

*Н. И. Хрипаченко*

## **ВЛИЯНИЕ БЛОКАДЫ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ И АДРЕНорецепТОРОВ НА РОСТ ВЕРХНЕЙ ЧЕЛЮСТИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА ТВЕРДОГО НЕБА У КРЫС**

**Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького (г. Донецк)**

Данная работа является фрагментом НИР кафедры стоматологии детского возраста ФИПО «Комплексный подход к прогнозированию стоматологического здоровья у детей и подростков различных групп здоровья», № государственной регистрации 0106U010873, шифр УН 10.07.05.

**Вступление.** У больных с расщелинами неба, после первичного хирургического лечения, нарушается рост верхней челюсти. Среди факторов, влияющих на развитие этих нарушений, помимо самого дефекта, присущего пороку, и функциональных деформаций, которые вовлечены в процесс изначально, основным, является заживление послеоперационной раны неба [5, 7]. Убедительным подтверждением участия в этом процессе ятрогенных факторов является, по большому счету «нетронутый» рост верхней челюсти у больных, не получавших лечение [1, 8]. Результатом раневого процесса в области твердого неба является формирование рубца, от качественных характеристик которого, вероятнее всего, зависит степень нарушения роста верхней челюсти [4].

Логично предположить, что заживление раны и как следствие качество формирования рубца зависит от состояния (тонуса и реактивности) автономной нервной системы, влияния которой опосредуются через адрено- и холинорецепторы [2]. Учитывая множество неконтролируемых, вмешивающихся факторов в реальной клинической практике, гипотеза о влиянии тонуса и реактивности автономной нервной системы на рост и развитие верхней челюсти после уранопластики может быть проверена в условиях экспериментального послеоперационного рубцевания твердого неба.

**Цель исследования.** Определить влияние блокады ацетилхолиновых и адренорецепторов на рост верхней челюсти крыс в условиях экспериментальной модели раневого процесса твердого неба.

**Объект и методы исследования.** Исследования проведены в соответствии с «Порядком проведения научными учреждениями опытов, экспериментов на животных», утвержденным приказом министерством образования и науки, молодежи и спорта Украины №249 от 01.03.2012.

Эксперименты выполнены на 30 лабораторных крысах – самцах линии Wistar массой тела от 42 до 54 грамм, в возрасте 21 дня, после прорезывания моляров. Этот возраст соответствует периоду отлучения крысят от грудного вскармливания и переходу на самостоятельное кормление [6].

В качестве экспериментальной модели раневого процесса после уранопластики использовали слизисто-периостальное оголение небной кости по Kim [3], в условиях стандартной тиопенталовой анестезии (40 мг/кг массы тела, внутривенно).

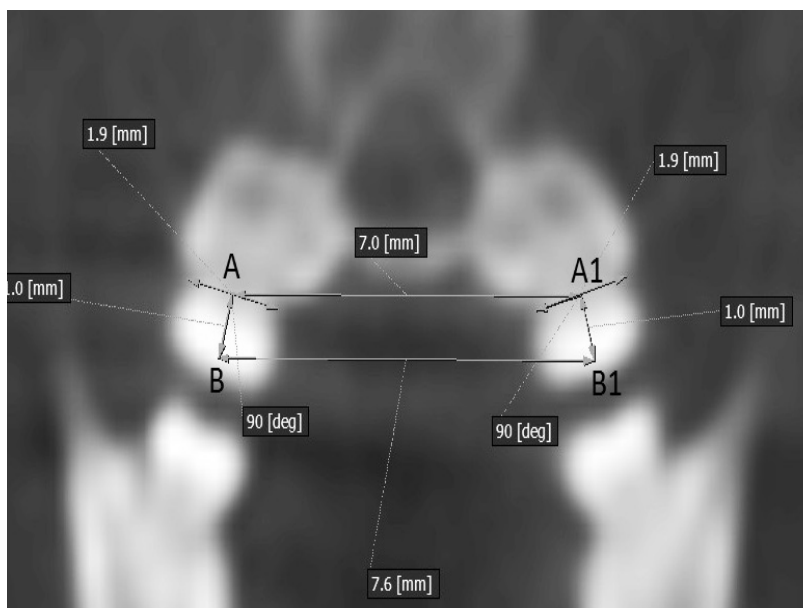
В послеоперационном периоде животным первой группы (10 крыс) с целью неселективной блокады ацетилхолиновых рецепторов подкожно вводили атропин в дозе 0,05 мг/кг массы тела животного. Животным второй группы (10 крыс) производили неселективную блокаду адренорецепторов при помощи подкожного введения лабеталола в дозе 10 мг/кг массы тела животного. Длительность фармакологической блокады составила 56 дней, после чего производили конусно-лучевую томографию и определяли размеры верхней челюсти по разработанной нами методике. Третья группа (10 крыс) с естественным тонусом и реактивностью автономной нервной системы служила контролем.

Конусно-лучевую томографию проводили на компьютерном томографе PointNix (модель Point 3D Combi 500) с размерами датчика 12,0\*8,5 см. Перед началом исследования экспериментальное животное вводили в наркоз путем внутривенной инъекции тиопентала натрия из расчета 40 мг/кг массы тела животного. После обездвиживания животное вдоль вертикальной линии (метка на препарационном столике) помещали в поле компьютерного томографа. Препарационный столик позиционировали таким образом, чтобы вертикальная линия, отмеченная на нем, совпадала с центральным инфракрасным лучом конусно-лучевого компьютерного томографа. Собственно облучение проводили при следующих параметрах рентгеновской трубки: сила тока – 5 мА, напряжение тока – 80 кВ.

Для обработки данных использовали пакет – PointNix RealScan 2. 0-CDViewer – 3D. Ротационные оси (X;Y;Z) по отношению к голове животного



**Рис. 1.** Пример позиционирования ротационных осей в коронарном, сагитальном и аксиальном окнах программного пакета PointNix RealScan 2.0-CDViewer – 3D.



**Рис. 2.** Схема идентификации точек для определения размеров на томограмме верхней челюсти крысы (максимальное увеличение в коронарном окне).

располагали специальным образом. А именно, ось X в коронарном окне позиционировалась параллельно твердому небу на уровне середины коронок вторых моляров, а в аксиальном окне ось X пересекала коронки вторых моляров посередине; ось Y в коронарном окне позиционировалась посередине структур крысиного черепа; ось Z в сагитальном окне позиционировалась параллельно твердому небу, а в аксиальном окне посередине структур черепа (ориентирами служили резцы и середина твердого неба). В конечном результате ротационные оси

позиционировались во взаимно перпендикулярных плоскостях на уровне вторых моляров так как это показано на **рисунке 1**.

Размеры верхней челюсти у экспериментальных животных оценивали путем измерения ширины твердого неба, ширины зубной дуги верхней челюсти и расчета степени наклона зубов. Схема измерений представлена на **рисунке 2**. Определяли точки A и A1 как центры линий соединяющих щечное и язычное дентиноэмалевое соединение второго моляра соответственно с правой и левой стороны верхней челюсти.

По величине расстояния между точками A и A1 судили о ширине твердого неба. Затем перпендикулярно линии соединяющей дентино-эмалевые соединения отступая на 1.0 мм от её центра соответственно с правой и левой стороны верхней челюсти находили точки B и B1, которые соответствовали середине окклюзионной поверхности зубов. По величине расстояния между точками B и B1 судили о ширине зубной дуги верхней челюсти. Степень наклона зубов определяли, как разницу величин расстояний между точками A-A1 и B-B1.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Распределение животных по ширине твердого неба, расстояние AA1 на схеме (**рис. 2**) в группе с блокадой ацетилхолиновых рецепторов отличалось от такого в контрольной группе – средние значения составили  $5,52 \pm 0,24$  мм, а в контроле соответственно  $6,84 \pm 0,25$  мм, различия по критерию Колмогорова-Смирнова значимы при  $p=0,001$ . Ранговая сумма ширины твердого неба у животных этой группы составила 55 тогда как в контроле почти в 3 раза больше.

Различия по критерию Манна-Уитни статистически значимы при  $p=0,0001$ .

Распределение по значению ширины твердого неба (AA1) во второй группе животных, формирования рубца в которой происходило в условиях блокады адренорецепторов, также как и в первой группе отличалось от контроля (**рис. 3**). Средние значения этого показателя составили  $6,01 \pm 0,4$  а в контроле  $6,84 \pm 0,25$  различия статистически значимо ( $p=0,001$ ). Ранговая сумма ширины твердого неба во второй группе составила 58,5 а в контроле в 2,59

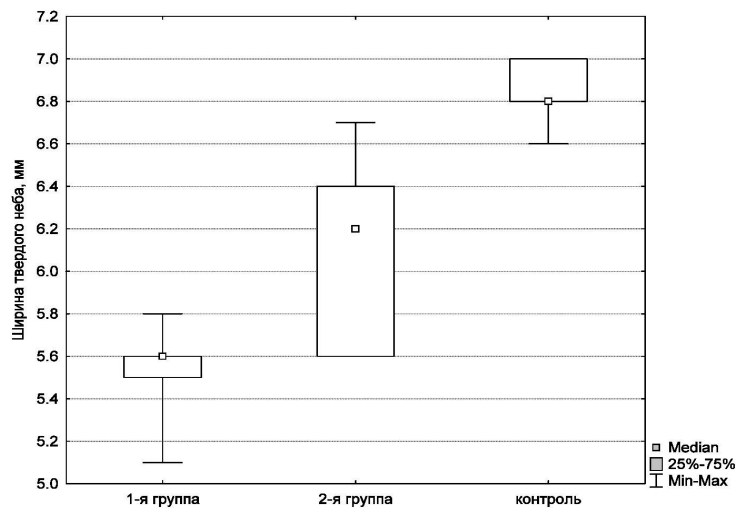


Рис. 3. Диаграмма размаха значений ширины твердого неба крыс.

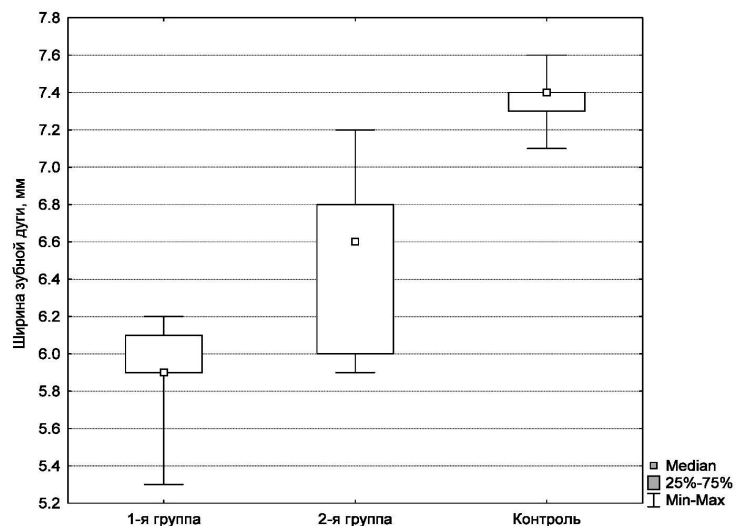


Рис. 4. Диаграмма размаха значений ширины зубной дуги крыс.

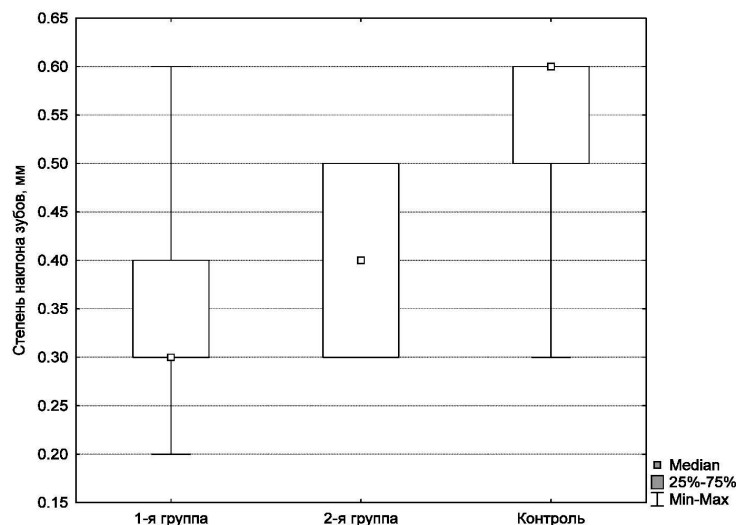


Рис. 5. Диаграмма размаха значений степени наклона зубов крыс.

раз больше. Различия по критерию Манна-Уитни статистически значимы при  $p=0,0004$ .

Распределение животных в группе с блокадой ацетилхолиновых рецепторов по ширине зубной дуги, расстояние ВВ1 на схеме (рис. 2) также отличалось от контроля. Средние значения по группе этого показателя составили  $5,85 \pm 0,27$  мм, а в контроле  $7,35 \pm 0,18$  мм. Эти различия также значимы по критерию Колмогорова-Смирнова при  $p=0,01$ . Ранговая сумма ширины зубной дуги в этой группе, также как и ширина твердого неба была меньше контроля также почти в 3 раза ( $p=0,0001$ ).

Средние значения ширины зубной дуги (ВВ1) во второй группе животных составили  $6,4 \pm 0,43$  мм, а в контроле  $7,35 \pm 0,18$  мм, распределения отличались от контроля (рис. 4) Различия по критерию Колмогорова-Смирнова статистически значимы ( $p=0,001$ ). Ранговая сумма ширины зубной дуги у этой группы животных составила 57,5, что в 2,65 раз меньше чем в контроле. Различия по критерию Манна-Уитни статистически значимы при  $p=0,0003$ .

Распределение животных в группе с блокадой ацетилхолиновых рецепторов по величине наклона зубов также отличалось от контроля (рис. 5) средние значения составили  $0,36 \pm 0,12$  а в контроле почти в два раза больше –  $0,52 \pm 0,12$  мм, различия по критерию Колмогорова-Смирнова значимы при  $p=0,025$ . Ранговая сумма степени наклона зубов у этой группы почти в два раза меньше такой в контроле – 76 и 134 соответственно, различия по критерию Манна-Уитни значимы при  $p=0,02$ .

Распределение по степени наклона зубов во второй группе животных отличалось от контроля. Средние значения составили  $0,39 \pm 0,07$  в контроле –  $0,52 \pm 0,12$  мм при этом отличий по критерию Колмогорова-Смирнова не выявлено ( $p < 0,1$ ). Ранговая сумма степени наклона зубов у этой группы составила 76, что в 1,76 раза меньше чем в контроле ( $p=0,03$ ).

Распределение показателей, характеризующих рост верхней челюсти, экспериментальных группах животных не отличаются.

Сравнение экспериментальных групп показало наличие достоверных отличий в показателях ширины твердого неба и ширины зубной дуги разница ранговой суммы этих показателей в

сравниваемых группах составила 100%. Различия по критерию Манна-Уитни статистически значимы ( $p < 0,05$ ). В отличие от этих показателей степень наклона зубов в сравниваемых группах не отличалась.

Таким образом, исходя из полученных данных у животных первой группы, характеризующихся угнетением парасимпатических влияний на течение раневого процесса (блокада ацетилхолиновых рецепторов) рост верхней челюсти крыс отстает от такового в контрольной группе. Устранение путем блокады адренорецепторов симпатических влияний на раневой процесс у животных второй группы также приводит к нарушению роста верхней челюсти, однако выраженность отставания в росте верхней челюсти у животных этой группы существенно меньше. Полученные данные подтверждают нашу гипотезу о влиянии отклонений в тоне и реактивности автономной нервной системы на рост и развитие верхней челюсти.

Влияние тонуса и реактивности нейрогуморальной регуляции на течение раневого процесса известно давно [2], однако данные относительно перераспределения регуляторных влияний в сторону симпатотонии или парасимпатотонии противоречивы. Обнаруженные нами отличия в выделенных группах животных, возможно, связаны с особенностями высвобождения местных гуморальных факторов, регулирующих фазы раневого процесса, таких как про- и противовоспалительные цитокины,

трансформирующий фактор роста, фактор роста фибробластов и других, которые так популярны не только в зарубежных, но и в исследованиях отечественных авторов. Очевидно, что такие особенности будут способствовать различиям в морфологической структуре формирующейся рубцовой ткани, и, таким образом, способствовать нарушению роста и развития верхней челюсти.

**Выводы.** Блокада как ацетилхолиновых так и адренорецепторов в условиях экспериментального раневого процесса в твердом небе, моделирующего формирование рубца после уранопластики приводит к угнетению роста верхней челюсти, причем у животных с блокадой ацетилхолиновых рецепторов это влияние выражено больше, чем у животных с блокадой адренорецепторов.

**Перспективы дальнейших исследований.** Полученные в настоящем исследовании данные указывают на необходимость исследования гистологических особенностей формирования рубцовой ткани, в условиях отражающих различный тонус и регуляторные влияния автономной нервной системы. Кроме того дальнейшей перспективой исследования может быть определение связи между тонусом и реактивностью автономной нервной системы у детей с расщелинами и результатами оценки хирургического лечения, в частности характеристик роста верхней челюсти.

## Литература

1. Derijcke A. Dental arch dimensions in unoperated adult cleft-palate patients: an analysis of 37 cases / A. Derijcke, Anne M. Kuijpers-Jagtman, C. Lekkas, [et al.] // J. Craniofac. Genet. Dev. Biol. – 1994. – Vol. 4, № 1. – P. 69-74.
2. Hanna Kasandra R. An update on wound healing and the nervous system / Kasandra R. Hanna, Adam J. Katz // Ann. Plast. Surg. – 2011. – Vol. 67, № 1. – P. 49–52.
3. Kim T. Constriction of the maxillary dental arch by mucoperiosteal denudation of the palate / T. Kim, H. Ishikawa, S. Chu [et al.] // Cleft Palate Craniofacial J. – 2002. – Vol. 39, № 4. – P. 425–431.
4. Kuijpers-Jagtman Anne M. State of the art: The influence of surgery and orthopedic treatment on maxillofacial growth and maxillary arch dimensions in patients treated for orofacial clefts / Anne M. Kuijpers-Jagtman, Ross E. Long // Cleft Palate-Craniofac J. – 2000. – Vol. 37, № 6. – P. 527/1–527/12.
5. Ross R. B. Treatment variables affecting facial growth in complete unilateral cleft lip and palate / R. B. Ross // Cleft Palate J. – 1987. – Vol. 24, № 1. – P. 5–77.
6. Wishaw Ian Q. The behavior of the laboratory rat / Ian Q. Wishaw, B. Kolb. – New York : Oxford University Press, 2005. – 504 p.
7. Yang Y. Alteration of maxillary and mandibular growth of adult patients with unoperated isolated cleft palate / Y. Yang, Y. Wu, Y. Gu [et al.] // J. Craniofac. Surg. – 2013. – Vol. 24, № 4. – P. 1078–1082.
8. Ye B. A comparative study on dental-arch morphology in adult unoperated and operated cleft palate patients / B. Ye, C. Ruan, J. Hu [et al.] // J. Craniofac. Surg. – 2010. – Vol. 21, № 3. – P. 811–815.

УДК 591.471.434-001:599.323.45]:612.181.6-028.77

### ВПЛИВ БЛОКАДИ АЦЕТИЛХОЛІНОВИХ ТА АДРЕНОРЕЦЕПТОРІВ НА ЗРІСТ ВЕРХНЬОЇ ЩЕЛЕПИ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МОДЕЛІ РАНОВОГО ПРОЦЕСУ ТВЕРДОГО ПІДНЕБІННЯ У ЩУРІВ.

Хрипаченко М. І.

**Резюме.** У цій роботі досліджували вплив блокади ацетилхолінових та адренорецепторів на зріст верхньої щелепи щурів в умовах експериментальної моделі ранового процесу твердого піднебіння. Отримані дані дозволяють дійти висновку, що рановий процес впливає на розвиток верхньої щелепи, причому у тварин з блокадою ацетилхолінових рецепторів цей вплив виражений більше, ніж у тварин з блокадою адренорецепторів.

**Ключові слова:** незрощення піднебіння, розвиток верхньої щелепи.



---

---

УДК 591.471.434-001:599.323.45]:612.181.6-028.77

**ВЛИЯНИЕ БЛОКАДЫ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ И АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ НА РОСТ ВЕРХНЕЙ ЧЕЛЮСТИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА ТВЕРДОГО НЕБА У КРЫС.**

**Хрипаченко Н. И.**

**Резюме.** В настоящей работе исследовали влияние блокады ацетилхолиновых и адренорецепторов на рост и развитие верхней челюсти крыс в условиях экспериментальной модели раневого процесса твердого неба. Полученные данные позволяют заключить, что раневой процесс влияет на рост верхней челюсти, причем у животных с блокадой ацетилхолиновых рецепторов это влияние выражено больше, чем у животных с блокадой адренорецепторов.

**Ключевые слова:** расщелина неба, рост верхней челюсти.

UDC 591.471.434-001:599.323.45]:612.181.6-028.77

**Effect of Acetylcholinic and Adrenal Blockade on the Maxillary Growth during Experimental Wound Process in Rats' Hard Palate**

**Khripachenko M.**

**Abstract.** After initial surgical treatment of children cleft palate, there are disturbances of the maxilla growth and development. Among factors that affect to this disturbances progress, apart from defect itself, which inherent in disease, and functional deformation, which involved in process initially, the main is postsurgical wound healing process in hard palate. Solid evidence of iatrogenic factors participation in this process is, at the end of the day, "untouched" growth of maxilla in patients who are not achieved treatment. The result of wound healing in hard palate is scar tissue formation and qualitative characteristics of this one most probably defined level of maxillary growth disturbances. Wound healing and as a results quality of scar formation depend upon state (tonus and reactivity) of autonomic nervous systems, which influences realized through adrenal and cholinergic receptors.

We perform our study to test hypothesis about autonomic nervous system tonus and reactivity influences on the maxillary growth and development in the condition of experimental hard palate postsurgical scar formation. With approval of Donetsk national medical university ethical commission according to international regulation and recommendation for working with laboratory animals, we perform the experiments using 30 Wistar line laboratory white rats in three groups up to 10 animals in each group. For all animals in the age of 21 days, under standard general anesthesia (thiopental 40 mg/kg, i. p.) we simulate postsurgical wound of hard palate by mucous and periosteal denudation of palate bone. In postoperative period for first group animals, we inject atropine in the dose of 0.05 mg/kg body weight subcutaneously, with the goal of nonselective blockade of acetylcholine receptors. For the second group of animals we perform blockade of adrenergic receptors by using subcutaneous injection of labetalol in the dose of 10 mg/kg of animal body weight. Duration of pharmacological blockade was 56 days, after this period we perform Cone Beam Computed Tomography and determine sizes of maxilla according to work out methods. The third group with natural tonus and reactivity of autonomic nervous system serves as control group.

It was established, that after completion of maxillary growth in animal of control group the width of palate was (Me(min-max)) 6.83 (5.9 – 7.0) mm, width of dental arc was 7.36 (6.4 – 7.6) mm, and degree of dental slope was 0.52 (0.3 – 0.6) mm, accordingly. In the condition of acetylcholine receptors blockade (first group) width of palate was (Me (min-max)) 5.82 (5.6-6.6) mm, width of dental arc was 6.23 (5.9-7.1) mm, and degree of dental slope was 0.42 (0.3-0.6) mm, accordingly. In the condition of adrenergic receptors blockade (second group) width of palate was (Me (min-max)) 5.7 (5.4-6.3) mm, width of dental arc was 6.2 (5.8-6.6) mm, and degree of dental slope was 0.40 (0.3-0.5) mm, accordingly. Revealed differences versus control according to Mann-Whitney test statistically significant ( $p < 0.05$ ).

Findings of our study allow us to conclude that wound process, which we design in experimental conditions definitely influence on the maxillary growth, and in animals with acetylcholine receptors blockade this influence express more than in animals with adrenergic receptors blockade.

**Key words:** cleft palate, maxillary development.

*Рецензент – проф. Ткаченко П. І.*

*Стаття надійшла 14. 02. 2014 р.*