Хархны шүдэнд утас ороож үүсгэсэн шүдний тулгуур эдийн үрэвслийн загварыг судалсан байдал

Х.Оюунхишиг[1], Б.Галиндэв[2], П.Баатаржаргал[3], А.Алтанчимэг[3], Э.Баярмаа[4], Б.Баярчимэг[1]
ШТЭСЭТ, АШУУИС[1]
Био Анагаахын Хүрээлэн, АШУУИС[2]
Мал эмнэлэгийн хүрээлэн, ХААИС[3]
Био-Анагаахын Сургууль, АШУУИС[4]
Цахим шуудан: oyunkhishig@mnums.edu.mn
Утас:976-99080794

Түлхүүр үг:

биофильм,
эмгэг хөндий,
шимэгдэл

Товч утга

Шүдний тулгуур эдийн (ШТЭ) өвчин ихэвчлэн өнгөрийн биофилмээр үүсгэгддэг. Өнгөрийн нөлөөгөөр үүссэн ШТЭ-ийн үрэвслийн үед түүшин яс эвдэрч шүд сулардаг. Түүшин ясны алдагдлыг сэргээх бүтээгдэхүүнийг эмнэл зүйд хэрэглэхийн өмнө эсийн болон амьтан дээр хийгдсэн туршилтууд, хүний эмчилгээнд хэрэглэсэн үр дүнг тооцож бэлтгэдэг. ШТЭ-ийн үрэвслийн эмнэл зүйд дүйцэх судалгааны арга бол туршилтын амьтны шүдийг мэс заслын утсаар ороож өнгөр үүсгэснээр шүдний тулгуур эдийн үрэвслийг үүсгэх "ligature induced periodontitis" арга юм. Иймд бид туршилтын амьтанд шүдний тулгуур эдийн үрэвслийн эмгэг загварыг үүсгэж эмнэл зүй, анатом, гистологийн үр дүнг судлах зорилго тавилаа. **Материал, арга зүй**: Амьтны лабораторид 8 долоо хоногтой 280-360гр хэмжээтэй Wistar үүлдрийн 10 эр цагаан харханд ШТЭ-ийн үрэвслийн шалтгаант түүшин ясны алдагдлын эмгэг загварыг үүсгэв. Хелсинкийн декларацийг баримтлан амьтныг туршилтанд хамруулав. Амьтны зүүн дээд 2-р араа шүдэнд 4.0 дугаартай силк утсыг ороон суулгаж 4, 7, 21 хоногийн дараа буйл шүдний эмгэг хөндийн гүн, түүшин ясны алдагдлын шугаман болон талбайн хэмжээ, бичил бүтцийн үр дүнг тооцож судлав. **Үр дүн**: Буйл шүдний ховилын гүн 4 дэх хоногийн дараа 0.8 мм, 7 дахь хоногт 1.5 мм, 21 дэх хоногт 2.5 мм байв. Шугаман хэмжилтээр тодорхойлсон ясны алдагдлын дундаж үзүүлэлт нь 4 хоногт 0.66±0.11мм, 7 хоногт 1.18±0.38мм байсан бол 21 хоногт үүссэн ясны алдагдлын дундаж үзүүлэлт нь 1.43±0.50мм байлаа. Талбайн хэмжилтээр тодорхойлсон ясны алдагдлын дундаж үзүүлэлт 4 дэх хоногт 0.81±0.06мм^2, 7 дахь хоногт 1.40±0.15 мм^2 байсан бол 21 хоногт үүссэн ясны алдагдлын дундаж үзүүлэлт нь 1.59±0.16 мм^2 байлаа. Бичил бүтцийг судлахад 4-7 хоногт цөөн тооны үрэвслийн эсүүд, ихэвчлэн лимфоцитууд, остеоцитууд ажиглагдав. Харин 21 хоног дээр цөөн тооны остеоцит эсүүд, олон тооны остеокласт эсүүд ажиглагдав. **Дүгнэлт**: Туршилтын 21 дэх хоногт туршилтын амьтны буйл шүдний эмгэг хөндийн хэмжээ, түүшин ясны алдагдал илүү байсан ба эдийн эвдрэл бичил бүтцэд гарсан өөрчлөлтөөр батлагдав.

Үндэслэл

Шүдний тулгуур эдийн өвчнийг үүсгэгч олон шалтгаан байдаг хэдийг ч хамгийн түгээмэл нь өнгөрийн биофилм юм.[1] Өвчний дунд болон хүнд хэлбэрийн үед буйл, холбоос эд, түүшин ясны эвдрэл үүсч холбоос алдагдан улмаар шүд хөдөлгөөнд ордог.[2] Шүдний тулгуур эдийг нөхөн сэргээх аргаар эрт үеийн шүдгүйдлээс урьдчилан сэргийлэх боломжтой бөгөөд энэ нь хүмүүсийн амьдралын чанарыг сайжруулахад чухал юм. Орчин үед шүдний хөдөлгөөнийг багасгах, зажлах үйлийг нэмэгдүүлхийн тулд олон аргыг хэрэглэж байгаа бөгөөд хиймэл яс, мембран хэрэглэх аргаар түүшин ясыг нөхөн сэргээж байна. Манай оронд эрт үеэс алтан гагнуур,

барагшуныг ясны эдийн хугарлын бороололтонд хэрэглэж заншсан. 2011 онд У. Хулан нарын эрдэмтэд ясны остеобласт эсэд үзүүлэх Монгол барагшуны нөлөөг судалж үзэхэд 0.01мкг/мл-1мг/мл хэмжээтэй барагшуны ханд MG 63 эсийн өсөлтөнд идэвхитэй нөлөөлж байгааг тогтоожээ[3]. Түүшин ясны алдагдлыг сэргээх бүтээгдэхүүнийг эмнэл зүйд хэрэглэхийн өмнө эсийн болон амьтан дээр хийгдсэн туршилтууд, хүний эмчилгээнд хэрэглэсэн үр дүнг тооцож бэлтгэдэг. ШТЭ-ийн үрэвслийн эмнэл зүйд дүйцэх судалгааны арга бол туршилтын амьтны шүдийг мэс заслын утсаар ороож өнгөр үүсгэх “ligature induced periodontitis” арга юм[1,2,4,5]. ШТЭ-ийн үрэвслийн эмнэл зүйд илүү ойртсон туршилтын арга бөгөөд сүүлийн үед олон улсад өргөн хэрэглэж байна. Бид дээрх in vitro судалгааны үр дүнд үндэслэн туршилтын амьтан дээр шүдний түүшин ясны алдагдал үүсгэж Монгол цэвэршүүлсэн барагшуны нөлөөг судлах зорилго тавьсан бөгөөд шүдний түүшин ясны шимэгдлийг нөхөн төлжүүлэх эмнэл зүйн туршилт судалгааг хийж үр дүнг тооцохын тулд тулгуур эдийн эмгэг загварыг үүсгэж эмнэл зүй, гистологийн үр дүнг судлах шаардлагатай болсон учир энэхүү судалгааны ажлыг хийх үндэслэл боллоо.

Зорилго

Туршилтын амьтанд шүдний тулгуур эдийн үрэвслийн эмгэг загварыг үүсгэж эмнэл зүй, анатом, гистологийн үр дүнг судлах

Судалгааны ажлын арга, аргачлал

Био-Анагаахын ёс зүйн хяналтын хорооны 2021 оны 09-р сарын 27 -ны өдрийн хурлын шийдвэрээр судалгааг хийх ёс зүйн зөвшөөрлийг авсан болно. АШУҮИС-ийн Био-Анагаахын хүрээлэнгийн туршилтын амьтны лабораторт 2021 оны 11-12-р сарын хооронд эмгэг загвар үүсгэх туршилт судалгаа хийгдсэн.

Эмгэг загвар үүсгэх туршилтын арга

Амьтны лабораторид 8 долоо хоногтой 280-360 гр хэмжээтэй Wistar үүлдрийн 10 эр цагаан харханд ШТЭ-ийн үрэвслийн шалтгаант түүшин ясны шимэгдлийн эмгэг загварыг үүсгэсэн. Хархнуудыг торон тагтай, зориулалтын хайрцганд, 60%-ийн чийглэг, 20±22ºC хэмийн, өдөр нь байгалийн гэрэл тусах, шөнө нь харанхуй орчин бүхий тасалгаанд байлгав. Зориулалтын тэжээлээр хооллож, тасалгааны хэмийн усаар ундалсан. Хелсинкийн декларацийг баримтлан амьтныг туршилтанд хамруулав (Зураг 1). Эмнэл зүйн туршилт эхлэхийн өмнө хархнуудыг 1 удаагийн тариураар, 6 мл тунтай фентобарбиталыг хэвлийн хөндийн хэсэгт тарьж мэдээгүйжүүлсэн. Тарих хэсгийн арьсыг 70%-ийн спирттэй маарилан шааригаар арчиж халдваргүйжүүлсэн. Туршилтын хархыг нойрсуулсаны дараа зүүн дээд 2-р араа шүдэнд 4.0 дугаартай силк утсыг ороон суулгаж 4, 7 хоног болон 3 долоо хоногийн турш байлгаж түүшин ясны алдагдлыг үүсгэсэн (Зураг 2).



Зураг 1.Амьтны лаборатор дахь туршилтын хархнууд



Зураг 2. Зүүн дээд 2-р араа шүдэнд утас суулгасан байдал

Түүшин ясны шимэгдэл үүссэнийг нотлох аргууд:

Буйл шүдний эмгэг хөндийн гүнийг хэмжих



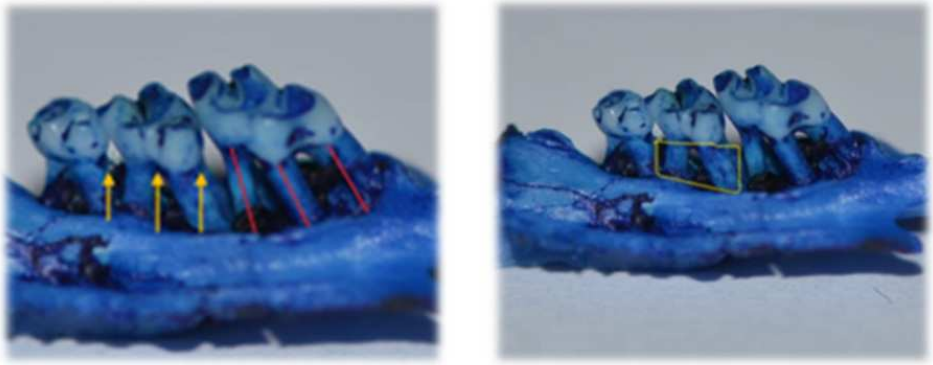
Зураг 3. Буйл шүдний эмгэг хөндийг хэмжиж буй байдал

Хоншоорын зүүн 2-р араа шүдний хүзүү хэсгээр утас ороож үлдээснээс 4, 7, 21 хоногийн дараа туршилтын хархнуудыг нойрсуулж буйл шүдний эмгэг хөндийд шүдний тулгуур эдийн хэмжээст сэтгүүрийг оруулж хэмжилт хийсэн. Буйл шүдний эмгэг хөндийг (БШЭХ) хэмжихдээ буйлны ирмэгээс буйл шүдний эмгэг хөндийн ёроол хүртэл шүдний 4 гадаргад хэмжилт хийв (Зураг 3).

Макро түвшинд шууд харж тодорхойлох арга

Туршилтын хархнуудад утас суулгаснаас хойш 4,7,21 дэх хоногт эмгэг загвар үүсгэсэн хархнуудыг унтуулгын аргаар егүүтгэж туршилт хийсэн хэсгийн хоншоорын ясыг салгаж зөөлөн эдийг 15С дугаартай мэс заслын ирээр зүсэж салгасан. Үлдсэн зөөлөн эдийг бүрэн цэвэрлэхийн тулд 30%-ийн перкист 16 цаг байлгасан. Нэрмэл усаар зайлж угаасны дараа хатаасан. Ингэсний дараа түүшин ясны эвдрэлийг тодотгох зорилгоор 5 минутын турш 3%-ийн хөх метилинд байлгав. Метилинээс гаргаж өрөөний температурт 30 минутын турш хатааж илүүдэл метилинийг нэрмэл усаар угааж цэвэрлэн хатаав. Хөх метилинээр будагдсан хоншоорын 2-р их араа шүдний хацар болон хэлэн талын түүшин ясны эвдрэлийн хэсгийн зургийг Nikon D3100 аппаратаар авсан. Liberman.D нарын аргаар (2010) түүшин ясны хацар болон хэлэн талын эвдрэлийг шугаман болон талбайн гэсэн 2 аргаар хэмжиж тодорхойлов (Зураг 4). Хэмжилтийг Image.J software морфометрик хэмжилт хийх программын тусламжтай хийж гүйцэтгэв. Шугаман хэмжилт: Түүшин ясанд үүссэн шимэгдлийг тодорхойлохдоо паалан ясжмаг эдийн заагаас (ПЯЭЗ) түүшин ясны орой (ТЯО) хэсэг хүртэлх хэмжээсийг шүдний дистал талын сурвалжаас мезиал талын сурвалж

хүртэлх зайд шүдний хэлэн болон хацар талд тус бүрт 3 шугам, нийт 6 шугам үүсгэн хэмжив. Талбайн хэмжилт: зөвхөн дистал сурвалжийн дистал гадарга болон мезиал сурвалжийн мезиал гадаргын хоорондох ясны алдагдлыг паалан ясжмаг эдийн заагаас түүшин ясны орой хүртэлх талбайг хэмжив.



Зураг 4. Шугаман болон талбайн хэмжилт хийсэн байдал

Эмгэг судлалын шинжилгээний арга

Мал эмнэлгийн хүрээлэнгийн Эмгэг судлалын лабораторид шүдний түүшин ясны эдийн дээжинд гистологи шинжилгээ хийгдсэн. Буфержүүлсэн формалины 10%-ийн уусмалд бэхжүүлсэн эдийн дээжийг 10%-ийн азотын хүчлээр 10 хоногийн турш кальцгүйжүүлэн, формалины 10%-ийн уусмалд бэхжүүлэн, гистопатологийн нийтэд хэрэглэгддэг арга зүйн дагуу боловсруулан Гематоксилин-Эозины аргаар будав. Ясны эдийг кальцгүйжүүлэх pilot судалгаа туршилтыг урьдчилан 6 төрлийн уусмал дээр туршсаны үр дүнд азотын хүчлийг сонгон авсан болно. Туршилтын 4, 7, 21 дэх хоногт үүссэн эмгэг загвар бүхий эдийн дээжинд микроскопын буюу бичил бүтцийн шинжилгээ хийв.

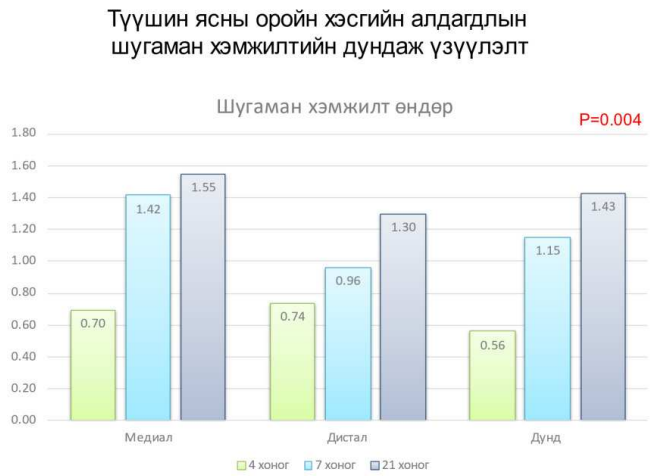
Статистик боловсруулалт

Судалгааны статистик боловсруулалтыг SPSS хувилбар 26.0 программыг ашиглан хийж гүйцэтгэв. Шүдэнд утас ороож суулгасан хоногоор нь туршилтын амьтдын ялгаатай байдлыг үнэлэхдээ T-тестийг ашиглав. $P<0.005$ нь статистикийн ач холбогдолтой гэж үзлээ.

Судалгааны ажлын үр дүн

Буйл шүдний ховилын гүн 4 дэх хоногийн дараа 0.8 мм, 7 дахь хоногт 1.5 мм, 21 дэх хоногт 2.5 мм байв. Түүшин ясны алдагдлыг шугаман хэмжилтээр харьцуулан судлахад ясны шимэгдлийн дундаж үзүүлэлт нь 4 хоногт 0.66±0.11мм, 7 хоногт 1.18±0.38мм харин 21 хоногт үүссэн ясны алдагдлын дундаж үзүүлэлт нь 1.43±0.50мм байв. Энэ нь медиал гадаргын түүшингийн өндөр илүү их шимэгдэж статистик ач холбогдол бүхий ялгаатай байгааг харуулав ($P=0.004$) (Зураг.5). Талбайн хэмжилтээр тодорхойлсон ясны шимэгдлийн дундаж үзүүлэлт 4 дэх хоногт 0.81± 0.06мм^2, 7 дахь хоногт 1.40±0.15 мм^2 байсан бол 21 хоногт үүссэн ясны шимэгдлийн дундаж үзүүлэлт нь 1.59±0.16 мм^2, $P=0.033$ байв (Зураг 6).

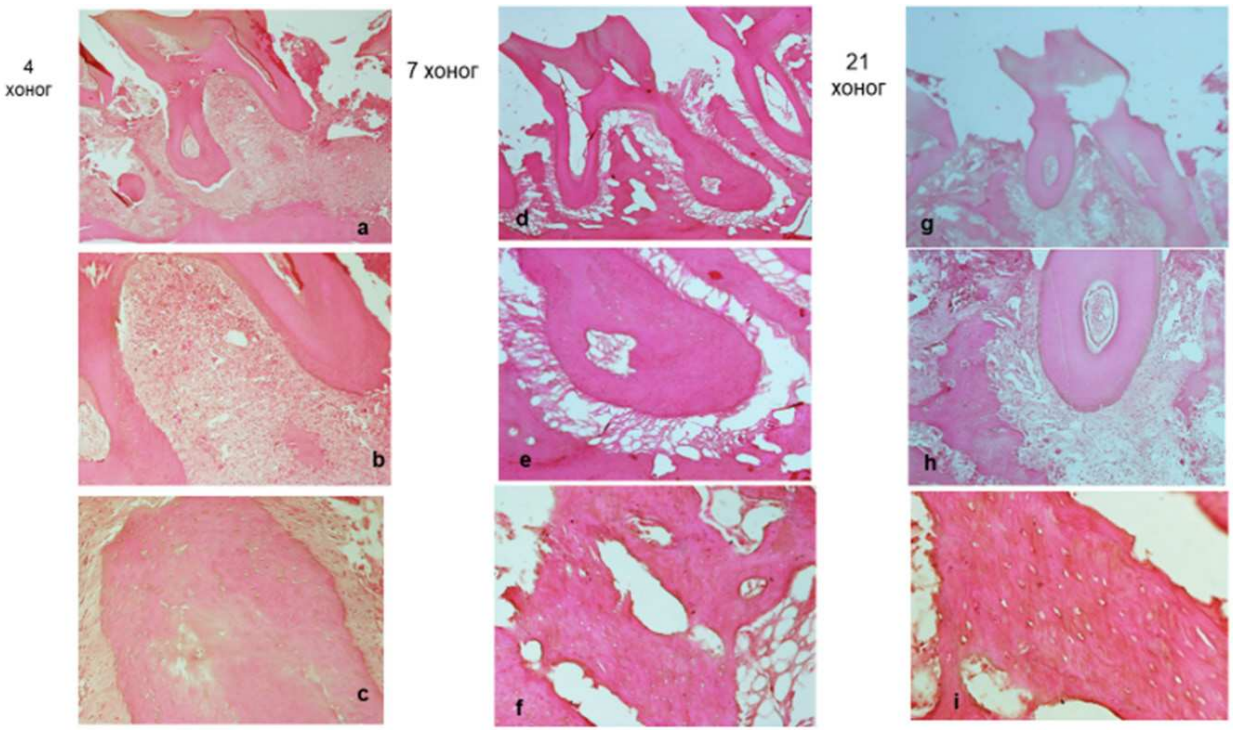
Бичил бүтцийг судлахад 4-7 хоногт цөөн тооны үрэвслийн эсүүд, ихэвчлэн лимфоцитууд, остеоцитууд ажиглагдав. Харин 21 хоног дээр цөөн тооны остеоцит эсүүд, олон тооны остеокласт эсүүд ажиглагдсан (Зураг 7)



Зураг 5. Түүшин ясны шимэгдлийг шугаман хэмжилтээр харьцуулан судлахад мезиал гадаргын түүшингийн өндөр илүү их шимэгдсэн бөгөөд статистик ач холбогдол бүхий ялгаатай байна *(p=0.004)*.



Зураг 6. Утас суулгасан хоног нь ихсэх тусам ясны шимэгдлийн талбайн хэмжээ нь нэмэгдэж байсан тул статистик ач холбогдолтой гэж үзлээ *(p=0.033)*



Зураг 7. 4 дэх хоногт шүдний түүшин ясны хэлбэр алдагдаж, өндөр намссан, эргэн тойрны зөөлөн эдэд үрэвсэл, хаван, цусархаг өөрчлөлтүүд ажиглагдав. Үрэвслийн эсийн нэвчдэс нь ихэвчлэн лимфоцитээс тогтсон. Остеоцитууд цөөрч, остеобластууд харагдана. 7 дахь хоногт шүдний түүшин ясны эдийн шимэгдэл илүү тодорч, шүдний сурвалжийн оройн доод хэсэгт үүссэн хаван багасаж, цөөн тооны остеокластууд ажиглагдсан. 21 дэх хоногт шүдний түүшин ясны орой хэсгийн бүтэн шимэгдэл, фуркацийн хэсгийн хатингаршил үүссэн, сурвалжийн оройн зөөлөн эдийн орчим остеобласт эсийн давхарга бараг байхгүй. Мөн цөөн тооны остеоцитуудын үлдэгдэл остеокластууд ихээр ажиглагдав.

Хэлцэмж

Ligature induced periodontitis буюу шүдийг ороон утас суулгаж өнгөрийн биофилмийг бүрэлдүүлэх замаар шүдний тулгуур эдийн өвчний хүндрэлийн үед үүсэх шүдний түүшин ясны шимэгдлийг үүсгэх аргыг хэрэглэсэн ижил төстэй судалгааны ажил манай оронд хийгдээгүй бөгөөд бидний судалгаа нь анхных нь болж байна. Бусад улс оронд хийгдсэн зарим судалгаануудтай харьцуулж үзэхэд утас суулгаснаас хойш 7-21 хоногт түүшин ясны шимэгдэл цочмог хэлбэрээр явагдаж байсан ба хоншоорын 2-р араа шүднүүдийн мезиал сурвалжийн түүшин ясны өндөр нь дистал талаа бодвол илүү шимэгдсэн байгаа нь De Molon нарын судалгаатай дүйцэж байна. Мөн гистопатологийн шинжилгээний үр дүнгээс харахад Suiane S.C. Pereira нарын судалгаанд үрэвслийн эсийн нэвчдэс нь ихэвчлэн лимфоцит эсүүдээс бүрдсэн, сурвалжийн орой хэсэгт остеобласт эсийн давхарга бараг байхгүй зэрэг нь ижил төстэй байв.

Дүгнэлт

Туршилтын 21 дэх хоногт туршилтын амьтны буйл шүдний эмгэг хөндийн хэмжээ, түүшин ясны шимэгдэл илүү байсан ба түүшин ясны эдийн алдагдал бичил бүтцэд гарсан өөрчлөлтөөр батлагдав.

Ном зүй

1. Rafael Scaf de Molon, Chan Ho Park et al. “Characterization of ligature-induced experimental periodontitis”. Microsc Res Tech.(81); 1412–1421. 2018
2. Liberman DN, Pilau RM, Orlandini LF, Gaio EJ, Rцsing CK. Comparison of two methods for alveolar bone loss measurement in an experimental periodontal disease model in rats. Braz Oral Res. 2010 Jan-Feb;25(1):80-4
3. *Т.Энх-Оюун, У.Хулан, П.К.Вен, В.Д.Рауш, К.Рауш-фан. “Ясны остеобласт MG 63 эсэд монгол барагшуны нөлөө”. Эрүүл Мэндийн Шинжлэх Ухаан 8 (5): 156-158, 2012.*
4. S.S.C. Pereira et al. An alternative, easy and reproducible method of stabilization and ligature-induced periodontitis in mouse. MethodsX 6 (2019) 2156–2165
5. Vanessa Pineda, Oriana Olivares, Jenair Yйpez,§ Anajulia

Gonzбlez. "Parбmetros histolygicos de la regeneraciyn ysea guiada con hidroxiapatita FOULA en ratas BIOU: Wistar". Revista Odontolygica Mexicana. 2019; 23 (3): 149-158

6. Aguirre, J I et al. "Enhanced alveolar bone loss in a model of non-invasive periodontitis in rice rats." Oral diseases vol. 18,5 (2012): 459-68. doi:10.1111/j.1601-0825.2011.01893.x
7. Lee HJ, Lee DR, Choi BK, Yang SH. Antiperiodontitis Effects of Magnolia biondii Extract on Ligature-Induced Periodontitis in Rats. Nutrients. 2019;11(4):934.
8. Liu YF, Wu LA, Wang J, Wen LY, Wang XJ (2010) Microcomputerized tomography analysis of alveolar bone loss in ligature- and nicotine-induced experimental periodontitis in rats. J Periodontal Res 45:714–719
9. Hiyari, S.,Wong, R.L., Yaghsezian, A., Naghibi, A.,Tetradis, S.,Camargo, P.M., & Pirih, F.Q. "Ligature-induced peri-implantitis and periodontitis in mice". Journal of Clinical Periodontology, (2018). 45(1), 89–99.
10. Kıvanз Kamburoğlu, DDS, MSc, PhD, Gьlden Ereş, DDS, PhD, Ceren Akgьn, DDS,. Qualitative and Quantitative Assessment of Alveolar Bone Destruction in Adult Rats Using CBCT. Journal of Veterinary Dentistry. Volume: 36 issue: 4, page(s): 245-250
11. J. Marchesan, et al., An experimental murine model to study periodontitis. Nat. Protoc. 13 (10) (2018) 2247–2267
12. Shogo Maekawa, Satoru Onizuka, Sayaka Katagiri, Masahiro Hatasa, Yuichi Izumi. "RNA sequencing for ligature induced periodontitis in mice revealed important role of S100A8 and S100A9 for periodontal destruction. Sci Rep. 2019 Oct 11;9(1)
13. Nogueira. A.V. de Molon, R.S.Nokhbehsaim, M.,Deschner, J.,&Cirelli, J.A. Contribution of biomechanical forces to inflammation-induced bone resorption. Journal of Clinical Periodontology, 44(1), 31–41. (2017).
14. Marina Soledad Bonanno, Mariana Rey Saravia, Mariana Seijo, Susana Noemн Zeni. Rol de la osteocalcina mбs allб del hueso". Actual. Osteol 2019; 15(2):78-93.
15. Stefan A. Hienz. Mechanisms of Bone Resorption in Periodontitis. Journal of Immunology Research. Volume 2015, Article ID 615486, http://dx.doi.org/10.1155/2015/615486

Examination of ligature induced periodontitis in rats

Kh.Oyunkhishig[1], B.Galindev[2], P.Baatarjargal[3], A.Altanchimeg[3], E.Bayarmaa[4], B.Bayarchimeg[1]
School of Dentistry, MNUMS[1]
Institute of Bio-Medicine, MNUMS[2]
Institute of Veterinary Medicine, MNULS[3]
School of Bio-Medicine, MNUMS[4]
E-mail: oyunkhishig@mnums.edu.mn
Tel: 976-99080794

Key words:

biofilm,
ligature,
pocket dept,
resorption

Abstract

Introduction: One of the most principal causes of periodontal disease is an accumulation of dental biofilm. Subgingival dental biofilm can lead to the destruction of alveolar bone which causes tooth mobility and tooth loss. Before the use of regeneration products in periodontal treatment results of cell and animal experiments, as well as clinical studies on patients are prepared. Ligature-induced periodontitis is an experimental method, where animal teeth are wrapped around with a ligature causing periodontitis by the accumulation of plaque, and that is similar to clinical periodontal disease. *Objective:* The aim of this study was to assess some clinical aspects, morphometric measurements, and histologic analyses after experimentally induced alveolar bone loss in rats. *Results:* After 4 days of ligature placement the periodontal pocket average depth was 0.8 mm, after 7 days it was 1.5 mm, and after 21 days it was 2.5 mm. After 4 days the linear measurement of alveolar bone loss was 0.66±0.11mm, after 7 days it was 1.18±0.38mm, and after 21 days it was 1.43±0.50mm. After 4 days the area measurements of alveolar bone loss were 0.81± 0.06 mm^2 after 4 days, 1.40±0.15mm^2 were after 7 days, and 1.59±0.16 mm^2 were after 21 days. The histological analyses of tissue after 4-7 days showed the presence of few inflammatory cells, containing mostly lymphocytes, and osteocytes. However, after 21 days the presence of some osteocytes and mostly osteoclasts were observed. *Conclusion:* The results of this study showed ligature induced bone loss method for 21 days causes more pocket depts and alveolar bone loss than 4, 7 days and histological analyses confirmed severe destruction of bone tissue.