

УДК 591.471:[615.35+615.27]
© Андреева О.В., 2011

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ БЕЛЫХ КРЫС РАЗЛИЧНОГО ВОЗРАСТА ПРИ ВВЕДЕНИИ ИМ ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ И БИСФОСФОНАТА «ЗОМЕТА»

Андреева О.В.

ГУ «Ауганский государственный медицинский университет»

Андреева О.В. Химический состав нижней челюсти белых крыс различного возраста при введении им глюкокортикоидов и бисфосфоната «Зомета» // Украинський морфологічний альманах. – 2011. – Том 14, №2. – С. 135-138.

Исследование проведено на 350 белых крысах – неполовозрелых и репродуктивных. Подопытные животные получали в терапевтических дозировках гидрокортизона ацетат, дексаметазон и натрия золедронат. Контролем служили интактные животные. Установили, что введение глюкокортикоидов неполовозрелым и половозрелым крысам сопровождается увеличением содержания воды и снижением содержания органических и минеральных веществ с пропорциональным дисбалансом химического состава как в костном веществе, так и минерализованных тканях резца нижней челюсти. При этом введение дексаметазона сопровождалось большей выраженностью отклонений, чем применение гидрокортизона. Внутривенное введение «Зометы» сопровождалось увеличением содержания органических веществ и уменьшением содержания минерального компонента. Применение бисфосфоната «Зомета» на фоне введения гидрокортизона в значительной степени сглаживало выявленные отклонения.

Ключевые слова: белые крысы, биоминерал, химический состав, гидрокортизон, дексаметазон, «Зомета».

Андреева О.В. Хімічний склад нижньої щелепи білих щурів різного віку при введенні їм глюкокортикоїдів та бісфосфонату «Зомета» // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 14, №2. – С. 135-138.

Дослідження проведено на 350 білих щурах двох вікових груп: статевонезрілих та статевозрілих. Піддослідні тварини отримували в терапевтичних дозуваннях гідрокортизону ацетат, дексаметазон та натрію золедронат. Контролем слугували інтактні тварини. Встановили, що введення глюкокортикоїдів статево незрілим і статево зрілим щурам супроводжується збільшенням вмісту води та зниженням вмісту органічних і мінеральних речовин з пропорційним дисбалансом макроелементного складу як кісткової речовини, так й тканин різця. При цьому введення дексаметазону супроводжувались більшою виразністю відхилень, ніж застосування гідрокортизону. Ізолюване внутрішньоочеревинне введення бісфосфонату «Зомета» також супроводжувалося збільшенням вмісту органічних речовин та зменшенням вмісту мінерального компоненту. Застосування бісфосфонатів «Зомета» на фоні введення гідрокортизону в значній мірі згладжувало виявлені відхилення.

Ключові слова: білі щури, біомінерал, хімічний склад, гідрокортизон, дексаметазон, «Зомета».

Andriieva O.V. Chemical composition of a various ages white rats mandible with the introduction of glucocorticoids and bisphosphonate "Zometa" // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 14, №2. – С. 135-138.

Investigation was carried out on 350 white rats - immature and reproductive. Experimental animals receiving therapeutic doses of hydrocortisone acetate, dexamethasone, and zoledronate sodium. Served as a control intact animals. Found that the introduction of glucocorticoids immature and mature rats is accompanied by an increase in water content and lower content of organic and mineral substances to be proportional to the imbalance of the chemical composition. At the same time dexamethasone was accompanied by greater severity of abnormalities than the use of hydrocortisone. Intraperitoneal administration of "Zometa" was accompanied by an increase in organic matter content and a decrease in content of mineral components. The use of bisphosphonate "Zometa" against the administration of hydrocortisone is largely smoothed out the identified deviations.

Key words: rats, biomineral, chemical composition, hydrocortisone, dexametazon, "Zometa".

Введение. В настоящее время гормоны коры надпочечников широко применяются в медицине при лечении заболеваний опорно-двигательного аппарата [5, 6], поскольку костная система является мишенью для их действия [5]. Глюкокортикоиды оказывают непосредственное действие на пролиферацию, дифференцировку и гибель клеток костной ткани [8, 9], ускоряют деградацию коллагеновых волокон, что приводит к угнетению ос-

теогенеза, усилению резорбции и нарушению процессов ремоделирования кости. Также повышенный уровень глюкокортикоидов сопровождается угнетением роста костей, нарушениями их гистологического строения, химического состава и прочности [11, 12].

Морфогенез нижней челюсти, имеющей весьма сложное происхождение в онтогенезе и находящейся в уникальных биомеханических условиях, в этих условиях практически не ис-

следован. Поэтому целью нашего исследования стало изучение химического состава биоминерала костного вещества и минерализованных тканей зубов нижней челюсти у белых крыс различного возраста при введении им в терапевтической дозировке гидрокортизона ацетата, дексаметазона, а также бисфосфоната «Зомета» в качестве корректора. Данная работа выполнена в соответствии с планом научных исследований ГУ «Луганский государственный медицинский университет» и является частью тем «Особенности морфогенеза костной, иммунной и эндокринной систем под влиянием экологических факторов» (государственный регистрационный № 0110U005043).

Материал и методы: Исследование было проведено на 350 белых крысах двух возрастных групп: неполовозрелых (с исходной массой $52,00 \pm 1,31$ г) и половозрелых ($136,25 \pm 2,11$ г), которые были распределены на 5 групп. Животные 1-й группы ежедневно получали 21 мг/кг гидрокортизона ацетата (ГК) внутримышечно, во 2-й – дексаметазон в дозировке 1,07 мг/кг массы тела внутримышечно, в 3-й группе крысы получали внутривнутрибрюшинно раз в месяц 0,362 мг/кг препарат золедроновой кислоты «Зомета», в 4-й группе животные получали комбинацию обоих препаратов. В качестве контроля использовали интактных животных (5-я группа). Протокол экспериментов на животных был утвержден Комиссией по биоэтике ГУ «Луганский государственный медицинский университет» согласно с правилами Международной конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях [13].

По окончании эксперимента (через 7, 15, 30 и 90 дней) животных декапитировали под эфирным наркозом, выделяли нижние челюсти (НЧ), очищали их от мягких тканей и разделяли костное вещество и резец. Химическое исследование костного вещества и минерализованных тканей резцов НЧ на первом этапе состояло в определении содержания воды, органических и минеральных веществ в костном веществе, а также в минерализованных тканях зубов, которые рассчитывали весовым методом, последовательно, после высушивания костей до постоянного веса при температуре 105°C в сухожаровом шкафу и озоления в муфельной печи при температуре $450-500^{\circ}\text{C}$ в течение 12 часов [4]. На втором этапе полученную золу растирали в фарфоровой ступке и хранили в герметичных микропробирках. Для дальнейшего исследования 10 мг золы растворяли в 2 мл 0,1 Н химически чистой соляной кислоты, доводили до 25 мл бидистиллированной водой. В полученном раство-

ре определяли содержание натрия, калия, кальция и фтора на атомно-абсорбционном фотометре типа "Сатурн"-2 в режиме эмиссии в воздушно-пропановом пламени [1, 7], а также содержание фосфора колориметрически по Бригсу на электрофотокolorиметре КФК-3 [2].

Все полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием стандартных прикладных программ [3].

Результаты и их обсуждение. У интактных животных в ходе наблюдения с 7 по 90 день эксперимента как в костном веществе, так и в минерализованных тканях резца, наблюдалось снижение содержания воды и органических веществ и увеличение содержания неорганического компонента с пропорциональными изменениями содержания основных остеотропных макроэлементов.

Введение ГК неполовозрелым животным в дозировке 21 мг/кг внутримышечно сопровождалось увеличением содержания воды в костном веществе НЧ с 15 по 90 день наблюдения на 12,52%, 15,83% и 17,77%. Содержание органических и минеральных веществ в костном веществе НЧ при этом было меньше, чем у интактных животных соответственно на 7,77%, 5,78% и 5,53%, и на 6,65%, 10,26% и 10,70%, что сопровождалось пропорциональным увеличением содержания натрия и калия, а также снижением содержания кальция и кальций-фосфорного соотношения.

В минерализованных тканях резца НЧ было выявлено увеличение содержания воды с 15 по 90 день эксперимента соответственно на 7,23%, 10,82% и 20,17% и снижение содержания органического компонента к 90 дню эксперимента на 10,33%. Это сопровождалось также увеличением содержания натрия, калия, фосфора и кальций-фосфорного соотношения. При этом содержание фтора было меньше, чем у интактных животных, также с 15 по 90 день соответственно на 7,24%, 12,91% и 12,05%.

В репродуктивном возрасте изменения химического состава костного вещества НЧ были сходными, но менее выраженными: содержание воды было больше, чем у интактных животных к 30 и 90 дням на 7,73% и 9,31%, а доля минерального компонента понижалась лишь к 90 дню – на 5,04%. При этом содержание натрия и калия превосходило контрольное во все установленные сроки эксперимента соответственно на 9,22%, 8,35%, 11,87% и 13,44%, и на 10,71%, 10,72%, 12,50% и 10,09%. При этом содержание кальция в костном веществе НЧ уменьшалось лишь к 90 дню на 5,73%, а содержание фосфора практически не изменялось, в результате чего на 9,69% умень-

шалось и кальций-фосфорное соотношение.

В тканях резца определялось увеличение содержания воды к 90 дню эксперимента на 7,09%. При этом в период с 15 по 90 день наблюдения содержание натрия и калия было больше контрольного соответственно на 7,29%, 8,39% и 9,89%, и на 15,33%, 12,87% и 27,36%, а содержание фтора уменьшалось на 7,28%, 9,14% и 16,37%.

Применение дексаметазона у крыс обеих возрастных групп сопровождалось аналогичными изменениями, однако их выраженность была несколько больше.

Внутрибрюшинное введение препарата «Зомета» неполовозрелым крысам сопровождалось снижением содержания воды в костном веществе НЧ к 7 дню эксперимента на 7,75% и минеральных веществ к 90 дню – на 5,26%. Содержание органического компонента при этом к 30 и 90 дням было больше контрольного на 10,65% и 11,24%. В результате к 90 дню определялось уменьшение содержания натрия на 13,06%, калия – на 9,82% и фосфора на 5,29%; кальций-фосфорное соотношение увеличивалось на 8,90%.

В минерализованных тканях резца лишь к 90 дню эксперимента доля органических веществ была больше, чем у интактных животных (на 10,02%). Изменения макроэлементного состава регистрировались раньше:

Совместное применение ГК и «Зометы» в значительной степени сглаживало негативное влияние ГК на химический состав как костного вещества, так минерализованных тканей резца НЧ.

В этом случае у неполовозрелых крыс в костном веществе НЧ содержание воды было меньше чем во 2-й группе (изолированное введение ГК) к 15 и 30 дням эксперимента на 5,24% и 5,92%, а содержание органических веществ к 30 дню – больше на 4,68%. При этом доля кальция в золе и кальций-фосфорное соотношение к 15 дню были больше контрольных значений соответственно на 12,99% и 14,52%, а доля натрия к 90 дню – меньше на 7,76%.

Исследование химического состава биоминерала резцов показало следующее: к 90 дню эксперимента содержание воды было меньше, чем в группе с изолированным применением гидрокортизона на 14,90%, а содержание органического и минерального компонента – больше соответственно на 9,65% и 2,02%. Достоверные отклонения содержания остеотропных макроэлементов в золе резцов неполовозрелых животных данной группы не были выявлены.

У репродуктивных животных совместное применение ГК и «Зометы» также в значительной степени сглаживало негативное влия-

ние ГК на химический состав как костного вещества, так минерализованных тканей резца НЧ.

В костном веществе НЧ это проявлялось в уменьшении в сравнении со 2-й группой содержания воды и увеличении доли органического компонента, однако данные изменения были достоверными не всегда. Следует отметить лишь достоверное уменьшение к 90 дню эксперимента содержания воды и натрия – на 6,33% и 7,86%.

Химический состав минерализованных тканей резцов также характеризовался значительно меньшими, чем во 2-й группе, отклонениями от аналогичных показателей интактных животных.

Сравнение с показателями 2-й группы (изолированное применение гидрокортизона) показало, что к 15 дню содержание фосфора было меньше на 5,25%, а содержание фтора к 90 дню – больше на 16,23%.

Заключение. Полученные результаты позволяют утверждать, что введение глюкокортикоидов неполовозрелым и половозрелым крысам сопровождается увеличением содержания воды и снижением содержания органических и минеральных веществ с пропорциональным дисбалансом химического состава как в костном веществе, так и минерализованных тканях резца нижней челюсти. При этом введение дексаметазона сопровождалось большей выраженностью отклонений, чем применение гидрокортизона. Внутрибрюшинное введение «Зометы» сопровождалось увеличением содержания органических веществ и уменьшением содержания минерального компонента.

Применение бисфосфоната «Зомета» на фоне введения гидрокортизона в значительной степени сглаживало выявленные отклонения.

Перспективы дальнейших исследований. Для подтверждения полученных результатов в дальнейшем планируется провести рентгеноструктурное исследование биоминералов костного вещества и минерализованных тканей зубов нижней челюсти у белых крыс различного возраста в условиях нашего эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Брицке Э.М. Атомно-абсорбционный спектральный анализ / Э.М. Брицке. – М.: Химия. 1982. – 244 с.
2. Колб В.Г. Клиническая биохимия / В.Г. Колб, В.С. Камышников. - Минск: Беларусь, - 1976. - С.209 - 211.
3. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н.

Бабич. – Киев: Моршон, 2000. – 320 с.

4. Новиков Ю.В. Применение спектрографии для определения минерального состава костной ткани при гигиенических исследованиях / Ю.В. Новиков, А.В. Аксюк, А.М. Ленточников // Гигиена и санитария. - 1969. - №6. - С.72-76.
5. Поворознюк В.В. Глюкокортикоид-индуцированный остеопороз / В.В. Поворознюк, И.Ю. Головач // Проблемы остеологии. – 2000. – Т. 3, № 1. – С. 26-36.
6. 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.
7. Полуэктов Н.С. Методы анализа по фотометрии пламени / Н.С. Полуэктов. - М.: Химия, 1967. - 307 с.
8. Стклянина Л.В. Фазовый состав минерала губчатого костного вещества неполовозрелых крыс при введении гидрокортизона и золедроновой кислоты / Л.В. Стклянина // Проблемы остеологии. – 2006. – Том 9, (додаток). – С.110-111.

9. Страчунский Л.С. Глюкокортикоидные препараты / Л.С. Страчунский, С.Н. Козлов – Смоленск.гос.мед.академия, 1997.– 64 с.

10. Canalis E. Mechanisms of glucocorticoid action in bone / E. Canalis, A.M. Delany // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2002. – Vol. 966. P. 73-81.
11. Glucocorticoids, thyroid hormone interactions: implications for the growth plate / T. Siebler, H. Robson, S. Shalet, G. Williams // Horm.Res.– 2001.– Vol.56 (Suppl.1). – P.7-12.
12. Interactions between GH, IGF-I, glucocorticoids, and thyroid hormones during skeletal growth / H. Robson, T. Siebler, S.M. Shalet, G.R. Williams // Pediatr. Res. – 2002. – Vol. 52, 2. – P. 137-147.
13. 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 12.03.2011 р.

Рецензент: проф. С.А.Кашенко