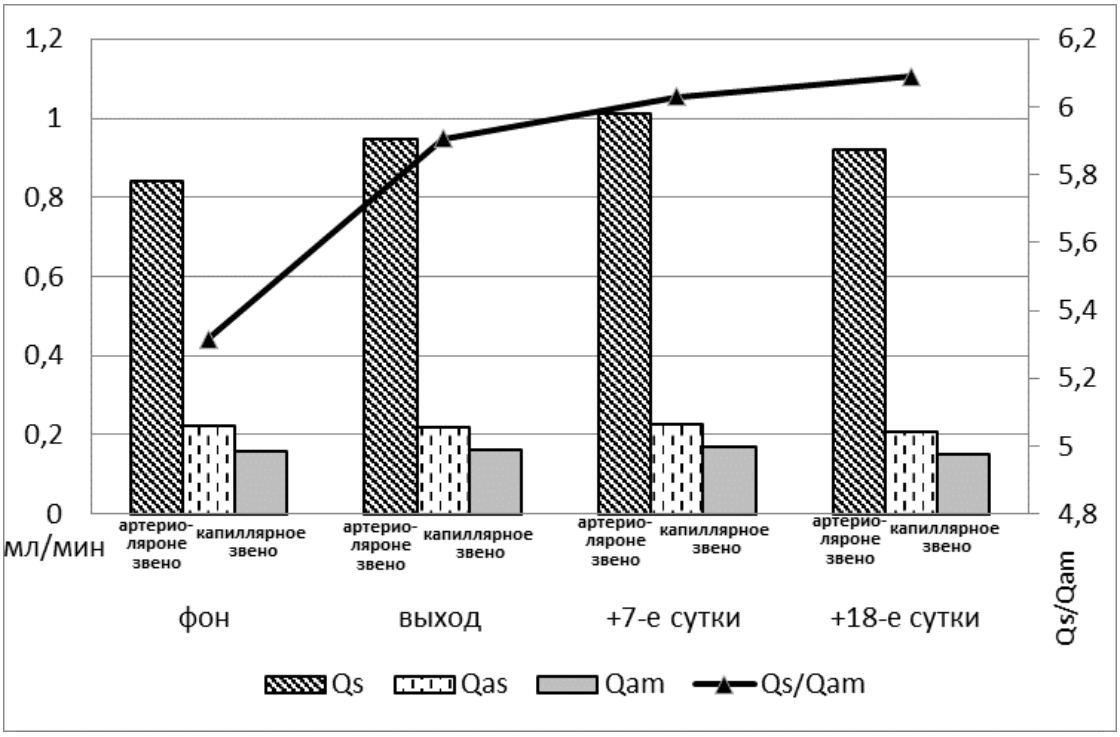


Рисунок 43 - Динамика объемных скоростей кровотока в тканях пародонта

3.2 СРАВНЕНИЕ КЛАССИЧЕСКОГО БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО МЕТОДА И МЕТОДА МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ МИКРОБНЫХ МАРКЕРОВ У УЧАСТНИКОВ 7 СУТОЧНОЙ ИММЕРСИИ

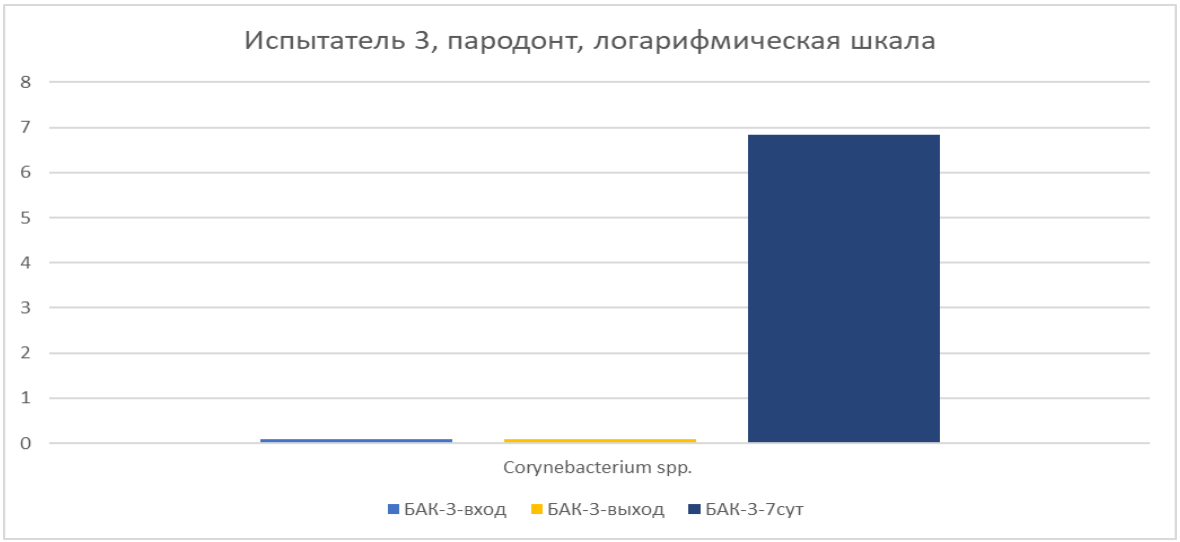
В ходе эксперимента 10 испытуемых–добровольцев (мужчины), в возрасте от 22 до 35 лет в течение 7 суток находились в иммерсионной ванне, имитирующей невесомость в космическом полете. Целью работы является сопоставление результатов метода масс спектрометрии мкиробных маркеров и традиционного бактериологического метода для количественной оценки пародонтопатогенной микробиоты у испытуемых в условиях «сухой» иммерсии.

Обоими методами (метод масс-спектрометрии микробных маркеров и бактериологическим методом) были идентифицированы следующие условные патогены: *Fusobacterium spp., Corynebacterium spp., Streptococcus spp., Peptostreptococcus anaerobius.* У 1, 2 и 4-го испытуемых бактериологический метод и метод масс-спектрометрии микробных маркеров не выявил идентичные количественные и видовые характеристики. Так, по результатам бактериологического метода у 3-го участника выявились 2 условных патогена: *Corynebacterium spp.* и *Klebsiella spp*., где оба этих условных патогена показали продемонстрировали количественное нарастание лишь к 7 суткам по окончанию эксперимента (Immersion-7) и имели значения, не превышающие норму на входе и выходе из эксперимента (Таблица 14).

Так же, как и в бактериологическом методе, метод масс-спектрометрии микробных маркеров не выявил рост на входе в эксперимент *Corynebacterium spp.,* но на выходе из эксперимента и 7 сутках по окончанию эксперимента мы наблюдаем рост *Corynebacterium spp*., не выходящие, впрочем, за пределы нормы (норма 10^5 по методу масс-спектрометрии микробных маркеров).

Метод масс-спектрометрии микробных маркеров показал высокий титр *Klebsiella spp*. на входе в эксперимент с пиковыми значениями на выходе, с постепенным снижением к 7 суткам после окончания эксперимента.

Бактериологический метод так же показал на 7 сутки после окончания эксперимента сниженные количественные показатели, правда не выходящие за пределы нормы (Рисунки 44.а и 44.б). Несмотря на разность методов и их точность диагностики бактериальной составляющей, тем не менее обоими методами мы наблюдаем накопление условно-патогенной микробиоты в течение всего эксперимента.



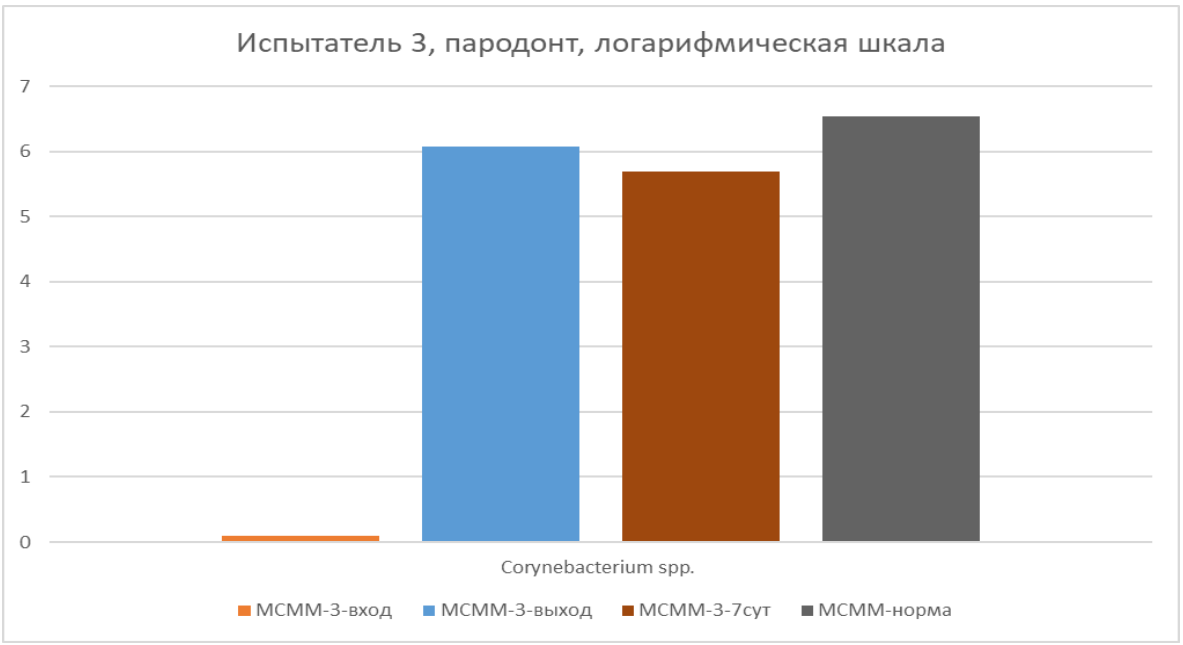


Рисунок 44.а - Испытатель 3. Результаты, полученные бактериологическим методом и методом масс-спектрометрии микробных маркеров. По горизонтальной оси – методы анализа и сроки отбора проб.

По вертикальной оси - уровень содержания *Corynebacterium spp., Klebsiella spp.* КОЕ/мл, кл/мл (метод масс-спектрометрии микробных маркеров)

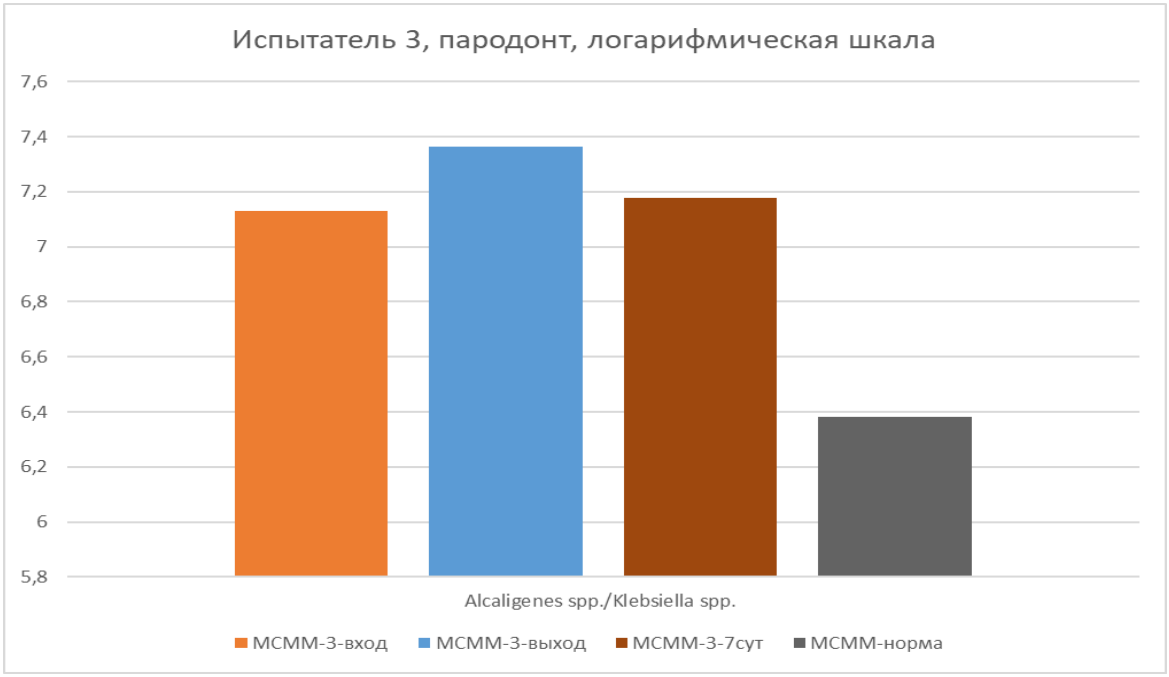


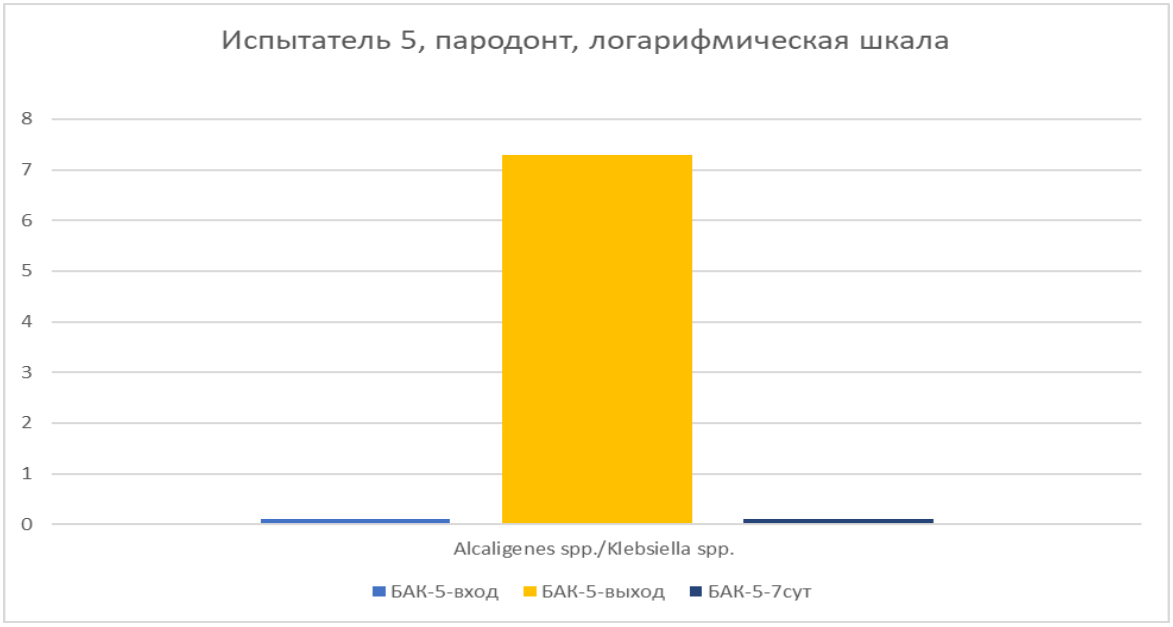
Рисунок 44.б - Испытатель 3. Результаты, полученные бактериологическим методом и методом масс-спектрометрии микробных маркеров. По горизонтальной оси – методы анализа и сроки отбора проб.

По вертикальной оси - уровень содержания *Corynebacterium spp., Klebsiella spp.* КОЕ/мл, кл/мл (метод масс-спектрометрии микробных маркеров)

У 5 испытуемого бактериологическим методом и методом масс-спектрометрии микробных маркеров высеяны *Klebsiella spp. и Streptococcus spp.* Как и у 3 участника бактериологическим методом зарегистрирован подъем *Klebsiella spp. и Streptococcus spp*. на выходе из эксперимента. Методом масс-спектрометрии микробных маркеров зарегистрированы самые высокие значения *Klebsiella spp.* на входе в эксперимент и выходе из него и пик *Streptococcus spp.* на 7 сутках по окончанию эксперимента (Рисунки 45.а и 45.б).

У 6 испытуемого были высеяны *Fusobacterium spp.* и *P. anaerobius. P. anaerobius* методом масс-спектрометрии микробных маркеров показал количественные значения в пределах нормы, бактериологический метод напротив, показал резкий скачок к 7 суткам после окончания эксперимента (Рисунки 46.а и 46.б). При определении *Fusobacterium spp*. по методу масс-спектрометрии микробных маркеров мы видим самые пиковые значения на входе в эксперимент с постепенным снижением к 7 суткам после окончания эксперимента, но все так же выше нормы. Бактериологический метод показал так же количественные значения выше нормы на выходе из эксперимента с тенденцией к росту значений, ближе к 7 суткам после окончания эксперимента.

У 7 испытателя были высеяны *Fusobacterium spp., Klebsiella spp., Corynebacterium spp.* Количественные значения *Fusobacterium spp., Klebsiella spp. и Corynebacterium spp*. при определении методом масс-спектрометрии микробных маркеров имели одинаково высокие значения на входе в эксперимент и также на выходе из него, с постепенным снижением к 7 суткам после окончания эксперимента. При определении *Fusobacterium spp*. бактериологическим методом было показано увеличение фоновых значений до пиковых на выходе. Значения *Corynebacterium spp*. при определении обоими методами были выше нормы на всем протяжении эксперимента. *Klebsiella spp*. показана лишь единственным подъемом, на выходе из эксперимента. (Рисунки 47.а, 47.б и 47.в).



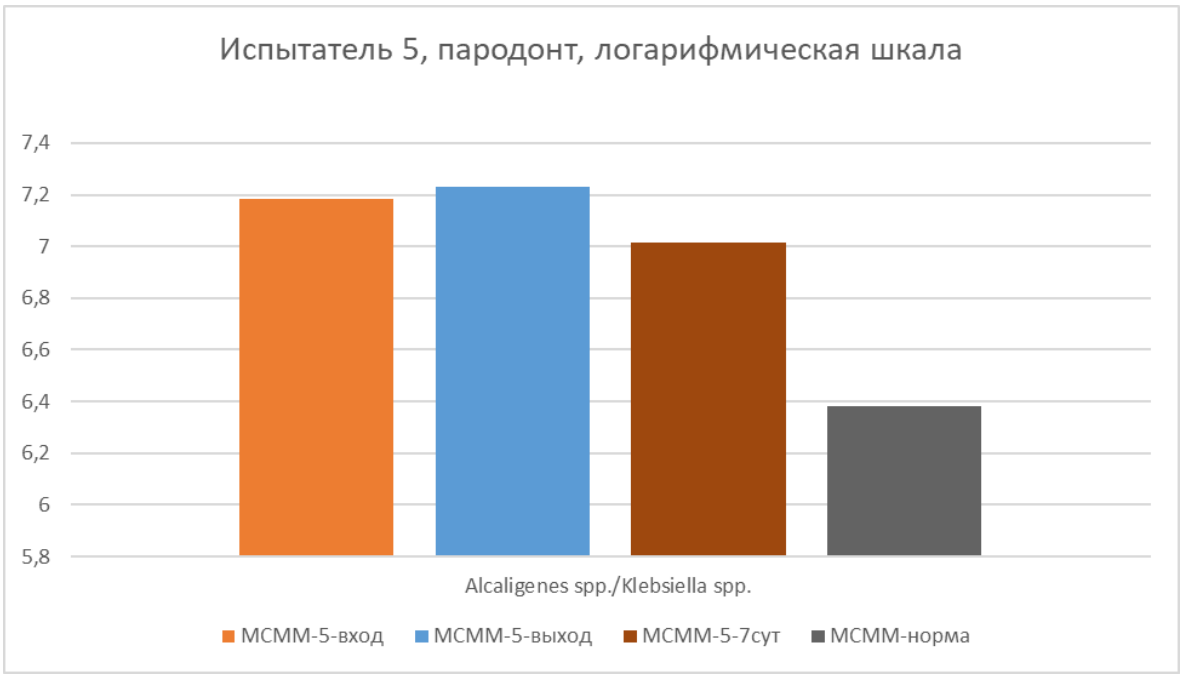


Рисунок 45.а - Испытатель 5. Результаты, полученные бактериологическим методом и методом масс-спектрометрии микробных маркеров. По горизонтальной оси – методы анализа и сроки отбора проб.

По вертикальной оси - уровень содержания *Klebsiella spp., Streptococcus spp.* КОЕ/мл, кл/мл

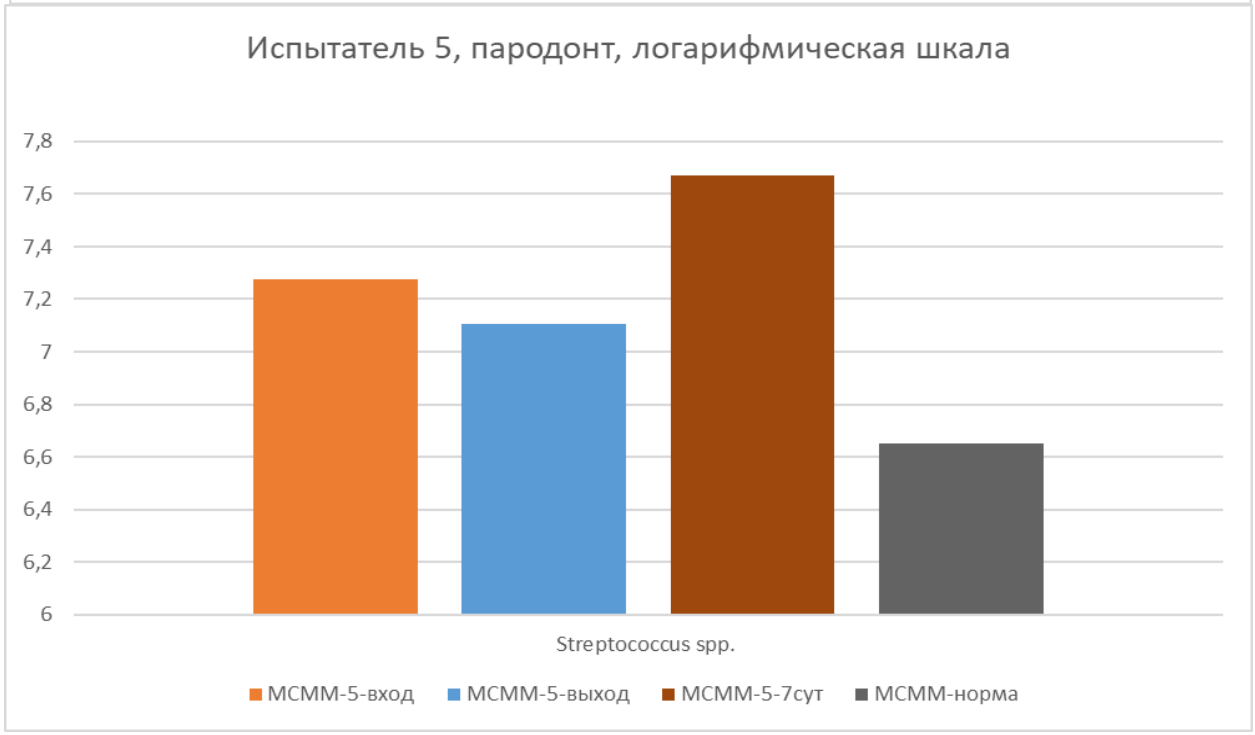


Рисунок 45.б - Испытатель 5. Результаты, полученные бактериологическим методом и методом масс-спектрометрии микробных маркеров. По горизонтальной оси – методы анализа и сроки отбора проб.

По вертикальной оси - уровень содержания *Klebsiella spp., Streptococcus spp.* КОЕ/мл, кл/мл

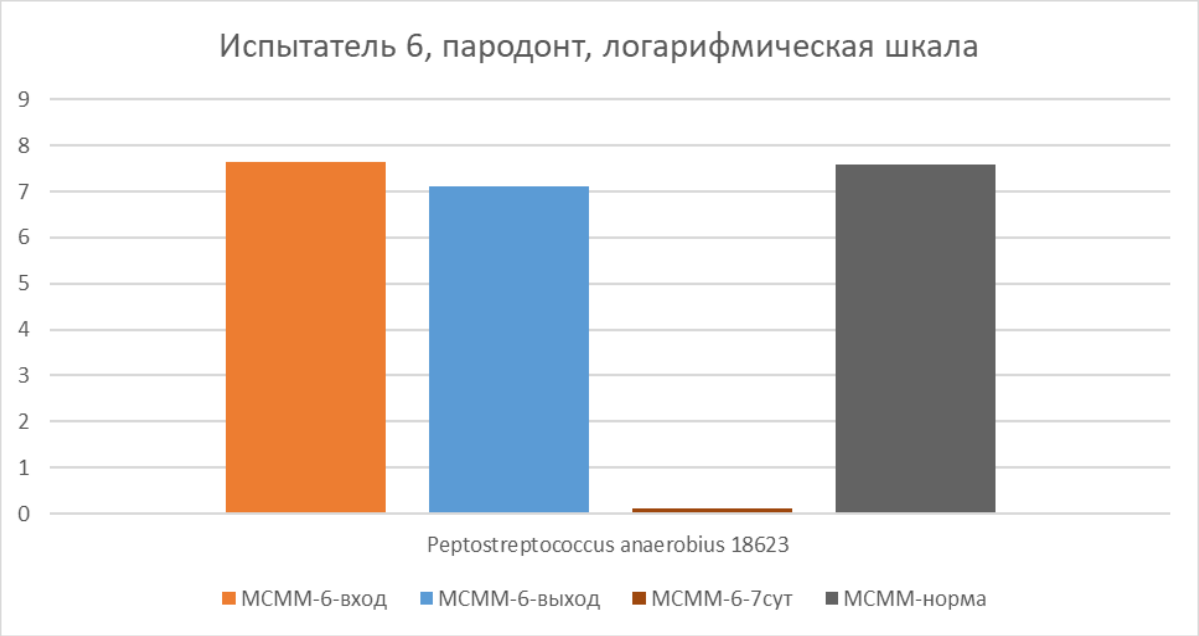
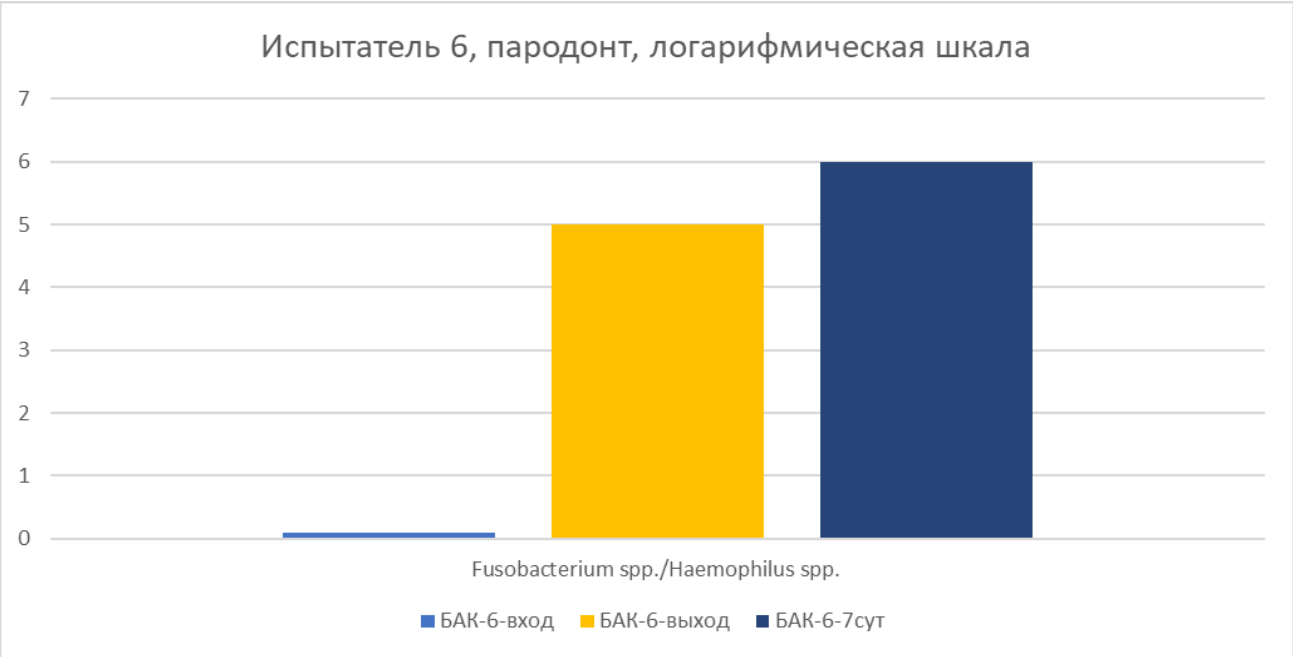


Рисунок 46.а - Испытатель 6. Результаты, полученные бактериологическим методом и методом масс-спектрометрии микробных маркеров.

По горизонтальной оси – методы анализа и сроки отбора проб. По вертикальной оси - уровень содержания *Peptostreptococcus anaerobius*, *Fusobacterium spp.* КОЕ/мл, кл/мл



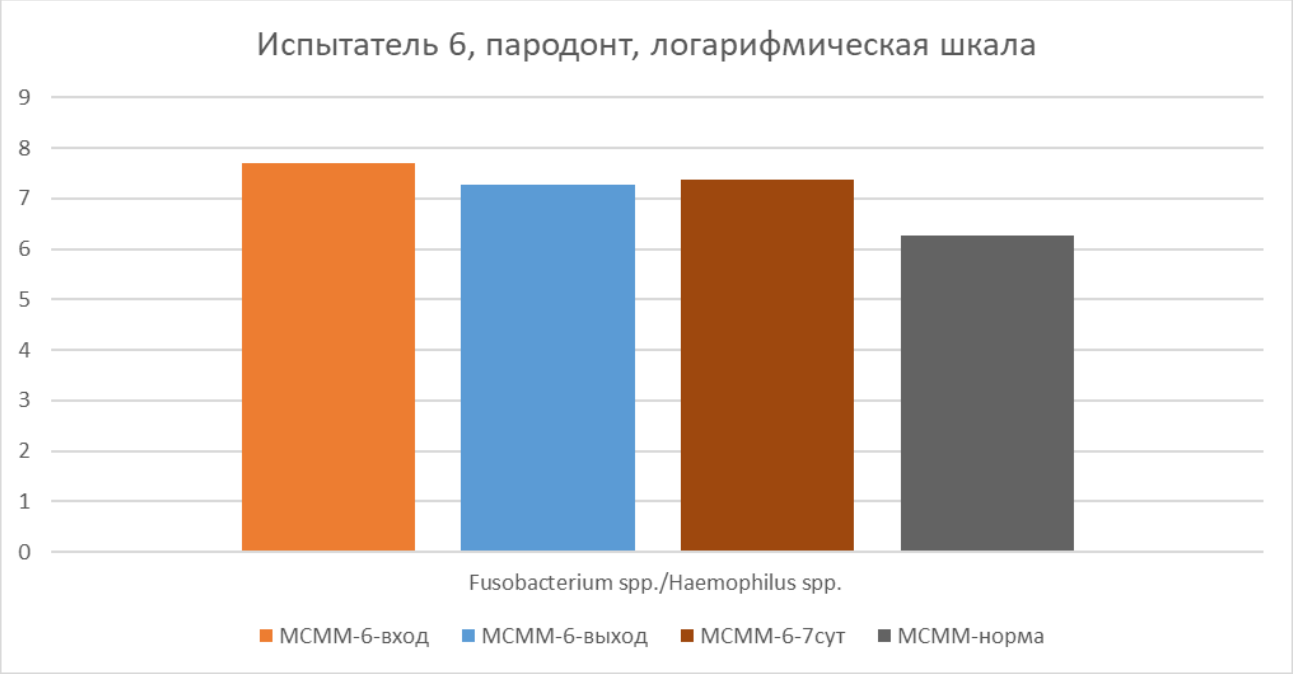
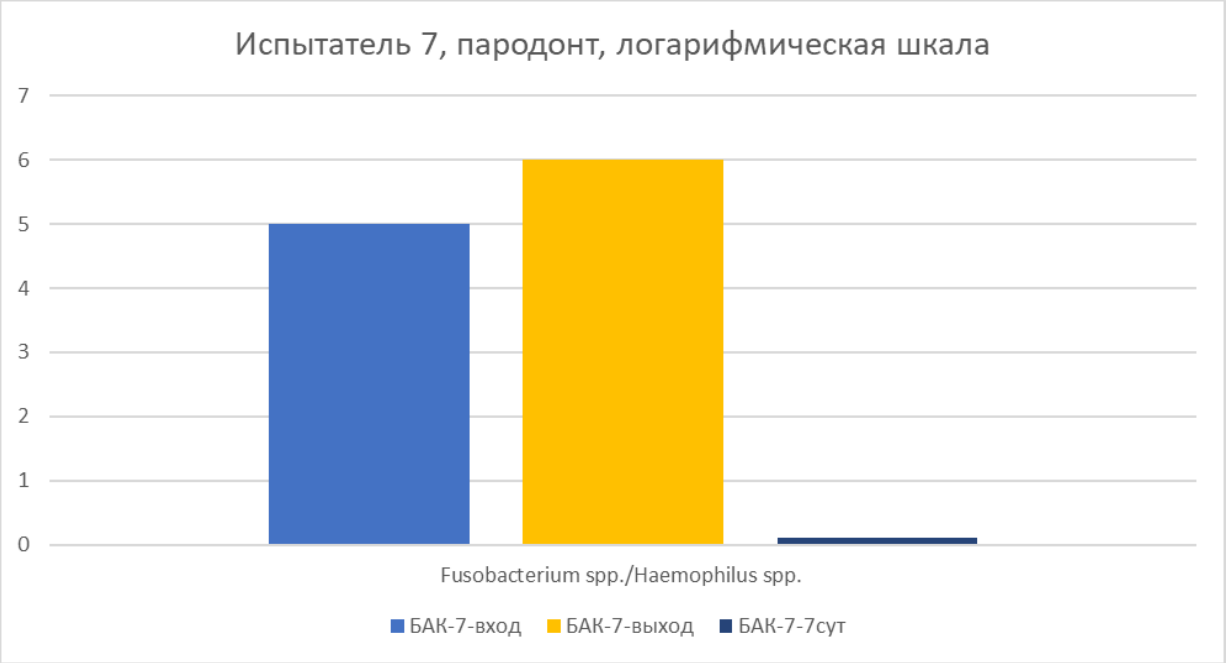


Рисунок 46.б - Испытатель 6. Результаты, полученные бактериологическим методом и методом масс-спектрометрии микробных маркеров.
По горизонтальной оси – методы анализа и сроки отбора проб. По вертикальной оси - уровень содержания *Peptostreptococcus anaerobius, Fusobacterium spp.* КОЕ/мл, кл/мл



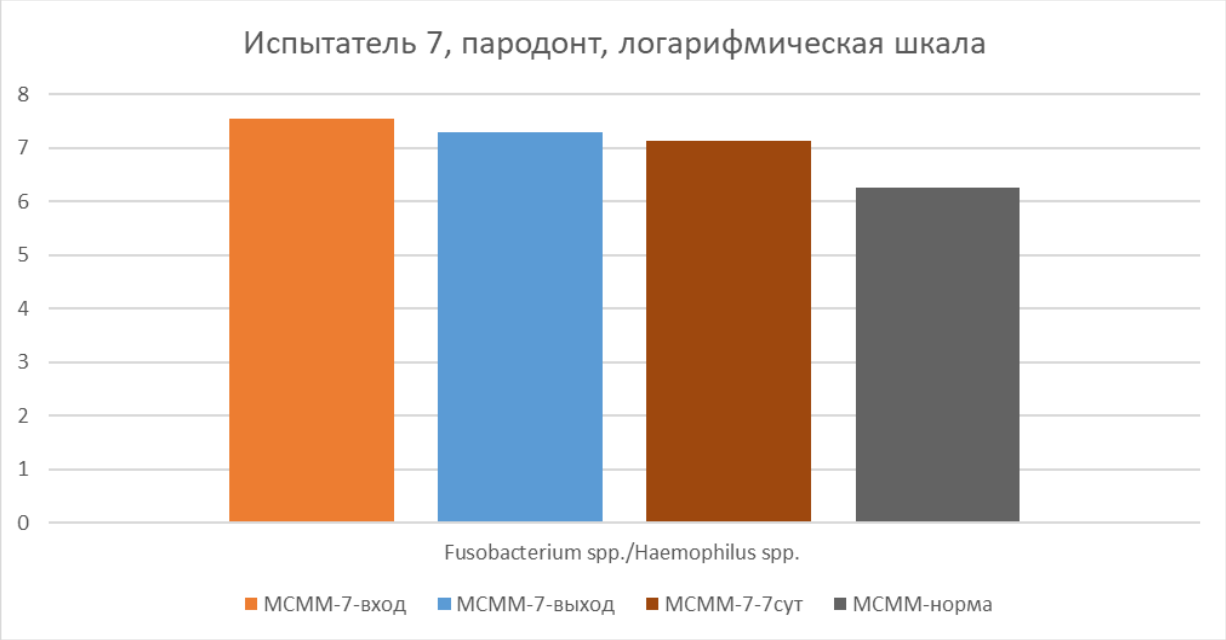
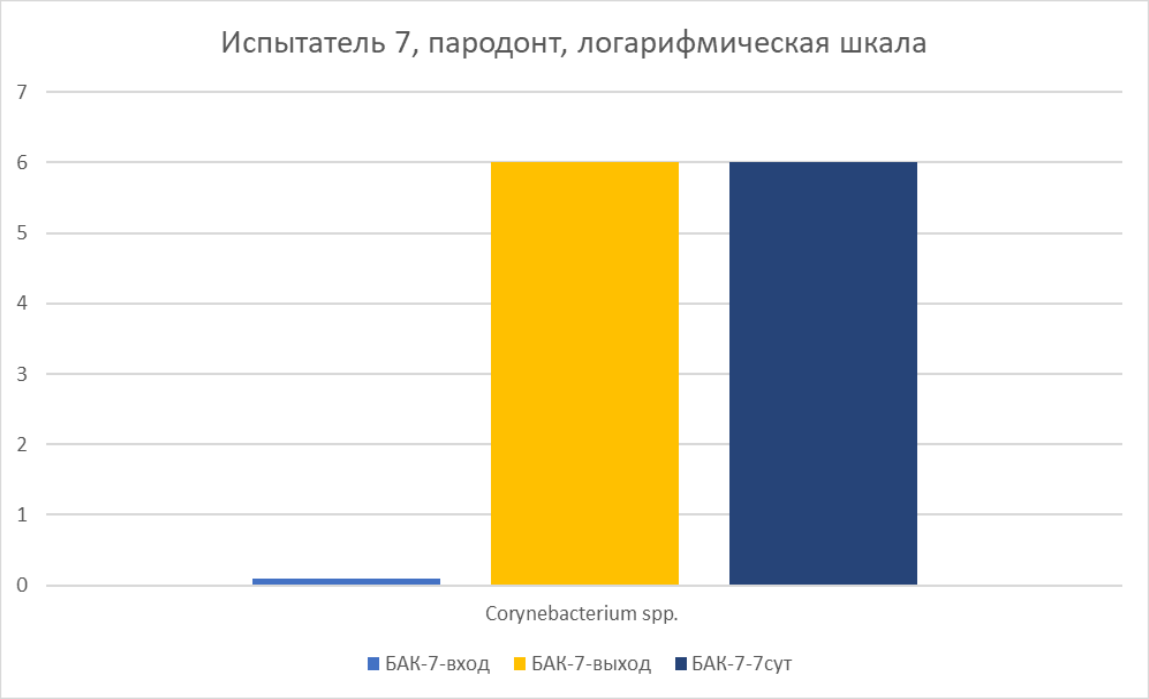


Рисунок 47.а - Испытатель 7. Результаты, полученные бактериологическим методом и методом масс-спектрометрии микробных маркеров.

По горизонтальной оси – методы анализа и сроки отбора проб. По вертикальной оси - уровень содержания *P. anaerobius*, *Fusobacterium spp.*, КОЕ/мл, кл/мл



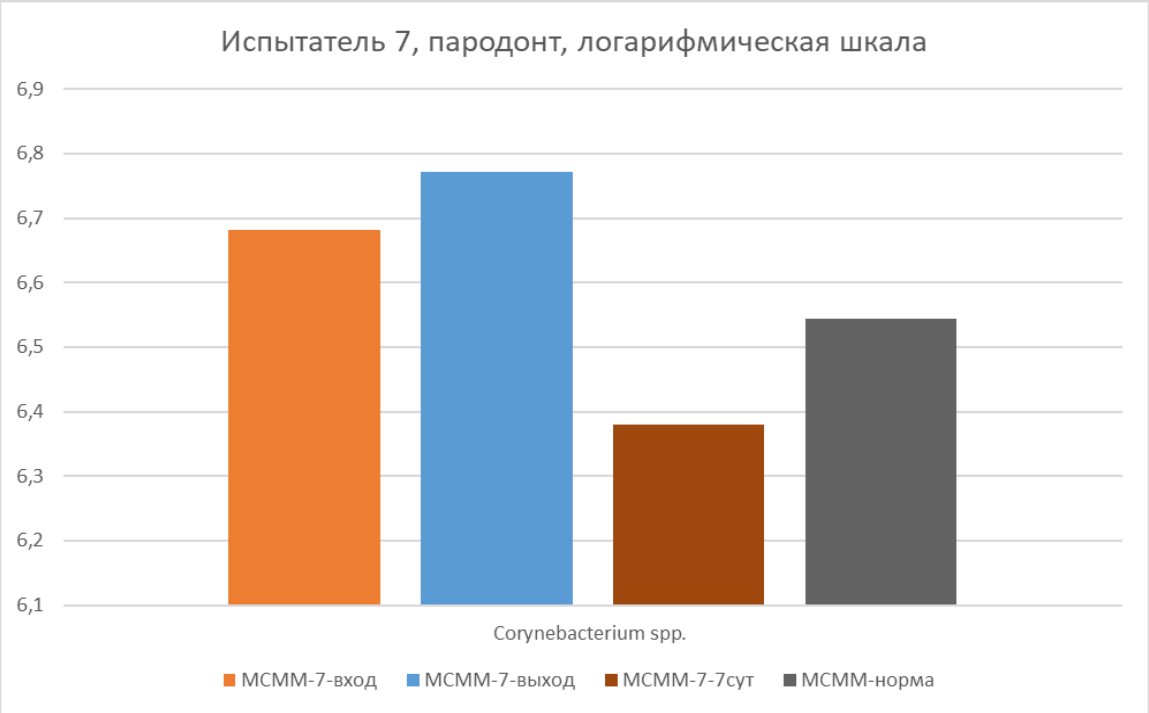


Рисунок 47.б - Испытатель 7. Результаты, полученные бактериологическим методом и методом масс-спектрометрии микробных маркеров.
По горизонтальной оси – методы анализа и сроки отбора проб. По вертикальной оси - уровень содержания *P. anaerobius*, *Fusobacterium spp.*, КОЕ/мл, кл/мл

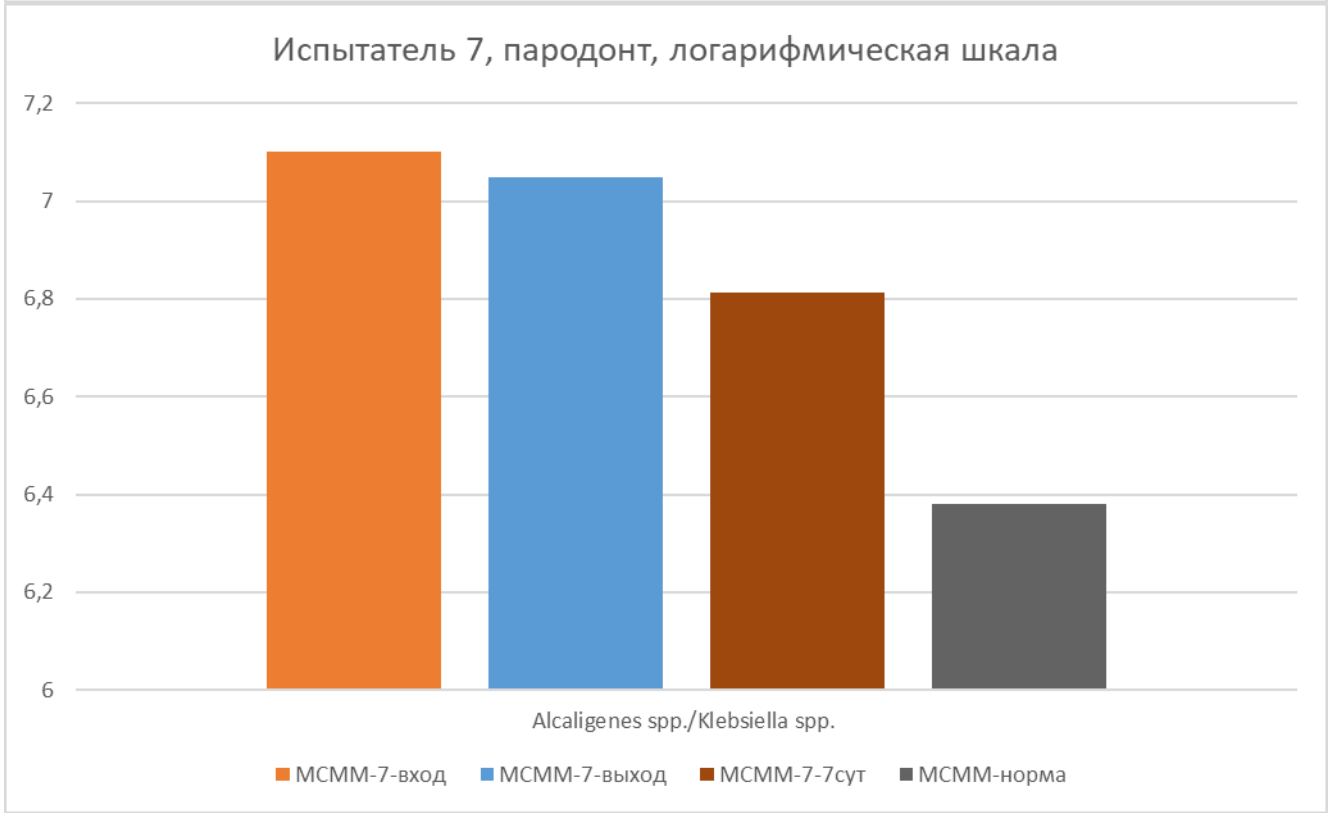


Рисунок 47.в - Испытатель 7. Результаты, полученные бактериологическим методом и методом масс-спектрометрии микробных маркеров.

По горизонтальной оси – методы анализа и сроки отбора проб. По вертикальной оси - уровень содержания *P. anaerobius*, *Fusobacterium spp.*, КОЕ/мл, кл/мл

У 8-го испытателя, при определении методом масс-спектрометрии микробных маркеров, количественные значения *Fusobacterium spp., Actinomyces viscosus* и *Corynebacterium spp*. оставались выше нормы на всем протяжении эксперимента. Бактериологический метод показал растущие значения *Fusobacterium spp*. (выход из эксперимента и 7 сутки по окончанию эксперимента) по сравнению с фоновыми. Наблюдались высокие значения *Actinomyces viscosus* на входе в эксперимент, которые затем полностью исчезли до конца эксперимента. И высокие значения *Corynebacterium spp*. на выходе из эксперимента и 7 сутки после окончания эксперимента (Рисунки 48.а, 48.б и 48.в).

У 9-го испытателя метод масс-спектрометрии микробных маркеров показал высокие количественные показатели *Fusobacterium spp*. на всем протяжении эксперимента. Бактериологический метод показал так же высокие показатели *Fusobacterium spp*. на выходе из эксперимента (Рисунок 49).

У 10-го испытателя метод масс-спектрометрии микробных маркеров на всем протяжении показал одинаково высокие значения *Fusobacterium spp*. на входе и на выходе из эксперимента, в отличие от бактериологического метода, где изначально пиковые значения пришлись на вход в эксперимент с постепенным снижением к 7 суткам после окончания эксперимента (Рисунок 50).

Для единого подсчета значений, полученных бактериологическим методом они были приведены к единому масштабу в 10^5, такому же как в методе масс-спектрометрии микробных маркеров. Таким образом, приведя для наглядности данные в таблице 14, мы наблюдаем накопление условно-патогенной микробиоты на выходе из эксперимента, либо к 7 суткам после окончания эксперимента.

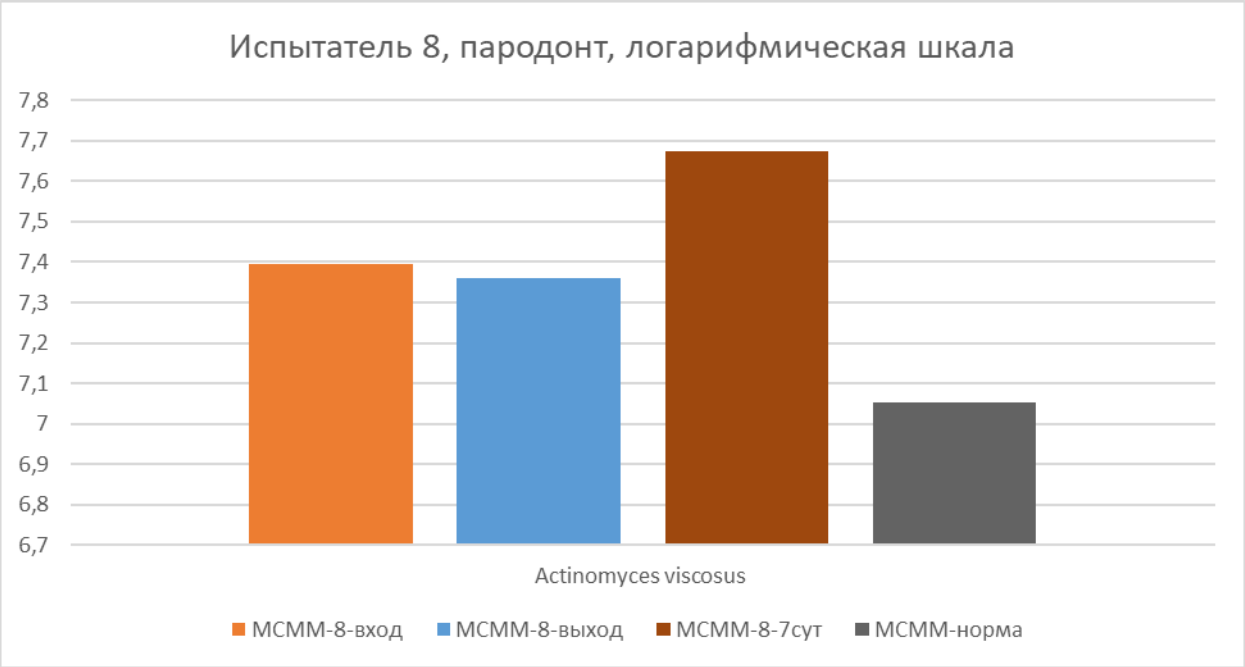
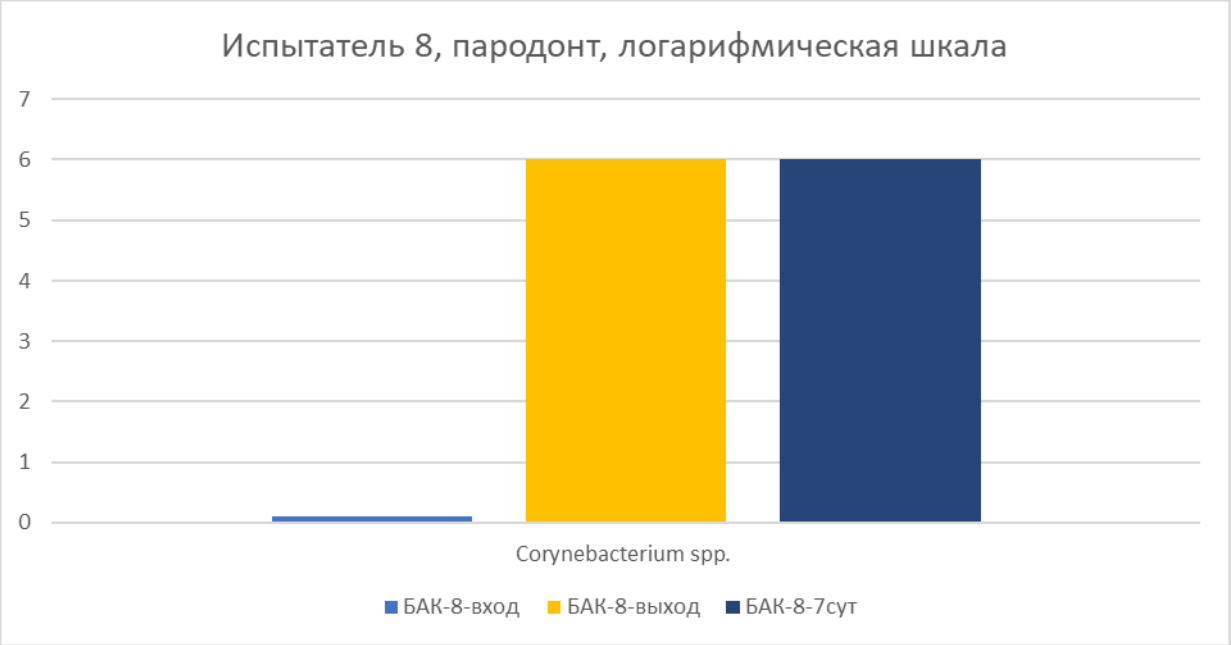


Рисунок 48.а - Испытатель 8. Результаты, полученные бактериологическим методом и методом масс-спектрометрии микробных маркеров.
По горизонтальной оси – методы анализа и сроки отбора проб. По вертикальной оси - уровень содержания *Actinomyces viscosus*, *Corynebacterium spp.*, *Fusobacterium spp.*, КОЕ/мл, кл/мл



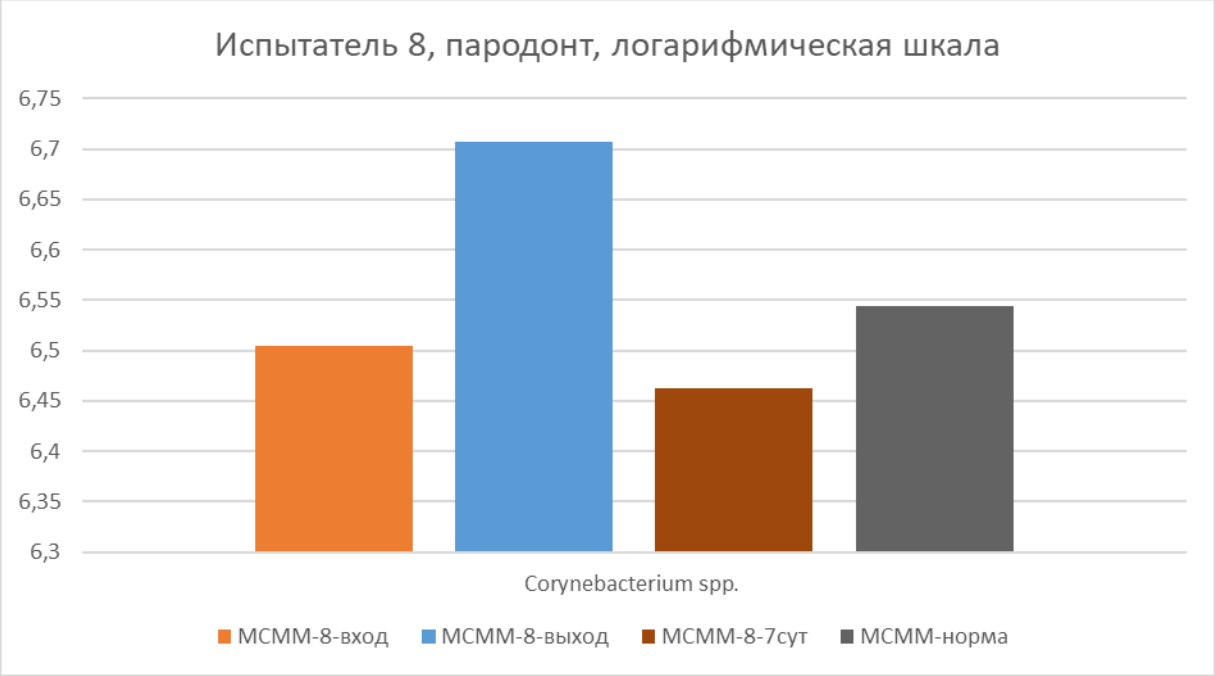
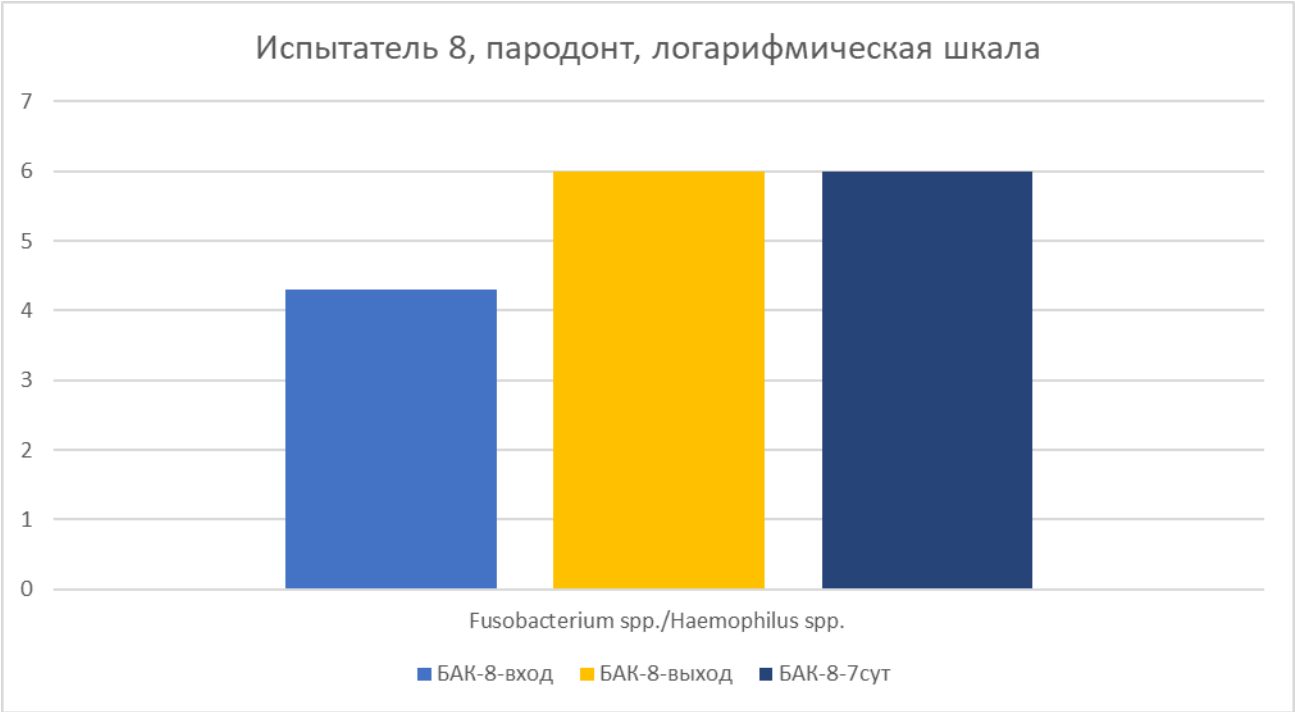


Рисунок 48.б - Испытатель 8. Результаты, полученные бактериологическим методом и методом масс-спектрометрии микробных маркеров.
По горизонтальной оси – методы анализа и сроки отбора проб. По вертикальной оси - уровень содержания *Actinomyces viscosus, Corynebacterium spp., Fusobacterium spp.*, КОЕ/мл, кл/мл



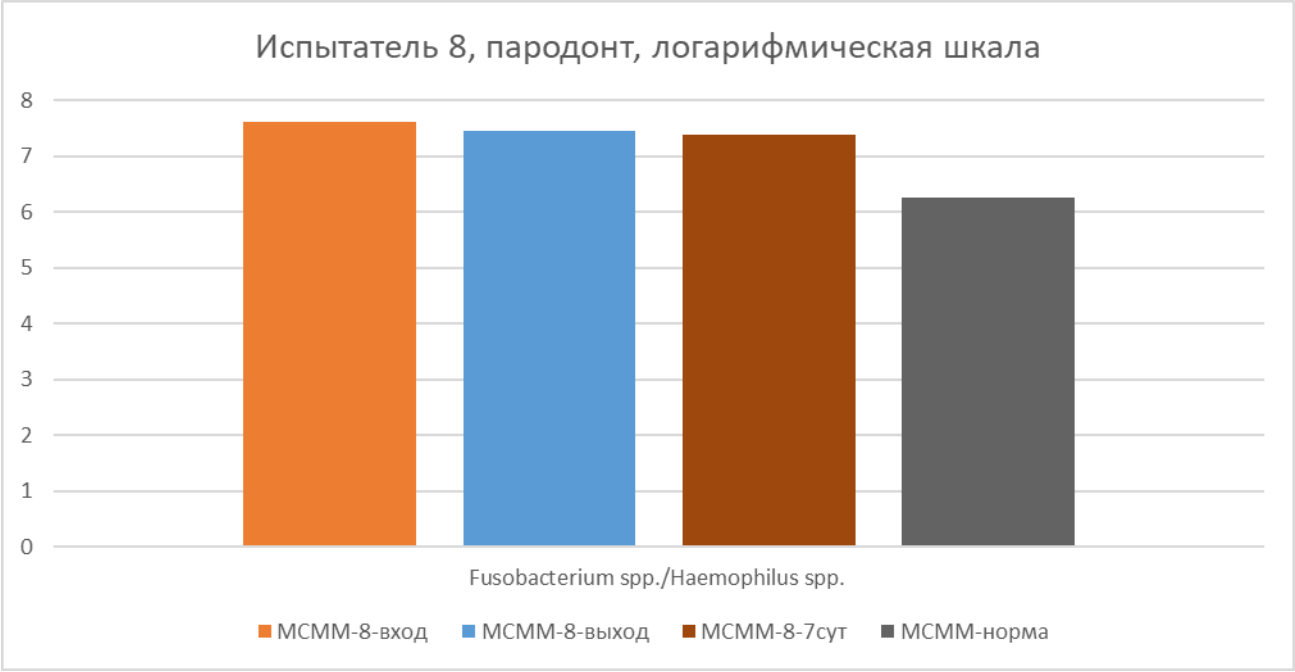
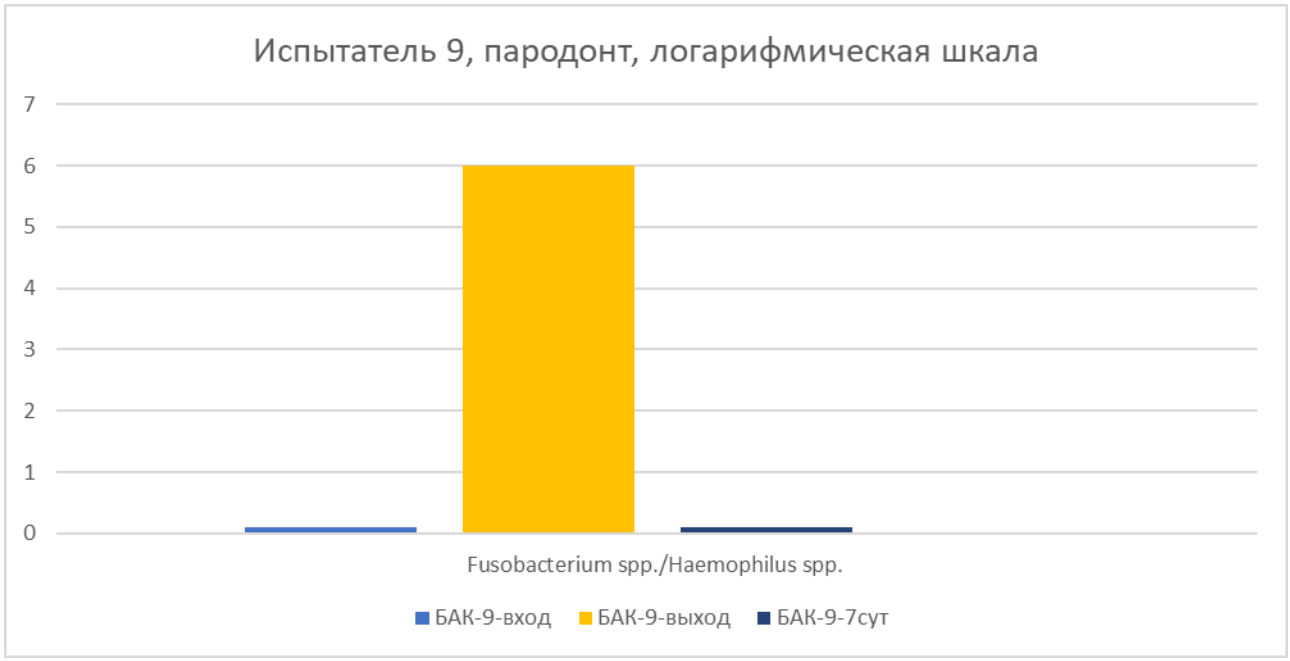


Рисунок 48.в - Испытатель 8. Результаты, полученные бактериологическим методом и методом масс-спектрометрии микробных маркеров.
По горизонтальной оси – методы анализа и сроки отбора проб. По вертикальной оси - уровень содержания *Actinomyces viscosus, Corynebacterium spp., Fusobacterium spp.*, КОЕ/мл, кл/мл



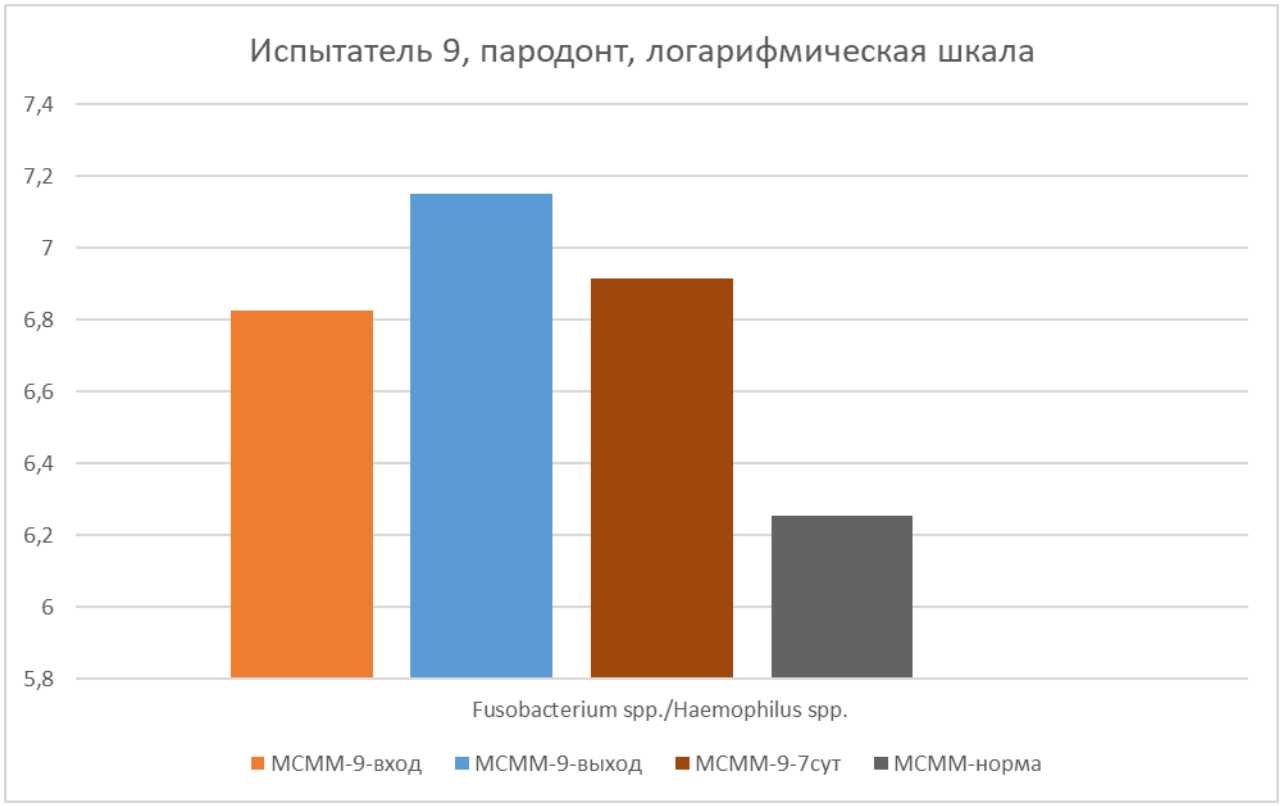
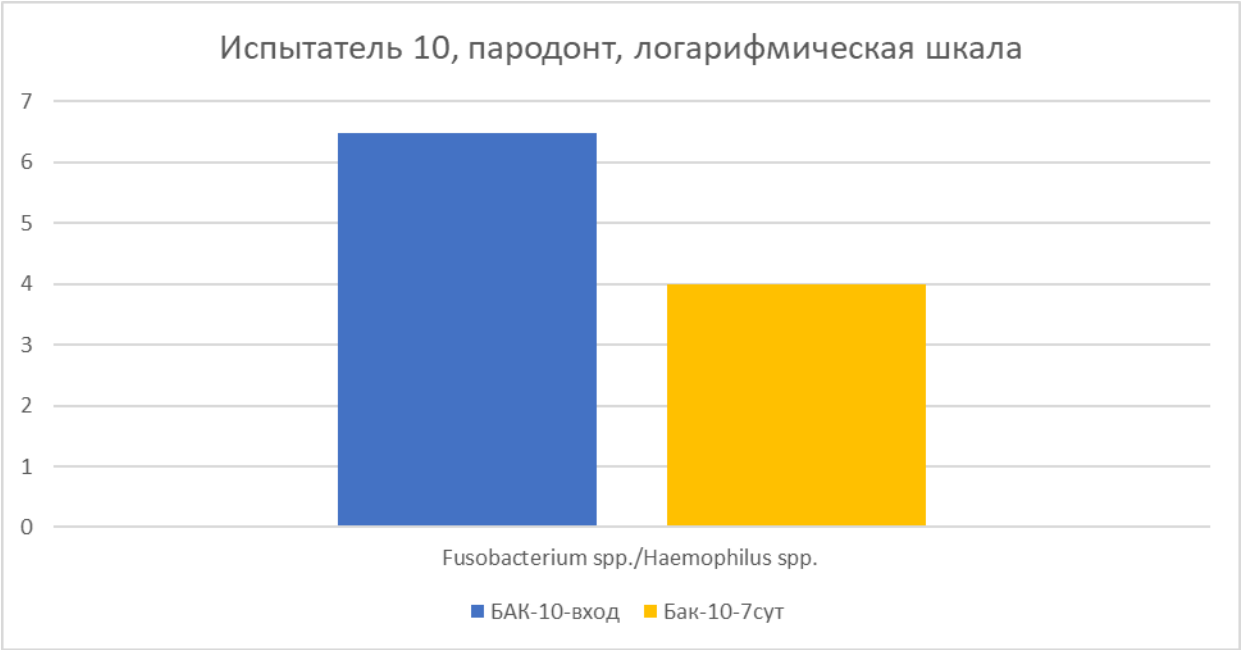


Рисунок 49 - Испытатель 9. Результаты, полученные бактериологическим методом и методом масс-спектрометрии микробных маркеров. По горизонтальной оси – методы анализа и сроки отбора проб.

По вертикальной оси - уровень содержания *Peptostreptococcus anaerobius*, *Fusobacterium spp.*, КОЕ/мл, кл/мл



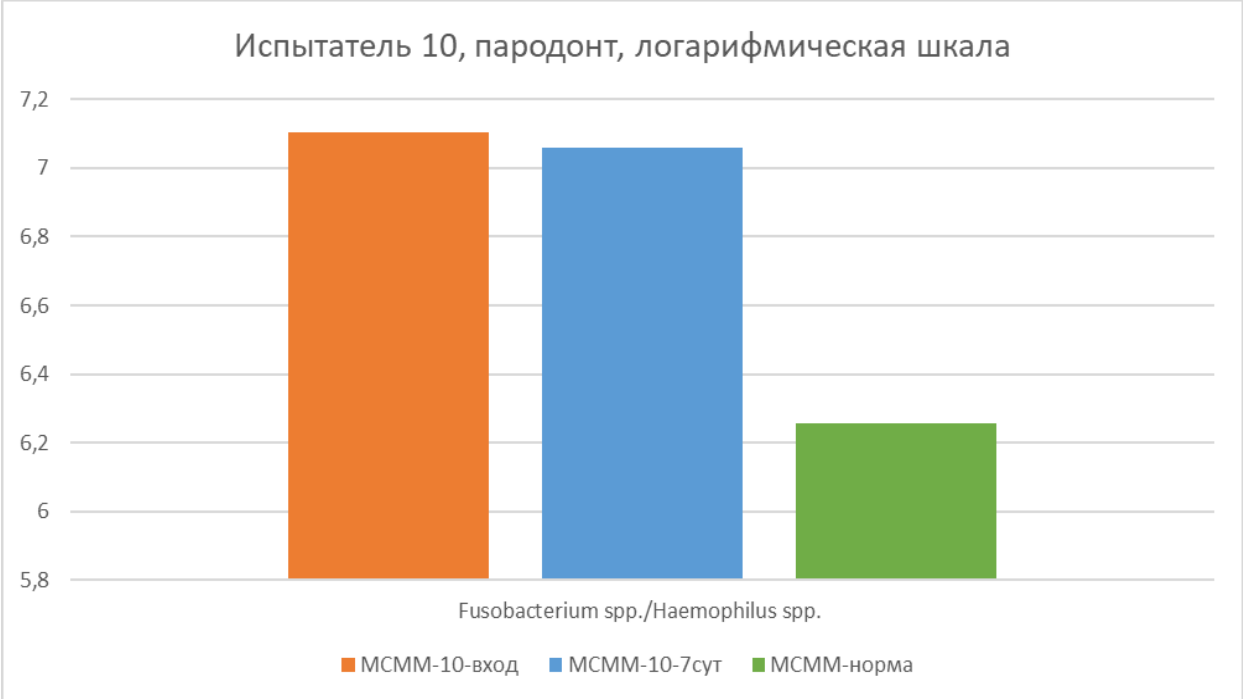


Рисунок 50 - Испытатель 10. Результаты, полученные бактериологическим методом и методом масс-спектрометрии микробных маркеров. По горизонтальной оси – методы анализа и сроки отбора проб

Таблица 14 - Рост условно-патогенной микробиоты на протяжении эксперимента детектированной двумя методами (бактериологический метод и метод масс-спектрометрии микробных маркеров)

Участники	**Методы**		
	Бактериологический метод (пиковые значения)	**Метод масс-спектрометрии микробных маркеров (пиковые значения)**	**Норма (Метод масс-спектрометрии микробных маркеров)**
1	**2**	**3**	**4**
Участник 3	*Corynebacterium spp.* 10^7 (+ 7 сутки эксперимента)	*Corynebacterium spp.* 10^6 (выход из эксперимента)	*Corynebacterium spp.* 10^6
	Klebsiella spp. *10^3* (+ 7 сутки)	*Klebsiella spp.* *10^7 (выход)*	*Klebsiella spp.* *10^6*
Участник 5	*Klebsiella spp.* 10^7 (выход)	*Klebsiella spp.* *10^7 (вход, выход)*	*Klebsiella spp.* *10^6*
	Streptococcus spp. *10^6 (выход)*	*Streptococcus spp.* *10^7 (+ 7 сутки)*	*Streptococcus spp.* *10^6*
Участник 6	*Fusobacterium spp.* *10^6 (+ 7 сутки)*	*Fusobacterium spp.* *10^7(вход, выход, + 7)*	*Fusobacterium spp.* *10^6*
	Peptostreptococcus anaerobius *10^7 (+7 сутки)*	*Peptostreptococcus anaerobius* *10^7 (вход)*	*Peptostreptococcus anaerobius* *10^7*

Продолжение таблицы 14

1	2	3	4
Участник 7	*Fusobacterium spp.* 10^6 (выход)	*Fusobacterium spp.* 10^7(вход, выход, + 7 сутки)	*Fusobacterium spp.* 10^6
	Klebsiella spp. 10^5 *(выход)*	*Klebsiella spp.* 10^7*(вход)*	*Klebsiella spp.*, 10^6
	Corynebacterium spp. 10^6 *(выход и +7сутки)*	*Corynebacterium spp.* 10^6 *(выход)*	*Corynebacterium spp.* 10^6
Участник 8	*Fusobacterium spp.* 10^5 *(выход, + 7 сутки)*	*Fusobacterium spp.* 10^7*(выход, + 7 сутки)*	*Fusobacterium spp.* 10^6
	Actinomyces viscosus 10^4 *(вход)*	*Actinomyces viscosus* 10^7 *(+7 сутки)*	*Actinomyces viscosus* 10^7
	Corynebacterium spp. 10^6 *(выход, +7 сутки)*	*Corynebacterium spp.* 10^7 *(выход)*	*Corynebacterium spp.* 10^6
Участник 9	*Fusobacterium spp.* 10^5 *(выход)*	*Fusobacterium spp.* 10^7*(выход)*	*Fusobacterium spp.* 10^6
Участник 10	*Fusobacterium spp.* 10^5 *(вход)*	*Fusobacterium spp.* 10^7*(вход, выход)*	*Fusobacterium spp.* 10^6

Примечание – Фон * - за неделю до начала эксперимента; вход * - перед вхождением в эксперимент; выход* - выход из эксперимента (14 суток); + 7 сутки – через неделю, после выхода из эксперимента.

Сравнивая два наиболее наглядных условных патогена на примере *Corynebacterium spp. и Klebsiella spp.* (Рисунки 51 и 52). Графики показывают более высокий доверительный интервал количественных результатов исследования проб, полученных методом масс-спектрометрии микробных маркеров, по сравнению с бактериологическим методом, что может быть связано с высокой чувствительностью метода, который регистрирует структурные жирные кислоты бактериальных клеточных мембран. В целом, оба метода показывают схожие результаты и являются достоверными ($p < 0,05$).

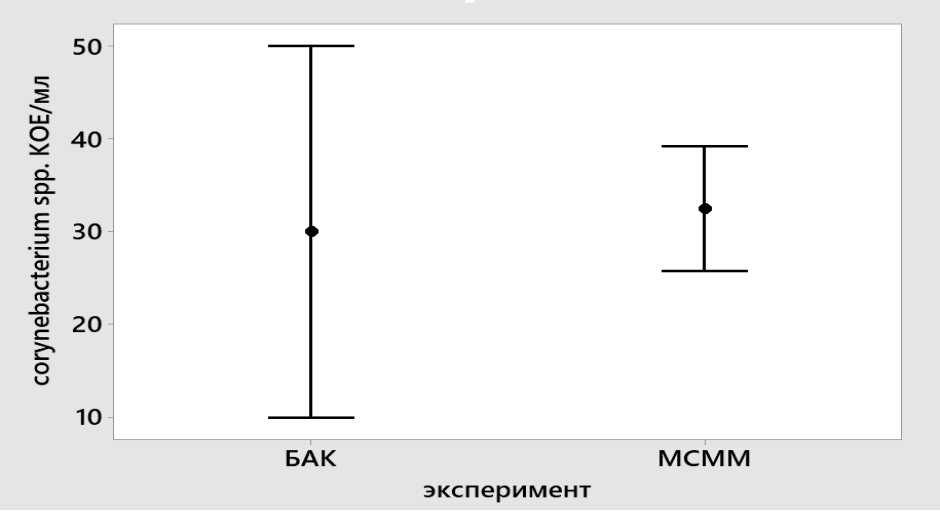


Рисунок 51 - Сравнение двух методов на примере пародонтопатогена *Corynebacterium spp.*

По горизонтальной оси – методы анализа. По вертикальной оси - уровень содержания *Corynebacterium spp.* КОЕ/мл, кл/мл

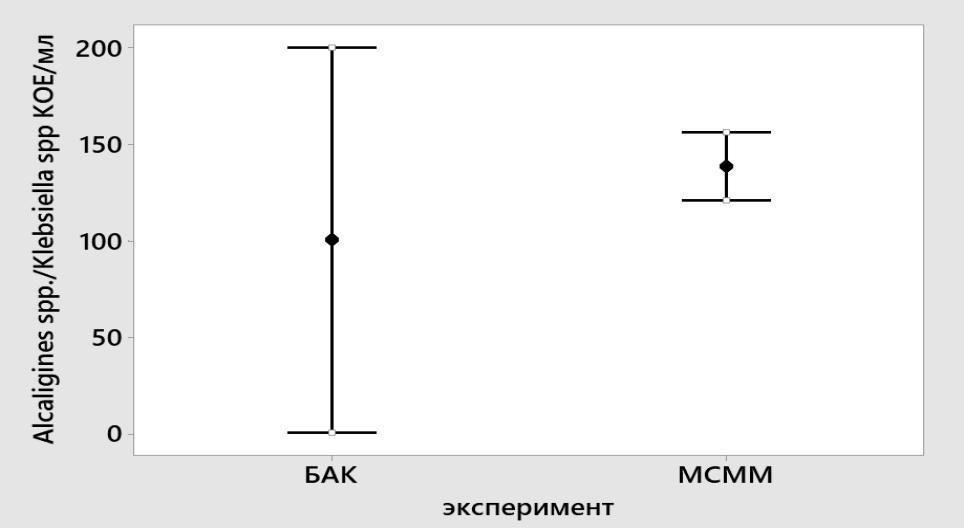


Рисунок 52 - Сравнение двух методов на примере пародонтопатогена *Klebsiella spp.*

По горизонтальной оси – методы анализа. По вертикальной оси - уровень содержания *Klebsiella spp.*, КОЕ/мл, кл/мл

3.2.1 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Резюмируя вышесказанное, можно сказать, что оба метода показали схожие значения накопления условно-патогенной микробиоты с пиковыми значениями на выходе из эксперимента, либо к 7 суткам по окончанию эксперимента, что подтверждает ранее проведенные исследования (синдром нарушения колонизационной резистентности организма). Можно также выделить две группы микроорганизмов, тех, которые подверглись росту в течение эксперимента и те, которые не ответили ростом. К первой группе можно отнести: *Fusobacterium spp., Actinomycetemcomitans, Corynebacterium spp., Klebsiella spp., Streptococcus spp*. Ко второй группе, не показавшей рост можно отнести *P. anaerobius, A. viscosus.* Замечено так же, что значения одних и тех же микроорганизмов были достаточно вариабельны у разных участников, что может быть связано с индивидуальной микробиотой каждого участника и характеризуется индивидуальным накоплением условно-патогенной микробиоты. При сравнивании (на примере

Klebsiella spp.) (Рисунок 52) можно видеть, что метод масс-спектрометрии микробных маркеров является более чувствительным по сравнению с бактериологическим методом с достоверными значениями $p < 0,05$.

3.3 ПРИМЕНЕНИЕ АУТОПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА САЛИВАРНОГО СТРЕПТОКОККА В УСЛОВИЯХ ИЗМЕНЕННОЙ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА «SIRIUS 2021–22»

В ходе эксперимента 5 разнополых испытуемых–добровольцев в возрасте от 30 до 46 лет в рамках международной программы «Sirius-2021» в течение восьми месяцев находились в замкнутом герметичном пространстве, имитирующем капсулу космического корабля. В течение эксперимента брались пробы слюны и пробы в области зева, сравнивали динамику влияния аутопробиотического препарата на основе штамма *S.salivarius*, который давали в течении 14 дней, начиная с 150 суток эксперимента. Изучалась динамика до и после применения аутопробиотиеского препарата на зубочелюстную систему, включающую пародонт и слизистые. Методом масс-спектрометрии микробных маркеров были обнаружены следующие микроорганизмы: *S. mutans, S. aureus*, *Fusobacterium spp., Prevotella spp., Klebsiella spp., Porphyromonas spp., Candida spp., Corynebacterium spp., Actinomyces spp., Candida spp.* В данном эксперименте мы наблюдаем несколько видов микроорганизмов, которые можно разделить на группы: 1 группа - рост условно-патогенной микробиоты в слюне, 2 группа – рост условно-патогенной микробиоты в зеве, 3 группа – та, которая отреагировала на аутопробиотическую терапию, 4 – группа - не отреагировавшая на аутопробиотическую терапию (Таблица 15).

Таким образом, мы видим, что реакция на накопление условно-патогенной микробиоты в слюне и зеве достаточно сильно различаются от локализации места изъятия пробы и от конкретного микроорганизма. У таких условных патогенов,

как: *S.mutans, S. aureus, Klebsiella spp., Candida spp*., уже на 30-е сутки отмечался рост условно-патогенной микробиоты в слюне, в отличие от зева, где рост наблюдался лишь у *Klebsiella spp. и Corynebacterium spp.* (Рисунки 53 и 54). Затем мы наблюдаем постепенный рост (с 30-х суток по 150-е сутки) у таких микроорганизмов как*: S. mutans, S. aureus, Fusobacterium spp., Prevotella spp., Actinomyces spp., Klebsiella spp., Porphyromonas spp., Candida spp.* И к началу приема аутопробиотического препарата *S.salivarius* (150-е сутки) виден явный накопительный рост условно-патогенной микробиоты в мазках зева и слюны. Здесь необходимо заметить, что такие микроорганизмы как*: S. aureus, Fusobacterium spp., Actinomyces spp., Klebsiella spp., Porphyromonas spp., Candida spp*. снизили количество условно-патогенной микробиоты уже с начала приема аутопробиотического препарата, другие же микроорганизмы, такие как*: S. mutans* и *Prevotella spp*. начали свое действие лишь со 160-х (Рисунки 53 и 54) суток. К 210-м суткам мы снова наблюдаем возобновление возрастания некоторого количества условно-патогенной микробиоты *(S. aureus, Fusobacterium spp., Klebsiella spp., Porphyromonas spp., Candida spp.)* что может быть связано с постепенным выведением препарата из организма у испытуемых.

Как показали исследования, уровень условно-патогенной микробиоты в пробах слюны (*S. aureus, Prevotella spp., Corynebacterium spp., Klebsiella spp.*) достоверно выше, чем в мазках из зева, после проведенной аутопробиотической терапии, т. е. если сравнивать фоновые значения и после приема аутопробиотического препарата, то статистически верно изменились показания в большем количестве в слюне, нежели, чем в зеве. Это говорит нам о том, что слюна лучше реагирует на аутопробиотический препарат, чем зев и наибольшее влияние будет оказывать на слюну и область пародонта (Таблица 16).

Таблица 15 – Условно-патогенная микробиота в слюне и зеве у участников эксперимента «Sirius 2021–22»

	Слюна	**Зев**
Рост (накопление) условно-патогенной микробиоты в течение эксперимента	*S. mutans, S. aureus, Fusobacterium spp., Prevotella spp., Actinomyces spp., Klebsiella spp., Porphyromonas spp., Candida spp*	*S. mutans, S. aureus, Corynebacterium spp., Klebsiella spp.,*
Количество условно-патогенной микробиоты снижается или изменяется незначительно течение эксперимента	*Corynebacterium spp.,*	*Fusobacterium spp., Prevotella spp., Actinomyces spp., Porphyromonas spp., Candida spp*
Условно патогенная микробиота, отреагировавшая на аутопробиотическую терапию	*S. mutans, S. aureus, Fusobacterium spp., Prevotella spp., Actinomyces spp., Klebsiella spp., Porphyromonas spp., Candida spp.*	*Fusobacterium spp., Prevotella spp., Corynebacterium spp., Klebsiella spp., Porphyromonas spp., Candida spp.*
Условно патогенная микробиота, не отреагировавшая на аутопробиотическую терапию		*S. mutans, S. aureus, Actinomyces spp.*

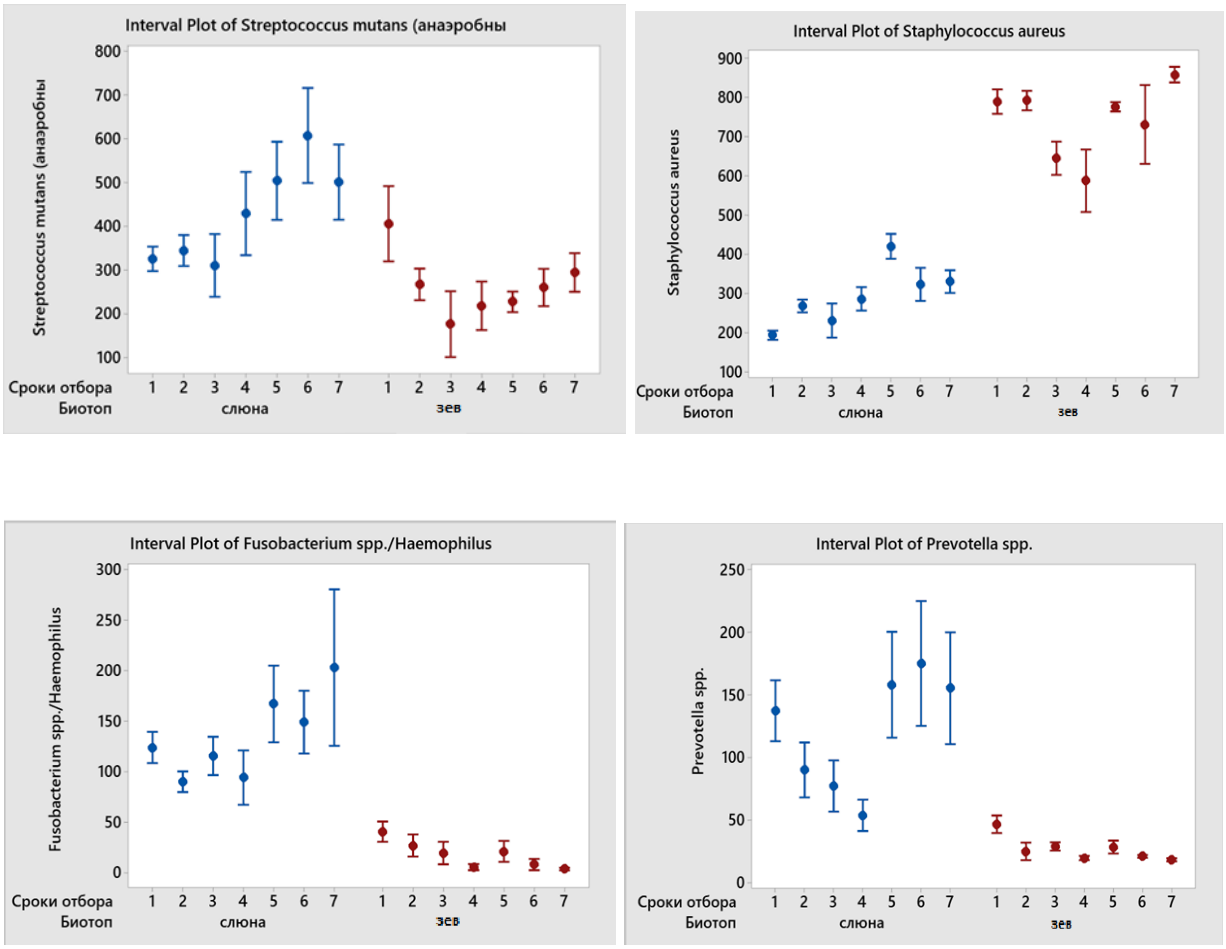


Рисунок 53 - Показатели слюны и мазков из зева методом масс-спектрометрии микробных маркеров. По горизонтали биотопы и сроки отбора проб. По вертикальной оси уровень содержания - *S. mutans, S. aureus, Fusobacterium spp., Prevotella spp.*, кл/мл

Сроки отбора проб: 1. 14 дней от входа в эксперимент (фон); 2. 30 сутки; 3. 60 сутки; 4. 120 сутки; 5. 150 сутки; 6. 160 сутки; 7. 210 сутки. $p < 0.05$

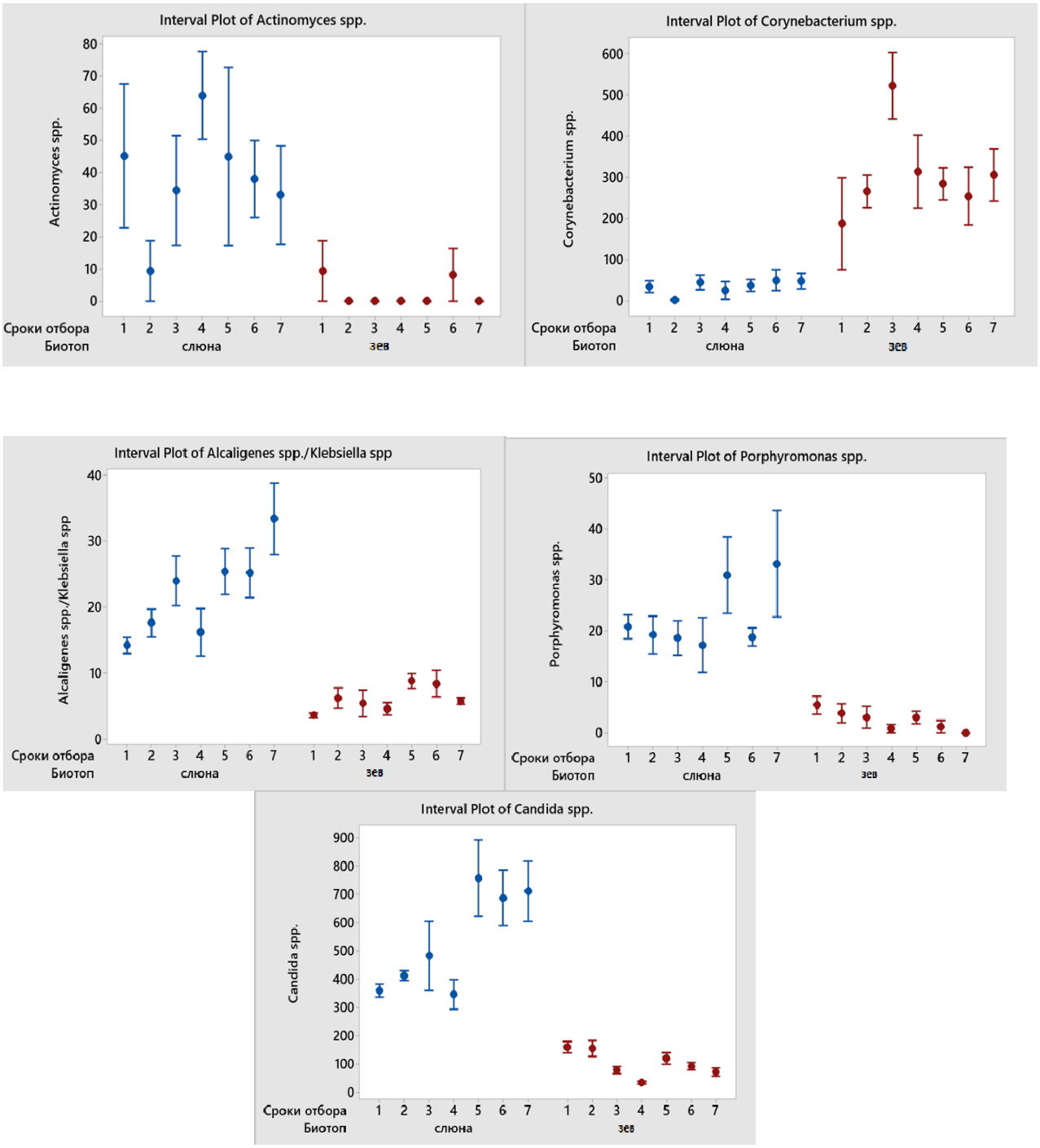


Рисунок 54 - Показатели слюны и мазков из зева методом масс-спектрометрии микробных маркеров, кл/мл

По горизонтали биотопы и сроки отбора проб. По вертикальной оси уровень содержания - *Actinomyces spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Klebsiella spp.*, *Porphyromonas spp.*, *Candida spp.*, кл/мл. Сроки отбора проб: 1. 14 дней от входа в эксперимент (фон); 2. 30 сутки; 3. 60 сутки; 4. 120 сутки; 5. 150 сутки; 6. 160 сутки; 7. 210 сутки. $p < 0.05$

Таблица 16 - Статистически достоверные изменения (p <0.05) по содержанию пародонтопатогенов в слюне и зеве

Биотоп	Микроорганизмы	Wilcoxon p-value (0,05 threshold)
Слюна	*S.mutans*	0,01661
	Staphylococcus aureus	0,00934 *
	Fusobacterium spp./Haemophilus spp.	0,05934
	Prevotella spp.	0,03666 *
	Veillonella spp.	0,114129
	Actinomyces spp.	0,888638
	Corynebacterium spp.	0,02799 *
	Alcaligenes spp./Klebsiella spp.	0,04685 *
	Porphyromonas spp.	0,540818
Зев	*S.mutans*	0,0926016735
	Staphylococcus aureus	0,1394149574
	Fusobacterium spp./Haemophilus spp.	0,1394149574
	Prevotella spp.	0,8784818397
	Veillonella spp.	0,7353169124
	Corynebacterium spp.	0,4445873026
	Alcaligenes spp./Klebsiella spp.	0,041492 *
	Porphyromonas spp.	0,583883

Примечание - * Красные цифры - после приема пробиотика есть статистически значимые изменения.

3.3.1 БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД

С использованием бактериологического метода у участников исследования была высеяна следующая микробиота: *Streptococcus spp., S.aureus, Enterococcus spp*.

На 60-е сутки нахождения в эксперименте наблюдается рост *Enterococcus spp*. лишь у двух участников (2 и 3) (Рисунки 56 и 57). К 90-м суткам отмечен рост уровня микробной обсемененности условно - патогенной микробиоты *Streptococcus spp.* у всех участников и *Staphylococcus aureus.* у 4-го участника, но показатели нормы (10^4 КОЕ/мл) не превышены. К началу 120-х суток мы наблюдаем дальнейший рост условно-патогенной микробиоты и присоединение у 1, 2 и 3 участников *S. aureus*. К началу приема аутопробиотического препарата (150 сутки) верифицируется присутствие условно-патогенной микробиоты, к 180-м суткам (окончание приема аутопрепарата), отмечается уход *S. aureus* у всех участников эксперимента и повышение значений протективной группы (Рисунки 55-59). У всех участников, кроме 5-го участника (10^6) на значения *Enterococcus spp*. на 180-е сутки оставались в пределах нормы. На 210-е сутки и 240-е сутки у всех участников эксперимента уровень микробной обсемененности *Streptococcus spp., S. aureus, Enterococcus spp.* не превышает нормальных значений, что может говорить о пролонгированном действии аутопробиотического препарата.

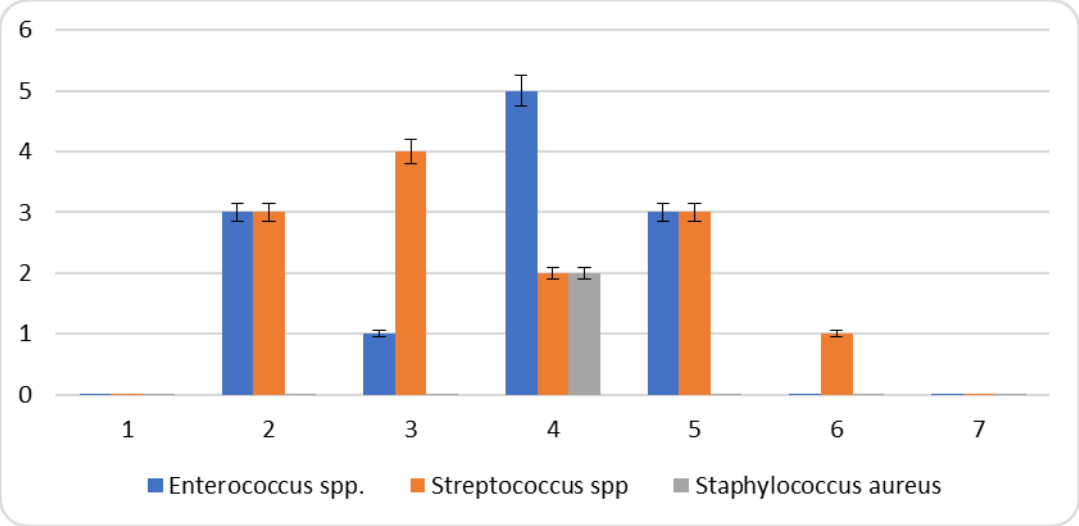


Рисунок 55 - Участник 1. Показатели слюны и мазков из зева бактериологическим методом. По горизонтальной оси – сроки отбора проб. По вертикальной оси - уровень содержания *Enterococcus spp., Streptococcus spp., S. aureus. КОЕ/ мл.* Сроки отбора проб: 1- 60сутки, 2–90 сутки, 3–120 сутки, 4–150 сутки, 5- 180 сутки, 6-210 сутки, 7-240 сутки. $p < 0.05$

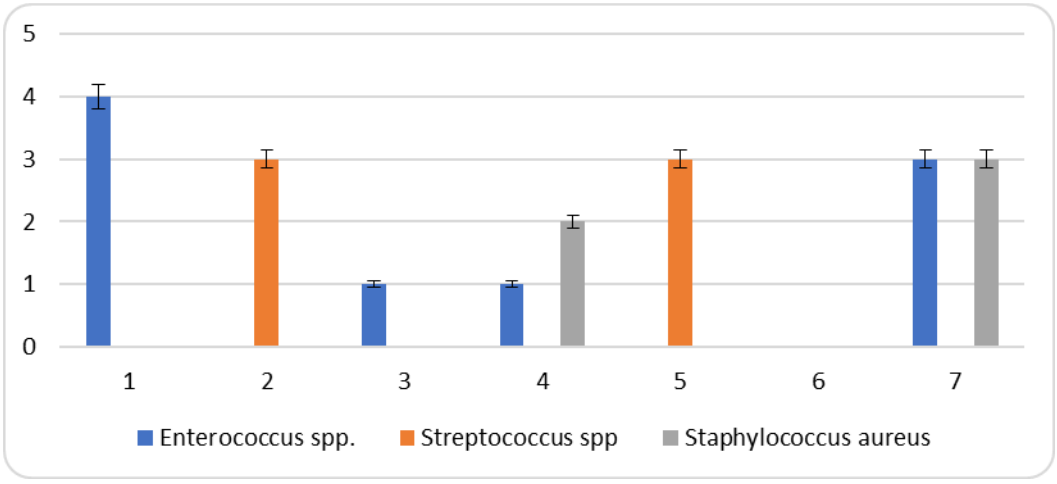


Рисунок 56 - Участник 2. Показатели слюны и мазков из зева бактериологическим методом. По горизонтальной оси - сроки отбора проб. По вертикальной оси - уровень содержания *Enterococcus spp., Streptococcus spp., S. aureus. КОЕ/ мл.* Сроки отбора проб: 1- 60сутки, 2–90 сутки, 3–120 сутки, 4–150 сутки, 5- 180 сутки, 6-210 сутки, 7-240 сутки. $p < 0.05$

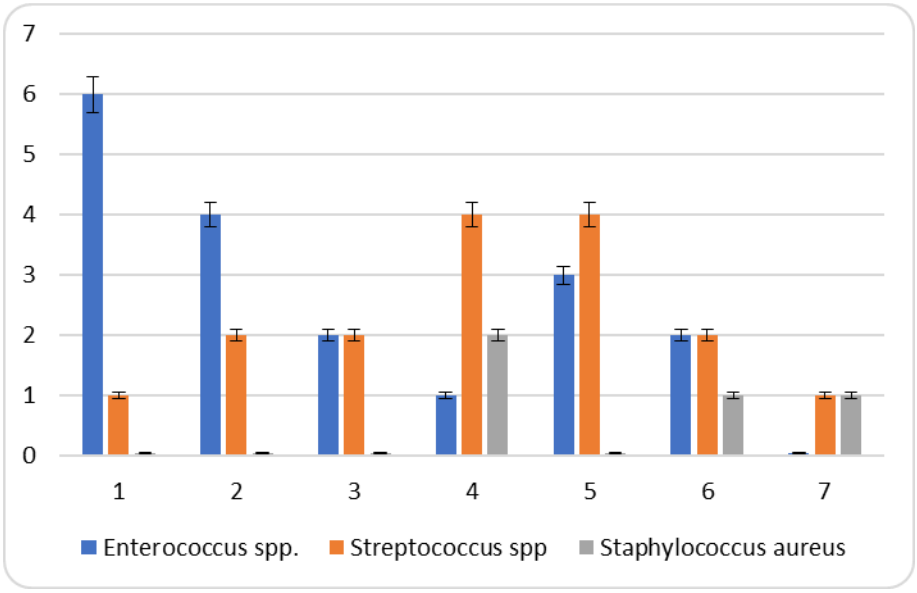


Рисунок 57 - Участник 3. Показатели слюны и мазков из зева бактериологическим методом. По горизонтальной оси – сроки отбора проб. По вертикальной оси - уровень содержания *Enterococcus spp., Streptococcus spp., S. aureus. КОЕ/ мл.* Сроки отбора проб: 1- 60сутки, 2–90 сутки, 3–120 сутки, 4–150 сутки, 5- 180 сутки, 6-210 сутки, 7-240 сутки. $p < 0.05$

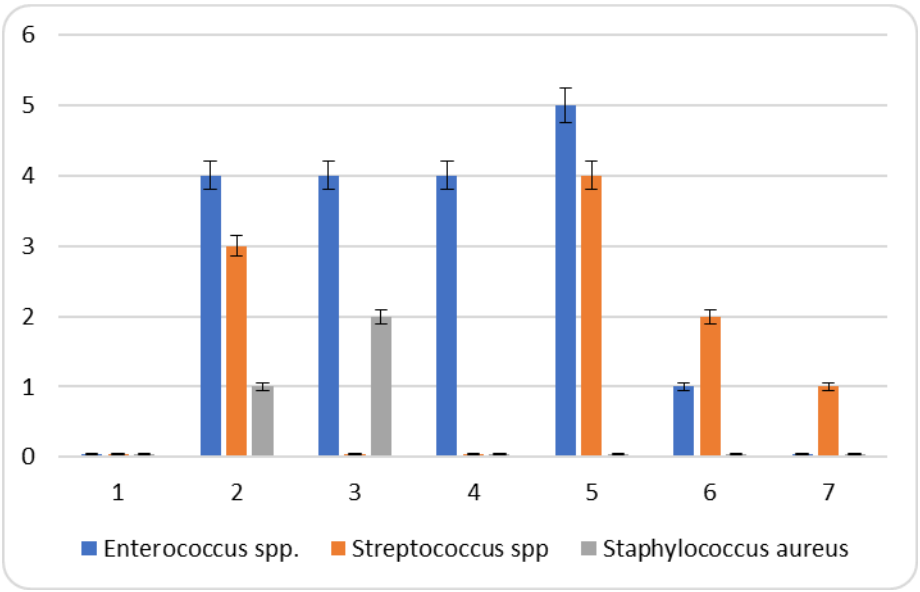


Рисунок 58 - Участник 4. Показатели слюны и мазков из зева бактериологическим методом. По горизонтальной оси – сроки отбора проб. По вертикальной оси - уровень содержания *Enterococcus spp., Streptococcus spp., S. aureus. КОЕ/ мл.* Сроки отбора проб: 1- 60сутки, 2–90 сутки, 3–120 сутки, 4–150 сутки, 5- 180 сутки, 6-210 сутки, 7-240 сутки. $p < 0.05$

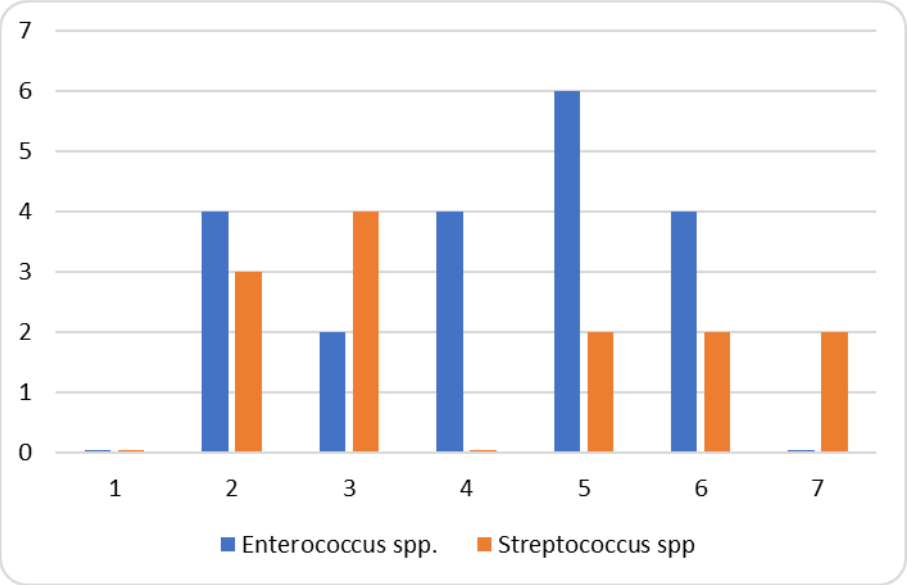


Рисунок 59 - Участник 5. Показатели слюны и мазков из зева бактериологическим методом. По горизонтальной оси – сроки отбора проб. По вертикальной оси - уровень содержания *Enterococcus spp., Streptococcus spp. КОЕ/ мл.* Сроки отбора проб: 1- 60сутки, 2–90 сутки, 3–120 сутки, 4–150 сутки, 5–180 сутки, 6-210 сутки, 7-240 сутки. $P < 0,05$

3.3.2 РЕЗУЛЬТАТЫ ИММУННО-ФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

Результаты анализа проб ротовой жидкости методом ИФА представлены на рисунке 60. Как видно на всех трех графиках, на 30-е сутки эксперимента, возрастает уровень провоспалительного цитокина IL-8 и содержания иммуноглобулина класса sIgA. При этом противовоспалительный цитокин IL-10 заметно снижается, что может согласовываться с ранее полученными данными о том, что активация пародонтопатогенными микробами моноцитов и макрофагов на уровне зубодесневого соединения увеличивает продукцию этими клетками провоспалительных цитокинов, вызывая дисбаланс между их про- и противовоспалительным пулами. Дисбаланс между про- и противовоспалительным пулами цитокинов может быть следствием неадекватного локального иммунного ответа на микрофлору. На 160-е сутки

(неделя приема аутопробиотического препарата) наблюдаются самые низкие показатели sIgA, IL-8, IL-10 по сравнению с фоновыми значениями и постепенный их рост, вплоть до 180 суток, с последующим достоверным увеличением содержания IL-10 к 240-м суткам эксперимента.

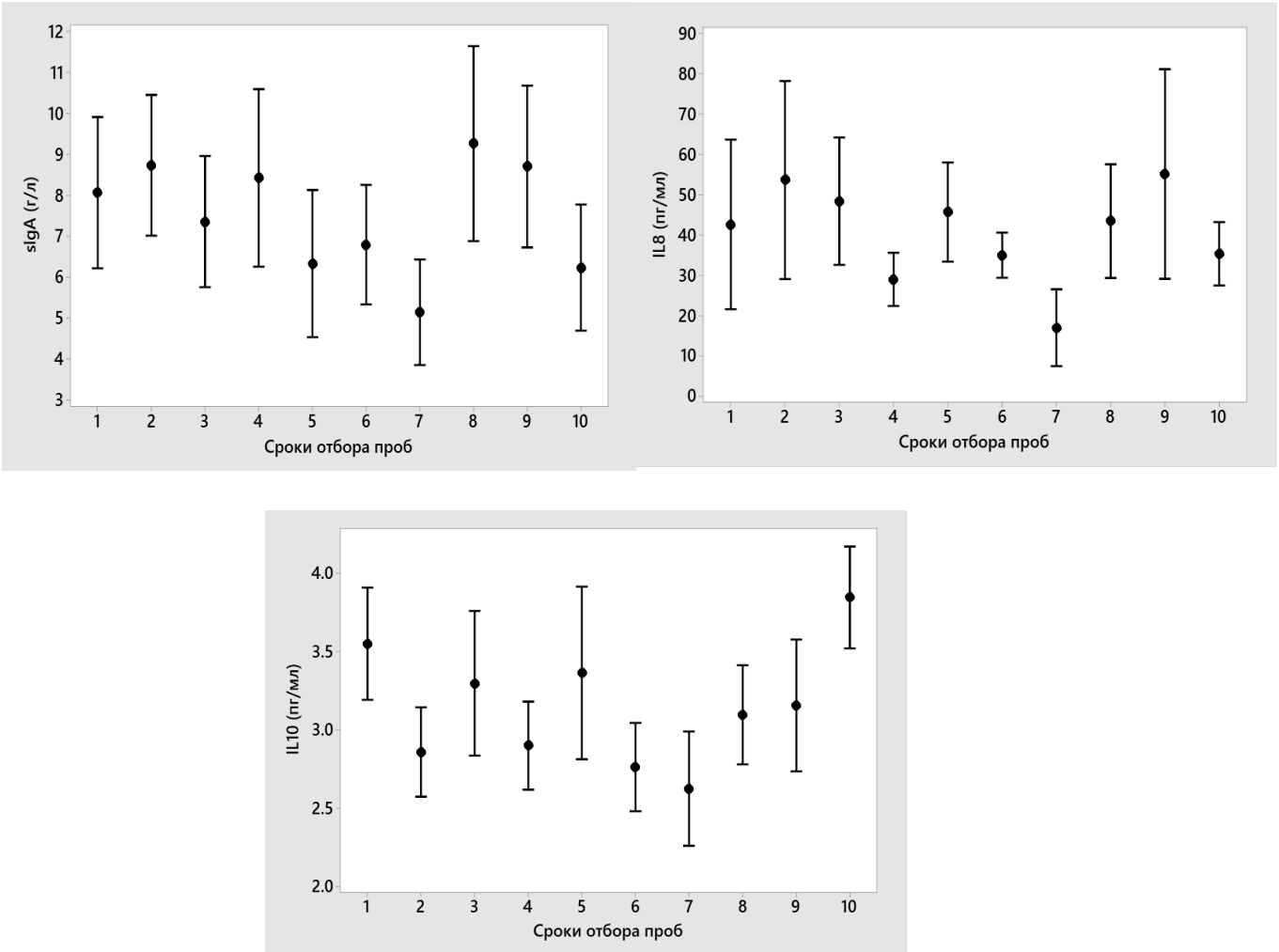


Рисунок 60

3.3.3 ВЫВОДЫ

Резюмируя вышесказанное, можно говорить о том, что наблюдалось разделение микроорганизмов, для которых характерна тенденция роста в данном биотопе, так, например, для слюны характерен рост таких микроорганизмов, как например: *Fusobacterium spp., и Prevotella spp., Actinomyces spp.,* и не наблюдается роста этих микроорганизмов в области зева. И наоборот, наблюдался рост в пробах в области зева *Corynebacterium spp., S. aureus* и не видим этого роста в пробах слюны. Как и в предыдущих экспериментах наблюдался накопительный рост условно-патогенной микробиоты и несмотря на снижение динамических показателей после приема аутопробиотического препарата *S.salivarius* некоторые бактерии продолжают свой рост (*Fusobacterium spp., Klebsiella spp*.), что может быть связано с дифференцированным действием препарата на данный конкретный микроорганизм. Сравнивая показатели до и после приема аутопробиотического препарата, замечено, что в слюне микробиота меняет свои значения значительнее, нежели чем в области зева, что может предполагать более высокую диффузную способность слюны и требует дальнейших исследований.

3.4 СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ ПЦР ДИАГНОСТИКИ И МЕТОДА МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ МИКРОБНЫХ МАРКЕРОВ ЭКСПЕРИМЕНТ «ЭКВИВАЛЕНТНОСТЬ»

У 20 волонтеров обоими методами (ПЦР и метод масс-спектрометрии микробных маркеров) были идентифицированы следующие микроорганизмы: *Prevotella spp., Veillonella spp., Candida spp., P.gingivalis*. По результатам исследований с помощью метода ПЦР было показано наличие пародонтопатогенов *Prevotella spp*. у 3 из 20 волонтеров. Между тем, метод масс-спектрометрии микробных маркеров выявил наличие микроорганизмов *Prevotella*

spp. у 5 испытателей из 20. Кроме этого, методом масс-спектрометрии микробных маркеров было выявлено наличие *P.gingivalis* у 6 из 20 волонтеров, в отличие от метода ПЦР, где выявилось лишь 4 пародонтопатогена. Из протективных групп с помощью ПЦР удалось идентифицировать *Veilonella spp.* у 8 испытателей, между тем как методом масс-спектрометрии микробных маркеров она была выявлена у 12 волонтеров. Дрожжеподобные микроорганизмы рода *Candida spp*. были выявлены в равном количестве обоими методами (Рисунки 61.а, 61.б и 61.в, таблица 17).

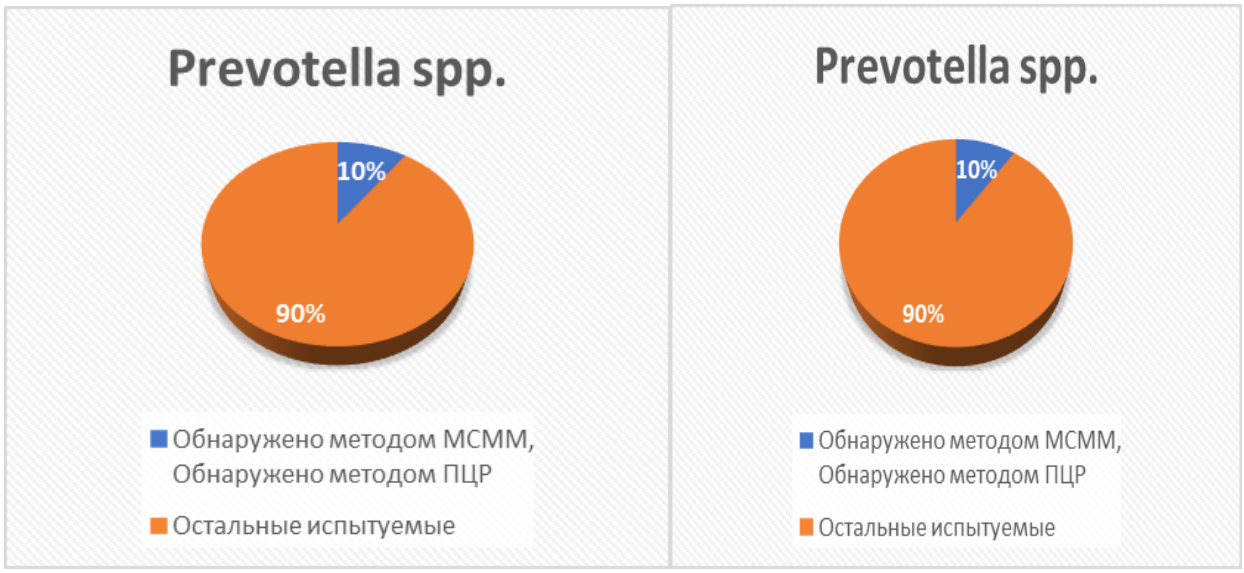
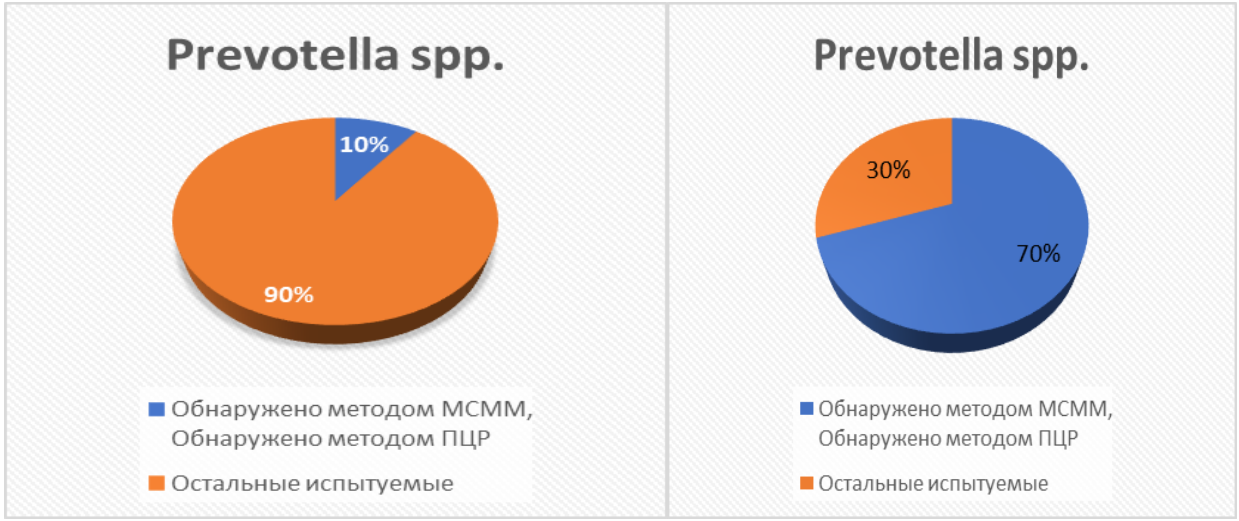


Рисунок 61.а



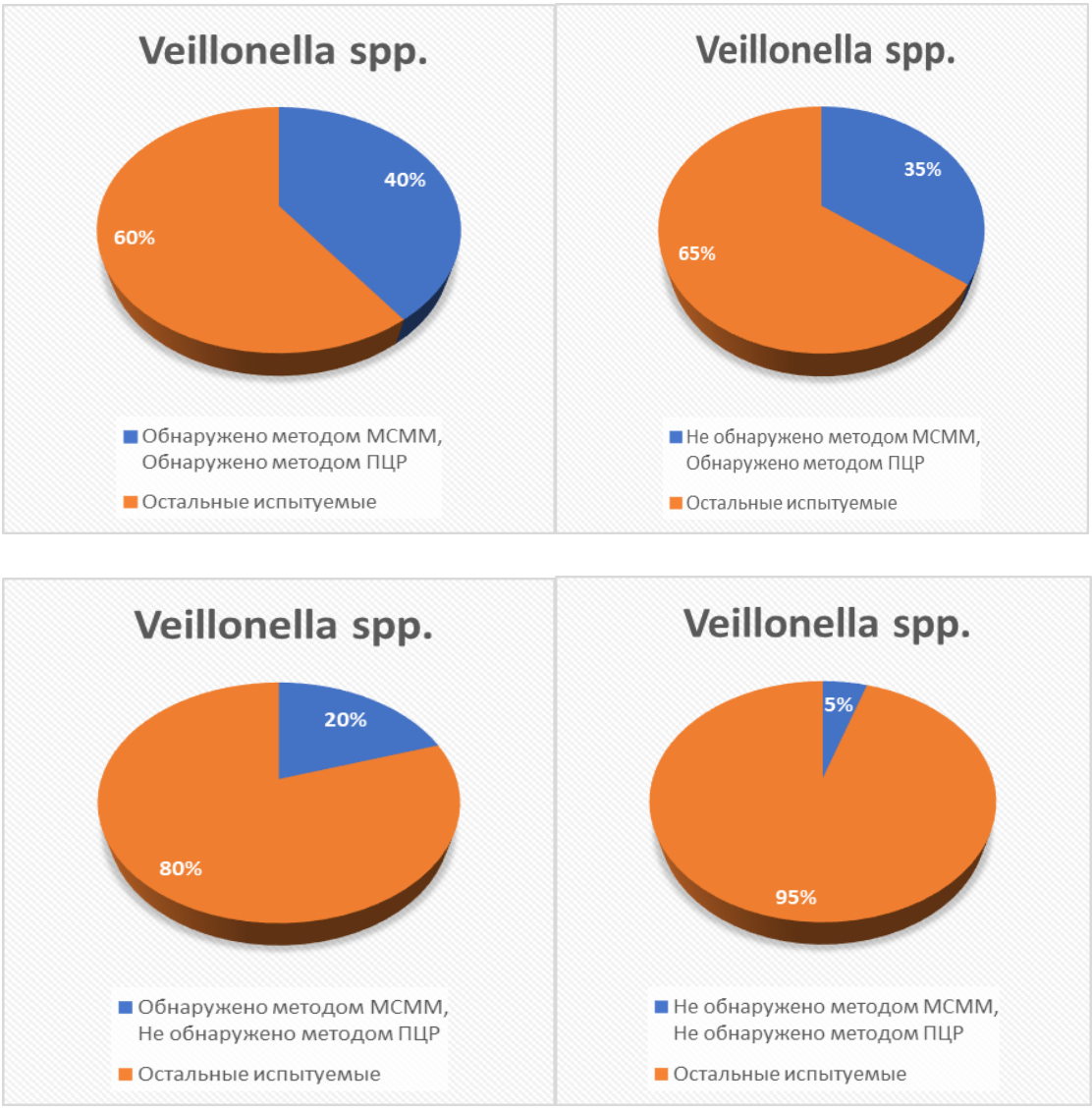
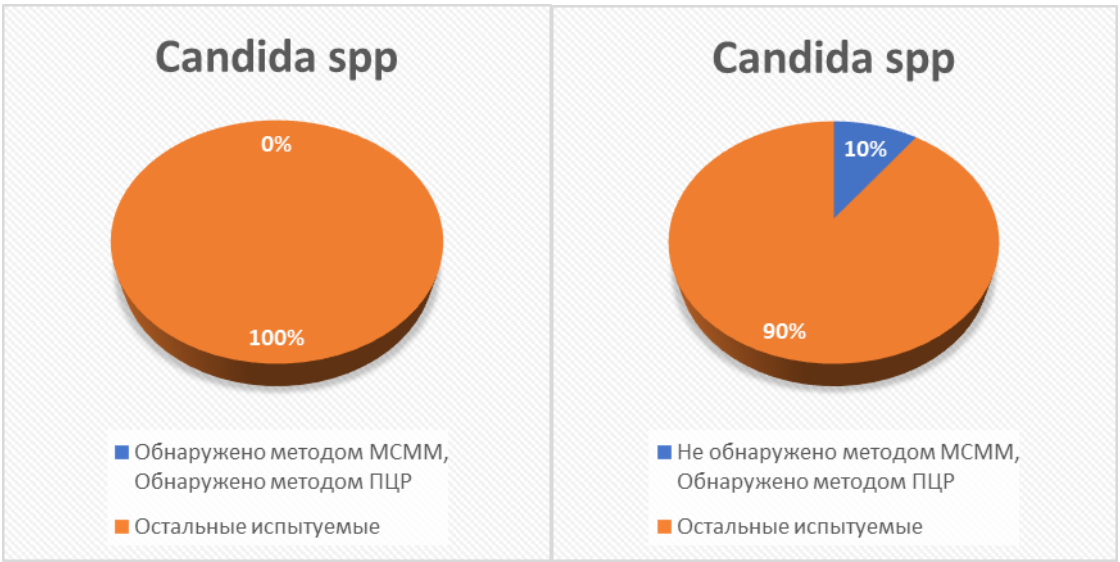

Veillonella spp.
40%
60%
Обнаружено методом МСММ, Обнаружено методом ПЦР
Остальные испытуемые
Veillonella spp.
35%
65%
Не обнаружено методом МСММ, Обнаружено методом ПЦР
Остальные испытуемые
Veillonella spp.
20%
80%
Обнаружено методом МСММ, Не обнаружено методом ПЦР
Остальные испытуемые
Veillonella spp.
5%
95%
Не обнаружено методом МСММ, Не обнаружено методом ПЦР
Остальные испытуемые

Рисунок 61.б


Candida spp
0%
100%
Обнаружено методом МСММ, Обнаружено методом ПЦР
Остальные испытуемые
Candida spp
10%
90%
Не обнаружено методом МСММ, Обнаружено методом ПЦР
Остальные испытуемые

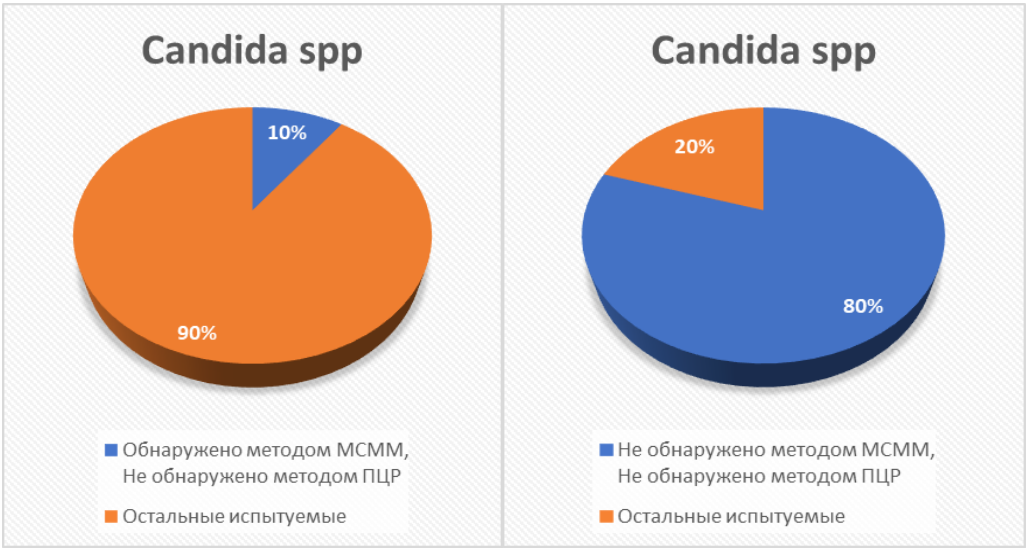


Рисунок 61.в - Совместно обнаруженные методами масс-спектрометрии микробных маркеров и методом ПЦР образцы условно-патогенной микробиоты

Таблица 17 - Таблица сопряжённости и результаты статистического анализа

Микро-организмы	**Исходы**	**МСММ +**	**МСММ -**	**Значение распределения χ2 и уровень значимости**
Prevotella spp.	ПЦР+	2	1	Q=0.025, p = 0.671
	ПЦР-	3	14	
Veillonella spp.	ПЦР+	8	7	Q=0.36364, p=0.5465
	ПЦР-	4	1	
Candida spp.	ПЦР+	0	2	Q=0, p=1
	ПЦР-	2	16	
Porphyromonas gingivalis	ПЦР+	1	3	Q=0.125, p=0.7237
	ПЦР-	5	11	

Примечание - В приведенной таблице:

- ПЦР+ - количество проб в выборке, превышающих клинически значимое пороговое значение, полученное методом ПЦР;

- ПЦР - количество проб в выборке, не превышающих клинически значимое пороговое значение, полученное методом ПЦР;

- метод масс-спектрометрии микробных маркеров+ - количество проб в выборке, превышающих клинически значимое пороговое значение, полученное методом масс-спектрометрии микробных маркеров;

- метод масс-спектрометрии микробных маркеров- - количество проб в выборке, не превышающих клинически значимое пороговое значение, полученное методом масс-спектрометрии микробных маркеров;

- Q – Значение распределения $\chi 2$ для использования с критерием Мак-Немара с поправкой mid-P;

- p – критический уровень значимости при проверке статистической гипотезы.

Как видно из таблицы 17, метод масс-спектрометрии микробных маркеров оказался более чувствительным по сравнению с методом ПЦР и выявил большее наличие следующих условных патогенов: *Prevotella spp., P. gingivalis, Veilonella spp*. Этот метод не уступает методу ПЦР и может в дальнейшем использоваться в условиях измененной среды обитания.

3.5 СРАВНЕНИЕ АУТОПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА САЛИВАРНОГО СТРЕПТОКОККА И ОФИЦИНАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА «ДЕНТОБЛИС» С УЧАСТИЕМ ДОБРОВОЛЬЦЕВ В УСЛОВИЯХ ИЗМЕНЁННОЙ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ «ГИПОБАРИЯ»

В данном исследовании изучалась эффективность пробиотической и аутопробиотической терапии на условно-патогенную микробиоту полости рта в

условиях измененной среды обитания, с целью коррекции дисбиозов и поддержания местного иммунного статуса организма. В эксперименте участвовало 26 добровольцев. Все участники были разделены на 3 группы, где 1 группа принимала аутопробиотический препарат, 2 группа – «ДентоБЛИС», 3 группа - контрольная группа. По результатам метода масс-спектрометрии микробных маркеров были выделены следующие микроорганизмы: *S. mutans, S. aureus, Fusobacterium spp., Candida spp., Prevotella spp., Lactobacillus spp.* По результатам метода масс-спектрометрии микробных маркеров во всех группах результаты фоновых значений были выше нормы (Таблица 18).

После окончания приема аутопробиотического препарата наблюдалось снижение следующих микроорганизмов: *S.aureus, Fusobacterium spp.,Candida spp.,*

И стабилизация: *S. mutans и Prevotella spp*. до значений $3 \cdot 10^7$, что являлось самым низким значением из трех групп.Во второй группе, принимающей официнальный преарат наблюдалось также снижение следующих групп бактерий: *S. mutans, S.aureus.* Необходимо напомнить, что *S. aureus* является одним из так называемых «госпитальных» штаммов, которые часто локализуется на коже и области носа, очень контагиозен (заразен), способен распространяться через кровь и внутренние органы и при ослабленном организме легко превращается в патогенный микроорганизм, являющимся полирезистентным по отношению к антибиотикотерапии (Foster, 2002). Стабилизация *Fusobacterium spp., Candida spp., lactobacillus spp. и рост Prevotella spp.* В третьей (контрольной группе) на 7 сутки по окончанию эксперимента наблюдался рост *Candida spp.* и стабилизация следующих микроорганизмов: *S. mutans, S.aureus, Fusobacterium spp.,Prevotella spp.,* правда превышающих значений нормы, а также снижение протективной группы бакстерий *Lactobacillus spp. до значений* $1 \cdot 10^8$

Таким образом, наилучший результат наблюдался у первой группы, принимающей аутопробиотический препарат *S.salivarius* по сравнению с другими группами. Замечен положительный пролонгирующий эффект роста протективной группы бактерий, после окончания приема аутпробиотика.

Таблица 18

Микроорганизмы		1 группа принимающая аутопробиотик			2 группа принимающая “дентоБЛИС”			3 группа контрольная		
	Норма	Сроки отбора проб								
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
Streptococcus mutans	$1 \cdot 10^5$	$6 \cdot 10^8$	$3 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^7$	$3{,}5 \cdot 10^7$	$4{,}2 \cdot 10^7$	$4{,}0 \cdot 10^7$	$6 \cdot 10^7$	$5 \cdot 10^7$	$5 \cdot 10^7$
Staphylococcus aureus	$3 \cdot 10^6$	$4{,}5 \cdot 10^7$	$4 \cdot 10^7$	$3{,}5 \cdot 10^7$	$4{,}5 \cdot 10^7$	$4 \cdot 10^7$	$3{,}5 \cdot 10^7$	$6 \cdot 10^7$	$4 \cdot 10^7$	$4 \cdot 10^7$
Fusobacterium spp.	$2 \cdot 10^6$	$1{,}0 \cdot 10^7$	$2{,}8 \cdot 10^7$	$5{,}0 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^7$
Prevotella spp.	$1 \cdot 10^6$	$2{,}0 \cdot 10^6$	$2{,}0 \cdot 10^6$	$2{,}0 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^6$	$3 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^6$	$4 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^6$
Candida spp.	$5 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^5$	$3{,}0 \cdot 10^7$	$1{,}2 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^7$
Lactobacillus spp.	$7 \cdot 10^7$	$4 \cdot 10^8$	$1{,}5 \cdot 10^8$	$3{,}5 \cdot 10^8$	$4 \cdot 10^8$	$2 \cdot 10^8$	$2 \cdot 10^8$	$4 \cdot 10^8$	$3 \cdot 10^8$	$1 \cdot 10^8$

Содержание *S. mutans, S. aureus, Fusobacterium spp., Prevotella spp., Candida spp., Lactobacillus spp*. КОЕ/мл в ротовой жидкости у обследуемых. Сроки отбора проб: 1 – за неделю до начала эксперимента; 2 –14 сутки; 3 –7 сутки после окончания эксперимента.

3.5.1 РЕЗУЛЬТАТЫ, ПОЛУЧЕННЫЕ МЕТОДОМ ИФА

По результатам ИФА ко второй неделе эксперимента, значения sIgA выросли во всех трех группах по сравнению с фоновыми (Таблица 19) , где в 3 группе значения с 2,0 пг/мл выросли до 5.6 пг/мл, что выше, чем в первой (с 1.8 пг/мл до 3.2 пг/мл) и второй группе, где значения так же выросли с 1.9 пг/мл до 2.4 пг/мл. Провоспалительный IL 6 после приема аутопробиотического и пробиотического препарата «ДентоБЛИС» одинаково снизились до значений 0.2 пг/мл, т. е. на 0.6 пунктов, в отличие от контрольной группы, где снижение было лишь на один пункт с 0.5 пг/мл до 0.4 пг/мл. Так же одинаково вырос IL 10 у 1 и 2 групп до значений 1.5 пг/мл и у 3 группы наблюдалось снижение противовоспалительного фактора с 1.9 пг/мл до 1.5 пг/мл, что может говорить в пользу штамма *S.salivarius* и его влиянию на слизистую оболочку полости рта. К 7

суткам по окончанию эксперимента во всех трех группах происходит постепенное снижение sIgA со значениями: 1 группа - 2.4 пг/мл, 2 группа - 2.3пг/мл и 1.4 пг/мл у 3 группы участников. Провоспалительный цитокин IL6 начал расти у 2 группы и составил 0.3 пг/мл к 7 суткам после окончания эксперимента по сравнению с 14 сутками, где был равен 0.2 пг/мл.(Таблица 22), что говорит о постепенном нарастании условно-патогенной микробиоты несмотря на высокие значения IL10 к 7 суткам после окончания эксперимента (1.8 пг/мл). У 1 и 3 группы, наоборот, значения IL6 с 7 суткам начали снижаться и составляли 0.1 пг/мл и 0.4 пг/мл соответственно. Противовоспалительный IL к 7 суткам после окончания эксперимента оставался высоким лишь у 1 группы и составил 1.9 пг/мл и у 3 группы он снизился с 1.9 пг/мл до 1.5 пг/мл. Таким образом, можно говорить о благотворном влиянии штамма *S. salivarius* на слизистую оболочку полости рта по сравнению с контрольной группой. При сравнивании между собой препаратов (Таблицы 20 и 21) мы видим, что к 14 суткам значения IL6 и IL 10 равны друг другу, но к 7 суткам после окончания приема препаратов, противовоспалительный эффект аутопробиотического препарата все еще сохраняется, по сравнению с официнальным препаратом что может говорить о пролонгированном действии на слизистую оболочку полости рта аутопробиотического препарата.

Таблица 19 - Показатели проб иммуноглобулинов у испытателей в эксперименте «Гипобария»

Иммуноглобулины, пг/мл	**Группа 1 (аутопробиотик)**			**Группа 2 («Дентоблис»)**			**Группа 3, контрольная**		
	Фон	**14 сутки**	**7 сутки после окончания эксперимента**	**Фон**	**14 сутки**	**7 сутки после окончания эксперимента**	**Фон**	**14 сутки**	**7 сутки после окончания эксперимента**
sIgA	1,88	3,24	2,42	1,90	2,41	2,33	2,09	5,67	1,40
IL6	0,87	0,25	0,19	0,89	0,24	0,38	0,84	0,51	0,49
IL10	0,71	1,56	1,91	0,78	1,54	1,83	0,80	1,98	1,51

Таблица 20 - Иммуноглобулины (sIgA, IL6, IL10) - 2 неделя приема аутопробиотика сравнивается со 2 неделей приема «ДентоБЛИС» в эксперименте «Гипобария»

sIgA	Аутопробиотик (3 пг/мл) > «ДентоБЛИС» (2.4 пг/мл)
IL6	Аутопробиотик (0.2 пг/мл) = «ДентоБЛИС» (0.2 пг/мл)
IL10	Аутопробиотик (1.5 пг/мл) = «ДентоБЛИС» (1.5 пг/мл)

Таблица 21 - Иммуноглобулины (sIgA, IL6, IL10) - 7 сутки приема аутопробиотика после окончания эксперимента сравнивается с 7 сутками приема «ДентоБЛИС» после окончания эксперимента в эксперименте «Гипобария»

sIgA	Аутопробиотик (2.4 пг/мл) > «ДентоБЛИС» (2.3 пг/мл)
IL6	Аутопробиотик (0.1 пг/мл) < «ДентоБЛИС» (0.3 пг/мл)
IL10	Аутопробиотик (1.9 пг/мл) > «ДентоБЛИС» (1.8 пг/мл)

Таблица 22 - Иммуноглобулины (sIgA, IL6, IL10) - 14 сутки и 28 сутки после приема аутопробиотика сравнивается со 150 и 240 сутками после окончания приема аутопробиотика в экспериментах «Гипобария» и «Sirius 2021–2022»

Иммуноглобулины, пг/мл	**Эксперимент «Гипобария»**		**Эксперимент «Sirius 2021–2022»**	
	14 сутки	**28 сутки**	**150 сутки**	**240 сутки**
sIgA	3.2	2.4	8,053	8,2907
IL6	0.2	0.19	0,5345	0,8569
IL10	1.5	1.9	2,763	2,6041

3.6 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

По проведённым исследованиям (Зайко, 1977) нахождение в гермозамкнутом помещении приводит к снижению слюноотделения и вымываемости из слюны десквамационного эпителия, лейкоцитов, остатков пищи и др. компонентов осадка слюны, что провоцирует рост зубных отложений и является прекрасным резервуаром для роста бактериальной микрофлоры полости рта. Процессы, происходящие в пародонте, напрямую связаны с кровоснабжением организма. В ответ на снижение поступления O_2 и гипокинезии на примере участников эксперимента «Эскиз» мы наблюдаем характерные явления в пародонте человека в виде снижения иммунных сил организма, где методом

доплерографии было показано снижение реологических свойств крови во время нахождения в гермозамкнутом помещении как в области капиллярного русла, так и в области более крупных сосудов, омывающих бассейн челюстно-лицевой области. Проведенные нами исследования также подтверждают ранее полученные результаты исследований полости рта о том, что нахождение участников в условиях измененной среды обитания приводит к накоплению и росту условно-патогенной микробиоты (Ильин и др.,2005; Ильин и др., 2010; Ильин и др., 2016). В процессе исследований, были выделены два кластера микробных ассоциаций: 1 кластер – бактерии, отреагировавшие на условия измененной среды обитания, 2 кластер – бактерии, не отреагировавшие на условия измененной среды обитания. Так, к первому кластеру относятся такие условные патогены как: *S. mutans, Actinomyces spp., Porphyromonas spp., Candida spp., S.sangius.* К группе являющейся достаточно стабильной, либо снижающей свой рост можно отнести: *Fusobacterium spp., Prevotella spp., Corynebacterium spp. P. anaerobius.* Надо отметить, что рост той или иной условно-патогенной микробиоты зависит напрямую от его локализации. Так, например, в области зева рост таких микроорганизмов как: *Fusobacterium spp., Prevotella spp., Actinomyces spp.* более ограничен, чем в слюне. Было также отмечено, что развитие того или иного штамма сильно различается и зависит от индивидуальных особенностей испытуемого. Проведенные исследования зафиксировали рост условно-патогенной микробиоты на 14 сутках экспериментов («Sirius 2021–2022», «Эскиз», «Гипобария»), что можно отнести к одному из адаптационных скачков организма в ответ на стрессовые факторы внешней среды. Эти данные подтверждаются анализом интерлейкинов в экспериментах «Sirius 2021–2022», «Эскиз», «Гипобария», где наблюдалось повышение провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-8) на второй неделе пребывания в герметично замкнутом пространстве. Эти данные также соответствуют ранее проведенным экспериментам («Пародонт-2»). Организм, выделяя и повышая противовоспалительные интерлейкины, тем самым подавляет воспаление и выравнивает иммунную кривую в сторону нормы. Практически у всех участников

на протяжении экспериментов фиксировались высокие показатели условно-патогенной микробиоты не только на 2 неделе эксперимента, но и на выходе из него, у некоторых участников рост условно-патогенной микробиоты продолжался даже на 7 сутках по окончании эксперимента. («Эскиз», «Гипобария»)

Быстрому росту условно-патогенной микробиоты способствовали такие условия как: герметичное замкнутое малое пространство, кондиционирование, отсутствие солнечной ионизации. Но даже если исключить эти условия, как было например было сделано в условиях измененной среды обитания на высоте свыше 5 тыс. над уровнем моря в эксперименте «Гипобария», то добавляется тяжелая акклиматизация организма, влияющая на все жизненно важные органы человека, в частности нагрузка на сердечно-сосудистую систему, дыхательную систему (недостаток кислорода), пищеварительную систему (дисбиотические процессы, на фоне смены воды и изменения рациона питания). Нагрузка в эксперименте «Гипобария» шла также на мышечную систему и если в герметично замкнутом помещении операторы страдают от нехватки нагрузки, то в условиях высокогорья нагрузка увеличивается в разы так как нехватка кислорода напрямую связана с расходом АТФ (Аденозинтрифосфат) и в бескислородных условиях она быстро заканчивается и начинается метаболизм гликогена (т. е. берутся запасы из мышц и печени). Вследствие всех вышеперечисленных процессов происходит сильное ослабление иммунитета и рост условно-патогенной микробиоты. В этом случае применение аутопробиотического препарата является кране желательным и необходимым, для поддержания иммунных сил организма.

Ранее пробиотические препараты изготавливались из кала пациента, где выделялся нужный штамм, который затем многократно культивировался, подвергался проверке на его безопасность для реципиента и затем выращивался до нужного числа. В нашей методике мы использовали слюну реципиента для выращивания аутопробиотика, что не вызывает отторжения у пациента с одной стороны и является полностью индивидуальным препаратом, который реципиент может начать принимать заранее, чтобы усилить иммунный ответ организма, будучи еще не в условиях измененной среды обитания. Либо реципиент может

начать непосредственно терапию во время неблагоприятных условий, как проводилось в эксперименте «Sirius 2021–2022», где участники в течение двух недель принимали заранее приготовленный лиофилизат. И в том, и в другом случае аутопробиотический препарат не дает побочных эффектов и значительно снижает рост условно-патогенной микробиоты. Так, например у испытателей в эксперименте «Sirius 2021–2022» после приема аутопробиотического препарата снизилась такая условно патогенная микробиота в слюне как: *S.mutans, S.aureus, Fusobacterium spp., Prevotella spp., Actinomyces spp., Klebsiella spp., Porphyromonas spp., Candida spp.;* в зеве: *Fusobacterium spp., Prevotella spp., Corynebacterium spp., Klebsiella spp., Porphyromonas spp., Candida spp.*

Наличие вышеназванной условно-патогенной микробиоты провоцирует не только кариозные и воспалительные заболевания полости рта, но также попадая через кровоток, либо выделяя медиаторы воспаления поражает различные органы, в том числе и сердечно-сосудистую систему (Таблица 23).

Так, например группа ученых (Haraszthy et al., 2000; Pucar et al., 2007) выявили наличие *F. nucleatum* в сонной артерии в 68 % случаев, в 53 % – *P. Intermedia,* а также выявили наличие этих же штаммов в крупных и мелких артериях, подвергшихся атеросклерозу. Группа японских ученых (Nakano et al., 2009) сообщили о выявлении *A.actinomycetemcomitans, S. mutans, S. sanguinis* в аортальных бляшках, взятых из сердечного клапана. Проведенные исследования (Гуляева и др., 2016) приводят следующие факты: при тяжелой степени пародонтита опасность инфаркта миокарда возрастает в 3 раза, атеросклероза и инсульта – в 2 раза, остеопороза – в 4 раза, диабета – в 2–11 раз, хронического бронхита – в 2-4 раза. Таким образом, лечение и профилактика условно-патогенной микробиоты ротовой полости является актуальной в более расширенном ее понимании. Для качественной идентификации и последующей профилактики были выбраны как основные два метода: метод масс-спектрометрии микробных маркеров и бактериологический метод. Методом масс-спектрометрии микробных маркеров на протяжении экспериментов удалось выявить следующую условную патогенную микробиоту: *S. mutans*, *P. anaerobius,*

Fusobacterium spp., Lactobacillus spp., Prevotella spp., Porphyromonas spp., Corynebacterium spp., Actinomyces spp., Veillonella spp., P. gingivalis, Klebsiella spp.

Бактериологическим методом была высеяна следующая микробиота: *S. mutans, E. faecalis, S. epidermidis, A. viscosus, C. glabrata, S. sangius, F. nucleatum, P. anaerobius, Corynebacterium spp., K. pneumoniae, P.intermedia, S. intermedius, A. Naeslundi, Klebsiella spp.*

Таблица 23 - Взаимосвязь общесоматической патологии с заболеванием пародонта (Тамарова, Мавзютов, 2014)

Общесоматическая патология	**Больные пародонтитом (n=106)**		**Группа сравнения (n=66)**	
	абс.	**%**	**абс.**	**%**
Желудочно-кишечного тракта	64	60,4 *	21	31,8
Эндокринной системы	31	29,2 *	2	3,2
Сердечно-сосудистой системы	34	32,1	16	24,2
Отсутствует	21	19,8 *	35	53,0

Примечание - * различие со значением в группе сравнения достоверно ($p < 0.05$).

Оба метода (метод масс-спектрометрии микробных маркеров и бактериологический) прекрасно показали и детектировали условно патогенную микробиоту, тем не менее метод масс-спектрометрии микробных маркеров был более удобен в применении, т.к. не требовал транспортной среды, образцы могли храниться в любых температурных условиях и неограниченное количество времени, что было немаловажным при проведении экспериментов, особенно в

высокогорье, где у участников не было возможности быстрой транспортировки образцов в лабораторию, а так же дополнительных условий для их хранения. При оценке микробного статуса у спонтанной популяционной выборки, при сравнении двух методов (метод масс-спектрометрии микробных маркеров и ПЦР), метод масс-спектрометрии микробных маркеров показал одинаковые результаты в идентификации условно-патогенной микробиоты. Таким образом можно сказать, что каждый метод предпочтителен в зависимости от поставленной задачи и условий. Метод масс-спектрометрии микробных маркеров в условиях измененной среды обитания отвечал всем заявленным требованиям и удовлетворял всем потребностям эксперимента, не уступая остальным методам в качественной идентификации. Применяя в качестве профилактического средства аутопробиотический препарат *S.salivarius* и сравнивая его с официнальным препаратом наблюдалось следующее:

1 Снижение уровня следующей условно-патогенной микробиоты у испытателей, принимавших оба препарата: *S. mutans, Fusobacterium spp., S. aureus, Candida spp., Actinomyces spp., P. anaerobius, Corynebacterium spp.* Но, в отличие от официнального препарата, аутопробиотический штамм *S.salivarius* показал наилучший результат после окончания его приема, при этом уровень воспаления снизился на 50 % по сравнению с фоновыми значениями.

2 Пролонгированное действие аутопробиотического препарата по сравнению с официнальным препаратом (эксперимент «Sirius 2021–2022»).

3 Лучшие результаты действия препарата аутопробиотического штамма *S.salivarius* в присущем данному штамму биотопе (в зеве результаты лучше, чем в слюне).

Мы предложили новую методику с использованием слюны реципиента для выращивания аутопробиотика, что не вызывает отторжения у пациента с одной стороны и является полностью индивидуальным препаратом, который реципиент может начать принимать заранее, чтобы усилить иммунный ответ организма, будучи еще не в условиях измененной среды обитания, либо реципиент может начать непосредственно терапию во время неблагоприятных условий, как

проводилось в эксперименте «Sirius 2021–2022», где участники в течение двух недель принимали заранее приготовленный лиофилизат. И в том, и в другом случае аутопробиотический препарат не давал побочных эффектов и значительно снизил рост условно-патогенной микробиоты по сравнению с официнальным препаратом.

ВЫВОДЫ

1. Подводя итог, можно сказать, что в течение экспериментов у участников наблюдалось нарушение трех барьеров колонизационной резистентности организма, связанной с накоплением условно-патогенной микробиоты. Условно патогенная микробиота в свою очередь разделялась на два кластера. Первый кластер, отвечал ростом на условия измененной среды обитания (*Fusobacterium spp., Actinomycetemcomitans, Corynebacterium spp., Klebsiella spp., Streptococcus spp*.), второй кластер либо не проявлял роста, либо проявлялся единичными «всплесками» в течение всего эксперимента (*P. anaerobius, A. viscosus.*).
2. Методом масс-спектрометрии микробных маркеров подтвердился рост и накопление условно-патогенной микробиоты у участников экспериментов, находящихся в условиях измененной среды обитания.
3. Результаты исследований показали состоятельность метода масс-спектрометрии микробных маркеров в сравнении с бактериологическим методом и методом ПЦР для анализа условно-патогенной микробиоты полости рта и подтвердили возможность применения метода масс-спектрометрии микробных маркеров в условиях измененной среды обитания и имитации космического полета (эксперименты «Эскиз», «Immersion-7», «Sirius 2021–2022», «Гипобария»).
4. Наблюдалось разделение микроорганизмов, для которых характерна тенденция роста в данном биотопе, так, например, для слюны характерен рост таких микроорганизмов, как например: *Fusobacterium spp., и Prevotella spp., Actinomyces spp.,* и не наблюдается роста этих микроорганизмов в области зева. И наоборот, наблюдался рост в пробах в области зева *Corynebacterium spp., S. aureus* и не видим этого роста в пробах слюны. Как и в предыдущих экспериментах наблюдался накопительный рост условно-

патогенной микробиоты и несмотря на снижение динамических показателей после приема аутопробиотического препарата *S.salivarius* некоторые бактерии продолжают свой рост (*Fusobacterium spp., Klebsiella spp.*), что может быть связано с дифференцированным действием препарата на данный конкретный микроорганизм. Сравнивая показатели до и после приема аутопробиотического препарата, замечено, что в слюне микробиота меняет свои значения значительнее, нежели чем в области зева, что может предполагать более высокую диффузную способность слюны и требует дальнейших исследований.

5. Проведенные исследования подтвердили гипотезу о благотворном влиянии аутопробиотического препарата на слизистые оболочки рта и пародонта. Исследования показали, что аутопробиотик на основе саливарного стрептококка являются более эффективным средством коррекции микрофлоры у лиц в искусственной среде обитания, нежели аллогенные аналоги (эксперимент «Sirius 2021–2022») и холодовой гипобарии (эксперимент «Гипобария»).
6. Наблюдалось пролонгированное действие аутопробиотического препарата по сравнению с официнальным препаратом (эксперимент «Sirius 2021–2022»).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ИЛ – интерлейкины;

ИНФ – интерфероны;

ИЛ-1 – интерлейкин 1;

ИЛ-6 – интерлейкин 6;

ИФА – иммуноферментный анализ;

КСФ – колониестимулирующий фактор;

ЛПС – липополисахарид;

МСММ – масс-спектрометрия микробных маркеров;

ФНО – фактор некроза опухоли;

ФНОα – фактор некроза опухоли α;

КОЕ – колониеобразующие единицы;

Lg IgA – логарифм иммуноглобулина А;

ОП – оптическая плотность;

УЗДФ – ультразвуковая допплеровская флуометрия;

МЦР – микроциркуляторное русло.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агаева Н. А. Роль секреторного IgA в патологии челюстно-лицевой области // Фундаментальные исследования. – 2010. – № 4. – С. 11–16.

2. Агапов В. С., Тарасенко С. В., Трухина Г. М., Лакшин А. М. Внутрибольничные инфекции в хирургической стоматологии. М., Медицина, 2002. 255с.

3. Агеевец В. А., Партина И. В., Лисицына Е. С. Первое обнаружение металло-бета-лактамазы NDM-типа в многопрофильном стационаре в России // Медицинский академический журнал. – 2012. – Т. 12– № 4. – С. 43–45.

4. Алехина Г. Г., Суворов А. Н. Пробиотики-новый подход к старым проблемам // Успехи современного естествознания. – 2007. – Т. 6. – С. 36–39.

5. Амерханова А. М., Пономарева Л. П., Анкирская А. С., Бондарь О. Е., Лисунова С. А., Фурсова С. А., Жиленкова О. Г., Зубкова Е. С., Кураленко А. А. Новые биопрепараты-синбиотики и их использование в неонатологии с профилактической целью // Вопросы детской диетологии. – 2006. – Т. 4. – № 6 – С. 66–69

6. Андреева И. В., Стецюк О. У. Новый пробиотический штамм Streptococcus salivarius K12 в клинической практике // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2019. – Т. 21. – №. 2. – С. 92–99.

7. Ардатская М. Д., Бельмер С.В., Добрица В. П., Захаренко С. М., Лазебник Л.Б., Минушкин О.Н., Орешко Л.С., Ситкин С.И., Ткаченко Е.И., Суворов А.Н., Хавкин А.И., Шендеров Б.А. Дисбиоз (дисбактериоз) кишечника: современное состояние проблемы, комплексная диагностика и

лечебная коррекция // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2015. – №. 5 (117). – С. 13–50.

8. Арутюнов С. Д., Царёв В. Н., Ипполитов Е. В., Апресян С. В., Трефилов А. Г. Формирование биопленки на временных зубных протезах: соотношение процессов первичной микробной адгезии, коагрегации и колонизации // Стоматология. – 2012. – Т. 91, № 5. – С. 5–10.

9. Баевский Р. М., Лучицкая Е. С., Фунтова И. И., Черникова А. Г. Исследования вегетативной регуляции кровообращения в условиях длительного космического полета // Физиология человека. – 2013. – Т. 39. – №. 5. – С. 42–42.

10. Банченко Г. В., Максимовский Ю. М., Гринин В. М. Язык - зеркало организма. М., ОАО «Стоматология», 2000. –408 с.

11. Баранов В. М., Попова Ю. А., Ковалев А. С., Баранов М. В. Изменения чувствительности центрального дыхательного механизма в условиях 21-часовой антиортостатической гипокинезии //Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2011. – Т. 45. – №. 4. – С. 35–38.

12. Барер Г.М., Волков Е.А., Гемонов В.В. Терапевтическая стоматология в 3-х частях: Часть 3: Заболевания слизистой оболочки рта: учебник / Под ред. Г.М. Барера - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 256 С. 2.

13. Беленова И. А. Индивидуальная профилактика кариеса у взрослых : дис. д-ра мед. наук – ГОУВПО" Воронежская государственная медицинская академия", 2010. – 48 с.

14. Бельмер С. В. Антибиотик-ассоциированный дисбактериоз кишечника //РМЖ. – 2004. – Т. 12; № 3. – С. 148–151.

15. Богоявленская О. В., Ослопов В. Н. Исследование состояния системы микроциркуляции при артериальной гипертензии //Практическая медицина. – 2010. – №. 44. – С. 116–118.

16. Бондаренко В. М., Мацулевич Т. В. Дисбактериоз кишечника как клинико-лабораторный синдром: современное состояние проблемы – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007.

17. Борисенко А. В., Данилевский Н. Ф. Заболевания пародонта –К.: Здоровье, 2000. – 464 с.

18. Боровский Е. В., Машкиллейсон А.Л. Заболевания слизистой оболочки полости рта и губ – М.: МЕДпресс, 2001. – 320 с.

19. Булгакова А. И., Медведев Ю. А. Иммунологические аспекты лечения хронического генерализованного пародонтита - Уфа: Изд-во Башкортостан, 2010. –116 с.

20. Вечерковская М. Ф., Тец Г. В., Афанасьев Б. В., Тец В. В. Микрофлора ротовой полости детей с онкогематологическими заболеваниями //Онкогематология. – 2015. – №. 2. – С. 51–57.

21. Войда Ю. В., Солонина Н. Л. Микроэкология человека и роль пробиотических препаратов в терапии гнойно-воспалительных заболеваний в акушерстве и гинекологии //Аннали Мечниковського інституту. – 2012. – №. 2. – С. 27–37.

22. Воронков Ю. И., Тизул А. Я., Кузьмин М. П., Дегтеренкова Н. В., Доброквашина Е. И., Мацнев Э. И., Филатова Л. М. Адаптация организма человека к моделированной невесомости: клинические исследования //Физиология человека. – 2003. – Т. 29. – №. 5. – С. 102–107.

23. Галкина О. В., Грязева И. В., Самойлович В. Б. Количественное определение секреторного иммуноглобулина А в биологических жидкостях с помощью моноклональных антител //Медицинская иммунология. – 2000. – Т. 2. – №. 2. – С. 155.

24. Гейкин М. К. Капилляроскопия и капиллярография десен //Вопросы челюстно-лицевой хирургии и стоматологии. – 1957. – С. 302–327.

25. Гладин Д. П., Королюк А. М., Дробот И. В., Козлова Н. С., Анненкова И. Д. Полимеразная цепная реакция в микробиологии //Российские биомедицинские исследования. – 2021. – Т. 6. – №. 3. – С. 36–46.

26. Глушанова Н. А., Шендеров Б.А. Взаимоотношения пробиотических и индигенных лактобацилл хозяина в условиях совместного

культивирования in vitro // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2005. – № 2. – С. 56–61.

27. Гончар Н. В., Алехина Л. А., Суворов А. Н. Пробиотические штаммы энтерококков как средства терапии и профилактики заболеваний кишечника у детей (обзор литературы) //Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2013. – №. 1. – С. 74–78.

28. Гончар Н. В., Алехина Г. Г., Цапиева А. Н., Суворов А. Н., Ермоленко Е. И., Лавренова Н. С., Ермоленко К. Д. Динамика анаэробного дисбаланса микробиоты кишечника у детей с функциональными нарушениями органов пищеварения после использования пробиотического и аутопробиотического штамма энтерококка // Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы. Сборник трудов XIII Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского. – М., «Медицинское маркетинговое агентство», 2021. – С. 46.

29. Гранов Л. Г. О заживлении ран в условиях высокогорья //Докт. дисс. Душанбе. – 1953.

30. Грицук А. И., Свергун В. Т., Коваль А. Н. Биохимия ротовой жидкости //Гомель, ГомГМУ. -2011. с. – 37.

31. Грудянов А. И., Дмитриева Н. А., Фоменко Е. В. Применение пробиотиков в комплексном лечении воспалительных заболеваний пародонта. – М.: «Медицинское информационное агентство», – 2006. – 15 с.

32. Гуляева О. А. и др. Современные методы в комплексном лечении воспалительных заболеваний пародонта //Уфа: УралПолиграфСнаб. – 2016. – С. 5–9.

33. Гущин В. И., Швед Д. М., Юсупова А. К., Суполкина Н. С., Чекалина А. И., Савинкина А. О., Лебедева С. А. Влияние моделируемых факторов межпланетного полета на автономизацию коммуникации изолированного международного гетерогендерного экипажа.

//Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2020. – Т. 54. – № 3. – с. 28–35.

34. Давыдова М. М., Плахтий Л. Я., Царев В. Н. Методы микробиологического исследования, применяемые в стоматологии //Царев ВН, ред. Микробиология, вирусология и иммунология полости рта. М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2013. – с. 223.

35. Добреньков Д. С. Характеристика биоценотических отношений бактериальных сообществ полости рта и микробиологическое обоснование принципов биокоррекции: дис. канд. мед. наук. Волгоград, 2014.

36. Долгорукова М. В., Россыгина Б. С., Шабдарова Т. Г. К вопросу о производстве домашнего йогурта с применением закваски" Эвиталия" //Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства. – 2019. – №. 21. – С. 237–240.

37. Долинов К. Е. Основы технологии сухих биопрепаратов. М: Медицина 1969; с. 152–219.

38. Донец В. Н. Возможности пробиотической терапии внебольничных пневмоний (клинико-экспериментальное исследование) : дис. – С.-Петерб. гос. мед. акад. им. ИИ Мечникова, 2015.

39. Дубинин Д. М. Влияние факторов космического полета на состояние полости рта и кожи людей: дис. канд. мед. наук. М., 1985. С. 25

40. Дятлов И. А. Актуальные проблемы медицинской микробиологии // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. –2013. – № 1. – С. 88–93.

41. Ермоленко Е. И., Лапидус А. Л., Суворов А. Н. Оптимизация микробной терапии дисбиотических состояний посредством аутопробиотиков //Инфекция и иммунитет. – 2017. – №. 5. – С. 925–925.

42. Ермоленко, Е. И., Пунченко, О. Е., Воропаева, Л. С., Сварваль, А. В., Котылева, М. П., Суворов, А. Н. Пробиотики и аутопробиотики в терапии экспериментального вагинита //Антибиотики и Химиотерапия. – 2023. – Т. 67. – №. 11–12. – С. 29–35.

43. Железникова Г. Ф. Инфекция и иммунитет: стратегии обеих сторон //Медицинская иммунология. – 2006. – Т. 8. – №. 5–6. – С. 597–614.

44. Заболевания слизистой полости рта: учебное пособие/.под ред. К. И. Разнатовского – СПБ.: Изд-во СЗГМУ им. И.И.Мечникова, 2016-200с.

45. Зайко Н. Н. Патологическая физиология: учеб. / под ред. Н. Н. Зайко, Ю. В. Быця. – М.,2007. – 640 с.

46. Зеленова Е. Г., Заславская М. И., Салина Е. В., Рассанов С. П. Микрофлора полости рта: норма и патология. – Нижний Новгород: Изд-во НГМА, 2004. –158 с.

47. Зорина О. А. Взаимосвязь качественного и количественного состава биоценозов ротовой полости и индивидуального генетического профиля на фоне воспалительных заболеваний пародонта: автореф. дис. д.м.н: 2011. – 278с.

48. Зорина О. А., Кулаков А. А., Грудянов А. И. Микробиоценоз полости рта в норме и при воспалительных заболеваниях пародонта //Стоматология. – 2011. – Т. 90. – №. 1. – С. 73–78.

49. Зубарева И. В., Беренштейн Т. Ф., Федянин С. Д. Об адгезии грамположительных кокков // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2010. – Т. 9. – №. 1. – С. 6–15.

50. Иванова Е. Н., Быкова, А. С., Полянская, Я. Д. Короткоцепочечные жирные кислоты как диагностические маркеры галитоза при гингивитах // Acta Biomedica Scientifica. – 2008. – №. 2. – С. 31–32.

51. Игнатов, М. Ю., Цыбиков, Н. Н., Доманова, Е. Т., Исакова, Н. В., Пруткина, Е. В. Цитокины и аутоантитела к ним при одонтогенных абсцессах челюстно-лицевой области // Кубанский научный медицинский вестник. – 2010. – №. 1. – С. 39–41.

52. Ильин В. К. и др. Обоснование создания и применения пробиотических средств профилактики воспалительных заболеваний ротоглотки человека в искусственной среде обитания //Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2019. – Т. 53. – №. 4. – С. 47–52.

53. Ильин В. К., Батов, А. Б., Новикова, Н. Д., Мухамедиева, Л. Н., Поддубко С. В., Гегенава А. В., Скедина М. А. Микрофлора человека в условиях применения аутопробиотиков на основе Enterococcus faecium при 105-суточной изоляции //Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2010. – Т. 44. – №. 4. – С. 52–57.

54. Ильин В. К., Воложин А. И., Виха Г. В. Колонизационная резистентность организма в изменённых условиях обитания. – М.: Наука, 2005.

55. Ильин В. К., Кирюхина Н. В. Синдром нарушения колонизационной резистентности человека в искусственной среде обитания и его профилактика //Acta Naturae. – 2014. – Т. 6. – №. 2 (21). – С. 11–20.

56. Ильин В. К., Суворов А. Н., Кирюхина Н. В., Усанова Н. А., Старкова Л. В., Бояринцев В. В., Карасева А. Б. Аутопробиотики как средство профилактики инфекционно-воспалительных заболеваний у человека в искусственной среде обитания //Вестник Российской академии медицинских наук. – 2013. – Т. 68. – №. 2. – С. 56–62.

57. Ильин В. К., Усанова Н. А., Комиссарова Д. В., Шеф К. А., Агуреев А. Н., Каспранский Р. Р., Морозова Ю. А., Сахарова А. В., Носовский А. М. Сочетанное использование напитков брожения на основе сахаромицет и пробиотических и аутопробиотических препаратов для обеспечения нормализации микрофлоры человека в изоляционном эксперименте («SIRIUS-18/19») // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2020. – Т. 54. – №. 3. – С. 49–53.

58. Ильин В. К., Шумилина Г. А., Соловьева З. О. Исследование состояния полости рта и зубов космонавтов при полетах на МКС (Космический эксперимент «Пародонт-2») // ГНЦ РФ–ИМБП РАН. – 2016.

59. Ильин В. К., Соловьёва З. О., Шеблаева А. С., Рукавишников И. В., Носовский А. М., Царёв В. Н., Подпорин М. С., Быстрова О. В., Ловцевич С. М., Сравнение бактериологического метода и метода масс-спектрометрии

микробных маркеров для количественной оценки пародонтопатогенной микробиоты у испытуемых, находящихся в условиях «сухой» иммерсии

60. Ильин В. К., Соловьёва З. О., Гизингер О. А., Шеблаева А. С., Быстрова О. В., Ловцевич С. М., Бородин И. П. Сравнение метода ПЦР диагностики и метода масс-спектрометрии микробных маркёров применительно к оценке микробиоты полости рта // Клиническая лабораторная диагностика. – 2022. – Т. 67. – №. 8.

61. Ильин В. К., Соловьева З. О., Рыкова М. П., Скедина М. А., Ковалева А. А., Носовский А. М., Шеблаева А. С., Царев В. Н., Подпорин М. С., Быстрова О. В., Гизингер О. А., Ловцевич С. М., Комиссарова Д. В. Взаимосвязь изменения орального микробиоценоза и мукозального иммунитета в условиях 14-суточной изоляции человека в гермообъекте с искусственной средой обитания // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2022. – Т. 77. – №. 5. – С. 326–335.

62. Ильин В. К., Соловьева З. О., Рыкова М. П, Ковалева А. А., Носовский А. М., Шеблаева А. С., Шеблаев М. В., Гизингер О. А., Ловцевич С. М., Краева Л. А. Исследование влияния профилактического приема аутопробиотика на основе Streptococcus salivarius на состояние микробиоты полости рта у участников изоляционного эксперимента «Sirius 2020-2021» // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2024. – Т. 58. – №. 1. – С. 94–101.

63. Ильин В. К., Соловьева З. О., Рыкова М. П, Носовский А. М., Никоноров А.Г., Шеблаева А. С., Шеблаев М. В., Гизингер О. А., Ловцевич С. М., Краева Л.А.Изменения орального микробиоценоза под влиянием аутопробиотика на основе Streptococcus salivarius в условиях гипобарии и холодового стресса // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2024. – Т. 58. – №. 4. – С. 66–71.

64. Ипполитов Е. В. Мониторинг формирования микробной биопленки и оптимизация диагностики воспалительных заболеваний пародонта: Дис. д-ра мед. наук. М. 2016.

65. Кайбышева В. О., Никонов Е. Л. Пробиотики с позиции доказательной медицины // Доказательная гастроэнтерология. – 2019. – Т. 8. – №. 3. – С. 45–54.

66. Караулов А. В., Алёшкин В. А., Афанасьев С. С., Несвижский Ю. В. Новое в физиологии мукозального иммунитета. М.: Издательство Первого МГМУ им. И. М. Сеченова, 2013. – 168с.

67. Кафарская Л. И., Шкопоров А. Н., Чаплин А. В., Пикина А. П., Ефимов Б. А. Практика педиатра: роль пробиотиков в нормализации баланса микробиоты кишечника у детей // Вопросы детской диетологии. – 2016. – Т. 14, № 3. – С. 22–28

68. Ковальчук Л. В., Ганковская Л. В., Мешкова Р. Я. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии. – Гэотар-Медиа, 2011.

69. Козьминых Ю. В., Малков А. В., Марков В. Н. Подбор и конструирование питательных сред для производства жидких пробиотиков //Пробиотические микроорганизмы–современное состояние вопроса и перспективы использования: Сб. матер. междунар. науч. практ. конф. памяти ГИ Гончаровой. – 2002. – С. 77–78.

70. Костин А. Ю. Реология крови и физико-химические свойства эритроцитов у практически здоровых лиц и больных хроническим генерализованным пародонтитом до и после КВЧ-терапии: дисс. кандидата мед. наук. – Саратов, 2005. – 242 с.

71. Красноженов Е., Ахременко Я. Колонизационная резистентность организма человека в норме и при патологии. – Litres, 2022.

72. Кренделев М. С. Нормальная микрофлора ротовой полости человека //Современные проблемы науки и образования. – 2015. – №. 5. – С. 635–635.

73. Ларина И. М. и др. Взаимосвязь между изменениями водно-электролитного баланса и реакциями сердечно-сосудистой системы в эксперименте с 7-суточной" сухой" иммерсией //Физиология человека. – 2011. – Т. 37. – №. 5. – С. 100–107.

74. Левит Д. А., Лейдерман И. Н. Острое катаболическое состояние при синдроме системного воспалительного ответа различной этиологии. Попытка клинического анализа // Вестник интенсивной терапии. – 2006. – № 2. – С. 9–14.

75. Левицкий А. П. Пребиотики и проблема дисбактериоза / Левицкий А. П., Волянский Ю. Л., Скидан Н. В. – Харьков, 2008. – 100 с.

76. Лизько Н. Н. Микроэкологические аспекты космических полетов //Вестн. РАМН. – 1996. – №. 8. – С. 31.

77. Литусов Н. В. Грамположительные аэробные кокки: иллюстрированное учебное пособие. – Екатеринбург, 2016.

78. Мазанкова Л. Н., Лыкова Е. А. Пробиотики: характеристика препаратов и выбор в педиатрической практике //Детские инфекции. – 2004. – №. 1. – С. 18–23.

79. Макарова В. И., Макаров А. И. Роль цитокинов в реализации воспалительной реакции //Экология человека. – 2008. – №. 5. – С. 31–35.

80. Малахов Ю. А. Пробиотики и пробиотические продукты в профилактике и лечении наиболее распространенных заболеваний человека // Матер. Всерос. конф. с междунар. участием 21–23 апреля 1999 г. – М., 1999. – С. 110.

81. Мальнева Н. С. Изменение состояния тканей пародонта при воздействии некоторых экстремальных факторов: дис. – Моск. мед. стоматологический ин-т, 1997.

82. Мартиросян В. Г., Плескановская Н. В., Николаева Л. Н., Ипполитов Е. В., Царев В. Н., Пименова М. П., Арутюнов С. Д. Клинико-микробиологические особенности диагностики хронического

генерализованного пародонтита // Российский стоматологический журнал. – 2012. – №. 4. – С. 29–34.

83. Матисова Е.В., Крамарь В. С., Дмитриенко С.В., Климова Т.Н., Крамарь В.О., Микроэкология полости рта и ее роль в развитии стоматологических заболеваний: монография – Волгоград: Издательство ВолГМУ, 2010.

84. Маянский А. Н, Чеботарь И. В. Стафилококковые биопленки: структура, регуляция, отторжение // Журнал микробиологии.– 2011. – № 1. – С. 101–108.

85. Медвинский И. Д., Серов В. Н., Юрченко Л. Н. Тяжелый гестоз с позиции синдрома системного воспалительного ответа // Вестник интенсивной терапии. – 2003. – № 1. – С. 19

86. Межирова Н. М., Данилова В. В., Овчаренко С. С. Патофизиологические и диагностические аспекты синдрома системного воспалительного ответа // Медицина неотложных состояний. – 2011. – №. 1–2 (32–33). – С. 34–40.

87. Мечников И. И. О діэтическомъ значеніи «кислаго молока» проф. Мечникова. Клиническія наблюденія изъ СПБ. Морского Госпиталя, доктора мед. Г. А. Макарова. – С.-Петербургъ: Изданіе К. Л. Риккера,1907 г.

88. Мечников И. И. Этюды о природе человека - Москва: Научное слово, 1905. – 292 с.

89. Микробиология и иммунология для стоматологов / под ред. Р. Дж. Ламонта, М. С. Лантца, Р.А. Берне, Д. Дж. Лебланка. – М.: Практическая медицина. – 2010. – С. 297–339.

90. Мирсаева Ф. З., Ханов Т. В., Кузнецова Т. Н., Буйлова О. В. Видовой состав микрофлоры в содержимом пародонтальных карманов при обострении хронического генерализованного пародонтита. // Проблемы стоматологии. – 2018. – Т. 14. – №. 3. – С. 29–36.

91. Мураками Ш., Мили Б. Л., Мариотти А., Чаппл, И. Л. Гингивиты, вызванные зубной бляшкой // Пародонтология. – 2019. – Т. 24. – №. 3. – С. 244–252.

92. Мураталиев Е. А., Маматов С. М., Нартаев А А., Кононец И. Е. // Функциональные изменения в гемопоэзе у здоровых обследуемых во время адаптации к высокогорной гипоксии // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2003. – Т.89. – С.37-42.

93. Никитин Ю. М. Ультразвуковая допплерография в диагностике поражений магистральных артерий головы и основания мозга //М.: Спектромед. – 1995. – Т. 45.

94. Николаев Ю. А. Регуляция адгезии бактерий Pseudomonas fluorescens под влиянием дистантных межклеточных взаимодействий // Микробиология. – 2000. – Т. 69, № 3. – С. 356–361.

95. Николаева Е. Н., Царев В. Н., Лагутин М. Б. Алгоритм диагностики генерализованного пародонтита на основе микробиологических и иммуногенетических показателей //Стоматолог. – 2007. – Т. 8. – С. 35–40.

96. Носков В. Б. Механизмы волюморегуляции при действии факторов космического полета //Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2000. – Т. 34. – №. 4. – С. 3–8.

97. Правосудова Н. А., Мельников В. Л. Микробиология полости рта //Учебно-методическое пособие для студентов медицинских вузов. Пенза: ПГУ. – 2013.

98. Приемский В. Е. Состояние капилляров десны у людей различного возраста в норме и у пациентов с пародонтитом: дис. – - Кемерово, 1968. –24с.

99. Прилепская В. Н., Байрамова Г. Р. Современные представления о бактериальном вагинозе //Вестник Российской ассоциации акушеров-гинекологов. – 1996. – Т. 3. – С. 40.

100. Прохоров В. Я., Шилов В. М. Материалы 2-й научной конференции молодых ученых, – М., 1967, – С.158

101. Радыш И. В., Брюнин Д. В., Амбарцумян М. В. Элементный и цитокиновый статус слюны здоровых женщин, проживающих в различных экологических условиях //Микроэлементы в медицине. – 2012. – Т. 13. – №. 4. – С. 14–19.

102. Разумова С. Н., Шатохина С. Н., Шабалин В. Н. Прогнозирование кариеса по морфологической картине ротовой жидкости у подростков //Стоматология детского возраста и профилактика. – 2007. – Т. 6. – №. 2. – С. 23–25.

103. Рахманов Р. С. Прогнозирование и неспецифическая профилактика аэрозольных и кишечных инфекций у человека в экстремальных условиях: дисс. д. м. н. – М.,1994. – 229с.

104. Рувинская Г. Р. Перспективы применения метода масс-спектрометрии ротовой жидкости в клинической стоматологии // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 4.

105. Рыбальченко О. В., Бондаренко В. М., Добрица В. П. Атлас ультраструктуры микробиоты кишечника человека. – СПб.: ИИЦ ВМА, 2008.

106. Свитич О. А., Ковальчук Л. В., Банковская Л. В., Лавров В. Ф., Гервазиева В. Б., Парфенова Т. М. Аналитический подход в изучении противовирусного и иммуномодулирующего действия препаратов на модели герпесвирусной инфекции in vitro // Российский иммунологический журнал. – 2013. – Т. 7. – №. 4. – С. 377–384.

107. Симаненков В. И., Боваева Д. И., Соловьева О. И., Суворов А. Н. Cag-статус Helicobacter pylori и эффективность эрадикационной терапии //Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2004. – №. 1. – С. 11–11.

108. Симаненков В. И., Суворов А. Н., Захарова Н. В. и соавт. Патент РФ на изобр. № 2246957. 04.11.2002. Способ лечения хронического H. pylori-ассоциированного гастрита препаратом Ламинолакт. 2002

109. Симаненков В. И., Шумихина И. А., Сундукова З. Р. Постинфекционный синдром раздраженного кишечника //

Гастроэнтерология. Хирургия. Интенсивная терапия. Consilium Medicum. – 2019. – №. 1. – С. 42–46.

110. Симаненков В. И., Суворов А. Н., Соловьева О. И. Патент РФ №2546253. 02.03.2015. Способ получения персонифицированного аутопробиотического продукта и способ лечения синдрома раздраженного кишечника с использованием этого продукта. 2015. Бюл. № 10

111. Скедина М. А., Соловьёва З. О., Ковалёва А. А., Ильин В. К. Исследование тканей пародонта при моделировании условий микрогравитации // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2018. – Т. 17. – №. 2. – С. 49–56.

112. Смолеевский А.Е., Манько О. М., Бубеев Ю. А., Смирнова Т. А. Психофизиологические эффекты светодиодного освещения в условиях гермообъекта. // Известия Российской Военно-Медицинской Академии. – 2018. -Т. 37. – С. 124–127.

113. Соловьева О. И., Симаненков В. И., Суворов А. Н., Донец В. Н., Сундукова З. Р., Шумихина И. А. Возможности пробиотической терапии в гастроэнтерологии // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. ИИ Мечникова. – 2011. – Т. 3. – №. 4. – С. 69–80.

114. Соловьева О. И., Симаненков В. И., Суворов А. Н., Ермоленко Е. И., Шумихина И. А., Свиридо Д. А. Использование пробиотиков и аутопробиотиков в лечении синдрома раздраженной толстой кишки //Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2017. – №. 7 (143). – С. 115–120.

115. Стржижовский А. Д. Ультрафиолетовая радиация как фактор риска на земле и в космосе //Авиакосмическая и экологическая медицина. – 1998. – Т. 32. – №. 1. – С. 4–13.

116. Суворов А. Н. и др. Способ получения аутопробиотика на основе Enterocuccus faecium, представителя индигенной микрофлоры кишечника хозяина //Вестн. Росс. акад. мед. наук. – 2013. – № 2. – С. 56-62.

117. Уйба В. В., Ушаков И. Б., Сапецкий А. О. Медико-биологические риски, связанные с выполнением дальних космических полетов // Медицина экстремальных ситуаций. – 2017. – №. 1 (59). – С. 43-64.

118. Ушаков И. Б., Воронков Ю. И., Бухтияров И. В., Тихонова Г. И., Горчакова Т. Ю. Ретроспективный анализ состояния здоровья космонавтов после участия в космических полетах // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2016. – Т. 50. – №. 2. – С. 14–20.

119. Файхтингер Е. Л. Организация общения изолированного международного экипажа с внешними абонентами для оптимизации психологической поддержки // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2018. – Т. 52. –№ 4. – с. 28–33.

120. Фролов М. В., Милованова Г. Б. Особенности контроля состояния человека-оператора по показателям основного тона и спектра его речи // Физиология человека. 2009. – Т. 35. – № 2. – с. 136–138.

121. Хаитов Р. М. основные принципы иммуномодулирующей терапии / р. м. хаитов, Б. в. Пинегин //Аллергия, астма и клиническая иммунология. – 2000– № 1. – С. 9–16.

122. Царев В. Н., Ушаков Р. В., Ипполитов Е. В., Бродский С. Е. Перспективы применения фторхинолонов для антибактериальной терапии инфекционных процессов в стоматологии // Стоматология для всех. – 2006. – №. 4. – С. 14–19.

123. Царев В.Н. Антимикробная терапия в стоматологии: руководство / В. Н. Царев, Р. В. Ушаков. – М.: Мединформагенство, 2004. – 144с

124. Циммерман Я. С., Несчисляев В. А., Субботина Л. В. Микробный антагонизм и обоснование включения пробиотиков в комплексное лечение Helicobacter pylori-зависимых заболеваний // Клиническая медицина. – 2010. – Т. 4. – С. 35–42.

125. Червинец В. М., Червинец Ю. В., Леонтьева А. В., Козлова Е. А., Стулов Н. М., Беляев В. С., Миронов, А. Ю. Микробиом полости рта у

больных пародонтитом, адгезивные и биоплёнкообразующие свойства // Клиническая лабораторная диагностика. – 2021. – Т. 66. – №. 1. – С. 45–51.

126. Черний В. И., Нестеренко А. Н. Нарушения иммунитета при критических состояниях: особенности диагностики // Внутренняя медицина. – 2007. – Т. 2. – №. 2. – С. 12–23.

127. Чертков К. Л. Характеристика биологических свойств энтерококков, выделенных из различных биотопов: Автореф. дис. канд. мед. наук. – Оренбург, 2001.

128. Чуян Е. Н., Трибрат Н. С., Раваева М. Ю. Тканевая микрогемодинамика: влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения миллиметрового диапазона – Симферополь: ИТ «Ариал», 2017. - 325 с.

129. Шабашова Н. В., Данилова Е. Ю. Местный иммунитет и микробиота ротовой полости (обзор) // Проблемы медицинской микологии. – 2015. – Т. 17. – №. 4. – С. 4–13.

130. Шендеров Б. А. и др. Пробиотики и функциональное питание //Антибиотики и химиотерапия. – 1997. – Т. 42. – №. 7. – С. 30–34.,

131. Шендеров Б. А. Нормальная микрофлора и ее роль в поддержании здоровья человека // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1998. – Т. 1. – С. 61–66.

132. Шендеров Б. А. Медицинская микробная экология и функциональное питание: в 3 т. Т.1. Микрофлора человека и животных и ее функции. – М.: ГРАНТЪ, 1998. 289 с.

133. Шендеров Б. А., Манвелова М. А. Пробиотики и функциональное питание. Микроэкологические аспекты. Материалы Всероссийской конференции с международным участием «Пробиотики и пробиотические продукты в профилактике и лечении наиболее распространенных заболеваний человека.» – М: 1999 – С. 23–24.

134. Шумилина Г. А., Зарубина К. В. Оценка функционального состояния полости рта космонавтов в условиях космического полета

//Космическая биология и авиакосмическая медицина: материалы XII Конференции. – 2002. – С. 361–362.

135. Щербакова Н. В., Начаров П. В., Янов Ю. К. Анализ газового состава выдыхаемого воздуха в диагностике заболеваний //Рос. оториноларингология. – 2005. – №. 4. – С. 17.

136. Петров Р. В. Основы иммунитета и иммунная биотехнология //Вестник РАМН. – 2000. – № 11. – С. 18–21.

137. Aas J. A. et al. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity //Journal of clinical microbiology. – 2005. – V. 43. – №. 11. – P. 5721–5732.

138. Abu-Ghazaleh R. I., Fujisawa T., Mestecky J., Kyle R. A., Gleich G. J. IgA-induced eosinophil degranulation // J. Immunol. 1989. V..142. P.2392-2400

139. Alam N. H. Treatment of infection diarrhea in children // Paediatr. Drugs. – 2003. – V.5, №. 3. – P.151–165.

140. Allen F. R. et al. Classification of a known sequence of motions and postures from accelerometry data using adapted Gaussian mixture models //Physiological measurement. – 2006. – V. 27. – №. 10. – P. 935.

141. Almstahl A., Wikström M., Almstahl A. Microflora in oral ecosystems in subjects with hyposalivation due to medicines or of unknown origin //Oral health & preventive dentistry. – 2005. – V. 3. – №. 2.

142. Al-Otaibi F. E., Al-Mohizea M. M. Non-vertebral Veillonella species septicemia and osteomyelitis in a patient with diabetes: a case report and review of the literature // Journal of Medical Case Reports. – 2014. – P.365.

143. Amado L. L., Monserrat J. M. Oxidative stress generation by microcystins in aquatic animals: why and how //Environment International. – 2010. – V. 36. – №. 2. – P. 226–235.

144. Amerongen, A. V. Saliva-the defender of the oral cavity // Oral. Dis. – 2002. – V.8, № 1. – P.12–22.

145. Baroud M., Dandache I., Araj G. F. et al. Underlying mechanisms of carbapenem resistance in extended-spectrum β-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli isolates at a tertiary care centre in Lebanon: role

of OXA-48 and NDM-1 carbapenemases // International Journal of 298 Antimicrobial Agents. –2013.–V..41(1). –P.75–79.

146. Bartold, P. M., Van Dyke T. E. Periodontitis: A host-mediated disruption of microbial homeostasis. Unlearning learned concepts // Periodontology 2000. – 2013. – V.62. – P. 203–217.

147. Basner M. et al. Mars 520-d mission simulation reveals protracted crew hypokinesis and alterations of sleep duration and timing //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2013. – V. 110. – №. 7. – P. 2635-2640.

148. Beem J. E., Hurley C. G. et al. Subgingival microbiota in squivelle monkeys with naturally occurring periodontal diseases // Impact and immunity. - 1991. – V. 59. – P. 4034- 4041.

149. Beklen A. et al. The function of TLR4 in interferon gamma or interleukin-13 exposed and lipopolysaccharide stimulated gingival epithelial cell cultures //Biotechnic & Histochemistry. – 2014. – V. 89. – №. 7. – P. 505-512.

150. Bell S. T., Brown S. G., Mitchell T. What we know about team dynamics for long-distance space missions: a systematic review of analog research //Frontiers in psychology. – 2019. – V. 10. – P. 811.

151. Bensch K. W., Raida M., Magert H.J., Schulz-Knappe P., Forssmann W.G. HBD: a novel b-defensin from human plasma. //FEBS Lett – 1995 – V.368 – p. 331–335.

152. Bettinelli D. et al. Effect of gravity on chest wall mechanics //Journal of Applied Physiology. – 2002. – V. 92. – №. 2. – P. 709–716.

153. Bickel M., Munoz J., Giovannini P. Acid-base properties of human gingival crevicular fluid // Journal of Dental Research. – 1985. – V. 64.– P. 1218–1220.

154. Biestrok A. R., Redly M. S., Levine M. J. Interaction of asalivary mucin-secretory IgA // E.Exp. Med. – 1991. – V.167. – P. 1945–1950.

155. Burton J. P. et al. Influence of the probiotic Streptococcus salivarius strain M18 on indices of dental health in children: a randomized double-blind,

placebo-controlled trial //Journal of medical microbiology. – 2013. – V. 62. – №. 6. – P. 875–884.

156. Burton J. P., Drummond B. K., Chilcott C. N., Tagg J. R., Thomson W. M., Hale J. D. F., Wescombe P. A., Burton J. P. et al. Influence of the probiotic Streptococcus salivarius strain M18 on indices of dental health in children: a randomized double-blind, placebo-controlled trial //Journal of medical microbiology. – 2013. – V. 62. – №. 6. – P. 875-884.

157. Chicharro J. L. et al. Saliva composition and exercise //Sports medicine. – 1998. – V. 26. – P. 17-27.

158. Cosseau C, Devine D. A, Dullaghan E, Gardy J. L, Chikatamarla A, Gellatly S. et al. Cosseau C. et al. The commensal Streptococcus salivarius K12 downregulates the innate immune responses of human epithelial cells and promotes host-microbe homeostasis //Infection and immunity. – 2008. – V. 76. – №. 9. – P. 4163-4175.

159. Crucian B. et al. Alterations in adaptive immunity persist during long-duration spaceflight //NPJ Microgravity. – 2015. – V. 1. – №. 1. – P. 1-10.

160. Crucian B., Babiak-Vazquez A., Johnston S., Pierson D. L., Ott C. M., Sams C. Incidence of clinical symptoms during long-duration orbital spaceflight //International journal of general medicine. – 2016. – P. 383-391.

161. De Prisco A., Mauriello G. Probiotication of foods: A focus on microencapsulation tool //Trends in food science & technology. – 2016. – V. 48. – P. 27-39.

162. Dechant M., Valerius T. IgA antibodies for cancer therapy //Critical reviews in oncology/hematology. – 2001. – V. 39. – №. 1-2. – P. 69-77.

163. Deshpande G. C., Rao S.C., Keil A. D., Patole S. K. Evidence-based guidelines for use of probiotics in preterm neonates // BMC Medicine. - 2011. – V.9 – № 92. – P. 1–13.

164. Di Caro S., Tao H., Grillo A. Effects of Lactobacillus GG on genes expression pattern in small bowel mucosa / S.Di Caro, // Digestive and liver disease. – 2005. – V.37, № 5. – P. 320-329.

165. Diamond G., Jones D. E., Bevins C. L. Airway epithelial cells are the site of expression of a mammalian antimicrobial peptide gene //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1993. – V. 90. – №. 10. – P. 4596-4600.

166. Diamond G., Russell J. P., Bevins C. L. Inducible expression of an antibiotic peptide gene in lipopolysaccharide-challenged tracheal epithelial cells //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1996. – V. 93. – №. 10. – P. 5156-5160.

167. Donaubauer A. J. et al. The influence of radiation on bone and bone cells–differential effects on osteoclasts and osteoblasts //International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – V. 21. – №. 17. – P. 6377.

168. Eggert F. M., Drewell L., Bigelow J. A. The pH of gingival crevices and periodontal pockets in children, teenagers and adults // Archives of Oral Biology. – 1991. – V. 36. – P. 233–238.

169. Egmond van M., Damen C. A., Spriel A.B., Vidarsson G., van Garderen E., van de Winkel J.G. IgA and the IgA Fc receptor // Trends Immunol. - 2001. – V.22 – p.205-211

170. Elliott A. R., Prisk G. K., Guy H. J. B., West J. B. Lung Volumes during sustained microgravity on Spacelab SLS-1 //Journal of Applied Physiology. – 1994. – V. 77. – №. 4. – P. 2005-2014.

171. Marsh J., Goode J. A. (ed.). Antimicrobial peptides. – John Wiley & Sons, 2008.

172. Foster T. J. Staphylococcus aureus //Molecular Medical Microbiology. – 2002. – P. 839-888.

173. Fritschi B. Z., Albert-Kiszely A., Persson G. R. Staphylococcus aureus and other bacteria in untreated periodontitis // Journal of Dental Research. – 2008. –. 87. – P. 589–593.

174. Fujioka H., Emancipator S. N., Aikawa M., Huang D. S., Blatnik F. et al. Immunocytochemical colocalization of specific immunoglobulin A with sendai virus protein in infected polarized epithelium //The Journal of experimental medicine. – 1998. – V. 188. – №. 7. – P. 1223-1229.

175. Ganz T. Biosynthesis of defensins and other antimicrobial peptides //Ciba Foundation Symposium 186-Antimicrobial Peptides: Antimicrobial Peptides: Ciba Foundation Symposium 186. – Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd., 2007. – P. 62-76.

176. Gao L., Xu T., Huang G. et al. Oral microbiomes: more and more importance in oral cavity and whole body //Protein & cell. – 2018. – V. 9. – №. 5. – P. 488-500.

177. Garrett-Bakelman F. E. et al. The NASA Twins Study: A multidimensional analysis of a year-long human spaceflight //Science. – 2019. – V. 364. – №. 6436. – P. 8650.

178. Gemmell E., Seymour G. J. Immunoregulatory control of Th1/Th2 cytokine profiles in periodontal disease //Periodontology 2000. – 2004. – V. 35. – №. 1. – P. 21-41.

179. Gionchetti P. et al. Prophylaxis of pouchitis onset with probiotic therapy: A double-blind, placebo-controlled trial //Gastroenterology. – 2000. – V. 4. – №. 118. – P. 190.

180. Guglielmetti S. et al. Oral bacteria as potential probiotics for the pharyngeal mucosa //Applied and environmental microbiology. – 2010. – V. 76. – №. 12. – P. 3948–3958.

181. Haffajee A. D., Socransky S. S. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases //Periodontology 2000. – 1994. – V. 5. – №. 1. – P. 78–111.

182. Hancock R. E. W., Chapple D. S. Peptide antibiotics //Antimicrobial agents and chemotherapy. – 1999. – V. 43. – №. 6. – P. 1317-1323.

183. Haraszthy V.I., Zambon J.J., Trevisan M., Zeid M., Genco R J. Identification of periodontal pathogens in atheromatous plaques //Journal of periodontology. – 2000. – V. 71. – №. 10. – P. 1554-1560.

184. Harder J. et al. A peptide antibiotic from human skin //Nature. – 1997. – V. 387. – №. 6636. – P. 861-861.

185. Hart A. L. et al. Modulation of human dendritic cell phenotype and function by probiotic bacteria //Gut. – 2004. – V. 53. – №. 11. – P. 1602-1609.

186. Hentzer M. et al. Alginate overproduction affects Pseudomonas aeruginosa biofilm structure and function //Journal of bacteriology. – 2001. – V. 183. – №. 18. – P. 5395-5401.

187. Hofman L. F. Human saliva as a diagnostic specimen //The Journal of nutrition. – 2001. – V. 131. – №. 5. – P. 1621S-1625S.

188. Horz H. P. et al. Distribution and persistence of probiotic Streptococcus salivarius K12 in the human oral cavity as determined by real-time quantitative polymerase chain reaction //Oral microbiology and immunology. – 2007. – V. 22. – №. 2. – P. 126-130.

189. Huls G. et al. Antitumor immune effector mechanisms recruited by phage display-derived fully human IgG1 and IgA1 monoclonal antibodies //Cancer research. – 1999. – V. 59. – №. 22. – P. 5778-5784.

190. Jiang W., Pisetsky D. S. Enhancing immunogenicity by CpG DNA //Current Opinion in Molecular Therapeutics. – 2003. – V. 5. – №. 2. – P. 180-185.

191. Jiang P., Green, S.J., Chlipala, G.E., Turek, F.W., Vitaterna M.H. Reproducible changes in the gut microbiome suggest a shift in microbial and host metabolism during spaceflight //Microbiome. – 2019. – V. 7. – №. 1. – P. 1-18.

192. Jünemann S. et al. Bacterial community shift in treated periodontitis patients revealed by ion torrent 16S rRNA gene amplicon sequencing//PLoS One. – 2012. – V.7 – P.416

193. Kirkpatrick A. W. et al. The abdominal compartment, intra-abdominal hypertension, the human microbiome and exploration class space missions //Canadian Journal of Surgery. – 2020. – V. 63. – №. 6. – P.581.

194. Klein G. Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract // Int. J. Food Microbiol. – 2003. – V. 88. – P. 123–131.

195. Kreth J., Merritt J., Qi F. Bacterial and host interactions of oral streptococci //DNA and cell biology. – 2009. – V. 28. – №. 8. – P. 397–403.

196. Lammers K. M. et al. Immunomodulatory effects of probiotic bacteria DNA: IL-1 and IL-10 response in human peripheral blood mononuclear cells //FEMS Immunology & Medical Microbiology. – 2003. – V. 38. – №. 2. – P. 165-172.

197. Larsen M. J. et al. Individual variations of pH, buffer capacity, and concentrations of calcium and phosphate in unstimulated whole saliva //Archives of Oral Biology. – 1999. – V. 44. – №. 2. – P. 111–117.

198. Leonhardt A. In vitro adhesion and ribotypes anong oral bacteria isolated form plague on titanuim, hudroxyapatite and amalgam surfaces // Microb. Ecol. Health and Disease. – 1995. – V.8 – N. 6. – P. 263-301.

199. Lin Z., Rios H. F., Cochran D. L. Emerging regenerative approaches for periodontal reconstruction: a systematic review from the AAP Regeneration Workshop //Journal of periodontology. – 2015. – V. 86. – P. 134-S152.

200. Little M. P., Tawn E. J., Tzoulaki I., Wakeford R., Hildebrandt G., Paris F., Tapio S., Elliott P. Review and meta-analysis of epidemiological associations between low/moderate doses of ionizing radiation and circulatory disease risks, and their possible mechanisms //Radiation and environmental biophysics. – 2010. – V. 49. – P. 139-153.

201. Löhr G. et al. Polyphenols from Myrothamnus flabellifolia Welw. inhibit in vitro adhesion of Porphyromonas gingivalis and exert anti-inflammatory cytoprotective effects in KB cells //Journal of clinical periodontology. – 2011. – V. 38. – №. 5. – P. 457–469.

202. Ma J. K. C. et al. Characterization of a recombinant plant monoclonal secretory antibody and preventive immunotherapy in humans //Nature medicine. – 1998. – V. 4. – №. 5. – P. 601-606.

203. Mazanec M. B. et al. Intracellular neutralization of virus by immunoglobulin A antibodies //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1992. – V. 89. – №. 15. – P. 6901-6905.

204. Mestecky J., Moro I., Kerr M.A., Woof. J. M. Mucosal immunoglobulins // Mucosal Immunology/ ed. Mestecky J., Bienenstock J., Lamm

M. E., Mayer L., McGhee J. R., Strober W. - Amsterdam Elsevier/Academic Press. - 2005

205. Miyasaki K. T., Iofel R., Lehrer R. I. Sensitivity of periodontal pathogens to the bactericidal activity of synthetic protegrins, antibiotic peptides derived from porcine leukocytes //Journal of dental research. – 1997. – V. 76. – №. 8. – P. 1453-1459.

206. Morita M., Wang H. L. Association between oral malodor and adult periodontitis: a review //Journal of clinical periodontology. – 2001. – V. 28. – №. 9. – P. 813–819.

207. Nakahara J., Seiwa C., Shibuya A., Aiso S., Asou H. Expression of Fc receptor for immunoglobulin M in oligodendrocytes and myelin of mouse central nervous system //Neuroscience letters. – 2003. – V. 337. – №. 2. – P. 73-76.

208. Nakano K. et al. Detection of oral bacteria in cardiovascular specimens //Oral microbiology and immunology. – 2009. – V. 24. – №. 1. – P. 64-68.

209. Nissle A. Die antagonistische Behandlung chronischer Darmstorungen mit Colibakterien.Med Klin 1918; 2: 29–33.

210. Nissle A. Die antagonistische behandlung chronischer darmstörungen mit colibakterien //Med Klin. – 1918. – V. 2. – P. 29-33.

211. Nowak A., Paliwoda A., Błasiak J. Anti-proliferative, pro-apoptotic and anti-oxidative activity of Lactobacillus and Bifidobacterium strains: A review of mechanisms and therapeutic perspectives //Critical reviews in food science and nutrition. – 2019. – V. 59. – №. 21. – P. 3456–3467.

212. Otte J. M., Podolsky D. K. Functional modulation of enterocytes by gram-positive and gram-negative microorganisms //American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. – 2004. – V. 286. – №. 4. – P. G613-G626. Otte J.M., Podolsky D.K. Functional modulation on enterocytes by Gram–positive and Gram–negative microorganisms // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 2004. V.286. P.613–26.

213. Page R. C. et al. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions //Periodontology 2000. – 1997. – V. 14. – №. 1. – P. 216-248.

214. Page R. C., Offenbacher S., Schroeder H. E. et al. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions //Periodontology 2000. – 1997. – V. 14. – №. 1. – P. 216-248.

215. Papaioannou W. et al. The microbiota on different oral surfaces in healthy children //Oral microbiology and immunology. – 2009. – V. 24. – №. 3. – P. 183–189.

216. Paryavi-Gholami F., Minah G. E., Turng B. F. Oral malodor in children and Vatile sulfur compound-producing bacteria in saliva: preliminary microbiological investigation //Pediatr Dent. – 1999. – V. 21. – №. 6. – P. 320–324.

217. Paster B. J., Dewhirst F. E. Molecular microbial diagnosis //Periodontology 2000. – 2009. – V. 51. – P. 38.

218. Patel S. The effects of microgravity and space radiation on cardiovascular health: From low-Earth orbit and beyond //IJC Heart & Vasculature. – 2020. – V. 30. – P. 100595.

219. Perhonen, M.A., Franco F., Lane, L.D., Buckey, J.C., Blomqvist C.G., Zerwekh J. E., Peshock R. M., Weatherall P. T., Levine B. D. Cardiac atrophy after bed rest and spaceflight //Journal of applied physiology. – 2001. – V. 91. – №. 2. – P. 645-653.

220. Pöllänen M. T. Environmental stimuli shape biofilm formation and the virulence of periodontal pathogens //International Journal of Molecular Sciences. – 2013. – V.14 (8). – P. 17221–17237.

221. Pradhan D., Mallappa R. H., Grover S. Comprehensive approaches for assessing the safety of probiotic bacteria //Food Control. – 2020. – V. 108. – P. 106872.

222. Prisk G. K. Microgravity and the respiratory system //European Respiratory Journal. – 2014. – V. 43. – №. 5. – P. 1459-1471.

223. Pucar A., Milasin J., Lekovic V., Vukadinovic. M., Ristic M., Putnik S., Barrie Kenney E. Correlation between atherosclerosis and periodontal putative pathogenic bacterial infections in coronary and internal mammary arteries //Journal of periodontology. – 2007. – V. 78. – №. 4. – P. 677-682.

224. Rohleder N., Nater U. M. Determinants of salivary α-amylase in humans and methodological considerations //Psychoneuroendocrinology. – 2009. – V. 34. – №. 4. – P. 469–485.

225. Saavedra J. M. Clinical applications of probiotic agents //The American journal of clinical nutrition. – 2001. – V. 73. – №. 6. – P. 1147-1151.

226. Sako T., Kneifel W., Salminen S. The world's oldest probiotic: perspectives for health claims //Probiotic and health claims. Ed. Kneifel W., Salminen S. Blackwell Publishing Ltd. – 2011. – P. 17.

227. Sampaio-Maia B. et al. The oral microbiome in health and its implication in oral and systemic diseases //Advances in applied microbiology. – 2016. – V. 97. – P. 171-210.

228. Sandal G. M., van de Vijver F. J. R., Smith N. Psychological hibernation in Antarctica //Frontiers in psychology. – 2018. – V. 9. – P. 2235.

229. Servin A. L. Adhesion of probiotic strains to the intestinal mucosa and interaction with pathogens // Best Practice & Research Clinical Gastroenterology. - 2003. -V.17, № 5. - P. 741–754.

230. Ship J. A. Xerostomia and the geriatric patient / J. A. Ship, S. R. Pillemer, B. J. Baum // J. Am. Geriatr. Soc. – 2002. – V.50, № 3. – P. 535–543

231. Solomon A. Monoclonal immunoglobulins as biomarkers of cancer //Cancer markers: Diagnostic and developmental significance. – Totowa, NJ: Humana Press, 1980. – P. 57-87.

232. Sommer F., Bäckhed F. The gut microbiota–masters of host development and physiology //Nature reviews microbiology. – 2013. – V. 11. – №. 4. – P. 227-238.

233. Stahl S., Voorhies A. H., Lorenzi S., Castro-Wallace G., Douglas. Effect of low shear modeled microgravity (LSMMG) on the probiotic

Lactobacillus acidophilus ATCC 4356 //Human Research Program Investigators Workshop. – 2016. – №. JSC-CN-34809.

234. Stowik, Turner. (2016). Contribution of Probiotics Streptococcus salivarius Strains K12 and M18 to Oral Health in Humans: A Review // Honors Scholar Theses – 2016 – 488.

235. Sun Y., Shu., Li C. L., Zhang M. Z. Gram-negative periodontal bacteria induce the activation of Toll-like receptors 2 and 4, and cytokine production in human periodontal ligament cells //Journal of periodontology. – 2010. – V. 81. – №. 10. – P. 1488-1496.

236. Sunandhakumari V. J., Vidhyadharan A. K., Alim A., Kumar D., Ravindran J., Krishna A., Prasad M. Fabrication and in vitro characterization of bioactive glass/nano hydroxyapatite reinforced electrospun poly (ε-caprolactone) composite membranes for guided tissue regeneration //Bioengineering. – 2018. – V. 5. – №. 3. – P. 54.

237. Tan W. C., Tay F. B., Lim L. P. et al. Antimicrobial host response therapy in periodontics: a modern way to manage disease // Dentistry Today. - 2006. – V.25, № 9. – P. 84.

238. Tanzer J. M., Kurasz A. B., Clive J. Competitive displacement of mutans streptococci and inhibition of tooth decay by Streptococcus salivarius TOVE-R //Infection and immunity. – 1985. – V. 48. – №. 1. – P. 44–50.

239. Tetz V. V. Effect of extracellular DNA destruction by DNase I on characteristics of forming biofilms // DNA and Cell Biology. – 2010.– V.29 (8). – P. 399–405.

240. Thornton W. E., Linder B. J., Moore T. P., Pool S. L. Gastrointestinal motility in space motion sickness //Aviation, Space, and Environmental Medicine. – 1987. – V. 58. – №. 9 Pt 2. – P. A16-21.

241. Tissier H. Traitement des infections intestinales per la methode de la flore bacterienne de I’intestin. //CR. Soc Biol. – 1906 – V.60 – P.359-361

242. Trevani A. S. et al. Bacterial DNA activates human neutrophils by a CpG-independent pathway //European journal of immunology. – 2003. – V. 33. – №. 11. – P. 3164-3174.

243. Turroni S., Magnani M., Lesnik P., Vidal H., Heer M. Gut microbiome and space travelers' health: state of the art and possible pro/prebiotic strategies for long-term space missions //Frontiers in physiology. – 2020. – V. 11. – P. 553929.

244. Twetman S. Probiotics for caries prevention and control // Advances in dental research. - 2012. - V.24, № 2. - P. 98-102.

245. Van Dijk M. A., Van De Winkel J. G. J. Human antibodies as next generation therapeutics //Current opinion in chemical biology. – 2001. – V. 5. – №. 4. – P. 368-374.

246. Veckman V., Miettinen M., Matikainen S. et al. Lactobacilli and streptococci induce inflammatory chemokine production in human macrophages that stimulates Th1 cell chemotaxis // Journal of Leucocyte Biology. – 2003. – V. 74. – №. 3. – P. 395-402.

247. Vujic G. Efficacy of orally applied probiotic capsules for bacterial vaginosis and other vaginal infections: a double-blind, randomized, placebo-controlled study // European journal of obstetrics, gynecology and reproductive biology. - 2013. - V. 168, № 1. - P. 75-79.

248. Wellens B. T., Smith A. P. Combined workplace stressors and their relationship with mood, physiology, and performance //Work & Stress. – 2006. – V. 20. – №. 3. – P. 245–258.

249. Woof J. M., Kerr M. A. IgA function–variations on a theme //Immunology. – 2004. – V. 113. – №. 2. – P. 175.

250. Wu H., Huff J., Casey R., Kim M., Cucinotta F. Risk of acute radiation syndromes due to solar particle events //The Human Health and Performance Risks for Space Explorations. Houston, Texas: NASA Human Research Program. – 2009. – P. 171-90.

251. Yu T., Parks B.W., Yu S., Srivastava R., Gupta K., Wu X., Khaled S., Chang P. Y., Kabarowski J. H., Kucik D. F. Iron-ion radiation accelerates atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice //Radiation research. – 2011. – V. 175. – №. 6. – P. 766-773.

252. Zaura E., Keijser B. J. F., Huse S. M., Crielaard W. Defining the healthy" core microbiome" of oral microbial communities //BMC Microbiology. – 2009. – V. 9. – №. 9.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

(СПРАВОЧНОЕ)

ВЫПИСКА О РЕГИСТРАЦИИ БД RU 2022620059

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

RU2022620059

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

ГОСУДАРСТВЕННАЯ РЕГИСТРАЦИЯ БАЗЫ ДАННЫХ, ОХРАНЯЕМОЙ АВТОРСКИМИ ПРАВАМИ

Номер регистрации (свидетельства):
2022620059
Дата регистрации: **11.01.2022**
Номер и дата поступления заявки:
2021623299 23.12.2021
Дата публикации и номер бюллетеня:
11.01.2022 Бюл. № 1
Контактные реквизиты:
Тел.: (499)195-15-00, e-mail: info@imbp.ru

Автор(ы):
Ильин Вячеслав Константинович (RU),
Орлов Олег Игоревич (RU),
Соловьева Зоя Олеговна (RU),
Кирюхина Наталия Владимировна (RU),
Морозова Юлия Алексеевна (RU),
Шеблаева Анна Сергеевна (RU)
Правообладатель(и):
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации - Институт медико-биологических проблем Российской академии наук (ГНЦ РФ - ИМБП РАН) (RU)

Название базы данных:
Искусственная слюна, содержащая аутопробиотик саливарного стрептококка

Реферат:
База данных состава микробиоты ротовой полости и состава искусственной слюны участников экспериментов в искусственной среде обитания с применением аутологичных штаммов пробиотиков. Предназначена для оценки изменения динамики роста микроорганизмов, цитокинов, иммуноглобулинов в ротовой полости участников экспериментов, находящихся в измененной среде обитания до, во время и после выполнения экспериментов. В базе данных указаны результаты анализа микробиоты, используемые методы анализа и число КОЕ микроорганизмов и их классификация при исследовании биотопов: между 6 и 7 зубами с внутренней (язычной) стороны нижней челюсти. В базе данных указано наличие иммуноглобулинов (sIgA, IgA, IgM, г/л) и цитокинов (IL-6, IL-8, IL-1β, INFγ, TNFα, IL-4, пкг/мл) при исследовании биотопов: между 1 и 2 резцами справа на верхней и нижней челюсти снаружи, между 1 и 2 резцами слева на верхней и нижней челюсти снаружи. Область применения: космическая биология и медицина. Тип ЭВМ: IBM PC-совмест. ПК.

Вид и версия системы управления базой данных: Access 2007 и выше

Объем базы данных: 1,38 МБ

Рисунок А.1 - Выписка о регистрации БД RU 2022620059