

Саркисян Н.Г., Тимченко А.С., Ларионов Л.П., Тузанкина И.А.

Способ получения модели хронического пародонтита у крыс

Кафедра терапевтической стоматологии ГБОУ ВПО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Екатеринбург; ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург

Sarkisian N.G., Timchenko A.S., Larionov L.P., Tuzankina I.A.

A method for producing a model of chronic periodontitis in rats

Резюме

В статье приводится описание создания модели хронического пародонтита на животных (крысах) для определения оптимальных сроков начала лечения данной патологии. Исследования проведены на пяти крысах линии Вистар, которым вводилась игла цельнометаллическая длиной 12 мм в десневой край с вестибулярной поверхности правого нижнего резца с медиального края вплотную вдоль зуба с небольшим усилием для разрыва тканей. Затем проводилось визуальное наблюдение за внешними признаками воспаления: оценка цвета десны альвеолярного отростка нижней челюсти, измерение размера отека, консистенции, инструментально, с помощью стоматологического зонда проведены измерения глубины десневого кармана и наличие кровоточивости, определена подвижность. Микроскопически оценивалось количественное наличие плазматических клеток в полях зрения, преобладание которых соответствует фазе хронизации воспалительного процесса. Созданная модель предоставляет обширные возможности для исследования уже имеющихся фармакологических препаратов, а так же поиск или создание новых лекарственных форм при исследовании на стадии хронического процесса, а также достоверное подтверждение правильности выбранного лекарственного средства для лечения данной патологии.

Ключевые слова: воспаление, пародонтит, крысы, модель

Summary

This article describes the creation of a model of chronic periodontitis in animals (rats) to determine the optimal timing of the treatment of this pathology. Investigations were carried out on five Wistar rats, which all-metal needle was inserted 12 mm long in the gingival margin to the vestibular surface of the right lower incisor to close along the medial edge of the tooth with a little effort to break the tissues. Then conducted visual surveillance of the external signs of inflammation: evaluation of color gums alveolar bone of the lower jaw, measuring the size of edema, consistency, instrumentally, using dental probe measured the depth of the gingival pocket and the presence of bleeding, defined mobility. Microscopically evaluated quantitatively the presence of plasma cells in the fields of view, which corresponds to a phase prevalence of chronic inflammation. The created model provides a great opportunity to explore existing pharmacological agents, as well as search or the creation of new dosage forms in the study on the chronic stage of the process, as well as a significant validation of the selected medicament for the treatment of this pathology.

Keywords: inflammation, periodontitis, rat, model

Введение

Воспалительные заболевания пародонта представляют собой серьезную медико-социальную проблему [1,2]. По данным ВОЗ пародонтит, который может приводить к выпадению зубов, обнаруживается у 85-90% людей [3].

Для создания хронического воспалительного процесса был выбран способ нанесения механической травмы из-за особенностей анатомического строения пародонта у крыс. Так, можно выделить три основных видовых

особенности строения нижних резцов и их пародонта у крыс: 1) хрящевое соединение верхушек альвеолярных отростков; 2) изогнутая форма, корня зуба; 3) «гидростатическая подушка» в области изгиба корня, выстланная амелобластическим эпителием (постоянно откладывающим эмаль на фронтальную поверхность коронки зуба). Наличие «гидростатической подушки» в области изгиба корня создает больший риск нарушения соединения зуба с периодонтом, особенно, на вестибулярной поверхности, где оно имеет минимальную площадь. Образова-

ние в этой области пародонтального кармана даже незначительной глубины может приводить к соединению пародонтального кармана с полостью «гидростатической подушки». В результате формируются «ворота», способствующие прогрессированию воспалительного процесса в пародонте [4].

Выявлено, что у грызунов, в начале клеточной фазы воспаления, преобладает нейтрофильная инфильтрация. Позже, в очаге воспаления появляются лимфоциты, макрофаги и плазматические клетки. Последние доминируют в тканевой фазе при хроническом воспалении. Т и В-лимфоциты, а так же макрофаги помимо обеспечения реакции гуморального и клеточного иммунитета оказывают и разрушающее действие на клетки либо в результате прямого цитотоксического действия, либо опосредованно за счет выделения цитокинов, коллагеназы и других веществ [5].

Цель исследования - создать модель хронического пародонтита на животных (крысах) для определения оптимальных сроков начала лечения данной патологии.

Материалы и методы

Исследования проведены на 15 крысах линии Вистар (средней массой тела 252 г.), полученных из вивария Уральского государственного медицинского университета. Животные находились на обычном полноценном общевиварном рационе со свободным доступом к воде в едином температурном и световом режиме.

Под общей анестезией на фоне внутривенного тиопенталового наркоза из расчета 0,1 мл 5% тиопентала натрия на 100 грамм веса животного, вводилась игла цельнометаллическая длиной 12 мм в десневой край с вестибулярной поверхности правого нижнего резца с медиального края вплотную вдоль зуба с небольшим усилием для разрыва тканей. Проводилось визуальное наблюдение за внешними признаками воспаления: оценка цвета десны альвеолярного отростка нижней челюсти, измерение размера отека, консистенции, инструментально, с помощью стоматологического зонда проведены измерения глубины десневого кармана и наличие кровоточивости, определена подвижность.

Через 10, 14, 19, 25 сутки после операции крысы депитировали. Все болезненные процедуры выполняли согласно Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным. Зубы и часть альвеолярного отростка нижней челюсти фиксировали в 10% растворе формалина. Изготавливались срезы толщиной 3-5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике для дальнейшего гистологического исследования.

Результаты и обсуждение

На 2-е сутки, после травматизации, наблюдалось удовлетворительное состояние десны, без видимых патологических изменений. Не увеличена в размерах, плотной консистенции, без нарушения краевого прилегания десны.

На 3-и сутки, в области введения иглы, наблюдается появление отека, белесоватого цвета, размером 0,8-1 мм, плотной консистенции, плотного прилегания краевой десны к зубу не нарушено, кровоточивость отсутствует.

На 4-е сутки отек приобрел разлитой характер, увеличение произошло до 1,5-2 мм. Белесоватый цвет наблюдался в области введения иглы, а у основания альвеолярного отростка десна приобрела синюшный цвет. Произошла незначительная рецессия десны на 0,1 мм, десневой карман не зондировался, кровоточивость отсутствовала.

На 5-е сутки произошло значительное увеличение отека до 0,7-0,9 см в сторону основания альвеолярного отростка, плотной консистенции. В пришеечной части экспериментальных животных выявлен зубной налет. Отмечается незначительная кровоточивость.

На 10-е сутки отмечается неоднородное увеличение отека до 1-1,1 см, выраженная гиперемия в области шеек зубов, плотной консистенции, десневой карман увеличен на 0,2-0,3 мм, незначительная кровоточивость. Отмечается появление темного цвета в месте введения иглы.

На 14-е сутки наблюдается неравномерный отек в верхней и нижней частях альвеолярного отростка. В месте введения иглы десна рыхлая, гиперемирована, маргинальная часть легко отслаивается гладилкой от зуба, зубодесневой карман соответствует 3 мм, легко кровоточит. У основания альвеолярного отростка отек белесоватого цвета, размером 0,4-0,5 см, плотной консистенции. При этом замечено окрашивание эмали в черный цвет в пришеечной области зубов.

На 19-е сутки сохранилась неравномерность распределения отека на альвеолярном отростке, с увеличением размера как в верхней, так и в нижней части альвеолярного отростка. Имеется обильный мягкий зубной налет. В передней части альвеолярного отростка отек имел бело-красный цвет, а в его боковых частях наблюдался синюшный оттенок десны. Эмаль в пришеечной области приобрела темный цвет. Размер десневого кармана равен 7 мм, легко кровоточил при зондировании, подвижность в вестибуло-оральном направлении незначительное.

На 25-сутки размер отека составил 0,9-1 см, гиперемированный, очень плотной консистенции, десневой карман составил 7 мм, при зондировании кровоточит.

При микроскопическом анализе гистологических препаратов, визуально отмечено появление инфильтрата стадии установившегося воспаления на 14 сутки, что соответствует острой фазе воспаления. Появление в поле зрения плазматических клеток выявлено на 19 день, а значительное их увеличение на 25 день исследования.

Заключение

Созданная модель подтверждает хронизацию процесса, что позволяет определить сроки начала манипуляций, связанных с диагностикой и лечением воспалительной реакции тканей периодонта.

Полученная модель предоставляет обширные возможности для исследования уже имеющихся фармакологических препаратов, а так же поиск или создание новых лекарственных форм при исследовании на стадии хронического процесса и достоверное подтверждение правильности выбранного лекарственного средства для лечения данной патологии. ■

Саркисян Н.Г., к.м.н., ассистент кафедры терапевтической стоматологии ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России, г. Екатеринбург, н.с. Института иммунологии и физиологии УрО РАН. Ларионов Л.П., профессор, д.м.н., член-корреспондент Академии технологических наук РФ. Тузанкина И.А., профессор, д.м.н., начальник отдела клинической иммунологии ОДКБ №1, зав. Лабораторией иммунологии онтогенеза института иммунологии и физиологии УрО РАН. Тимченко А.С. - студент УГМУ. Автор ответственный за переписку - Саркисян Нарине Гришаевна, 620028, г. Екатеринбург, ул. Токарей 29 а, УГМУ, кафедра терапевтической стоматологии. Тел.: (343) 214-85-19, e-mail: narine_25@mail.ru, тел. сотовый: +7 902 87 55 399

Литература:

1. Пародонтология: национальное руководство / Под ред. проф. Л.А. Дмитриевой. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 712 с.
2. Грудянов А.И. Заболевания пародонта. – М.: Издательство «Медицинское информационное агентство», 2009. – 336 с.
3. Терапевтическая стоматология: национальное руководство / под ред. Л.А. Дмитриевой, Ю.М. Макашова. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. — 912 с. — (Серия «Национальные руководства»).
4. Большедворская Н.Е., Казанкова Е.М., Тирская О.И., Молчанов А.Н., Васильева Л.С. Молоков В.Д. – Патогенетическое значение структурных особенностей пародонта у крыс при пародонтите. Иркутский государственный медицинский университет, Иркутск, Россия, 2005.
5. Cawson R.A., Odell E.W. // Oral Pathology. – Churchill Livingstone. - 1995.- P. 7-91.