



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **33533** (13) **U**
(51) МПК (2006)
A61C 7/00
A61P 1/02 (2008.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ПІДВИЩЕННЯ НЕСПЕЦИФІЧНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ ОРГАНІЗМУ ПЕРЕД ПРОВЕДЕННЯМ ОРТОДОНТИЧНОГО ПЕРЕМІЩЕННЯ ЗУБІВ У ЩУРІВ

1

2

(21) u200802632

(22) 29.02.2008

(46) 25.06.2008, Бюл.№ 12, 2008 р.

(72) МІРЧУК БОГДАН МИКОЛАЄВИЧ, UA, ДЕНЬГА
АНАСТАСІЯ ЕДУАРДІВНА, UA

(73) МІРЧУК БОГДАН МИКОЛАЄВИЧ, UA, ДЕНЬГА
АНАСТАСІЯ ЕДУАРДІВНА, UA

(57) Спосіб підвищення неспецифічної резистентності організму перед проведенням ортодонтичного переміщення зубів у щурів, який характеризується тим, що тваринам за запропонованою схемою у вигляді водної суспензії вводять per os кожен день препарати: біотрит - 300 мг/кг за 14 днів до ортодонтичного втручання, остеовіт - 500 мг/кг протягом 21 доби після ортодонтичного втручання.

Корисна модель належить до медицини, конкретно до стоматології і може бути використана у науковій роботі при проведенні ортодонтичного втручання у щурів.

У відомих інформаційних джерелах авторами не знайдено опису способу, про який йдеться.

В основу корисної моделі поставлена задача розробки способу підвищення неспецифічної резистентності організму перед проведенням ортодонтичного переміщення зубів у щурів шляхом комплексного використання адаптогенів і остеостимуляторів для корекції процесів ремоделювання, за рахунок чого підвищується ефективність ортодонтичного лікування.

Поставлене завдання вирішується тим, що у способі підвищення неспецифічної резистентності організму перед проведенням ортодонтичного переміщення зубів у щурів згідно корисній моделі тваринам за запропонованою схемою у вигляді водної суспензії вводять per os кожен день препарати: біотрит 300мг/кг за 14 днів до ортодонтичного втручання, остеовіт - 500мг/кг на протязі 21 доби після ортодонтичного втручання.

Причинно-наслідкові зв'язки:

1. Введення біотриту за 14 днів до ортодонтичного втручання - попереджує зниження рівня неспецифічної резистентності, потенціює дію остеовіта.

2. Застосування остеовіту активізує остеогенез у кістковій тканині щелеп після ортодонтичного втручання.

Опис способу.

Експеримент проведено на 60 самцях щурів лінії Вістар стадного розведення 6-місячного віку,

масою 285-341г. Всі тварини були поділені на 5 груп по 12 щурів у кожній: 1 група - інтактний контроль; 2 група - модель ортодонтичного переміщення зубів (МО); 3 група - біотрит 300мг/кг за 14 днів до ортодонтичного переміщення зубів; 4 група - остеовіт - 500мг/кг після ортодонтичного переміщення зубів 21 день; 5 група - біотрит 300мг/кг за 14 днів до ортодонтичного переміщення зубів, остеовіт 500мг/кг після ортодонтичного переміщення зубів 21 день.

Ортодонтичне втручання проводили на верхній щелепі щурів за допомогою закриваючої ортодонтичної пружини під тіопенталовим наркозом (20мг/кг). Препарати біотрит і остеовіт вводили за схемою кожний день per os у вигляді водної суспензії. Щурам інтактної групи і контрольної з моделлю ортодонтичного переміщення зубів вводили воду. Загальна тривалість експерименту складала 35 днів, після закінченні яких щурів (по 3 щура із кожної групи) пересаджували в метаболічні клітки для збирання добової сечі. В сечі кожний день протягом трьох діб визначали вміст глікозамінгліканів, оксипроліна і креатиніна. Середні значення вираховували за результатами трьох діб.

Після збирання сечі тварин всіх груп виводили з експерименту шляхом кровопускання із серця під тіопенталовим наркозом. Збирали сироватку крові, виділяли верхні щелепи для біохімічного аналізу. В гомогенатах кісткової тканини проводили визначення активності кислої і лужної фосфатази (КФ і ЛФ, відповідно), загальної протеолітичної активності ЗПА, еластази. В другій частині кісткової тканини проводили визначення концентрації кальцію і неорганічних фосфатів. Для цього ділянку кістки,

(13) **U**

(11) **33533**

(19) **UA**

яка висушена до постійної ваги, піддавали гідролізу в 0,2н соляній кислоті. Потім у гідролізі визначали вміст кальцію і неорганічних фосфатів. У сироватці крові проводили визначення ЗПА і вміст інгібітора трипсину (ІТ), а по співвідношенню ІТ/ЗПА опосередковано судили про рівень неспецифічної резистентності організму. Статистичну обробку одержаних результатів проводили з використанням t-критерію Стюдента.

Дослідження сироватки крові щурів показало, що ортодонтичне переміщення зубів приводить до достовірного підвищення ЗПА ($p < 0,002$), що дозволяє розглядати ортодонтичне втручання в якості прозапального фактору, який негативно впливає на загальний стан організму (таблиця 1). Якщо ж щурам 3 групи за 14 днів до проведення ортодонтичного втручання вводили біотрит, то у сироватці крові цих тварин ЗПА не змінювалась і відповідала рівню в інтактній групі ($p > 0,8$ і $p_1 < 0,002$). У сироватці крові 4 групи щурів, які отримували після моделювання ортодонтичного втручання (МО) остеовіт, ЗПА знизилась несуттєво ($p > 0,2$). При комплексній корекції, яка включала застосування біотриту до МО і остеовіта після ортодонтичного втручання, рівень ЗПА відповідала значенням у інтактних тварин ($p > 0,6$ і $p_1 < 0,02$, таблиця 1).

Вміст інгібітора трипсину (ІТ) у сироватці крові щурів 2 групи після МО, а також після МО і введення остеовіта суттєво не змінилось. Достовірно збільшення рівня ІТ відмічено тільки у сироватці крові 3 і 5 груп тварин, які отримували біотрит перед проведенням ортодонтичного втручання ($p < 0,05$ і $p_1 < 0,02$, відповідно).

Не дивлячись на те, що вміст ІТ у щурів після МО суттєво не змінився, співвідношення ІТ/ЗПА, яке характеризує рівень неспецифічної резистентності, знизилось у 1,8 раз. Попереднє введення тваринам 3 і 5 груп біотриту повністю попередило зниження неспецифічної резистентності після ортодонтичного втручання, оскільки ІТ/ЗПА був на рівні інтактного контролю (таблиця 1).

Результати представлені в таблиці 1, свідчать про високу адаптогенну ефективність біотриту, який здатний попереджувати зниження рівня неспецифічної резистентності у щурів, що викликало МО. Застосування остеовіта після відтворення МО не викликало вираженого впливу на показники, які вивчались. Одержані дані говорять про необхідність застосування адаптогенів перед проведенням ортодонтичного втручання.

Таблиця 1

Зміна загальної протеолітичної активності і рівня інгібітора трипсину у сироватці крові щурів при ортодонтичному втручанні

Показники Групи		Загальна протеолітична активність ЗПА, нкат/л	Вміст інгібітора трипсину, ІТ, г/л	ІТ/ЗПА
1	Інтактна	2,92±0,21	0,88±0,66	0,30
2	Модель ортодонтичного переміщення зубів (МО)	4,28±0,37 $p < 0,002$	0,83±0,02 $p > 0,5$	0,19
3	Біотрит +МО	2,84±0,19 $p > 0,8$ $p_1 < 0,002$	0,98±0,03 $p > 0,2$ $p_1 < 0,05$	0,35
4	МО + остеовіт	3,45±0,27 $p > 0,2$ $0,5 < p_1 < 0,1$	0,90±0,04 $p > 0,8$ $p_1 > 0,2$	0,26
5	Біотрит +МО + остеовіт	3,10±0,24 $p > 0,6$ $p_1 < 0,02$	1,03±0,07 $p > 0,1$ $p_1 < 0,02$	0,33

У таблиці 2 представлені результати дослідження активності протеолітичних ферментів у кістковій тканині верхньої щелепи, на якій відтворювали МО. У раніше проведених дослідженнях

показано, що рівень ЗПА у кістковій тканині корелюється з інтенсивністю біосинтезу колагену, а активність еластази з інтенсивністю процесів кістоутворення.

Таблиця 2

Вплив адаптогену і остеотропного препарату на активність протеолітичних ферментів у кістковій тканині щелеп щурів при ортодонтичному втручанні

Показники Групи		Загальна протеолітична активність ЗПА, нкат/л	Активність еластази, Е, мкат/кг	ІТ/ЗПА
1	Інтактна	164,7±19,0	5,01±0,42	32,9
2	Модель ортодонтичного переміщення зубів (МО)	288,2±21,6 $p < 0,001$	7,12±0,68 $p < 0,02$	40,5

Показники Групи		Загальна протеолітична активність ЗПА, нкат/л	Активність еластази, Е, мкат/кг	ІТ/ЗПА
3	Біотрит +МО	251,4±17,4 p<0,01 p ₁ >0,25	6,24±0,51 0,05<p<0,1 p ₁ >0,3	40,3
4	МО + остеовіт	306,2±24,1 p<0,001 p ₁ >0,5	5,65±0,43 p>0,3 0,05<p ₁ <0,1	54,2
5	Біотрит +МО + остеовіт	374,9±30,5 p<0,001 p ₁ <0,002	4,73±0,34 p>0,6 p ₁ <0,01	79,3

Як показано у таблиці 2, ортодонтичне втручання викликає суттєве (у 1,75 рази) підвищення ЗПА у кістковій тканині, що свідчить про інтенсифікацію утворення колагену у щелепній кістці, на якій відтворювали МО. Попереднє введення біотрита значно не вплинуло на ЗПА, і її рівень у кістковій тканині щелеп тварин 3 групи був достовірно вищий, чим у інтактних щурів (p<0,001). Ще більш високий рівень ЗПА був зареєстрований у щурів 4 групи після МО і введення остеовіта, хоча у цьому випадку активність протеаз була на рівні тварин 2 групи, у яких відтворювали МО без введення препаратів (p<0,001 і p₁<0,002). Результати вивчення ЗПА у кістковій тканині щелеп щурів показали, що відтворення МО приводить до інтенсифікації утворення колагену, а також здатність поєднаного застосування адаптогену і комплексного остеотропного препарату суттєво підвищувати колагеноутворюючу функцію кісткової тканини після МО (таблиця 2).

Відтворення ортодонтичного втручання викликає резорбцію кісткової тканини, про що говорить збільшення активності еластази (p<0,02, таблиця 2). Введення біотриту перед МО суттєво не вплинуло на цей показник (0,05<p<0,1 і p₁>0,3). Але коли після МО щурі 4 групи отримували комплексний остеотропний препарат остеовіт, то активність еластази, яка характеризує рівень деградації колагену кісткової тканини, знижується до нормального рівня (p>0,3). Найнижчі значення активності еластази зареєстровані у кістковій тканині щелеп 5 групи, щурі якої отримували біотрит перед МО, а потім остеовіт. Отримані дані говорять про те, що послідовне застосування адаптогену і комплексу остеопротекторів ефективно попереджує надмірну резорбцію кісткової тканини щелеп після МО.

Більш показово співвідношення процесів синтез-деструкція колагену кісткової тканини відобра-

жає співвідношення активності протеаз ЗПА до еластази (ЗПА/Е), які представлені у таблиці 2. При МО цей коефіцієнт дещо підвищується, що свідчить про певну перевагу синтетичних процесів над резорбцією. У щурів, які отримували біотрит перед МО, співвідношення ЗПА/Е практично не змінювалось, а після введення остеовіта - збільшилось в 1,3 рази. Попереднє застосування біотрита до ортодонтичного втручання і наступне введення остеовіта щурам 5 групи підвищувало коефіцієнт ЗПА/Е майже у 2 рази у порівнянні із щурами 2 групи, яким відтворювали МО і не вводили препарати. Отримані дані підтверджують виражену стимулюючу дію остеовіту, особливо у поєднанні з попереднім застосуванням біотриту, на колагеноутворюючу функцію остеобластів (таблиця 2).

Порушення білкового обміну у кістковій тканині впливають на кількісний вміст глюкозамінгліканів (ГАГ) і оксипроліну (ОП) які виділились із добовою сечею. Недивлячись на те, що зареєстровано зміни процесів ремоделювання у кістковій тканині щелеп, у добовій сечі тварин вміст ГАГ і ОП суттєво не змінилось, як після МО, так і після введення біотриту (таблиця 3). Це пов'язано, напевно, з локалізацією процесу. В той же час, введення щурам 4 групи остеовіта або комплексного введення щурам 5 групи адаптогену і остеопротектоа привело до достовірного зниження ГАГ і ОП у добовій сечі тварин.

Отримані результати можна пояснити тим, що остеовіт, а також поєднання біотриту і остеовіта гальмують резорбцію кісткової тканини і зміщують процеси ремоделювання у сторону біосинтезу колагену всієї кісткової тканини, оскільки при зниженні інтенсивності резорбції кістки в сечі зменшується вміст продуктів гідролізу колагену оксипроліну і глікозамінгліканів (таблиця 3)

Таблиця 3

Вплив адаптогену і остеотропного препарату на рівень глюкозамінгліканів і оксипроліну у добовій сечі щурів при ортодонтичному втручанні.

Показники Групи		Вміст глюкозамінгліканів од/мг креатиніну	Вміст оксипроліну од/мг креатиніну
1	Інтактна	335,7±47,0	3,14±0,42
2	Модель ортодонтичного переміщення зубів (МО)	408,1±39,3 p>0,25	4,36±0,58 p>0,1

Показники Групи		Вміст глюкозамінгліканів од/мг креатиніну	Вміст оксипроліну од/мг креатиніну
3	Біотрит +МО	371,0±24,3 p>0,5 p ₁ <0,02	4,02±0,46 p>0,2 p ₁ >0,6
4	МО + остеовіт	291,6±21,0 p>0,5 p ₁ <0,02	3,07±0,31 p>0,8 0,05<p ₁ <0,1
5	Біотрит +МО + остеовіт	263,8±21,0 p>0,2 p ₁ <0,002	2,48±0,29 p>0,25 p ₁ <0,01

Ортодонтичне втручання приводить також до змін мінерального обміну у кістковій тканині щелеп щурів, про що свідчить збільшення активності маркерного ферменту остеобластів, лужної фосфа-

тази (ЛФ), на 48,9% і одночасне збільшення активності маркера остеокластів, кислої фосфатази (КФ), на 87,1% (таблиця 4).

Таблиця 4

Вплив адаптогену і остеотропного препарату на активність фосфатаз у кістковій тканині щелеп щурів при ортодонтичному втручанні.

Показники Групи		Активність лужної фосфатази ЛФ, мккат/кг	Активність кислої фосфатази, КФ, мккат/кг	ЛФ/КФ
1	Інтактна	128,5±19,0	31,7±2,4	4,1
2	Модель ортодонтичного переміщення зубів (МО)	191,3±11,8 p<0,01	59,3±7,0 p<0,002	3,2
3	Біотрит + МО	204,8±20,3 p<0,01 p ₁ >0,6	45,8±5,3 p<0,02 p ₁ >0,2	4,5
4	МО + остеовіт	230,1±27,9 p<0,01 p ₁ >0,25	37,2±4,0 p>0,25 p ₁ <0,02	6,2
5	Біотрит +МО + остеовіт	259,8±19,0 p<0,001 p ₁ <0,01	35,4±2,9 p>0,4 p ₁ <0,01	7,3

Попереднє 14-денне введення біотриту щурам 3 групи перед МО значно не впливає на мінеральний обмін у кістковій тканині щелеп. Більш ефективну корегуючу дію на мінеральний обмін мало застосування комплексного остеотропного препарату остеовіт, оскільки активність КФ достовірно знизилась у порівнянні з 2 групою (p<0,02) і відповідала рівню у інтактних щурів (p>0,25) на фоні підвищення активності ЛФ (p<0,01). У кістковій щелеп 5 групи, тварини якої отримували біотрит перед МО, а потім остеовіт, активність ЛФ була на найвищому рівні, а активність КФ була такою ж низькою, як у інтактних щурів. Дані таблиці 4 свідчать про здатність поєднаного застосування адаптогену і остеопротектора попереджувати посилення резорбції, яке викликане ортодонтичним втручанням, і активувати фізіологічну активність остеобластів, про що судили за підвищеним рівнем кісткової ЛФ.

Підтвердженням цього є розрахунок співвідношення активності фосфатаз у кістковій тканині щелеп (ЛФ/КФ), що характеризує стан остеогенез-резорбція. Відтворення МО незначно знизило, а попереднє введення біотриту збільшило співвід-

ношення ЛФ/КФ. Більш значне підвищення цього коефіцієнту, а значить і інтенсифікація процесів мінералізації у кістковій тканині щелеп, зареєстровано у 4 і 5 групах тварин, які отримували після МО остеовіт. Співвідношення ЛФ/КФ підвищилось у цих групах у 1,9-2,3 рази у порівнянні з відповідним значенням у 2 групі, тваринам яким проводили МО (таблиця 4).

У таблиці 5 представлені дані про зміну вмісту основних мінеральних компонентів у кістковій тканині кальцію і неорганічного фосфору під впливом МО і застосування адаптогену і остеопротектору. Відтворення ортодонтичного переміщення зубів привело до достовірного зниження концентрації кальцію (p<0,001) у кістковій тканині щелеп, що підтверджує інтенсифікацію резорбційних процесів, яка ініційована МО. Поряд з тим у кістковій тканині збільшився вміст фосфатів (p<0,05). Напевне, як наслідок активації остеокластів, про що говорилося вище за збільшенням активності кісткової КФ. Проведення профілактичних і лікувальних заходів у 3, 4 і 5 групах сприяло нормалізації рівня фосфатів у кістковій тканині цих тварин. А вміст кальцію у кістковій тканині щелеп щурів вда-

лось зберегти на рівні інтактної групи тільки при допомозі введення остеовіта або поєднаного за-

стосування біотриту і остеовіта ($p > 0,1$ і $p_1 > 0,5$, відповідно, таблиця 5).

Таблиця 5

Вплив адаптогену і остеотропного препарату на вміст кальцію і фосфору в кістковій тканині щелеп щурів при ортодонтчному втручанні

Показники Групи		Вміст кальцію, Са, ммоль/кг	Вміст неорганічних фосфатів, Р, ммоль/кг	Са/Р
1	Інтактна	4,37±0,21	2,59±0,22	1,69
2	Модель ортодонтчного переміщення зубів (МО)	3,19±0,17 $p < 0,001$	3,12±0,14 $p < 0,05$	1,02
3	Біотрит + МО	3,71±0,10 $p < 0,02$ $p_1 < 0,02$	3,04±0,10 $p > 0,2$ $p_1 > 0,7$	1,22
4	МО + остеовіт	3,92±0,15 $p > 0,1$ $p_1 < 0,01$	2,83±0,21 $p > 0,4$ $p_1 > 0,25$	1,38
5	Біотрит + МО + остеовіт	4,09±0,38 $p > 0,5$ $p_1 < 0,05$	2,61±0,15 $p > 0,8$ $p_1 < 0,02$	1,57

Стан гідроксиапатиту кісткової тканини відображає молярне співвідношення кількості кальцію до вмісту неорганічного фосфата (Са/Р). Склад "ідеального" гідроксиапатиту відповідає формулі $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, тобто він десятикальцієвий з молярним відношенням Са/Р, дорівнює 1,67. У нашому експерименті співвідношення Са/Р у кістковій тканині щелеп інтактних щурів відповідало загальноприйнятому і дорівнювало 1,69. МО викликало зменшення цього коефіцієнту до 1,02. Профілактика біотритом у 3 групі або введення остеовіту у 4 групі сприяло підвищенню коефіцієнту Са/Р. Найвиразніше підвищення Са/Р зареєстровано у кістковій тканині щелеп 5 групи тварин, які отримували біотрит і остеовіт (таблиця 5).

Таким чином, проведене експериментальне дослідження дозволяє зробити наступні висновки. Моделювання ортодонтчного переміщення зубів викликає зниження неспецифічної резистентності, про що судили за зниженням індексу ІТ/ЗПА у сироватці крові щурів. Падіння цього коефіцієнту ефективно попереджувало попереднє введення біотриту. Застосування комплексного препарату остеовіт після МО не мало суттєвого впливу на неспецифічну резистентність. Тому, високий рівень ІТ/ЗПА у сироватці крові щурів, яким проводили комплексне застосування біотриту і остеовіту при ортодонтчному втручанні, можна пояснити адаптогенними властивостями біотриту.

Дослідження активності основних кісткових ферментів білкового обміну ЗПА і еластази, а також мінерального обміну ЛФ і КФ встановили, що ортодонтчне втручання викликає активацію, як процесів резорбції, так і процесів остеогенезу у кістковій тканині щелеп. Попереднє введення тваринам адаптогену біотриту не мало суттєвого впливу на метаболізм у кістковій тканині. На відмі-

ну від цього, застосування остеовіту після МО сприяло гальмуванню активності деструктивних ферментів еластази і КФ, а значить, і процесів резорбції кісткової тканини щелеп. Поєднане використання біотриту до МО і остеовіту після МО викликало одночасну стимуляцію процесів остеогенезу (підвищення ЗПА і активності ЛФ) і пригнічення процесів резорбції (зниження активності еластази і КФ), що привело до зсуву ремоделювання в сторону посиленого остеогенезу у щелепах, на яких проводили ортодонтчне втручання.

Остеостимулюючу ефективність остеовіту показало вивчення вмісту ГАГ і ОП у добовій сечі щурів, а також вміст кальцію і неорганічних фосфатів у кістковій тканині щелеп. Ці дослідження підтвердили здатність остеовіту стимулювати колагеноутворюючу активність остеобластів (зниження ГАГ і ОП) і відновлювати баланс кальцію і фосфатів у кістковій тканині щелеп після МО. Цю властивість препарат остеовіт проявляє у вигляді монотерапії і більш виразно - при поєднаному застосуванні з біотритом.

Отже, результати проведеного обстеження переконливо показують, що для підвищення неспецифічної резистентності організму перед проведенням ортодонтчного переміщення зубів необхідно назначати адаптогенні препарати. З метою активації остеогенезу у кістковій тканині щелеп після ортодонтчного втручання доцільно застосовувати комплекс остеостимуляторів. І, не дивлячись на те, що біотрит не має вираженого остеотропного впливу, його призначення перед ортодонтчним втручанням потенціює дію остеовіта. Тому, для підвищення ефективності ортодонтчного лікування доцільно поєднане призначення адаптогенів і остеостимуляторів.

