



Адаптационные механизмы защиты обнаженной пульпы у крыс: к вопросу о биомоделировании острого и хронического пульпита

А. Гаджиев¹, А.В. Волков¹, И.И. Бобиченко¹, Е.К. Кречина¹,
Г.Д. Капанадзе², Н.В. Станкова²

¹ – ФГБУ «ЦНИИС и ЧЛХ» Минздравсоцразвития России

² – «ФГБУН Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»

Контактная информация: д.б.н. Капанадзе Гия Джемалиевич, giyak@yandex.ru

На лабораторных крысах проводили вскрытие пульпарной камеры передних резцов. По наблюдению в течение 30 суток выявлен ряд адаптационных механизмов в пульпе резцов, которые позволяют ей существовать фактически в виде хронической раны, что не может не отражаться на течении процессов альтерации, воспаления и регенерации, и, в свою очередь, на адекватности полученных результатов при биомоделировании хронического и острого пульпита у грызунов.

Ключевые слова: пульпит, моделирование, лабораторные животные.

Введение

Пульпит, как осложнение кариеса, продолжает занимать одно из лидирующих мест в списке распространенных болезней полости рта, поэтому в научной литературе содержится значительное количество публикаций, посвященных его причине, механизмам, тактике лечения и реабилитации [1-5, 9, 12]. На современном этапе развития биомедицины сложно себе представить разработку и внедрение новых методов лечения таких заболеваний как пульпит в его острой и хронической форме без получения предварительных данных об эффективности этих методов на биомоделях [10].

Как ни странно, но биомоделирование заболеваний и состояний полости рта со-

пряжено с рядом трудностей. В первую очередь, особенности жевания, характер потребления и качество пищи человека практически не сопоставимы с таковыми у животных, служащих биомоделями. Так, например, в литературе встречаются работы по изучению острого и хронического пульпита на плотоядных (собаках) [7], грызунах (кролики, крысы) [6, 8, 13] и парнокопытных [11, 14, 15]. Однако образ питания, биомеханика жевания и даже биоценоз значительно отличаются не только от тех же показателей у человека, но и между собой, что делает полученные в этих моделях результаты не всегда бесспорными.

Так, например, широко распространенная модель пульпита у крыс основана

на обнажении пульпы путем вскрытия пульпарной камеры, предполагающая, что в полученной ране в первые сутки возникнет воспаление и разовьется картина острого пульпита, в последующем переходящего в хроническую форму. Однако в наших наблюдениях выявился ряд адаптационных механизмов у грызунов, позволяющих в той или иной мере противостоять развитию воспаления в пульпе. Как известно, у грызунов резцы стачиваются и отрастают в течение всей жизни, что приводит к постоянной открытой пульпарной камере, но воспаления в резцах, несмотря на это обстоятельство, не происходит.

Материалы и методы

Акклиматизация и отбор животных для исследования. До начала исследования в течение 14 дней происходила адаптация лабораторных животных при групповом содержании в клетках. Во время этого периода ежедневно контролировали клиническое состояние животных путем визуального осмотра.

Распределение по группам. Для исключения влияния предпочтений исследователя на формирование экспериментальных групп отбор животных осуществлялся при помощи метода модифицированной блочной рандомизации. Для этого всех поступивших из питомника животных случайным образом помещали в ячейки блока рандомизации (число ячеек блока рандомизации кратно числу групп в эксперименте). Далее, пользуясь генератором случайных чисел (статистическая программа Statistica 6.0), получали перечень данных, содержащий номера ячеек с животными и соответствующие им номера групп, куда в дальнейшем были размещены животные.

Идентификация животных. Маркировка клетки кодировала пол животных, дату начала эксперимента, название группы. Каждому отобранному в исследование животному был присвоен индивидуальный номер.

Содержание животных. Животные содержались в стандартных условиях в соответствии с требованиями ГОСТ Р от 02.12.2009 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP)», в вентилируемых клетках RairIsoSystem по одной особи. В качестве подстилки использовались опилки из нехвойных пород деревьев, прошедшие стерилизацию. Брикетированные комбикорма для лабораторных животных давались *ad libitum* в кормовое углубление клетки. Данные о составе и качестве корма от производителя хранятся в документации лаборатории. Животным давалась профильтрованная вода *ad libitum*. В виварии поддерживались контролируемые условия окружающей среды (температура воздуха – 22-24°C, относительная влажность 60-70%, а также 12-часовой цикл освещения). Никаких существенных отклонений от заданных параметров среды в период акклиматизации и в ходе эксперимента не происходило.

Экспериментальная модель. 20-ти крысам Wistar массой 300-400 г, под комбинированным наркозом (Золетил/Ро-метар) проводили вскрытие пульпарной камеры передних резцов стоматологическим бором на уровне границы слизистой до появления капель крови. Животные были разделены на 4 группы по сроку предполагаемого развития пульпита: первая – 4 суток, вторая – 7 суток, третья – 14 и четвертая – 30 суток. В каждой группе было по 5 животных. Еще 5 крыс были выведены из эксперимента до его начала, с целью определения исходного

состояния пульпы, путем декапитации. Резекция верхних резцов производилась выпиливанием их единым блоком. Нижняя челюсть удалялась и фиксировалась целиком в 10% растворе формалина в течение 72 ч.

Гистологическая проводка и документирование. После отмывки нижние челюсти разделяли на правую и левую половины по средней линии и подвергали декальцинации в трилоне Б в течение 14 дней. После чего проводили через стандартную гистологическую проводку и изготавливали парафиновые блоки. Парафиновые блоки ориентировали плоскостью щечной стороны кверху и изготавливали серийные срезы, проходящие через пульпарную камеру резцов. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином (Биооптика, Италия). Слайды подвергали микроскопии и документировали с помощью микроскопа AxioPlan (Carl Zeiss, Германия).

Результаты исследований

Интактная группа. При гистологическом изучении образцов зубов без воздействия выяснено, что у крыс имеется постоянно открытая пульпарная камера, которая сообщается с внешней средой. Отграничение от которой реализуется за



Рис. 1. Вскрытие пульпарной камеры и обнажение пульпы.

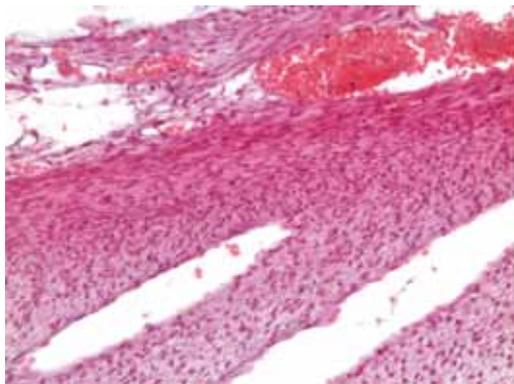


Рис. 2. Гистологическая картина пульпы интактного зуба (резца). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. х 200.

счет частичной пролиферации одонтобластов и фибробластов соединительной ткани стромы пульпы с образованием двух заметных слоев. Первый, или наружный, представлен сосудистым сплетением и рыхло-волоконистой соединительной тканью, второй – уплотненной

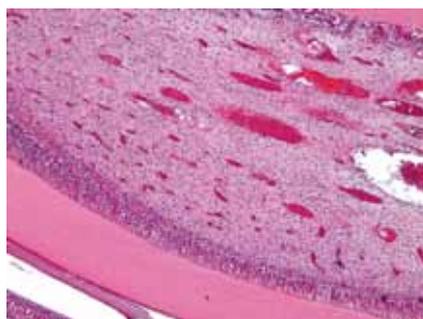


Рис. 3. Гистологическая картина пульпы интактного зуба. Большое количество сосудов артериального и венозного типов, обеспечивающих высокий уровень кровоснабжения. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. х 100.

тканью стромы пульпы в виде мембраны (рис. 1). Посередине проходит мощный сосудисто-нервный пучок с артериальным и венозным полнокровием (рис. 2).

Группа 4 дня. Через 96 ч после воздействия отмечается артериальное и венозное полнокровие пульпы, отек ее

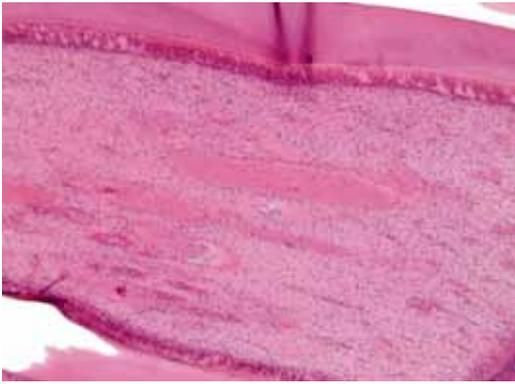


Рис. 4. 96 ч после повреждения пульпы. Отмечается отек стромы и увеличение числа нейтрофилов в сосудах, без феномена «краевого стояния».

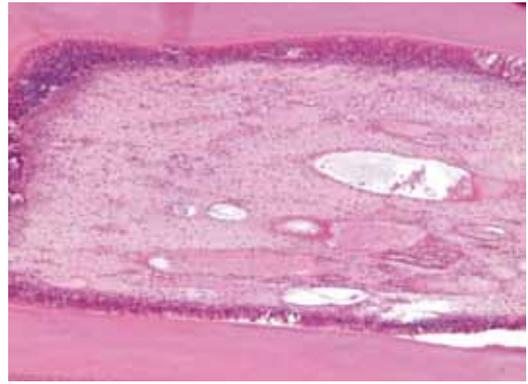


Рис. 5. Отсутствие признаков острого и хронического воспаления через 7 суток после повреждения. Компенсация. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. х 200.

стромы, появление небольшого количества нейтрофилов в просвете сосудов, без проявления феномена «краевого стояния» (рис. 3).

Группа 7 суток. К этому сроку наблюдения отек стромы отсутствовал, как и любые проявления острого и хронического воспаления (рис. 4), такая же картина сохранялась в группах 14 и 30 суток.

Обсуждение результатов

В описанной модели повреждения резцов у крыс мы выявили, что формирование дополнительного отверстия в резцах не приводит к развитию острого пульпита. В течение первых 4-х дней наблюдения развиваются признаки катарального воспаления в пульпе, которые нивелируются уже к 7-му дню и не переходят в хроническую стадию, продолжающуюся, как минимум, 30 суток. Кроме того, при детальном рассмотрении границы между пульпой и окружающей средой выяснилось, что развитие классического пульпита в резцах практически невозможно в связи с тем, что пульпарная камера всегда открыта и не возникает сдавления сосудов корней нарастающим отеком. В

ответ на повреждение происходит дилатация сосудов с увеличением кровотока. Сохраняющаяся микроциркуляция не создает условий для ишемических и некротических изменений. Строма пульпы и одонтобласты образуют слоистую структуру, которая отграничивает собственно пульпу от внешней среды, формируя, по сути, хроническую компенсированную рану, но без признаков воспаления.

Таким образом, выявлен ряд адаптационных механизмов в пульпе резцов у крыс, которые позволяют ей существовать фактически в виде хронической раны, что не может не отражаться на течении процессов альтерации, воспаления и регенерации, и, в свою очередь, на адекватности полученных результатов при биомоделировании хронического и острого пульпита у грызунов – в частности, у крыс.

Работа выполнена при поддержке Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 гг.

Список литературы

1. **Барковский В.С.** // Воспаление пульпы зуба / Иванов В.С. с соавт. – М.: «Медицина». 1990. 51 с.
2. **Григорян А.С.** Морфология и гистохимия пульпы зубов в норме и при воспалении // Стоматология. 1965. № 5. С. 20-27.
3. **Иванов В.С., Винниченко Ю.А., Иванова Е.В.** Воспаление пульпы зуба. – М. МИА. 2002.
4. **Лукиных Л.М., Шестопалова Л.В.** Пульпит: клиника, диагностика и лечение. – Н. Новгород. 2004. 87 с.
5. **Чертыковцев В.Н.** Экспериментально-клиническое обоснование импедансных методов диагностики состояния поврежденной пульпы зуба: Дис. ... д-ра мед. наук. – М. 2002.
6. **Chung M.K., Lee J., Duraes G., Ro J.Y.** Lipopolysaccharide-induced pulpitis up-regulates TRPV1 in trigeminal ganglia // J. Dent. Res. 2011 Sep;90(9):1103-7.
7. **Danesh F., Vahid A., Jahanbani J., Mashhadiabbas F., Arman E.** Effect of white mineral trioxide aggregate compared with biomimetic carbonated apatite on dentine bridge formation and inflammatory response in a dental pulp mode // Int. Endod. J. 2012 Jan;45(1):26-34.
8. **Fried K., Mitsiadis T.A., Guerrier A., Haegerstrand A., Meister B.** Combinatorial expression patterns of the connexins 26, 32, and 43 during development, homeostasis, and regeneration of rat teeth // Int. J. Dev. Biol. 1996 Oct;40(5):985-95.
9. **Gangler P., Hoyer J., Koch I.L.** Pulpitistherapie // Med. Actual. 1984. 3d. 10. № 4. P. 176-178.
10. **Kaan T.K., Ohara P.T., Jasmin L.** Orofacial pain models and behavior assessment // Methods Mol. Biol. 2012;851:159-70.
11. **Kuo T.F., Lin H.C., Yang K.C., Lin F.H., Chen M.H., Wu C.C., Chang H.H.** Bone marrow combined with dental bud cells promotes tooth regeneration in miniature pig model // Artif. Organs. 2011 Feb;35(2):113-21.
12. **Maltz M., Oliveira E., Fontanella V., Carminatti G.** Deep caries lesion after incomplete dentine caries removal: 40-month follow-up study // Caries Research. 2007;41:493-496.
13. **Ohshima H., Nakakura-Ohshima K., Takeuchi K., Hoshino M., Takano Y., Maeda T.** Pulpal regeneration after cavity preparation, with special reference to close spatio-relationships between odontoblasts and immunocompetent cells // Microsc. Res. Tech. 2003 Apr;60(5):483-90.
14. **Yang K.C., Wang C.H., Chang H.H., Chan W.P., Chi C.H., Kuo T.F.** Fibrin glue mixed with platelet-rich fibrin as a scaffold seeded with dental bud cells for tooth regeneration // J. Tissue Eng. Regen. Med. 2012 Nov;6(10):777-85.
15. **Zheng Y., Wang X.Y., Wang Y.M., Liu X.Y., Zhang C.M., Hou B.X., Wang S.L.** Dentin regeneration using deciduous pulp stem/progenitor cells // J. Dent. Res. 2012 Jul;91(7):676-8.

Adaptation mechanisms of protection pulp exposure in rats: the issue of biomodeling of acute and chronic pulpitis

A. Gadzhiyev, A.V. Volkov, I.I. Bobichenko, E.K. Krechina,
G.D. Kapnadze, N.V. Stankova

In laboratory rats were autopsied pulp chamber front incisors. Observation for 30 days revealed a number of adaptive mechanisms in the pulp cutters that allow it to exist in fact in the form of chronic wounds, which can not affect the current process alterations, inflammation and regeneration, and, in turn, on the adequacy of the results at biomodeling chronic and acute pulpitis in rodents.

Key words: pulpitis, modeling, laboratory animals.

Экспериментальное моделирование хронической сердечной недостаточности

А.А. Казаченко¹, С.В. Оковитый², А.Н. Куликов¹, Д.Ю. Ивкин²,
Е.Б. Шустов³

¹ – Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург

² – Химико-фармацевтическая академия МЗ РФ, Санкт-Петербург

³ – ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», Московская обл.

Контактная информация: д.м.н., проф. Шустов Евгений Борисович, shustov-msk@mail.ru

Внедрение новых методов лечения хронической сердечной недостаточности требует адекватной доказательной базы, включающей доклинические исследования на экспериментальных моделях у животных. Проведена успешная апробация нескольких экспериментальных моделей формирования сердечной недостаточности у лабораторных животных, позволяющих с помощью метода эхокардиографии исследовать различные варианты течения заболевания, как по выраженности гемодинамических проявлений, так и по преимущественному поражению отделов сердца.

Наиболее эффективной в плане воспроизводимости и выраженности изменений является модель с перманентным лигированием левой коронарной артерии. Среди фармакологических моделей особенностями доксорубициновой модели хронической сердечной недостаточности является прогрессирующее снижение сократимости миокарда левого желудочка и развитие его эксцентрического ремоделирования, тогда как изадриновая модель характеризуется развитием лишь умеренной сердечной недостаточности, а введение монокроталина вызывает преимущественно развитие легочной гипертензии, гипертрофии правого желудочка и выраженной правожелудочковой сердечной недостаточности.

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность, моделирование.

Введение

Сердечно-сосудистая патология и, в частности, хроническая сердечная недостаточность (ХСН) является одной из наиболее серьезных проблем совре-

менной медицины. Внедрение новых методов лечения этой патологии требует достаточной доказательной базы, включающей доклинические исследования на экспериментальных моделях па-