



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **93205** (13) **U**
(51) МПК (2014.01)
A61K 35/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2014 03113	(72) Винахідник(и): Косенко Костянтин Миколайович (UA), Ніколаєва Ганна Володимирівна (UA), Ткаченко Євгенія Костянтинівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 27.03.2014	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.09.2014	(73) Власник(и): ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ СТОМАТОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ", вул. Рішельєвська, 11, м. Одеса, 65026 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.09.2014, Бюл.№ 18	

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ПАРОДОНТИТУ

(57) Реферат:

Спосіб моделювання пародонтиту полягає у введенні ксенобіотика. Щурам протягом 3 тижнів, 1 раз на тиждень здійснюють підясенне введення 0,1 мл розчину екзогенної колагенази в дозі 0,2 мг/мл із збудника «Clostridium histolyticum».

UA 93205 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до стоматології, і може бути використана для створення моделі пародонтиту для можливості експериментального вивчення патогенезу пародонтиту, розробки і визначення найбільш ефективних способів профілактики і медикаментозного лікування даного захворювання.

За даними ВІЗ (1983 г.) більше 80 % населення середнього і старшого віку уражене захворюванням пародонту, причому непомітне і безсимптомне протікання початкових проявів патології часто призводить до того, що пацієнти звертаються до лікарів з розвинутою патологією, з яскраво вираженими ознаками захворювання.

Характерною рисою сполучно-тканинного матриксу (СТМ) пародонту є наявність клітин (фібробласти, гладкі клітини, макрофаги), фібрилярні білки (колагени, еластини) та глікозоаміногліканів та глікопротеїнів.

Найбільш близьким до пропонованого способу моделювання пародонтиту є спосіб моделювання пародонтиту з ураженням сполучної тканини пародонту (ПУ № 85506), за яким тваринам з питною водою вводять ксенобіотик купреміл в дозі 20 мг/кг маси тіла щурів 5 днів на тиждень протягом 55 днів. Однак цей спосіб має недоліки:

тривалість експерименту;

неможливість визначення кількості та дози ксенобіотика, отриманої твариною при моделюванні;

купреніл здійснює значний вплив тільки на м'які тканини пародонту.

Відомо, що колагеназа розщеплює всі компоненти СТМ сполучної тканини. При запальних захворюваннях пародонту погіршується метаболізм його СТМ (сполучно-тканинного матриксу).

В основу корисної моделі поставлена задача удосконалення способу моделювання пародонтиту шляхом під ясенного введення ксенобіотика, здатного розщеплювати всі компоненти СТМ пародонту, за рахунок чого виникають запальні явища в тканинах пародонту, спостерігається распад глікозоаміногліканів сполучнотканинного матриксу, які є гелевою основою СТМ, що дозволить у короткі терміни отримати модель пародонтиту.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі моделювання пародонтиту, який полягає у введенні ксенобіотика, відповідно корисної моделі, щурам протягом 3 тижнів, 1 раз на тиждень здійснюють підясенне введення 0,1 мл розчину екзогенної колагенази в дозі 0.2мг/мл із збудника "Clostridium histolyticum".

Причинно-наслідкові зв'язки:

1. вибір як ксенобіотика екзогенної колагенази обумовлюється її здатністю розщеплювати всі компоненти СТМ пародонту і тим самим викликати запально-дистрофічні ураження СТМ пародонту;

2. підясенне введення 0,1 мл розчину - дозволяє визначеною дозою 0,2мг/мл колагенази здійснювати прямий вплив саме на тканини пародонту.

Опис способу.

Спосіб був здійснений в експериментальному відділі ДУ "ІС АМНУ". В експерименті використані 15 щурів, які отримували стандартний раціон віварію і були поділені на 2 групи. Основна група - 9 щурів, інтактна група - 6 щурів. Щурам основної групи 1 раз на тиждень, протягом 3-х тижнів здійснювали під ясенне введення 0,1 мл розчину екзогенної колагенази. По завершенню експериментів тварин виводили з експериментів шляхом тотального кровопускання із серця, проведеного під наркозом (тіопентал натрію 40 мг/кг).

Об'єктами біохімічних досліджень були: тканини пародонту - слизова оболонка щоки (СОЩ), ясна та кістка альвеолярного відростка.

Дослідження показали, що при моделюванні пародонтиту виявлено зниження в 6.0 разів ($p=0,05$) в яснах і 6,8 разів ($p=0,02$) змісту глікозаміногліканів (ГФГ) міжклітинного матриксу СЩПР щурів (таблиця 1).

Таблиця 1

Вміст глікозаміногліканів в тканинах ротової порожнини щурів в умовах моделюванні пародонтиту ($M \pm m$; p)

Групи тварин	Рівень ГАГ (міліграм/грам)	
	СОЩ	ясна
Інтактна	$1,22 \pm 0,32$	$2,35 \pm 0,34$
Модель	$0,18 \pm 0,034$ $p=0,02$	$0,39 \pm 0,23$ $p=0,05$

Зміст вільного, зв'язаного і загального оксипроліну, характеризуючого стан колагену тканин пародонту достовірно не змінювався (таблиця 2).

В той же час на 74 % збільшувалася активність кислої фосфатази (КФ) в СОЩ в порівнянні з інтактною групою, що свідчило про посилення запальних явищ в СОПР щурів під дією колагенази, що вводилася (таблиця 3.).

Таблиця 2

Вміст оксипроліну в тканинах пародонту щурів при моделюванні пародонтиту ($M \pm m$)

Групи тварин	Рівень оксипроліну (мкмоль/г)		
	вільний	зв'язаний	загальний
ясна			
Інтактна	0,75±0,22	1,13±0,16	1,88±0,27
Модель	1,27±0,082	1,27±0,082	2,54±0,00
кістка альвеолярного відростка			
Інтактна	0,94±0,30	1,88±1,23	2,82±0,82
Модель	1,18±0,27	1,41±0,41	2,59±0,27

Таблиця 3

Активність кислої фосфатази в тканинах ротової порожнини щурів при моделюванні пародонтиту ($M \pm m$; p)

Групи тварин	Активність КФ (рН 4.8) (мкмоль/с·г)		
	СОЩ	ясна	кістка альвеолярного відростка
Інтактна	0,31±0,00	0,25±0,048	0,63±0,094
Модель	0,54±0,15 p=0,17	0,33±0,042	0,50±0,15

Побічно цей встановлений факт підтверджує збільшення змісту малонового діальдегіду (МДА) на 40 % ($p=0,01$) у м'яких тканинах пародонту (табл. 4). Про значне посилення перекисних процесів на рівні організму свідчило збільшення змісту МДА в печінці щурів в 3,3 рази ($p=0,003$) у порівнянні з даними інтактної групи (таблиця. 4).

Таблиця 4

Вміст МДА в тканинах щурів при моделюванні ($M \pm m$; p)

Групи тварин	Рівень МДА (нмоль/г)			
	печінка	сom	ясна	кістка альвеолярного відростка
Інтактна	5,53±0,84	0,14±0,067	1,48±0,34	2,29±0,12
Модель	18,1±2,50 p=0,003	-	2,07±0,023 p=0,01	1,91±0,3 8

При моделюванні експериментальної патології пародонту істотно змінювалася активність антиоксидантних ферментів (табл. 5). Так, в СОЩ і печінці значно знижувалася активність каталази: на 36 % ($p=0,05$) і на 18,3 % ($p=0,05$), відповідно. У яснах і кістці альвеолярного відростку активність даного ферменту достовірно не змінювалася (табл. 5).

У кістці альвеолярного відростка активність ГПО знижувалася в 1,4 рази ($p=0,03$); у СОЩ - в 1,7 разу ($p=0,03$). В той же час збільшення активності глутатіон-пероксидази (ГПО) в печінці в 2,6 рази ($p=0,014$), що носило індуктивний характер, у зв'язку із значною активацією перикисного окислення ліпідів в даному об'єкті дослідження (табл. 5). Вміст розчинного неколагенового білка в тканинах ротової порожнини не зазнав істотних змін, в той же час в печінці знижувався в 4.2 рази ($p=0,003$) в порівнянні з інтактною групою (табл. 6).

Таблиця 5

Активність антиоксидантних ферментів в тканинах щурів при моделюванні пародонтиту ($M \pm m$; p)

Групи тварин	Активність ферментів	
	каталаза (мкат/г)	Глутатіон-пероксидаза (ГПО) (мкмоль/с·г)
печінка		
Інтактна	224 \pm 3,76	36,2 \pm 12,7
Модель	183 \pm 2,32 $p < 0,001$	94,8 \pm 11,4 $p = 0,014$
СОЩ		
Інтактна	34,1 \pm 5,32	69,2 \pm 9,75
Модель	21,8 \pm 0,44 $p = 0,05$	41,5 \pm 1,77 $p = 0,03$
ясна		
Інтактна	18,9 \pm 4,31	176 \pm 29,7
Модель	21,0 \pm 0,00	204 \pm 26,1
кістка альвеолярного відростка		
Інтактна	2,29 \pm 0,12	92,4 \pm 8,68
Модель	1,91 \pm 0,38	65,8 \pm 2,99 $p = 0,03$

Таблиця 6

Вміст розчинного білка в тканинах щурів при моделюванні пародонтиту ($M \pm m$; p)

Групи тварин	Рівень білка (мг/л)			
	печінка	СОЩ	ясна	кістка альвеолярною відростка
Інтактна	1,38 \pm 0,18	0,14 \pm 0,015	0,20 \pm 0,040	0,97 \pm 0,049
Модель	0,33 \pm 0,097 $p = 0,003$	0,12 \pm 0,020	0,21 \pm 0,049	1,45 \pm 0,00

- 5 При моделюванні пародонтиту виявлено двократне ($p = 0,04$) зниження змісту іонів Mg^{2+} в яснах і істотно не змінювалося в кістковій тканині пародонту (табл. 7) Концентрація іонів Zn^{2+} в кістці альвеолярного відростка знижувалася в 3 рази ($p = 0,05$) в порівнянні з інтактною групою (таблиця 7).

Таблиця 7

Вміст Mg^{2+} і Zn^{2+} в тканинах пародонту щурів при моделюванні пародонтиту ($M \pm m$; p)

Групи тварин	Зміст			
	Mg^{2+} (ммоль/г)		Zn^{2+} (ммоль/г)	
	ясна	кістка альвеолярного відростка	ясна	кістка альвеолярного відростка
Інтактна	0,012 \pm 0,0010	0,14 \pm 0,015	0,25 \pm 0,017	3,40 \pm 0,74
Модель	0,0059 \pm 0,0020 $p = 0,004$	0,15 \pm 0,064	0,27 \pm 0,079	1,13 \pm 0,53 $p = 0,05$

- 10 У кістковій тканині пародонту змінювався стан мінерального обміну (табл. 8). Гак, вміст іонів Ca^{2+} в кістці альвеолярного відростка знижувався в 1,9 рази ($p = 0,014$); іонів фосфору - в 1,5 рази ($p = 0,03$). Активність 1. ЦФ при цьому достовірно не змінювалася (табл. 8).

Таблиця 8

Стан мінерального обміну в кістковій тканині
пародонту щурів моделюванні пародонтиту ($M \pm m$; p)

Групи тварин	Активність лужної фосфатази (нмоль/с·г)	Рівень	
		Са (ммоль/г)	Р (ммоль/г)
Інтактна	$0,18 \pm 0,015$	$0,016 \pm 0,0012$	$0,016 \pm 0,0010$
Модель	$0,24 \pm 0,035$	$0,0086 \pm 0,0017$ $p=0,014$	$0,011 \pm 0,0013$ $p=0,03$

Таким чином, в результаті моделювання пародонтиту за допомогою підясенного введення колагенази були виявлені порушення метаболізму сполучнотканинного матриксу слизової оболонки порожнини рота (СОПР) та твердих тканин пародонту щурів. Так, в яснах істотно знижувався зміст ГАГ, а також іонів Mg^{2+} ; у кістці альвеолярного відростка - іонів Zn^{2+} .

У СОПР мав місце факт запалення (збільшення активності КФ), істотна активація процесів перекисного окиснення ліпідів і, у зв'язку з цим недостатнє функціонування антиоксидантних ферментів в тканинах ротової порожнини.

У кістковій тканині пародонту під дією колагенази спостерігалось порушення мінерального обміну - зниження змісту іонів кальцію і фосфору.

Таким чином, за допомогою введення розчину екзогенної колагенази була відтворена експериментальна модель пародонтиту, яка у значному ступені аналогічна пародонтиту людини.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб моделювання пародонтиту, що полягає у введенні ксенобіотики, який **відрізняється** тим, що щурам протягом 3 тижнів, 1 раз на тиждень здійснюють підясенне введення 0,1 мл розчину екзогенної колагенази в дозі 0,2 мг/мл із збудника «*Clostridium histolyticum*».

Комп'ютерна верстка О. Рябко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601