

УДК 591.471.42:615.37"46"

© Кочубей А.А., 2012

## ОЦЕНКА СИЛЫ ВЛИЯНИЯ ТИМЭКТОМИИ И ПРИМЕНЕНИЯ ТИМОГЕНА НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ БИОМИНЕРАЛОВ КОСТИ И ДЕНТИНА РЕЗЦА НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ У БЕЛЫХ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Кочубей А.А.

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»

**Кочубей А.А.** Оценка силы влияния тимэктомии и применения тимогена на ультраструктуру биоминералов кости и дентина резца нижней челюсти у белых крыс разного возраста // Украинский морфологический альманах. – 2011. – Том 10, №3. – С. 161-164.

В эксперименте на 360 белых крысах трех возрастных групп исследовали ультраструктуру биоминералов нижней челюсти после тимэктомии или введения тимогена. Установили, что условия тимэктомии сопровождаются дисбалансом ультраструктуры биоминералов, как костного вещества, так и дентина резца нижней челюсти. Применение тимогена сопровождалось оптимизацией ультраструктуры биоминералов нижней челюсти. Сила влияния условий эксперимента нарастала по мере увеличения срока эксперимента и зависела от возраста подопытных животных.

**Ключевые слова:** крысы, онтогенез, нижняя челюсть, ультраструктура биоминерала, тимэктомия, тимоген.

**Кочубей О.О.** Оцінка сили впливу тимектомії та застосування тимогену на ультраструктуру біомінералів кістки та дентину різця нижньої щелепи у білих щурів різного віку // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 10, №3. – С. 161-164.

В експерименті на 360 білих щурах трьох вікових груп досліджували ультраструктуру біомінералів нижньої щелепи після тимектомії або застосування тимогену. Встановили, що тимектомія супроводжується дисбалансом ультраструктури біомінералу, як кісткової речовини, так і дентину різця нижньої щелепи. Застосування тимогену супроводжувалося оптимізацією ультраструктури біомінералів нижньої щелепи. Сила впливу умов експеримента зростала в міру збільшення терміну експерименту та залежала від віку піддослідних тварин.

**Ключові слова:** щури, онтогенез, нижня щелепа, ультраструктура біомінералу, тимектомія, тимоген.

**Kochubey A.A.** Influence of thymectomy or administration of thymogenum on mandible biominerals ultrastructure in white rats of the different ages // Украинский морфологический альманах. – 2011. – Том 10, №3. – С. 161-164.

In experiment on 360 white rats of three age-grades investigated a ultrastructure of a mandible biominerals at introduction of thymectomy or administration of thymogenum. Found that thymectomy is accompanied by an imbalance of the biomineral ultrastructure as the bone substance and incisor dentin of the lower jaw. Administration of thymogenum is accompanied by an optimization of the lower jaw biomineral ultrastructure. Influens is increasing with increasing of the period of the experiment and depended on the age of experimental animals.

**Key words:** rats, ontogenesis, mandible, biomineral ultrastructure, thymectomy, thymogenum.

Установлено, что загрязнение окружающей среды негативно влияет на функциональное состояние иммунной системы населения [3, 4, 7]. Однако, влияние состояния клеточного звена иммунитета на костную систему до настоящего времени окончательно не установлено. Имеются сведения о неблагоприятном влиянии тимэктомии на состояние костей скелета в условиях эксперимента, так же как и о том, что применение тимогена в эксперименте сопровождается некоторыми оптимизирующими воздействиями [5, 12, 13]. Однако информация о челюстно-лицевых структурах, а особенно нижней челюсти, имеющей очень сложное происхождение в онтогенезе и находящейся в уникальных биомеханических условиях, при различных состояниях клеточного звена иммунитета до сих пор до конца не систематизирована.

**Цель данного исследования:** изучить силу влияния условий тимэктомии и применения тимогена на ультраструктуру биоминералов кости и дентина резца нижней челюсти у белых крыс разного возраста. Исследование является фраг-

ментом НИР кафедры анатомии человека Луганского государственного медицинского университета «Морфогенез органов эндокринной, иммунной и костной систем под воздействием экологических факторов» (№ государственной регистрации 0110U005043).

**Материал и методы исследования.** Эксперимент был проведен на 360 белых крысах трех возрастных групп: неполовозрелых (исходной массой 35-40 г), половозрелых (130-140 г) и периода выраженных старческих изменений (310-320 г).

Тимэктомию производили хирургическим способом. После эфирного наркоза крыс закрепляли на столике в положении на спине. Линию будущего разреза смазывали 2% раствором дикаина. Скальпелем для глазных операций разрезали кожу и поверхностную фасцию от нижнего края перстневидного хряща до средней трети грудины. По линии разреза тупо раздвигали мышцы шеи и прямыми ножницами для глазных операций строго по средней линии рассекали грудину. Разводя края раны, отслаивали тимус от прилежащих сосу-

дов и сердца. Обе доли железы удаляли с помощью специального пинцета для тимэктомии у мелких лабораторных животных [2].

Расчёт дозировки вводимого тимогена производили с учётом рекомендаций Ю.Р. и Р.С. Рыболовлевых [5], которые при использовании лекарственных веществ в эксперименте на животных, рекомендуют учитывать константу биологической активности при дозировании веществ в работе с млекопитающими.

Тимоген вводился животным внутривентриально в дозе 1 мкг/кг массы тела, в течение десяти дней. Выбранная доза тимогена соответствовала дозировке, применяемой в клинической практике [6]. Контролем служили крысы, которым вводили физиологический раствор в эквивалентных объёмах.

Все манипуляции на животных выполняли в соответствии с правилами Европейской конвенции защиты позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях [15].

По истечении сроков эксперимента (7, 15, 30, 90 и 180 дней) животных декапитировали под эфирным наркозом, выделяли нижние челюсти (НЧ) и очищали их от мягких тканей, после чего разделяли костное вещество и дентин резца, растирали их в порошок в агатовой ступке и исследовали методом рентгеноструктурного анализа [9]. Исследования проводили на аппарате ДРОН-2,0 с гониометрической приставкой ГУР-5, использовали К $\alpha$  излучение меди с длиной волны 0,1542 нм. Напряжение и сила тока на рентгеновской трубке составляли соответственно 30 кВ и 10 мА. Дифрагированные рентгеновские лучи регистрировали в угловом диапазоне от 3° до 37° со скоростью записи 10 мм в 1 мин. На полученных дифрактограммах исследовали наиболее выраженный дифракционный пик, расположенный в угловом диапазоне 30-34°, определяли его амплитуду [8]; по угловому положению дифракционных пиков рассчитывали межплоскостные расстояния в кристаллах гидроксипатита [10]. Вычисляли размеры блоков когерентного рассеивания (кристаллитов) по формуле Селякова-Шерера [9], рассчитывали коэффициент микротекстурирования по методу соотношения рефлексов [1] и определяли параметры кристаллической решетки гидроксипатита с учетом гексагональной сингонии кристаллов [9, 11].

Все полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием стандартных прикладных программ [8, 14].

**Результаты и их обсуждение.** Для того, чтобы объективно оценить влияние условий эксперимента (проведенной тимэктомии и введения тимогена) на морфогенез нижних челюстей белых крыс и определить механизмы этого влияния в зависимости от возраста подопытных животных, был проведен однофакторный дисперсионный анализ и расчет силы влияния действующего фактора [8, 14]. Поскольку по дан-

ном нашего эксперимента тимэктомия у животных всех возрастных групп, в первую очередь, сопровождается дестабилизацией биоминералов костного вещества и дентина, с целью установления механизмов данных процессов однофакторному дисперсионному анализу были подвергнуты органомерметрические параметры нижних челюстей и ультраструктуры биоминералов костного вещества и дентина резца.

На размеры блоков когерентного рассеивания и коэффициент микротекстурирования биоминерала костного вещества НЧ неполовозрелых крыс тимэктомия оказывала достоверное влияние в период с 15 по 180 сутки эксперимента, а сила влияния действующего фактора составила соответственно 64,90%, 57,90%, 71,10%, 60,90% и 84,00%, 72,70%, 76,70%, 69,20%.

При этом на параметры элементарных ячеек гидроксипатита (размеры элементарных ячеек вдоль оси *c*) тимэктомия достоверно влияла с 30 по 180 сутки эксперимента (сила влияния действующего фактора при этом составила 53,40%, 72,50%, 65,20%).

Из этого следует, что условия тимэктомии оказывают негативное влияние на процессы кристаллизации биоминерала костного вещества в большей степени, чем на процессы нуклеации и роста вновь образованных элементарных ячеек.

Влияние тимэктомии на ультраструктуру биоминерала дентина резца неполовозрелых крыс проявлялось несколько позже.

В период с 30 по 180 сутки эксперимента регистрировалось достоверное влияние тимэктомии на размеры блоков когерентного рассеивания и коэффициент микротекстурирования (сила влияния действующего фактора составила соответственно 62,00%, 69,70%, 60,90% и 57,00%, 53,20%, 81,20%). На размеры элементарных ячеек биоминерала дентина резца неполовозрелых крыс вдоль оси *c* тимэктомия оказывала достоверное влияние на 30 и 90 сутки эксперимента (сила влияния действующего фактора составила 88,0% и 60,30%), а на размеры элементарных ячеек вдоль оси *a* – на 90 и 180 сутки (сила влияния – 66,10% и 56,20%).

Из этого следует, что условия тимэктомии оказывают негативное влияние на процессы кристаллизации биоминерала дентина резца в большей степени, чем на процессы нуклеации и роста вновь образованных элементарных ячеек. Однако в сравнении с влиянием тимэктомии на нуклеацию элементарных ячеек биоминерала костного вещества, влияние выражено сильнее.

У половозрелых животных тимэктомия достоверно влияла на параметры, характеризующие ультраструктуру биоминерала костного вещества нижней челюсти. На размеры элементарных ячеек вдоль оси *a* и *c* тимэктомия достоверно влияла с 90 по 180 сутки эксперимента (сила влияния действующего фактора составила соответственно 59,60%, 69,70% и 69,90%, 77,60%), на размеры блоков когерентного рас-

сеивания – на 90 сутки (сила влияния фактора – 55,70%), а на коэффициент микротекстурирования – на 30 и 180 сутки (сила влияния фактора – 77,10% и 60,60%).

В поздние сроки эксперимента (с 30 по 80 сутки) условия тимэктомии оказывали достоверное влияние и на параметры, характеризующие ультраструктуру биоминерала дентина резца нижней челюсти половозрелых крыс. Так, тимэктомия достоверно влияла на размеры элементарных ячеек вдоль оси *a* и *c* на 90 сутки (сила влияния действующего фактора составила 57,60%, 62,40% соответственно), размеры блоков когерентного рассеивания – с 90 по 180 сутки (сила влияния фактора – 64,80%, 62,20%) и на коэффициент микротекстурирования – с 30 по 180 сутки (сила влияния фактора – 56,00%, 79,00%, 74,80% соответственно). Исходя из этого, можно сделать заключение, что у половозрелых животных тимэктомия, в большей степени, оказывает влияние на процессы кристаллизации биоминерала дентина резца, чем на процессы роста и формирования его элементарных ячеек.

У белых крыс инволютивного возраста более продолжительное влияние (с 15 по 180 сутки эксперимента) условий тимэктомии было зарегистрировано на параметры, характеризующие ультраструктуру биоминерала костного вещества нижней челюсти, чем у половозрелых и половозрелых крыс. На размеры элементарных ячеек вдоль оси *a* тимэктомия достоверно влияла с 30 по 180 сутки (сила влияния действующего фактора – 58,80%, 72,50%, 47,90% соответственно), вдоль оси *c* – с 15 по 180 сутки (сила влияния фактора – 62,80%, 81,10%, 85,10%, 69,40%), на размеры блоков когерентного рассеивания – с 90 по 180 сутки (сила влияния фактора – 59,20%, 42,30%), а на коэффициент микротекстурирования – с 15 по 180 сутки (сила влияния фактора – 66,10%, 85,30%, 86,80%, 80,00%).

На параметры, характеризующие ультраструктуру биоминерала дентина резца нижней челюсти условия тимэктомии оказывали достоверное влияние несколько позже (с 30 по 180 сутки эксперимента). На размеры элементарных ячеек вдоль оси *a* тимэктомия достоверно влияла с 30 по 180 сутки (сила влияния действующего фактора – 66,10%, 63,50%, 65,60%), на размеры блоков когерентного рассеивания – с 30 по 90 сутки (сила влияния фактора – 56,40%, 58,30%), а на коэффициент микротекстурирования – было зарегистрировано наиболее продолжительное влияние – с 7 по 90 сутки эксперимента. Сила влияния действующего фактора составила, при этом, 56,40%, 70,30%, 83,20%, 61,00% соответственно.

Введение тимогена половозрелым животным на параметры, характеризующие ультраструктуру биоминерала костного вещества нижней челюсти введение тимогена оказывало достоверное влияние лишь к 180 суткам эксперимента: на размеры элементарных ячеек вдоль

оси *a* и *c* и размеры блоков когерентного рассеивания (сила влияния действующего фактора составила соответственно 73,20% и 74,60% и 68,20%).

Что касается ультраструктуры биоминерала дентина резца, то введение тимогена достоверно влияло лишь на размеры элементарных ячеек вдоль оси *c* на 30 сутки эксперимента (сила влияния фактора – 95,00%) и размеры блоков когерентного рассеивания на 180 сутки (сила влияния фактора – 69,30%).

Основываясь на вышеизложенном, условия введения тимогена половозрелым животным, в большей степени, оказывали влияние на процессы нуклеации и роста формирующихся элементарных ячеек биоминералов костного вещества и дентина резца, чем на процессы их кристаллизации.

На размеры элементарных ячеек вдоль оси *c* биоминерала костного вещества нижней челюсти введение тимогена половозрелым крысам достоверно влияло только на 180 сутки эксперимента (сила влияния фактора – 59,30%), на размеры блоков когерентного рассеивания – в эти же сроки (сила влияния фактора – 70,60%), а на коэффициент микротекстурирования – с 30 по 90 сутки (сила влияния фактора – 66,40%, 72,60% соответственно).

При оценке силы влияния введения тимогена на параметры, характеризующие ультраструктуру биоминерала дентина резца выявлено, что имело место достоверное влияние только на размеры блоков когерентного рассеивания с 90 по 180 сутки эксперимента (сила влияния фактора – 78,40%, 67,50%).

Из этого следует, что введение тимогена половозрелым крысам более выраженное и продолжительное влияние оказывало на процессы кристаллизации биоминералов, чем на процессы роста и формирования его элементарных ячеек.

У животных старческого возраста введение тимогена оказывало достоверное влияние на размеры элементарных ячеек вдоль оси *c* биоминерала костного вещества нижней челюсти на 15 и 90 сутки эксперимента (сила влияния фактора – 60,80%, 59,60%), на размеры блоков когерентного рассеивания – на 15 и 90 сутки (сила влияния фактора – 60,80%, 59,60%), а на коэффициент микротекстурирования было зарегистрировано наиболее продолжительное влияние – с 15 по 180 сутки. Сила влияния действующего фактора, при этом, составила 81,60%, 85,40%, 87,10%, 90,70% соответственно.

Условия введения тимогена крысам старческого возраста также оказывали достоверное влияние на параметры, характеризующие ультраструктуру биоминерала дентина резца, но в более поздние сроки эксперимента. На размеры блоков когерентного рассеивания введение тимогена достоверно влияло на 180 сутки (сила влияния фактора – 70,70%), а на коэффициент микротекстурирования – с 90 по 180 сутки (сила

влияния фактора – 78,60%, 86,80% соответственно).

Выявленные закономерности свидетельствуют о том, что введение тимогена оказывает достоверное влияние лишь на процессы кристаллизации биоминерала дентина резца нижней челюсти у крыс старческого возраста.

**Заключение.** Таким образом, условия тимэктомии сопровождаются дисбалансом ультраструктуры биоминералов, как костного вещества, так и дентина резца нижней челюсти. Применение тимогена сопровождалось оптимизацией ультраструктуры биоминералов нижней челюсти. Сила влияния условий эксперимента нарастала по мере увеличения срока эксперимента и зависела от возраста подопытных животных и вида воздействия.

**Перспективы дальнейших исследований.** Для выяснения механизмов дестабилизации либо оптимизации ультраструктуры биоминералов нижней челюсти, в дальнейшем будет проведено исследование их химического состава.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Азаров А.В. Метод порошка в рентгенографии / А.В.Азаров, М.Й.Бургер - М.: Изд.-во иностранной литературы, 1961. - 363 с.
2. Декларацийний патент на винахід 64156 А Україна, А61В17/00. Пінцет для тимэктомії у дрібних лабораторних тварин. Декларацийний патент на винахід 64156 А Україна, А61В17/00 / Ковешников В.Г., Кащенко С.А., Болгова Е.С., Овчаренко В.В.; Заявл. 18.02.03; Опубл. 16.02.04.; Бюл. № 2.
3. Димитриев Д.А. Современные методы изучения влияния загрязнения окружающей среды на иммунную систему / Д.А. Димитриев, Е.Г. Румянцева // Гигиена и санитария. – 2002. – № 1. – С. 68-71.
4. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология / Г.Н. Дранник. - [4-е изд.]. – Киев: Полиграф Плюс, 2010. – 552 с.
5. Кащенко С.А. Особенности остеогенеза при действии иммуностимуляторов / С.А. Кащенко // Проблемы остеологии. - 2002. - Т. 5, №1. - С. 59-61.
6. Киреева И.С. Особенности влияния загрязнения окружающей среды на здоровье населения промышленных городов Донецкого региона / И.С. Киреева, И.Г. Чудова, В.П. Ермоленко // Довкілля та здоров'я. – 1997. – №3. – С. 33–35.
7. Кресюн В.И. Клинические аспекты иммунофармакологии / В.И. Кресюн, Ю.И. Бажора, С.С. Рыбалова. - Одесса, 1993. – С. 163–165.
8. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – Киев: Морион, 2000. – 320 с.
9. Миркин А.И. Рентгеноструктурный анализ. Индексирование рентгенограмм: справочное руководство / Миркин А.И. – М.: Наука, 1981. – 496 с.
10. Михеев В.И. Рентгенометрический определитель минералов / Михеев В.И. – М.: Госгеолтехиздат., 1957. – 868 с.
11. Подрушник Е.П. Ультраструктура минерального компонента и прочность костной ткани позвонков у людей различного возраста / Е.П.Подрушник, А.И. Новохацкий // Ортопед. травматол. - 1983. - №8. - С.15-18.
12. Порушення імунного статусу організму людини за дії хімічних чинників та методи їх визначення / І.М. Трахтенберг, Н.М. Дмитруха, О.С. Моложава, Ю.М. Миронюк // Інфекційні хвороби. – 2008. – № 4. – С. 82-89.
13. Фролов В.М. Клінічна імунологія синдрому підвищеної стомленості у мешканців регіону Донбасу: показними клітинної ланки імунітету / В.М. Фролов, Г.М. Драннік // Український медичний альманах. – 2003. - №3. – С. 169–172.
14. Юнкеров В.И. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований / В.И. Юнкеров, С.Г. Григорьев. – [2-е изд., доп.]. – СПб.: ВМедА, 2005. – 292 с.
15. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. - Strasbourg, 1986. - 52 p.

*Надійшла 08.09.2012 р.  
Рецензент: проф. А.Д.Савенко*