



УКРАЇНА

(19) UA (11) 52434 (13) U
(51) МПК (2009)
G09B 23/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ПАРОДОНТИТУ У ЩУРІВ В УМОВАХ ЕСТРОГЕННОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

1

2

(21) u201002502

(22) 05.03.2010

(24) 25.08.2010

(46) 25.08.2010, Бюл.№ 16, 2010 р.

(72) ТКАЧЕНКО ЄВГЕНІЯ КОСТЯНТИНІВНА, КО-
СЕНКО КОСТЯНТИН МИКОЛАЙОВИЧ, СКИБА
ОЛЬГА ІВАНІВНА(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА ІНСТИТУТ СТОМА-
ТОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ(57) Спосіб моделювання пародонтиту у щурів в
умовах естрогенної недостатності, що полягає у
блокуванні виробки організмом естрогенів, який
відрізняється тим, що самкам щурів протягом на
60 діб 5 разів на тиждень вводять перорально кло-
тримазол (КЛ) в дозі 0,1 мг/кг маси тіла.

Корисна модель відноситься до медицини,
конкретно до наукових медико-біологічних дослі-
джень.

Відомі різноманітні способи моделювання змін
у пародонті тварин, що відображають структурно-
функціональні зсуви, типові для пародонтиту лю-
дини. В наш час вже не викликає сумнівів концеп-
ція молекулярних механізмів ушкодження пародо-
нта процесами перекисного окиснення ліпідів
(ПОЛ) при зниженому рівні функціонування фізіо-
логічної антиоксидантної системи (ФАС) (О.Н. Вос-
кресенський, Є.К. Ткаченко, 1991).

Пародонтит часто прогресує в постклімактері-
чному періоді, що обумовлено недостатністю про-
дукування організмом естрогенних гормонів і на-
ступних порушень регуляції метаболізму кісткової
тканини.

Естрогени утворюються у тваринному організ-
мі при участі цитохрома Р-450-ароматази (або
естрогенсинтази КФ.1.14.1) - ферменту, що каталі-
зує перетворення тестостерону в естрадіол і анд-
ростендіона в естрон. Фермент локалізований,
головним чином, у мікосомах кліток яєчників, але
також синтезується естрагонадно в жировій ткани-
ні матки, молочних залозах та в інших тканинах.

Відомий спосіб моделювання естрогенної не-
достатності, відтворений хірургічним шляхом дво-
сторонньої овариєктомії у самок щурів, проведене
нами раніше, виявило активацію ПОЛ в печінці та
тенденцію його посилення в кістці альвеолярного
відростка (Е.К. Ткаченко із співав., 1993). При цьо-
му значна резорбція кісткової тканини пародонту в
цих тварин виявлена не була.

До недоліків способу моделювання варто від-
нести значну трудомісткість моделі, пов'язану з
хірургічними навичками, тому що в результаті її

відтворення спостерігалася часткова загибель
тварин після овариєктомії.

В основу корисної моделі поставлено завдан-
ня удосконалення способу моделювання естро-
генної недостатності шляхом введення інгібітору
цитохрома Р450 - ароматази, за рахунок чого від-
бувається блокування виробки організмом естро-
генів (жіночих половых гормонів), що дозволить
отримати модель патології пародонту, аналогічну
пародонтиту людини.

Поставлене завдання вирішується тим, що в
способі моделювання пародонтиту у щурів в умо-
вах естрогенної недостатності, що полягає у бло-
куванні виробки організмом естрогенів, стосовно
корисній моделі самкам щурів на протязі на 60 діб
5 разів на тиждень вводять перорально клотрима-
зол (КЛ) в дозі 0,1 мг/кг маси тіла.

Опис способу.

Спосіб був здійснений в Експериментальному
відділі ДУ "ІС АМНУ".

В експерименті взяли участь 18 самок щурів.
Основна група 10 самок, інтактна група - 8 самок.

Естрогенну недостатність відтворювали вве-
дженням клотримазолу (Clotrimazole, Polfa, Poznan
S.A.) per os у дозі 0,1 мг/кг маси тіла щурів 5 разів
на тиждень в продовженні 60 діб. Дифеніл-(1-
імідазолід)-метан є одним з представників групи
імідазольних інгібіторів цитохрому Р-450-
ароматази. Пігулки 0,1 г суспендували в 50 мл 96°
етанолу. Вихідний розчин розводили водою у спів-
відношенні 1:3 перед вживанням.

По завершенні експерименту щурів умертвля-
ли тотальним кровопусканням із серця під нарко-
зом (тіопентал натрію в дозі 40мг/кг). Відокремив-
ши слизову оболонку порожнини рота (СОПР),
виділяли щелепи й піддавали їх морфометричес-

(13) U
(11) 52434
(19) UA

кому дослідженню з метою визначення резорбції кісткової тканини пародонту (А.В. Николаева, 1967), а також брали органи. Біохімічні дослідження проводили у сироватці крові, головному мозку, СОПР, альвеолярній та стегновій кістці, матці, яєчниках. У головному мозку, матці і яєчниках щурів визначали активність Р-450-ароматази (І.М. Yasinska, 1999). У сироватці крові визначали сумарний вміст естрогенів. У сироватці крові й тканинах досліджували активність кислої й лужної фосфатази (А.П. Левицкий с соавт., 1973). Визначення кальцію проводили уніфікованим методом. Процеси ПОЛ оцінювали по вмісту малонового діальдегіду (МДА) (І.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили, 1977). Стан ФАС - по активності супероксиддисмутази (СОД) (с.Чевари с соавт., 1985), і глутатіонпероксидази (ГПО) (В.А. Пахомова с соавт., 1982).

Отримані дані були оброблені статистично з використанням t-критерію вірогідності по Стьюденту.

Встановлено, що під впливом клотримазолу (КЛ) (10 щурів) активність ароматази в матці ($1,3 \pm 0,08$; $p < 0,001$) і яєчниках ($4,2 \pm 0,52$; $p < 0,001$) щурів-самок, що одержували КЛ, була знижена в порівнянні з інтактною групою (8 щурів): $5,43 \pm 0,12$ і $8,60 \pm 0,70$, відповідно. У головному мозку також спостерігалася істотне зниження активності цього ферменту: $0,50 \pm 0,07$ ($p < 0,001$) проти $1,20 \pm 0,10$ в інтактній групі. Отже, КЛ інгібує ароматазну активність не тільки в тканинах-мішенях (матка і яєчники), але і в інших тканинах, що містять цей фермент.

Сумарний вміст естрогенів (кг/л) у сироватці крові щурів-самок склало: в інтактній групі - $38,3 \pm 1,5$; в модельній групі - $13,2 \pm 0,8$ ($p < 0,001$).

Хронічне введення КЛ в продовженні 60 діб викликало посилення резорбції кістки альвеолярного паростка нижньої щелепи щурів на 17,3% (віл 100% в інтактній групі) ($48,9 \pm 1,9$ проти $41,7 \pm 1,8$; $p = 0,014$). Показники резорбції альвеолярної кістки верхньої щелепи відносно інтактної групи не змінювалися ($37,7 \pm 2,1$ проти $36,3 \pm 2,6$). Іншим, не менш важливим механізмом посилення резорбтивних процесів являється, ймовірно, активація остеокластів шляхом усунення прямого інгібуючого впливу на них естрогенів (М.І. Ourosler at all, 1994). Активність лужної фосфатази (ЛФ) у кістковій тканині залежить від інтенсивності їхнього функціонування.

При естрогенній недостатності активність ЛФ в альвеолярній кістці ($1,8 \pm 0,15$ нмоль/с.г) знижувалася в 2,3 рази ($p = 0,013$) у порівнянні з інтактною групою ($4,37 \pm 0,82$), що свідчить про порушення процесів мінералізації в даному об'єкті дослідження. Зміст кальцію в альвеолярній кістці вірогідно не змінювався. При моделюванні пародонтиту вміст кальцію й активність ЛФ у стегновій кістці не претерпіли істотних змін.

У процесах остеорезорбції бере участь лізосомальний апарат клітини. Кисла фосфатаза (КФ) фермент, локалізований у лізосомах остеокластів та здійснюючий розчеплення органічних ефірів фосфорної кислоти в кислому середовищі. В альвеолярній кістці активність КФ збільшувалася в 7,2 рази, що свідчить про посилення катаболічних процесів у тканинах пародонту. Хронічна інтоксикація КЛ викликала достовірне збільшення даного прозапального ферменту в сироватці крові та слизовій оболонці порожнини рота щурів (в 1,8 рази й 3,9 рази, відповідно). У стегновій кістці активність КФ знижувалася в 1,5 рази ($p = 0,05$) (табл. 1).

Таблиця 1

Активність КФ у сироватці крові (нмоль/с.см³) і тканинах щурів (нмоль/ст) в умовах естрогенної недостатності ($M \pm m$; p)

Групи тварин	Сироватка крові	СОПР	Альвеолярна кістка	Стегнова кістка
Інтактна	$110 \pm 18,8$	$0,83 \pm 0,14$	$0,47 \pm 0,06$	$1,17 \pm 0,10$
Модель	$201 \pm 38,6$ $p = 0,02$	$3,22 \pm 0,36$ $p < 0,001$	$3,37 \pm 0,56$ $p < 0,001$	$0,79 \pm 0,12$ $p = 0,05$

Певний внесок в ушкодження лізосом і звільнення лізосомальних ферментів вносять процеси ПОЛ. Лізосоми, накопичуючи продукти ПОЛ, самі ушкоджуються, звільнюючи ферменти та викликаючи руйнування і загибель субклітинних структур. В альвеолярній кістці при моделюванні пародонтиту вміст МДА збільшився в 2,3 рази ($18,2 \pm 2,5$ мкмоль/г проти $7,9 \pm 1,5$, $p = 0,007$ в інтактній групі). В стегновій кістці дані показники не претерпіли істотних змін. Під впливом КЛ в альвеолярній кістці активність СОД (у. о.) знижувалася в 1,3 рази ($1,03 \pm 0,13$ проти $1,68 \pm 0,04$ в інтактній групі), акти-

вність ГПО - в 1,3 рази ($40,6 \pm 2,5$ нмоль/с.г проти $52,2 \pm 5,3$) ($p < 0,001$; $p = 0,06$, відповідно).

Таким чином, відтворена експериментальна патологія пародонту в щурів, аналогічна пародонтиту людини, внаслідок недостатності утворення організмом естрогенів. Під впливом КЛ - інгібітору цитохрому Р-450-ароматази при недостатності естрогенів у кістці альвеолярного паростку порушувалися процеси мінералізації, підсилювалася резорбція і запальні явища в слизовій оболонці порожнини рота.