

## ГИСТОМОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ МЫЩЕЛКОВОГО ХРЯЩА И РЕЗЦА НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ БЕЛЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ

Антипов Н.В.

*Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького*

**Антипов Н.В.** Гистоморфометрические параметры мышцелкового хряща и резца нижней челюсти белых крыс в условиях применения глюкокортикоидов // Украинський морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 4. – С. 122-124.

В эксперименте на 350 белых половозрелых белых крысах изучены особенности изменений гистоморфометрических показателей мышцелкового хряща и резца нижней челюсти в условиях 90-дневного применения гидрокортизона ацетата и дексаметазона гемисукцината. Установлено, что их ежедневное введение сопровождается угнетением функциональной активности мышцелкового хряща, дентиногенеза в резце и его роста, более выраженное по интенсивности при применении дексаметазона гемисукцината.

**Ключевые слова:** гидрокортизона ацетат, дексаметазона гемисукцинат нижняя челюсть, резец, мышцелковый хрящ.

**Антипов М.В.** Гістоморфометричні параметри виросткового хряща та різця нижньої щелепи білих щурів в умовах застосування глюкокортикоїдів // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 4. – С. 122-124.

В експерименті на 350 білих статевозрілих білих щурах вивчені особливості змін гистоморфометричних показників виросткового хряща та різця нижньої щелепи в умовах 90-денного застосування гідрокортизону ацетату та дексаметазону гемісукцинату. Встановлено, що їх щодобове введення супроводжується пригніченням функціональної активності виросткового хряща, дентиногенезу в різці та його росту, більш виражене за інтенсивністю при застосуванні дексаметазону гемісукцинату.

**Ключові слова:** гідрокортизона ацетат, дексаметазона гемісукцинат, нижня щелепа, різець, виростковий хрящ.

**Antipov N.V.** Histomorphometric parameters of mandible condylar cartilage and incisor of white rats under effect of glucocorticoids // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 4. – С. 122-124.

The features changes of histomorphometric parameters of condylar cartilage and incisor in a 90-day application of hydrocortisone acetate and dexamethasone hemisuccinate were studied in the experiment on 350 adult white rats. It was found that their daily intake is accompanied by inhibition of the functional activity of the condylar cartilage and dentinogenesis in the incisor and its growth, a stronger intensity in the application of dexamethasone hemisuccinate.

**Key words:** hydrocortisone acetate, dexamethasone hemisuccinate, mandible, incisor, condylar cartilage.

**Актуальность.** В настоящее время глюкокортикоиды являются одними из самых эффективных и широко применяемых в медицине противовоспалительных препаратов [2]. Основными показаниями для длительного системного применения глюкокортикоидов являются иммуновоспалительные и аллергические заболевания [9]. Несмотря на высокую клиническую эффективность их применение сопровождается и развитием побочных реакций, среди которых первое место занимает остеопороз [8]. При этом глюкокортикоидиндуцированный остеопороз как самая частая форма вторичного остеопороза и по распространенности занимает второе место среди всех форм остеопороза, уступая только постменопаузальному и сенильному [7].

Нижняя челюсть является единственной подвижной костью черепа, имеет ряд особенностей, связанных с происхождением, макро- и микроскопическим строением и находится в уникальных биомеханических условиях [6]. Продольный рост данного органа обеспечивается за счет функциональной активности мышцелкового хряща, расположенного на верхушке

мышцелкового отростка. Он является вторичным по происхождению, обладает аппозиционным способом роста и полностью не подвергается энхондральному окостенению [13].

Резец грызунов является уникальным объектом медико-биологических исследований, поскольку активно реагирует на воздействие разнообразных факторов внешней и внутренней среды организма [11]. Его постоянное прорезывание в процессе онтогенеза обеспечивается за счет процессов пролиферации и дифференцировки одонтобластов периферического отдела пульпы, что обеспечивает постоянное образование преддентина и зрелого дентина [11].

Имеется значительное количество исследований, посвященных исследованию гистоморфометрических параметров трубчатых, плоских и губчатых костей в условиях длительного применения глюкокортикоидов [12]. Однако гистоморфометрические исследования мышцелкового хряща и резца нижней челюсти в аналогичных условиях до сих пор практически не исследованы.

Исходя из этого **целью исследования** явилось выявить особенности изменений гисто-

морфометрических параметров мышечного хряща и резца нижней челюсти крыс половозрелого возраста в условиях 90-дневного применения гидрокортизона ацетата и дексаметазона гемисукцината.

**Материалы и методы.** Исследование было проведено на 350 белых беспородных половозрелых крысах-самцах. Животные были распределены на 3 группы. 1-ю группу составили интактные крысы, 2-ю группу – крысы, которые ежедневно получали 21 мг/кг гидрокортизона ацетата внутримышечно, 3-ю группу – крысы, которым ежедневно вводили дексаметазон в дозировке 1,07 мг/кг массы тела внутримышечно.

Гидрокортизона ацетат применяли в виде стандартной ампулированной 2,5% суспензии (серия №1720403 производства ВАТ «Фармак», г. Киев, регистрационный номер №UA/3288/01/01). Дексаметазона гемисукцинат применяли в виде ампулированного 0,4% раствора производства KRKA: VO2323 D, Словения.

Расчёт дозировки вводимых препаратов производили с учётом рекомендаций Ю.Р. и Р.С. Рыболовлевых [4]. В ходе исследования крысы содержались в стандартных условиях вивария в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей (Страсбург, 1986 г.) [9]. Сроки наблюдения составили 7, 15, 30 и 90 дней. По истечении сроков эксперимента животных декапитировали под эфирным масочным наркозом. Для гистологического исследования производили распил выделенной нижней челюсти во фронтальной плоскости на уровне третьего моляра и на уровне основания мышечного отростка. Выделенные кусочки органа фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, декальцинировали 5% раствором муравьиной кислоты, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в парафин. Готовили гистологические срезы толщиной 8–10 мкм, которые окрашивали гематоксилин–эозином [5].

Гистоморфометрическое исследование объектов осуществляли путем загрузки полученных цифровых изображений в лицензионную компьютерную программу «Morpholog» [1]. На микропрепаратах зубочелюстного сегмента измеряли расстояние между двумя цементно-эмалевыми соединениями резца, ширину слоя одонтобластов, преддентина и зрелого дентина, а также его общую ширину (арифметическая сумма ширины слоя преддентина и зрелого дентина) [14]. На микропрепаратах мышечного хряща измеряли его общую ширину, а также ширину зоны покоя, пролиферации клеток, гипертрофических хондроцитов, эрозивной, зоны субхондрального остеогенеза в центральной и двух периферических частях среза хряща, после чего вычисляли среднее арифметическое значение параметров. В зоне субхондрального остеогенеза определяли долю первичной спонгиозы и количество остеобластов на единицу площади.

неза определяли долю первичной спонгиозы и количество остеобластов на единицу площади.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью статистического пакета программ «STATISTICA 5.11» [3]. Достоверность статистически значимых различий между параметрами экспериментальных и контрольных групп определяли с помощью критерия Стьюдента ( $p < 0,05$ ).

**Результаты исследования.** Введение гидрокортизона ацетата половозрелым крысам не сопровождалось достоверными изменениями общей ширины мышечного хряща нижней челюсти, однако зональное его строение изменялось более значительно.

Ширина зон покоя и пролиферации была меньше, чем у интактных животных с 15 по 90 сутки эксперимента соответственно на 4,98%, 5,07% и 5,10%, и на 4,99%, 4,73% и 6,50%. Ширина зоны субхондрального остеогенеза была меньше контрольной к 30 и 90 суткам эксперимента на 5,80% и 4,28%, а к 90 суткам на 3,44% уменьшалась и доля первичной спонгиозы в ней. Наряду с этим к 30 суткам эксперимента ширина зоны гипертрофических хондроцитов была больше контрольной на 3,76%, а к 90 суткам – ширина эрозивной зоны – на 4,12%.

На поперечном срезе резца на уровне 3-го моляра ширина слоя одонтобластов была меньше контрольных показателей к 15 и 90 суткам эксперимента на 4,82% и 10,00%, а ширина преддентина – к 30 и 90 суткам на 5,54% и 20,35%. При этом общая ширина дентина и ширина слоя зрелого дентина уменьшались лишь к 90 суткам – соответственно на 5,01% и 8,14%.

Угнетение дентиногенеза сопровождалось и торможением ростовых процессов резца: расстояние между двумя цементно-эмалевыми соединениями резца было меньше контрольных значений к 30 и 90 суткам эксперимента на 4,31% и 3,99%.

Введение половозрелым крысам внутримышечно дексаметазона в дозировке 1,07 мг/кг массы тела ежедневно так же, как и во 2-й группе, не сопровождалось изменениями общей ширины мышечного хряща нижней челюсти, однако соотношение ширины его зон при этом изменялось.

В первую очередь, было выявлено уменьшение ширины зоны субхондрального остеогенеза во все установленные сроки эксперимента: ее ширина была меньше значений интактных крыс соответственно на 5,40%, 4,24%, 8,41% и 7,23%. Вместе с этим доля первичной спонгиозы в зоне субхондрального остеогенеза была меньше в период с 15 по 90 сутки эксперимента соответственно на 4,53%, 4,98% и 4,47%, а удельное количество остеобластов в ней – на 15 и 90 сутки на 3,48% и 5,16%. Также, с 15 по 90 сутки эксперимента, ширина зон покоя и пролиферации были меньше значений у интактных животных соответственно на 4,89%, 7,23% и 6,12%, и на 6,01%, 6,85% и 7,19%.

Наряду с этими изменениями, ширина зоны гипертрофического хряща была больше контрольных значений во все установленные сроки эксперимента соответственно на 3,74%, 5,63%, 5,57% и 3,36%, а ширина эрозивной зоны на 7 и 90 сутки на 4,01% и 5,02%.

Гистоморфометрическое исследование поперечного среза резца на уровне третьего моляра показало, что ширина слоя одонтобластов была меньше, чем у интактных животных, в период с 15 по 90 сутки эксперимента соответственно на 4,12%, 3,34% и 10,57%, а ширина прединтина – на 30 и 90 сутки на 8,10% и 23,03%. В результате ширина слоя зрелого дентина была к 90 суткам меньше аналогичных значений 1-й группы на 6,51%.

Наряду с угнетением дентиногенеза к 90 суткам и расхождение между двумя цементами эмалевыми соединениями резца была меньше значений 1-й группы на 5,25%.

#### **Выводы:**

1. Внутримышечное введение гидрокортизона ацетата в дозировке 21 мг/кг либо дексаметазона в дозировке 1,07 мг/кг ежедневно сопровождалось угнетением функциональной активности мышечковых хрящей и дентиногенеза в резце, что могло быть обусловлено тем, что повышенный уровень экзогенных глюкокортикоидов сопровождался угнетением пролиферации, дифференцировки хондроцитов и остеобластов, стимуляцией активности остеокластов, а также индуцированием апоптоза бластных форм клеток. В результате нарушались зональные соотношения, а, следовательно, и функциональная активность как мышечкового хряща, так и одонтобластов резца.

2. При введении дексаметазона выявленные изменения регистрировались раньше (с 15 суток эксперимента), а при введении гидрокортизона – несколько позже (с 30 суток эксперимента). Выявленные отклонения прогрессировали с увеличением сроков эксперимента и в большей степени были выявлены при применении дексаметазона.

#### **Перспективы дальнейших исследований.**

Планируется провести оценку силы влияния введения гидрокортизона ацетата и дексаметазона гемисукцината гистоморфометрические параметры мышечкового хряща и резца нижней челюсти половозрелых крыс при помощи метода однофакторного дисперсионного анализа.

#### **ЛИТЕРАТУРА:**

1. Овчаренко В. В., Маврич В. В. Компьютерная программа для морфометрических исследований «Morpholog» / Свидетство про регистрацию авторского права на твор № 9604, дата регистрации 19.03.2004.
2. Поворознюк В.В. Глюкокортикоид-индуцированный остеопороз / В.В. Поворознюк, И.Ю. Головач // Проблемы остеологии. – 2000. – Т. 3, № 1. – С. 26–36.
3. Реброва О. Ю. Статистический анализ ме-

дицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / Реброва О. Ю. – М.: «Медиа Сфера», 2002. – 312 с.

4. Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. – 1979. – Т. 247, № 6, – С. 1513–1516.
5. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника: Руководство для врачей и лаборантов / Саркисов Д. С., Перов Ю. Л. – М.: «Медицина», 1996. – 544 с.
6. Сперанский В. С. Основы медицинской краниологии / Сперанский В.С. – М.: «Медицина», 1988. – 288 с.
7. Benvenuti S. Corticosteroid-induced osteoporosis: pathogenesis and prevention / S. Benvenuti, M.L. Brandi // Clin Exp Rheumatol. – 2000. – № 4. – P. 64–66.
8. Bianchi M.L. Glucorticoids and bone: some general remarks and some special observations in pediatric patients / M.L. Bianchi // Calcif. Tissue Int. – 2002. – V. 70. – P. 384–390.
9. 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.
10. Glucocorticoids, thyroid hormone interactions: implications for the growth plate / T. Siebler, H. Robson, S. Shalet, G. Williams // Horm. Res. – 2001. – V. 56 (Suppl.1). – P.7–12.
11. Kuijpers M. H. Review article. The rat incisor in toxicologic pathology / M. H. Kuijpers, A. J. van de Kooij, P. J. Slootweg // Toxicol. Pathol. – 1996. – V. 24, № 3. – P. 346–360.
12. Once-weekly oral alendronate 70 mg in patients with glucocorticoid-induced bone loss: a 12-month randomized, placebocontrolled clinical trial / S.A. Stoch, K.G. Saag, M. Greenwald, [et al.] // J. Rheumatol. – 2009. – V. 36. – P. 1705–1714.
13. Shen G. The adaptive remodeling of condylar cartilage, a transition from chondrogenesis to osteogenesis / G. Shen, M. A. Darendeliler // J. Dent. Res. – 2005. – V. 84, № 8. – P. 691–699.
14. Weinreb M. A computerized histomorphometric study of the effects of intoxication with Vitamin D<sub>3</sub> or 1,25 (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> on growth and dentin production of impeded and unimpeded rat incisors / M. Weinreb Jr, M. Weinreb // Virchows Arch. – 1986. – V. 409. – P. 507–521.

Надійшла 20.09.2012 р.

Рецензент: проф. А.А.Савенко