

Wpływ deksametazonu na wzrost i mineralizację układu kostnego w okresie prenatalnym u świń^{*)}

EWA ŚLIWA, MARCIN R. TATARA, SYLWESTER KOWALIK, WITOLD KRUPSKI*,
PIOTR MAJCHER**, TOMASZ PIERSIAK***, TADEUSZ STUDZIŃSKI

Katedra Biochemii i Fizjologii Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Akademicka 12, 20-950 Lublin

*II Zakład Radiologii Lekarskiej AM, ul. Staszica 16, 20-081 Lublin

**Katedra i Klinika Ortopedii, Traumatologii i Rehabilitacji AM, ul. Jaczewskiego 8, 20-950 Lublin

***Zakład Anatomii Porównawczej i Antropologii Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi UMCS, ul. Akademicka 19, 20-950 Lublin

Śliwa E., Tataro M. R., Kowalik S., Krupski W., Majcher P., Piersiak T., Studziński T.

Influence of dexamethasone on the growth and mineralization of the skeletal system in pigs during prenatal life

Summary

The aim of the study was to establish the influence of dexamethasone on the growth of long bones such as the femur and humerus in piglets during the last 24 days of prenatal life. The experiment was conducted during the final 24 days of prenatal life. Using a quantitative computed tomography (QCT) method and Somatom AR.T - Siemens apparatus, the volumetric bone density of the trabecular and cortical bones was determined separately. The mechanical properties were determined using a three-point bending test according to the method of Ferretti et al. Using Norland XP-43 apparatus and the DEXA method the bone mineral content was estimated. The obtained results indicate that maternal administration of dexamethasone decreased the volumetric mineral density, BMC and mechanical and geometric parameters of humeri and femora. This model of maternal administration of dexamethasone indicates that dexamethasone treatment at the dose of 3.0 mg per sow significantly inhibits bone growth and volumetric bone density in newborn piglets compared with control ones.

Keywords: prenatal life, piglets, long bones

Deksametazon jako syntetyczny glikokortykoid jest stosowany w leczeniu ludzi i zwierząt od 1949 r., a w ostatnich latach intensywność terapeutycznego wykorzystania znacznie wzrosła, szczególnie w leczeniu dzieci wczesnie urodzonych i w okresie prenatalnym w stymulacji dojrzewania płuc oraz terapii i profilaktyce wczesnego okresu neonatalnego (9, 13). Badania kliniczne prowadzone przez wiele lat na dzieciach, jak i z wykorzystaniem zwierząt (szczury, owce) nie wyjaśniły w pełni mechanizmów działania glikokortykoidów – jest to zagadnienie wciąż otwarte i wymagające dalszych badań (13). Deksametazon przechodzi przez łożysko w czynnej formie biologicznej i oddziałuje na różne komórki i tkanki przez oś podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczową (1, 2, 12). Egzogenne glikokortykoidy przyspieszają rozwój i dojrzewanie takich narządów, jak płuca, wątroba, nerki i jelita, a efekty neonatalnego i postnatalnego ich działania są dość dobrze poznane, mimo że postnatalne następstwa prenatalnej terapii u ludzi w odniesieniu do układu kostnego są całkowicie nieznane (4, 14). Czynniki

środowiskowe, poza genetycznymi uwarunkowaniami, odgrywają decydującą rolę podczas okresu prenatalnego w odniesieniu do procesów łączących ogólny rozwój płodu z metaboliczno-endokrynnymi następstwami w późniejszym życiu neonatalnym i postnatalnym (10). Inne badania wskazują na decydującą rolę, jaką pełni organizm matki i jego stan fizjologiczny, hormonalny i żywieniowy w tzw. programowaniu okresu płodowego. Wpływ metabolitów na procesy rozwojowe wielu układów płodu przez wyzwolenie endokrynnych i metabolicznych sygnałów jest obserwowane zarówno u ludzi, jak i u zwierząt (7). Betametazon podawany ciężarnym owcom i krowom zwiększał podatność jagniąt i cieląt na niektóre choroby w okresie życia postnatalnego (15). Wiedza o roli glikokortykoidów w prenatalnym rozwoju narządów i układów, w tym układu kostnego i procesach jego mineralizacji jest wciąż niepełna, a konieczność ich podawania w okresie prenatalnym może ujawnić się w okresie życia postnatalnego, dojrzewania, a nawet po zakończeniu wzrostu i rozwoju (11). Brak badań nad wpływem prenatalnego działania syntetycznych glikokortykoidów na rozwój i wzrost oraz mineralizację układu kostnego u świń przyczynił się do podjęcia badań ukie-

^{*)} Badania finansowane w ramach projektu badawczego KBN nr 2 PO6K/00828.

runkowanych na określenie wpływu deksametazonu podawanego ciężarnym maciorom przez ostatnie 24 dni ciąży na procesy rozwoju i mineralizacji kości udowej i ramiennej u prosiąt badanych bezpośrednio po urodzeniu.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 4 ciężarnych maciorach i 20 nowo narodzonych prosiąt rasy wielka biała polska. Ciężarne maciory przebywały w standardowych warunkach hodowlanych, jakie obowiązują w chowie świń i prosiąt oraz karmione były dwa razy dziennie mieszanką standardową przeznaczoną dla loch ciężarnych i karmiących. Badania obejmowały okres prenatalny ostatnich 24 dni ciąży u macior, tj. od 91. dnia ciąży do momentu porodu. W tym czasie ciężarne maciory zostały podzielone na matki prosiąt grupy kontrolnej (K) i matki prosiąt grupy doświadczalnej, które otrzymywały deksametazon w dawce 3 mg/ciężarną lochę/48 h (tab. 1). Prosięta nowo narodzone poddawane były eutanazji przy użyciu Morbitalu (Biowet Puławy) w czasie pierwszej godziny od momentu urodzenia bez możliwości pobierania siary od swoich matek. Dawki i schemat doświadczenia w okresie prenatalnym przedstawia tab. 1.

Od prosiąt z grupy kontrolnej i doświadczalnej izolowano obustronnie kości ramienną i udową oraz określano ich masę i długość.

Wykorzystując aparat obciążeniowy instron 4302 oceniona została za pomocą trójpunktowej metody zginania wg Ferrettiego i wsp. (5, 6) wartość siły krańcowej (Wf), przy której następuje dezintegracja struktury kości i ich pękanie. Kości ramienne i udowe były umieszczane w specjalnie przygotowanych podporach, których rozstaw odpowiadał nie mniej niż 40% całkowitej długości kości. Głowica, stanowiąc siłę przyłożenia o zakresie 0-1000 N, poruszała się ze stałą prędkością 10 mm/min.

Pomiarom zostały poddane również średnice poziome i pionowe przekroju poprzecznego kości udowej i ramiennej, zarówno wewnętrzne, jak i zewnętrzne: H – średnica pozioma zewnętrzna kości, h – średnica pozioma wewnętrzna, V – średnica pionowa zewnętrzna, v – średnica pionowa wewnętrzna kości.

Do oceny objętościowej gęstości mineralnej wykorzystano metodę ilościowej tomografii komputerowej QCT (Quantitative Computed Tomography) przy użyciu aparatu Somatom AR.T - Siemens, wyposażonego w oprogramowanie VR3. Zostały wykonane trzy skany komputerowe, każdy o grubości 2 mm. Jednego pomiaru dokonywano w obrębie substancji bełczkowej, a dwóch w istocie korowej. Pomiaru objętościowej gęstości mineralnej (Sb) substancji bełczkowej kości długich dokonywano w części przynasady bliższej, w miejscu położonym w odległości 7% długości od końca dalszego, osobno dla kości udowej i ramiennej. Pomiaru objętościowej gęstości mineralnej istoty korowej (S1) dokonano ok. 1 cm poniżej skanu Sb i kolejnego (S2) ok. 1,5 cm poniżej pomiaru S1.

Badanie mineralnej zawartości kości (BMC) wykonywano przy użyciu aparatu norland xp-43, wykorzystującego metodę DEXA. Pomiaru zawartości mineralnej kości dokonywano dla końca bliższego i dalszego, obejmując całą

Tab. 1. Schemat doświadczenia z nowo narodzonymi prosiętami niessącymi grup kontrolnej i doświadczalnej

Symbol grupy	Opis grupy	Liczba prosiąt w grupie
K	Prosięta z ciąży macior kontrolnych, niepodlegających wpływowi żadnych środków farmakologicznych, których matki otrzymywały od 91. dnia ciąży do dnia porodu płyn fizjologiczny <i>i.m.</i> w ilości 1,5 ml/sztukę co 48 h	n = 10
Dex	Prosięta będące pod wpływem deksametazonu podawanego <i>i.m.</i> ich matkom w ilości 3 mg (1,5 ml) co 48 h od 91. dnia ciąży do dnia porodu	n = 10

powierzchnię przynasad aż do miejsca przejścia kości bełczkowej w korową.

Dane doświadczalne przedstawiono w postaci średnich wartości z odchyleniem standardowym. Wartość $p \leq 0,05$ uznano za próg istotności statystycznej.

Wyniki i omówienie

Średnia masa ciała prosiąt nowo narodzonych w grupie kontrolnej wynosiła $1330 \text{ g} \pm 82$, a w grupie Dex $1720 \text{ g} \pm 79$. Deksametazon podawany maciorom przez ostatnie 24 dni ciąży, tj. od 91. dnia do momentu porodu podwyższał istotnie masę urodzeniową prosiąt doświadczalnych średnio o 390 g, co stanowiło wzrost o 28% w porównaniu z masą prosiąt grupy kontrolnej.

Deksametazon podawany prenatalnie wykazywał działanie anaboliczne, zarówno w odniesieniu do kości ramiennej, jak i udowej, ponieważ masa kości długich była wyższa w porównaniu z grupą kontrolną, przy potwierdzeniu jednak istotności statystycznej różnic tylko w masie kości udowej (tab. 2).

Deksametazon zmniejszał dwukrotnie siłę krańcową kości udowej w porównaniu z kontrolą. Wartość siły krańcowej kości udowej w grupie kontrolnej wynosiła $466,5 \text{ N} \pm 38,3$, zaś w grupie prosiąt będących pod wpływem działającego prenatalnie deksametazonu $208 \text{ N} \pm 22,1$, co stanowiło 44% wartości kontrolnej. Wartość siły krańcowej kości ramiennej prosiąt doświadczalnych była ponad 50% niższa od wartości stwierdzonych w grupie kontrolnej, która osiągnęła $248,6 \text{ N} \pm 18,5$ i $544,3 \text{ N} \pm 44,5$.

Objętościowa gęstość mineralna istoty bełczkowej kości ramiennej prosiąt uległa istotnemu obniżeniu pod wpływem stosowanego deksametazonu w czasie ciąży u macior w porównaniu z kontrolą i wynosiła w grupie Dex $0,876 \text{ g/cm}^3 \pm 0,04$ i w grupie kontrolnej $1,085 \text{ g/cm}^3 \pm 0,04$. Podobnie objętościowa gęstość mineralna istoty bełczkowej kości udowej istotnie zmalała pod wpływem deksametazonu. W grupie kontrolnej stwierdzono $0,832 \text{ g/cm}^3 \pm 0,04$, zaś w grupie doświadczalnej $0,627 \text{ g/cm}^3 \pm 0,009$. Działanie prenatalne deksametazonu istotnie zmniejszyło u prosiąt objętościową gęstość mineralną istoty korowej obu kości długich w miejscu badania określonym jako S1 i S2. W grupie kontrolnej stwierdzono wartości dla kości ramiennej $1,881 \text{ g/cm}^3 \pm 0,02$ i $1,788 \text{ g/cm}^3$

Tab. 2. Masa i zawartość mineralna (BMC) kości ramiennej nowo narodzonych prosiąt grupy kontrolnej i będących pod wpływem prenatalnego działania deksametazonu (n = 10; $\bar{x} \pm \text{SEM}$)

Badany parametr	Kontrola		Dex	
Masa (g)	7,650	0,35	9,660	0,75
Zawartość mineralna przynasady bliższej (g)	0,316	0,03	0,248*	0,02
Zawartość mineralna przynasady dalszej (g)	0,224	0,02	0,170*	0,01

Objaśnienie: * p ≤ 0,05

Tab. 4. Średnica zewnętrzna i wewnętrzna, pionowa i pozioma przekroju poprzecznego kości udowej nowo narodzonych prosiąt grupy kontrolnej i będących pod wpływem prenatalnego działania deksametazonu (n = 10; $\bar{x} \pm \text{SEM}$)

Badany parametr	Kontrola		Dex	
Średnica pionowa zewnętrzna B (mm)	7,50	0,17	5,61*	0,07
Średnica pionowa wewnętrzna b (mm)	3,75	0,16	2,98*	0,13
Średnica pozioma zewnętrzna H (mm)	7,16	0,18	5,68*	2,81
Średnica pozioma wewnętrzna h (mm)	3,65	0,27	2,81*	0,07

Objaśnienie: jak w tab. 2.

± 0,05 oraz kości udowej 1,683 g/cm³ ± 0,02 i 1,700 g/cm³ ± 0,04. Objętościowa gęstość mineralna (S1 i S2) kości ramiennej prosiąt od macior otrzymujących w ciąży deksametazon osiągnęła wartość 1,503 g/cm³ ± 0,02 i 1,400 g/cm³ ± 0,05, natomiast kości udowej 1,180 g/cm³ ± 0,03 i 1,296 g/cm³ ± 0,02.

Podobnie stwierdzono zmniejszenie zawartości mineralnej przynasady bliższej i dalszej kości ramiennej i udowej u prosiąt pod wpływem podawania deksametazonu w okresie ostatnich 3 tygodni ich życia prenatalnego. Wartości pionowej i poziomej średnicy zewnętrznej i wewnętrznej zarówno kości udowej, jak i ramiennej również istotnie zmalały w wyniku działania deksametazonu w tym okresie.

Otrzymane wyniki dowodzą, że deksametazon stosowany przez 24 ostatnie dni życia płodowego wykazywał podobne działanie anaboliczne względem masy ciała prosiąt, jak i masą badanych kości długich, które były cięższe w porównaniu z masą kości zwierząt grupy kontrolnej. Jednocześnie powodował zahamowanie procesu mineralizacji i wzrostu kości, o czym świadczą uzyskane wartości objętościowej gęstości mineralnej istoty korowej i gąbczastej, jak i średnice przekroju poprzecznego kości udowej i ramiennej.

Wcześniejsze badania na owcach sugerowały, że poddanie jednostki łożyskowo-płodowej na działanie nadmiaru glikokortykoidów może odmiennie wpływać na masę odrębnych narządów (wątroby, nerki) płodu mierzonych bezpośrednio po urodzeniu jagniąt (2). Wiadomo też, że pod koniec ciąży następuje natural-

Tab. 3. Masa i zawartość mineralna (BMC) kości udowej nowo narodzonych prosiąt grupy kontrolnej i będących pod wpływem prenatalnego działania deksametazonu (n = 10; $\bar{x} \pm \text{SEM}$)

Badany parametr	Kontrola		Dex	
Masa (g)	6,750	0,40	9,060*	0,80
Zawartość mineralna przynasady bliższej (g)	0,257	0,03	0,232*	0,02
Zawartość mineralna przynasady dalszej (g)	0,358	0,04	0,315*	0,01

Objaśnienie: jak w tab. 2.

Tab. 5. Średnica zewnętrzna i wewnętrzna, pionowa i pozioma przekroju poprzecznego kości ramiennej nowo narodzonych prosiąt grupy kontrolnej i będących pod wpływem prenatalnego działania deksametazonu (n = 10; $\bar{x} \pm \text{SEM}$)

Badany parametr	Kontrola		Dex	
Średnica pionowa zewnętrzna B (mm)	6,90	0,21	5,18*	0,06
Średnica pionowa wewnętrzna b (mm)	3,68	0,21	2,70*	0,12
Średnica pozioma zewnętrzna H (mm)	8,72	0,22	7,08*	0,13
Średnica pozioma wewnętrzna h (mm)	4,76	0,08	3,41*	0,17

Objaśnienie: jak w tab. 2.

ny wzrost stężenia glikokortykoidów endogennych w krwi płodu, co przyczynia się do wyzwolenia mechanizmów porodowych (2). U ludzi i owiec stwierdzono wzrost kortyzolu w czasie życia płodowego oraz udowodniono, że nadmiar glikokortykoidów w życiu prenatalnym w wyniku podawania betametazonu wpływa na postnatalne procesy adaptacyjne, funkcjonowanie osi przysadkowo-nadnerczowej i aktywność naczyniowo-sercową (2). Pojedyncza lub kilkukrotna dawka betametazonu stosowana u owiec redukuje o około 25% masę płodu, długość kości udowej, masę wątroby i nerki, przy zwiększonym stosunku masy mózgu do masy wątroby (8).

Syntetyczne glikokortykoidy podawane ciężarnym owcom i ciężarnym kobietom przechodzą z łatwością przez barierę łożyskową do krążenia płodu, ponieważ enzym łożyskowy, jakim jest dehydrogenaza 11beta hydroksysteroidowa (HSD) nie metabolizuje syntetycznych glikokortykosteroidów (2). Fizjologiczny wzrost poziomu glikokortykoidów u płodu spowodowany jest wzrostem syntezy i ich uwalniania z nadnerczy. Hormony te mogą przechodzić przez łożysko z krążenia matki lub też mogą być syntetyzowane lokalnie w łożysku. Spadek aktywności 11beta-HSD-2 powoduje wzrost ilości matczynej glikokortykoidów, które przechodzą przez łożysko do krwi płodu (2).

Znany jest też wpływ glikokortykoidów na przemianę węglowodanów, białka i tłuszczu. Zwiększają one wątrobową glikogenezę i glukoneogenezę przy następnym wzroście stężenia glukozy we krwi. Taki me-

chanizm występuje u kobiet ciężarnych, u których syntetyczne glikokortykoidy mogą nasilać objawy cukrzycy ciąży z towarzyszącym wzrostem poziomu glukozy we krwi. Glukoza jest podstawowym substratem energetycznym dostarczającym do płodu i w warunkach hiperglikemii ciężarnej matki pojawia się stan anaboliczny płodu, mogący manifestować się makrosomią okołourodzeniową, czyli wzrostem masy płodu.

Należy podkreślić, że proces przebudowy tkanki kostnej i sama budowa chrząstek wzrostowych u świni jest histologicznie podobna do ludzkiej. Procesy metaboliczne przebiegające u świń są szybsze i pozwalają na skrócenie czasu doświadczeń (3).

Piśmiennictwo

1. Ballow M.: Is steroid-dependent asthma a disease treatable with intravenous immunoglobulin? Clin. Immunol. 1999, 91, 123-125.
2. Challis J. R. G., Sloboda D., Matthews S. G., Holloway A., Alfaidy N., Patel F. A., Whittle W., Fraser M., Moss T. J. M., Newnham J.: The fetal placental hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis, parturition and post natal health. Molec. Cell. Endocrinol. 2001, 185, 135-144.
3. Denis I., Cournot G., Lacroix H., Colin C., Zerath E., Pointillart A.: In vivo bone metabolism and ex vivo bone marrow osteoprogenitors in vitamin D-deprived pigs. Bone 2000, 26, 491-498.
4. Ervin M. G., Seidner S. R., Leland M. M., Ikegami M., Jobe A. H.: Direct fetal glucocorticoid treatment alters postnatal adaptation in premature newborn baboons. Am. J. Physiol. 1998, 274, R1169-R1176.
5. Ferretti J. L., Capozza R. F., Mondelo N., Zanchetta J. R.: Interrelationships between densitometric, geometric and mechanical properties of rat femora:

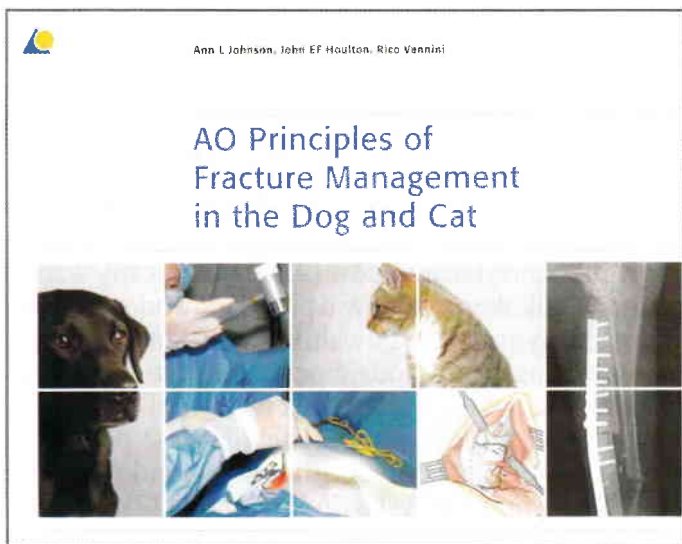
inferences concerning mechanical regulation of bone modelling. J. Bone Miner Res. 1993, 8, 1389-1395.

6. Ferretti J. L., Capozza R. F., Mondelo N., Montuori E., Zanchetta J. R.: Determination of femur structural properties by geometric and material variables as a function of body weight in rats. Evidence of sexual dimorphism. Bone 1993, 14, 256-270.
7. Hind S. M.: Effects of maternal nutrition on fetal and neonatal reproductive development and function. Anim. Reprod. Sci. 2004, 82-83, 169-181.
8. Jobe A. H., Wada N., Berry L. M., Ikegami M., Erwin M. G.: Single and repetitive maternal glucocorticoids exposures reduce fetal growth in sheep. Am. J. Obstet. Gynecol. 1998, 178, 880-885.
9. Leszczyński P., Łęcki J. K., Mackiewicz S. H.: Osteoporoza posteroidea – patomechanizm, zapobieganie i leczenie. Post. Nauk Med. 2000, 2, 20-25.
10. Levy-Marchal C., Jaquet D., Czernichow P.: Long-term metabolic consequences of being born small for gestational age. Sem. Neonatol. 2004, 9, 67-74.
11. Miranda-Mallea J., Perez-Verdu J., Gasco-Lacalle B., Saez-Palacios J. M., Fernandez-Gilino C., Izquierdo-Macian I.: Hypertrophic cardiomyopathy in preterm infants treated with dexamethasone. Europ. J. Pediatr. 1997, 156, 394-396.
12. Nakai A., Shibasaki Y., Taniuchi Y., Oya A., Asakura H., Kosino T., Araki T.: Effect of dexamethasone on mitochondria maturation in the fetal rat brain. Am. J. Obstet. Gynecol. 2002, 186, 574-578.
13. Obojski A., Kraus-Filarska M.: Molekularny mechanizm działania przeciwzapalnego glikokortykosteroidów i synergii z beta 2-agonistami. Pol. Arch. Med. Wew. 2004, 6, 743-747.
14. Ogueh O., Sooranna S., Nicolaidis K. H., Johnson M. R.: The relationship between leptin concentration and bone metabolism in the human fetus. J. Clin. Endocrinol. Metabolism 2000, 85, 1997-1999.
15. Sloboda D. M., Newnham J. P., Chablis J. R.: Effects of repeated maternal betamethasone administration on growth and hypothalamic-pituitary-adrenal function of the ovine fetus at term. J. Endocrinol. 2000, 165, 79-91.

Adres autora: dr Ewa Śliwa, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin; e-mail: ewaRST@interia.pl

Nowa pozycja książkowa:

JOHNSON A. L., HOULTON J. E. F., VANNINI R.: AO Principles of Fracture Management in the Dog and Cat. (Zasady postępowania ze złamaniami u psów i kotów). Thieme Verlag, Stuttgart 2005, str. 527, ryc. 450 + płyta DVD, cena 259,95 €. ISBN 3-13-131571-1



Doskonała książka dla dydaktyki i praktyki postępowania lekarskich ze złamaniami kości u psów i kotów. Bogato ilustrowana, z dołączoną płytą DVD-ROM.

Nowa pozycja książkowa:

KANIA B. F.: Fizjologia i farmakoterapia zaburzeń behawioralnych u psów i kotów. Wyd. „Więś Jutrze”, Warszawa 2005, str. 272; ISBN 83-89503-23-9

