

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ  
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК [611.716.4+611.724]-012-013:591.4

**КИТЕЛЬ**  
**Валентина Владимировна**

**ЭМБРИОГЕНЕЗ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ  
И ВИСОЧНО-НИЖНЕЧЕЛЮСТНОГО СУСТАВА  
БЕЛОЙ КРЫСЫ В НОРМЕ И ПРИ ДЕЙСТВИИ  
ТЕРАТОГЕННЫХ ФАКТОРОВ**

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Минск 2012

Работа выполнена в УО «Белорусский государственный медицинский университет»

**Научный руководитель:** **Кабак Сергей Львович,**  
доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры морфологии человека УО «Белорусский государственный медицинский университет»

**Официальные оппоненты:** **Пивченко Петр Григорьевич,**  
доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой нормальной анатомии УО «Белорусский государственный медицинский университет»

**Глушен Сергей Витальевич,**  
кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры генетики УО «Белорусский государственный университет»

**Оппонирующая организация:** ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси»

Защита состоится 15 ноября 2012 года в 14.00 на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.03 при УО «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83; телефон: (017) 272-55-98.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке УО «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83.

Автореферат разослан « 13 » октября 2012 г.

Ученый секретарь совета  
по защите диссертаций,  
кандидат медицинских наук, доцент

Н.А. Трушель

## ВВЕДЕНИЕ

В ходе эволюции у наземных позвоночных в строении черепа произошли значительные перестройки, связанные с прогрессивным развитием головного мозга и органов чувств, носовым дыханием, усложнением функций зубочелюстного аппарата. Уменьшилось общее число костей черепа вследствие слияния их между собой или редукции (Сперанский В.С., 1988; Ромер А., 1992; Черепанов Г.О., 2007). Так у млекопитающих нижняя челюсть образована всего одной зубной костью, восходящая ветвь которой сочленяется через суставной отросток с чешуйчатой костью, образуя вторичный височно-нижнечелюстной сустав (Хадорн Э., 1989; Черепанов Г.О., 2007; Radlanski R.J., 1999; Shen G., 2005).

Эмбриональное развитие височно-нижнечелюстного сустава отличается от морфогенеза других прерывных соединений наличием разных источников и способов развития формирующих его костей (Наумов Н.П., 1979; Сперанский В.С., 1988; Хадорн Э., 1989; Radlanski R.J., 1999; Ochai T., 2010). До настоящего времени детали этого процесса не достаточно изучены, поэтому была предпринята попытка изучить гисто- и органогенез височно-нижнечелюстного сустава, используя экспериментальный метод. Врожденная патология скелета головы воспроизводилась действием на зародыши белой крысы рентгеновского облучения и цитостатического препарата циклофосфана – внешнесредовых факторов, обладающих выраженным тератогенным действием (Березкин М.В., 1973; Лобко П.И., 1983; Кабак С.Л., 1986; Аниськова Е.П., 2000; Куценко С.А., 2004; Машковский Д.М., 2005; Студеникина Т.М., 2009).

Результаты анализа экспериментальных данных, касающиеся тканевых изменений хряща в составе головки нижней челюсти, важны с точки зрения понимания механизма патогенеза врожденных и приобретенных заболеваний височно-нижнечелюстного сустава у человека, тем более, что встречаются они достаточно часто, от 16% до 63% у взрослого населения (Хватова В.А., 1997; Хорошилкина Ф.Я., 1999; Безруков В.М., 2002; Комелягин Д.Ю., 2002). А сопоставление результатов изучения экспериментального материала с соответствующими данными органогенеза нижней челюсти у интактных животных позволило сформировать собственные представления о механизмах формирования приобретенных пороков развития нижней челюсти и височно-нижнечелюстного сустава под влиянием тератогенных факторов.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Связь работы с крупными научными программами и темами.** Работа выполнена в рамках государственной комплексной программы фундаментальных, ориентированных фундаментальных и прикладных исследований «Современные технологии в медицине» – «Разработка методов объемной морфометрии и системы динамической оценки количественных характеристик гистологических изображений в норме и патологии» (№ государственной регистрации 20064780 от 11.08.2006 г.).

### **Цель и задачи исследования**

**Цель** исследования: установить закономерности морфогенеза нижней челюсти и височно-нижнечелюстного сустава в онтогенезе белой крысы в норме и при воздействии тератогенных факторов.

Для достижения намеченной цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Изучить органогенез нижней челюсти и височно-нижнечелюстного сустава на последовательных стадиях эмбриогенеза и в раннем постнатальном онтогенезе белой крысы в норме.

2. Изучить качественные и количественные характеристики гистогенеза хрящевой ткани в составе мышцелкового отростка нижней челюсти.

3. Изучить развитие нижней челюсти и структурных компонентов височно-нижнечелюстного сустава у плодов белой крысы, подвергшихся действию тератогенных факторов (рентгеновского облучения и циклофосфана).

**Объект исследования:** 30 зародышей, 91 плод, 14 новорожденных крысят от беспородных самок белой крысы весом 170–210 грамм и 10 нижних челюстей взрослых особей.

**Предмет исследования:** нижняя челюсть, височно-нижнечелюстной сустав.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Для тела нижней челюсти зародышей белой крысы характерен прямой тип остеогенеза, венечный и мышцелковый отростки ветви нижней челюсти формируются в результате непрямого остеогенеза. Органогенез кости протекает в тесной топографической связи с меккелевым хрящом, нижним альвеолярным нервом, жевательными мышцами, а также закладками нижних зубов.

2. Закладки костей, формирующих височно-нижнечелюстной сустав, в отличие от большинства прерывных соединений, появляются на

значительном расстоянии друг от друга. Головка нижней челюсти развивается как часть мышцелкового хряща и выполняет одновременно функции суставного и эпифизарного хряща трубчатых костей. Чешуя височной кости в отличие от головки нижней челюсти образуется путем прямого остеогенеза.

3. В процессе гистогенеза мышцелкового хряща выявлена зависимость между уровнем дифференцировки клеток и их морфометрическими характеристиками – количественным эквивалентом степени зрелости хондроцитов.

4. Воздействие сходных по механизмам первичного повреждающего действия тератогенов (рентгеновского облучения и циклофосфана), обладающих цитотоксическим и цитостатическим эффектом на малодифференцированные клетки, приводит к схожим аномалиям развития. У всех изученных экспериментальных животных отмечается отставание темпов роста нижней челюсти по сравнению с контрольными животными. В результате имеется выраженная гипоплазия тела и особенно ветви нижней челюсти, её отростки недоразвиты, часто деформированы. Следствием недоразвития нижней челюсти является задержка формирования височно-нижнечелюстного сустава и нарушение сбалансированного развития всей зубочелюстной системы, при этом затрагиваются все уровни структурной организации: органной, тканевой, клеточной и субклеточной.

**Личный вклад соискателя.** Соискателем совместно с научным руководителем сформулированы цель и задачи исследования, определены методы и основные этапы выполнения работы.

Сбор материала, изготовление и морфометрия тотальных препаратов головы зародышей, плодов и новорожденных белой крысы, окраска гистологических срезов гистологическими и гистохимическими методиками, описание препаратов и их морфометрия, статистическая обработка материала, информационный поиск, подготовка иллюстраций, анализ полученных результатов выполнены лично автором [1–13].

**Апробация результатов диссертации.** Материалы диссертации доложены и обсуждены на: научных сессиях Белорусского государственного медицинского университета (Минск, 2001, 2003, 2004, 2005, 2011), Международной научной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения академика П.Я. Герке (Минск, 2004), VII Международном конгрессе морфологов (Казань, 2004), Международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию Белорусского государственного медицинского университета (Минск, 2006), Республиканской научно-практической конференции и

19-й итоговой научной сессии УО «ГоГМУ» (Гомель, 2010), юбилейной научной конференции, посвященной 90-летию УО «Белорусский государственный медицинский университет» (Минск, 2011).

**Опубликованность результатов диссертации.** По теме диссертации опубликовано 13 научных работ, в которых изложены основные положения выполненного исследования. Из них: 3 статьи в научных журналах, включенных в перечень изданий Республики Беларусь для опубликования результатов диссертационных исследований; 2 статьи в сборниках научных трудов, 5 статей в материалах научно-практических конференций, 3 тезисов докладов. Общий объем опубликованных научных материалов – 2,24 авторских листа (из них 1,16 авторских листа в журналах, 1,08 авторских листа – материалы конференций и тезисы докладов).

**Структура и объем диссертации.** Текст диссертации изложен на 125 страницах печатного текста и состоит из введения, общей характеристики работы, пяти глав, заключения и библиографического списка, включающего 189 источников, из них 91 отечественных и 98 иностранных, 13 работ соискателя, трех приложений. В работе содержится 26 таблиц, включая приложения, 19 цифровых фотографий макропрепаратов нижней челюсти, 77 микрофотографий, 17 диаграмм и 20 гистограмм.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Материал и методы исследования.** Исследованы нижние челюсти и височно-нижнечелюстные суставы у зародышей и плодов беспородных белых крыс в сроки беременности от 14 до 21 суток, у новорожденных крысят и нижние челюсти взрослых особей. Всего изучено 145 объектов, из них изготовлено: 74 тотальных препарата, 46 серий гистологических препаратов. 25 серий гистологических препаратов использовалось из эмбриональной коллекции кафедры нормальной анатомии человека УО «Белорусский государственный медицинский университет».

Изучение материала осуществлялось с использованием анатомического, гистологического, гистохимического, морфометрического, экспериментального и статистического методов исследования.

Для получения плодов с датированным сроком беременности использовался метод влагалищных мазков (Астауров Б.Л., 1975). День обнаружения сперматозоидов в мазке считался нулевым днем беременности. Классификация эмбрионального материала осуществлялась по суткам внутриутробного развития.

Для изучения динамики формы, размеров нижней челюсти использовался анатомический метод исследования – остеометрия. В связи с тем, что нижняя челюсть плодов белой крысы имеет небольшие размеры, для удобства и повышения точности измерений проводилась проекционная остеометрия. Погрешность данного метода по сравнению с другими методиками (непосредственной и рентгенологической проекционной остеометрией) не превышает 0,1 мм (Окушко В.Р., 1975). Все измерения производились на тотально окрашенных и просветленных препаратах (Peters P., 1977). Нижняя челюсть выделялась под бинокулярной лупой, фотографировалась цифровым фотоаппаратом с применением масштабной шкалы. Измерение линейных размеров между общепринятыми краниометрическими точками (Алексеев В.П., 1964; Сперанский В.С., 1988), а также площади и объема нижней челюсти производилось с использованием аппаратно-программного комплекса Bioscan в лаборатории компьютерно-информационных технологий ЦНИЛ УО «БГМУ».

Для изготовления серийных гистологических препаратов материал фиксировался в жидкости Буэна или 12% нейтральном формалине. Серийные срезы толщиной 5–7 мкм окрашивались с помощью обзорных (гематоксилин-эозин, Ван-Гизон) и гистохимических методик. Для выявления гликозаминогликанов использовали метиленовый синий, альциановый синий, гликоген выявляли с помощью ШИК-реакции; ДНК – по методу Фельгена, РНК – галлоцианин-хромовыми квасцами (Ромейс Б., 1953; Пирс Э., 1962; Меркулов Г.А., 1969). С использованием аппаратно-программного комплекса Bioscan определялась концентрация ДНК, РНК и гликогена по их оптической плотности в хондробластах и хондроцитах мышечного хряща головки нижней челюсти.

Для изучения морфогенеза хряща в составе мышечного отростка нижней челюсти определяли объемное содержание клеток и межклеточного вещества в мышечном хряще методом точечного счета с использованием вставленной в окуляр квадратной сетки (ок.  $\times 10$ , об.  $\times 100$ ), узлы которой образуют систему точек (Ташке К., 1980). Объем выборки увеличивался до тех пор, пока коэффициент точности определения значения среднего арифметического составлял не менее 5% (Автандилов Г.Г., 1990). В каждом случае изучали не менее 30 полей зрения, что составило порядка 3000 измерений на один случай.

Для характеристики структуры клеточных популяций развивающегося хряща проводили цито- и кариометрическое исследование всего дифферона. С использованием аппаратно-программного комплекса Bioscan в составе мышечного хряща производилась обводка контура клеток и

их ядер (ок.  $\times 10$ , об.  $\times 60$ ). В одном случае измеряли не менее 50 клеток и ядер в каждом из пяти слоев мышечного хряща, что считается достаточным для получения достоверных результатов (Ташке К., 1980), рассчитывали площадь, логарифм площади, минимальный и максимальный диаметр, форм-фактор и элонгацию, поскольку именно эти параметры являются достоверными количественными критериями дифференцировки клеток (Белоусов Л.В., 1987). Всего было измерено порядка 16800 клеток и ядер различных слоев мышечного хряща в 84 выборках.

Статистическая обработка всего изученного материала осуществлялась с помощью пакета программ Excel, Statistica for Windows (Statistica 6,0). Проверка гипотез о равенстве двух средних проводилась с помощью t-критерия Стьюдента. Различия считались достоверными при значении  $p \leq 0,05$ .

Для оценки организации популяции клеток мышечного хряща, как биологической системы, проводили информационный анализ, рассчитывались информационная и относительная энтропии, а также избыточность (Леонтьев, А.С., 1996). Статистическая обработка количественных данных информационного анализа, расчет гистограмм и их информационных характеристик производились с помощью оригинальных программ на языке ПАСКАЛЬ, разработанных И.А. Мельниковым (1991, 1993) на кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии УО «Белорусский государственный медицинский университет». Достоверность различий распределений оценивалась по  $\lambda$ -критерию Колмогорова–Смирнова.

В экспериментальной части работы для моделирования врожденных аномалий развития нижней челюсти использовались рентгеновское облучение и циклофосфан, обладающие доказанным повреждающим действием, как на животных, так и на зародышей человека (Кабак С.Л., 1991; Куценко С.А., 2004; Brent, 1977; Greenaway et al., 1982). Выбор дозы воздействия определялся необходимостью вызвать максимальный тератогенный эффект и получить весь спектр врожденных аномалий нижней челюсти. Основываясь на данных литературы (Kalter, 1968; Brent, 1977; Greenaway et al., 1982.) и собственных поисковых экспериментах, таковой является доза 2,5 Гр для рентгеновского облучения и 20 мг/кг для циклофосфана.

Однократное облучение беременных самок белой крысы в дозе 2,5 Гр или однократное введение самкам циклофосфана (в хвостовую вену в дозе 20 мг/кг) проводилось на 12 сутки эмбриогенеза, так как именно в этот день зародыши проявляют повышенную чувствительность к

действию тератогенов (Лепехина, Л.М, 1972). Животные содержались в одинаковых условиях и получали идентичный рацион питания. Выведение животных экспериментальной и контрольной групп из опыта осуществлялось путем их декапитации после эфирного наркоза на 18 и 20 сутки беременности. Морфометрические и гистохимические методы изучения нижней челюсти плодов, подвергшихся действию тератогенов, осуществлялись теми же способами, что и при изучении височно-нижнечелюстного сустава в норме.

Эксперимент выполнен в соответствии с правилами работы с лабораторными животными, с учетом принципов Всемирного общества защиты животных (WSPA) (Денисов С.Д., 1998).

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Закладка нижней челюсти впервые выявляется у зародышей белой крысы на 14 сутки пренатального онтогенеза в средней части нижнечелюстных отростков и представлена скоплением мезенхимных клеток вокруг волокон нижнего альвеолярного нерва.

Первичный центр минерализации тела нижней челюсти выявляется на 15 сутки эмбриогенеза на латеральной поверхности меккелева хряща, дорсальнее от закладки резца, в месте бифуркации нижнего альвеолярного нерва на подбородочную и резцовую ветви (область будущего подбородочного отверстия). У зародышей человека (5–6 неделя эмбриогенеза) первые участки окостенения в закладке нижней челюсти также выявляются в области подбородочного отверстия (Григорьян А.С., 1975; Nabib H., 2005). Судя по месту локализации центра, его можно считать гомологом зубной кости филогенетических предков млекопитающих. Изучение просветленных препаратов позволило убедиться в том, что формирование тела нижней челюсти происходит из одного центра. Еще одним подтверждением этого является радиальная ориентация костных балок, направление которых совпадает с ходом образующихся вокруг нижней челюсти мышечных волокон. Отсутствие вторичных центров костеобразования у зародышей белой крысы свидетельствует о том, что в процессе эволюции остальные покровные кости (пластинчатые, угловая, надугловая, пресочленовная и др.) полностью редуцируются и не входят у млекопитающих в состав нижней челюсти (Ромер А., 1992). В последующем от первичного центра минерализации процесс костеобразования распространяется одновременно в вентральном и дорсальном направлениях, а также кверху и книзу от меккелева хряща. Постепенно костные балки окружают меккелев хрящ и

нижнечелюстной нерв сверху и снизу. Часть зубной пластинки, из которой будут развиваться моляры, является механическим препятствием для образования костной ткани, в связи с чем увеличение размеров закладки в медиальную и латеральную стороны практически не происходит.

До настоящего времени не прекращаются дискуссии о роли меккелева хряща в морфогенезе нижней челюсти как кости. По нашим наблюдениям передняя часть меккелева хряща, названная Bhaskar S.N. (1953) ростральным отростком, у крысы, сохраняется на протяжении всего внутриутробного периода развития. За счет пролиферативной активности хондроцитов этого отростка, а также секреции ими межклеточного матрикса, осуществляется рост нижней челюсти в переднем и поперечном направлениях, в результате чего увеличивается расстояние между двумя половинами челюсти. Наши наблюдения подтверждают исследования Rojas et al. (1996), которые установили, что у кошки, из-за слабо выраженного симфиза, передняя часть меккелева хряща рано подвергается эндохондральному окостенению. В то же время у зародышей овцы этого не происходит и рост хряща в мезиальном направлении приводит к значительному увеличению поперечных размеров закладки.

На 20 сутки пренатального онтогенеза меккелев хрящ в промежутке между зачатками резца и первого моляра уже не выявляется, но сохраняется на уровне закладок коренных зубов. В средней части меккелева хряща признаки минерализации не обнаруживаются. По нашим наблюдениям, редукция меккелева хряща ниже закладок коренных зубов начинается с атрофии надхрящницы. У новорожденных на стороне, обращенной к закладке зубов и сосудисто-нервному пучку, она отсутствует. В результате уменьшения объема меккелева хряща вокруг него формируется полость, размер которой с возрастом увеличивается. В некоторых хрящевых клетках ядра фрагментированы, а фрагменты, содержащие плотные массы хроматина, окружены мембраной – признаки, характерные для апоптозных телец (Афанасьев Ю.И., 2002). Редукцию меккелева хряща в этой зоне провоцируют процессы гисто- и органогенеза в закладках коренных зубов, которые сопровождаются активной васкуляризацией и иннервацией. По нашим наблюдениям, средняя часть меккелева хряща у белой крысы редуцируется в течение первой недели постнатального онтогенеза, а его место, ниже зубных альвеол коренных зубов, занимает нижний альвеолярный нерв. Таким образом, можно утверждать, что на месте редуцированной средней части меккелева хряща формируется канал нижней челюсти.

Судьба задней части меккелева хряща у человека и животных хорошо изучена. В соответствии с общепринятой точкой зрения (Richany et al., 1956), производными этой части меккелева хряща являются две слуховые косточки среднего уха – молоточек и наковальня (Быков В.Л., 1996). Однако, в соответствии с гипотезой Reichert (цитата по de Beer, 1985), только молоточек является гомологом меккелева хряща, так как формируется из сочленовной кости по мере утраты функции первичного челюстного сустава (Ромер А., 1992). Другой компонент этого сочленения – квадратная кость – трансформируется в наковальню (Ромер А., 1992; Черепанов Г.О., 2007).

У 17 суточных зародышей белой крысы у заднего края первичного центра окостенения, на месте будущих отростков, определяются участки хрящевой ткани. Использование в работе гистохимических методик позволило подтвердить имеющиеся в литературе сведения, о том, что хрящи в составе мышцелкового, углового и венечного отростков нижней челюсти белой крысы являются, в отличие от меккелева хряща, вторичными.

Мыщелковый отросток 17-суточных зародышей целиком состоит из хрящевой ткани. В последующем его часть, прилежащая к телу нижней челюсти, замещается костной тканью путем непрямого остеогенеза, однако это не сопровождается снижением объема хрящевой части мышцелкового отростка. К рождению объем хряща в мышцелке увеличивается более чем в полтора раза. При этом практически неизменным остается соотношение между удельным объемом клеток и межклеточного вещества. Представленные данные свидетельствуют о преобладании в период внутриутробного развития аппозиционного роста мышцелкового хряща над его интерстициальным ростом. В нашем исследовании частые фигуры митоза мы наблюдали в слое полиморфных клеток хряща и не встречали их в слоях гипертрофированных хондроцитов. На основании чего полагаем, что увеличение объема хряща в составе мышцелкового отростка происходит за счет пролиферации хондробластов и гипертрофии хондроцитов. В возрастном интервале от 18 суток до рождения длина мышцелкового отростка увеличивается в 1,2 раза, а проекционная площадь – в 2,7 раз.

Таким образом, на ранних этапах эмбриогенеза существенную роль в продольном росте нижней челюсти играет роstralный отросток, а в дальнейшем, с 18 суток эмбриогенеза – мышцелковый отросток. Хрящевая ткань в составе этих отростков, а также в венечном и угловом замещается костной тканью путем непрямого остеогенеза. Наблюдаемая при этом

морфологическая картина аналогична эндохондральному остеогенезу в трубчатых костях плодов белой крысы и человека.

Проведенная морфометрия развивающейся нижней челюсти на просветленных препаратах позволила выявить закономерности изменения ее размеров на протяжении пренатального периода развития крысы. Размеры всех изученных параметров челюсти находятся в прямой зависимости от возраста плода. Быстрее всего во внутриутробном периоде развития увеличиваются: угловая высота ( $p \leq 0,01$ ), высота ветви ( $p \leq 0,01$ ), длина мышцелкового отростка ( $p \leq 0,01$ ), а также мышцелковая ширина ( $p \leq 0,01$ ). В возрастном интервале от 18 суток гестации до новорожденных животных темпы прироста этих линейных показателей составляют 92, 85, 80, 74% соответственно. Для сравнения, передняя высота тела увеличивается всего на 20%. Прирост проекционной длины от мышцелков в этом же возрастном интервале составляет 71%, в то время как проекционная длина от углов возрастает на 19%. Все это указывает на более интенсивный рост в конце внутриутробного периода ветви нижней челюсти. Величина угла нижней челюсти и нижнечелюстной широтно-продольный индекс изменяются незначительно. При этом с увеличением возраста зародышей отмечается тенденция к увеличению угла и снижению широтно-продольного индекса. У плодов белой крысы величина угла нижней челюсти колеблется в пределах от 151 до 160°. При сопоставлении основных параметров нижней челюсти новорожденной белой крысы и взрослого животного можно сделать вывод, что основные пропорции кости, характерные для взрослой особи, формируются уже к концу внутриутробного периода развития.

Эмбриональное развитие височно-нижнечелюстного сустава отражает филогенез лицевого скелета. У плодов белой крысы височно-нижнечелюстной сустав как прерывное соединение костей черепа начинает формироваться с 18 суток эмбриогенеза. К этому времени большинство других синовиальных соединений уже сформировано и в них, в частности в суставах конечностей, осуществляются внутриутробные движения. Сходные временные соотношения наблюдаются у человека: височно-нижнечелюстной сустав формируется на 12 неделе эмбриогенеза (Юршан К.К., 1973; Shen G., 2005), при этом отдельные структурные компоненты сочленения приобретают характерные черты у 14-недельных плодов (Паникаровский В.В., 1988), в то время когда большинство суставов сформировано уже в 7–9-недельном возрасте. Это можно объяснить тем, что височно-нижнечелюстной сустав в филогенезе появляется позже большинства других суставов. Суставные поверхности большинства суставов образуются из общей закладки и сохраняются на

неизменном расстоянии относительно друг друга от момента появления до завершения образования суставной щели. Эмбриональное развитие височно-нижнечелюстного сустава предопределяется аппозиционным ростом мышцелкового отростка челюсти. Первоначально мышцелок и суставная ямка височной кости располагаются на значительном расстоянии друг от друга. По мере увеличения размеров мышцелкового отростка расстояние между ними сокращается. Важным этапом развития суставов является образование суставной полости. Расщепление тканей, свидетельствующее о начале формирования суставной щели, обнаруживалось нами в нижнем этаже сустава у 18 суточных плодов белой крысы, а в верхнем этаже – на 21 сутки эмбриогенеза. Наши данные о появлении первых признаков образования суставной щели в нижнем этаже сустава соответствуют сведениям, полученным Radlanski et al., (1999), которые изучали эмбриональное развитие сустава у зародышей человека.

До настоящего момента нет однозначного представления о строении мышцелкового хряща нижней челюсти (Криштаб С.И., 1975; Губайдуллин И.Р., 1995; Luder H.U., 1988; Marchi F., 1991; Ben Ami, 1992; Shen G., 2005; Nabib H., 2005). В ходе нашего исследования мы пришли к выводу, что более точно отражает особенности морфологии мышцелкового хряща классификация, использованная Luder H.U. (1988) и Marchi F. (1991).

Нами установлено, что в центральной части мышцелкового хряща у плодов белой крысы с 18 суток эмбриогенеза хорошо выражены следующие слои: суставной (содержит коллагеновые фибриллы и малодифференцированные клетки), полиморфных клеток (представлен клетками полигональной формы, между которыми располагается небольшое количество межклеточного вещества), слой уплощенных клеток (образован клетками веретеновидной формы с крупными ядрами, округлой или овальной формы), верхний и нижний слои гипертрофированных хондроцитов (образованы клетками округлой формы). По мере приближения к костной ткани мышцелкового отростка в хрящевых клетках становятся более заметны деструктивные изменения. Клетки слабо окрашиваются, содержат в цитоплазме большие вакуоли. Разрушается цитоплазма, сморщиваются и пикнотизируются ядра. Вблизи фронта оссификации во многих клеточных капсулах видны лишь остатки разрушенных хондроцитов. От подлежащей кости в лакуны, образовавшиеся на месте погибших хондроцитов, врастают кровеносные сосуды. Морфологические изменения в нижнем слое мышцелкового хряща схожи с таковыми в процессе непрямого остеогенеза в трубчатых костях.

Однако в хряще мышелка нижней челюсти отсутствует зона столбчатого хряща (зона монетных столбиков), характерная для эпифизарных хрящей. В процессе дифференцировки хрящевых клеток увеличивается объем межклеточного вещества, в то время как доля клеток уменьшается.

Суставные поверхности височно-нижнечелюстного сустава покрыты фиброзной тканью. Головка нижней челюсти представлена гиалиновым хрящом и покрыта надхрящницей, образованной плотной волокнистой соединительной тканью. Сходное строение мышелка нижней челюсти отмечено у плодов мышей (Silbermann M., 1997) и у крыс в постнатальном онтогенезе (Luder H.U., 1988; Marchi F., 1991; Shen G., 2005), у плодов 11–27 недель (Юршан К.К., 1973; Паникаровский В.В., 1988; Ben-Ami Y., 1993) и новорожденных человека (Алтунян М.О., 1974). Указания на фиброзно-хрящевое покрытие суставных поверхностей головки нижней челюсти и нижнечелюстной ямки имеются в работах авторов (Губайдуллин И.Р., 1995; Тревелл Дж., 1989), изучающих этот сустав у человека.

Таким образом, внутриутробное развитие височно-нижнечелюстного сустава белой крысы отличается от морфогенеза большинства синовиальных суставов и, в то же время, имеет сходство с эмбриогенезом аналогичного сочленения у человека.

Изучение развития нижней челюсти и височно-нижнечелюстного сустава у плодов экспериментальных групп позволило подтвердить предположения о том, что воздействие сходных по механизмам первичного повреждающего действия тератогенов, обладающих цитотоксическим и цитостатическим эффектом на малодифференцированные клетки, приводит к аналогичным аномалиям развития.

У всех изученных экспериментальных животных отмечается отставание темпов роста нижней челюсти по сравнению с контрольными животными. У 18-суточных плодов наблюдается выраженная гипоплазия тела и, особенно, ветви нижней челюсти. Отростки недоразвиты и деформированы.

Рентгеновское облучение и циклофосфан вызывают нарушение пролиферативной активности мезенхимных клеток в закладке челюсти, что приводит к задержке формирования и первичных и вторичных хрящей.

Нарушение хондрогенеза усугубляется замедлением процессов остеогенеза, что проявляется у 18-суточных экспериментальных плодов в меньшем, по сравнению с контрольной группой животных, количестве образовавшихся костных балок и недоразвитии альвеолярных отростков

вокруг закладок коренных зубов. Используемые тератогены угнетают пролиферативную активность эпителия ротовой полости, что приводит к нарушению гисто- и органогенеза зубов. Образующиеся зачатки зубов, особенно производные эпителия, отстают по степени дифференцировки от контроля.

Гистохимические исследования показали, что рентгеновское облучение и циклофосфан вызывают замедление процессов хондро- и остеогенеза в нижней челюсти вообще и в ее головке в частности, на что указывает более высокая оптическая плотность гликогена у экспериментальных животных, поскольку установлено, что гликоген принимает участие в обызвествлении основного вещества эмбрионального хряща (Hall В.Л., 1995).

Под влиянием тератогенных факторов в области мышцелкового хряща наблюдаются компенсаторно-приспособительные реакции, проявляющиеся в увеличении оптической плотности ДНК и, следовательно, в усилении пролиферативной активности популяции хрящевых клеток. Наиболее активно реагируют на тератогенное воздействие хрящевые клетки полиморфного и уплощенного слоев клеток мышцелкового отростка.

Тератогенное воздействие неблагоприятно сказывается на хондроцитах, что проявляется в снижении оптической плотности РНК, а значит и в снижении синтеза межклеточного матрикса, чем можно объяснить уменьшение размеров мышцелка и челюсти в целом.

Анализ информационных характеристик позволил установить сходство в реакции клеток на действие тератогенов, проявляющееся в возрастании информационной и относительной энтропий и снижении избыточности, а значит и стабильности системы в клетках мышцелкового хряща экспериментальных животных. Такая тенденция, по данным литературы (Леонтьук А.С., 1981), характерна для реакции клеток на экспериментальное воздействие.

К 20 суткам различия морфометрических показателей у плодов экспериментальных групп по сравнению с контролем уменьшаются, что можно расценивать как проявление компенсаторно-приспособительной реакции. Наблюдающееся усиление процессов хондро- и остеогенеза не обеспечивает полного восстановления структуры кости как органа. Отростки нижней челюсти остаются недоразвитыми. В ряде случаев у плодов животных, подвергнутых облучению (2 случая) и действию циклофосфана (3 случая), мы обнаружили расщелины вторичного неба. По данным литературы (Сперанский В.С., 1988; Быков В.Л., 1996), условия для образования твердого неба во многом связаны с увеличением размеров нижней челюсти, что обеспечивает возможность языку для

смещения вниз. Одновременно с этим небные отростки перемещаются из вертикального положения в горизонтальное. Обнаруженная нами гипоплазия нижней челюсти у плодов экспериментальных животных, вероятно, явилась одной из главных причин нарушения развития твердого неба.

Таким образом, морфогенез нижней челюсти и височно-нижнечелюстного сустава в пренатальном онтогенезе является сложным процессом, включающим ряд этапов, на которых осуществляются кооперативные взаимодействия между отдельными эмбриональными зачатками. Внешние воздействия на любом из этапов морфогенеза ведут к формированию аномалий развития челюсти и смежных структур головы.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

### **Основные научные результаты диссертации**

1. Каждая из двух половин нижней челюсти белой крысы развивается как покровная кость в тесной взаимосвязи с меккелевым хрящом, нервно-мышечным аппаратом и закладкой зубов. Отростки нижней челюсти образуются вне связи с меккелевым хрящом. В отличие от тела они формируются путем непрямого остеогенеза на месте вторичных хрящей, при этом ведущую роль в увеличении размеров нижней челюсти играет хрящ мышцелкового отростка.

Установлено, что передняя часть меккелева хряща, расположенная мезиальнее подбородочного отверстия, замещается костной тканью путем эндохондрального остеогенеза и в последующем интегрируется в состав тела нижней челюсти. Средняя часть меккелева хряща костной тканью не замещается, а постепенно редуцируется путем апоптоза хрящевых клеток. На месте этой части хряща образуется канал нижней челюсти, в котором лежат нижние альвеолярные артерия, вена и нерв.

Увеличение размеров челюсти происходит неравномерно. Быстрее всего во внутриутробном периоде развития увеличиваются: угловая высота, высота ветви, длина мышцелкового отростка, а также мышцелковая ширина. В возрастном интервале от 18 суток гестации до новорожденных животных темпы прироста этих показателей составляют 92, 85, 80, 74% соответственно. Для сравнения, передняя высота тела нижней челюсти увеличивается на 20%. Прирост проекционной длины от мышцелков челюсти в этом же возрастном интервале составляет 71%, в то время как проекционная длина от углов возрастает всего на 19%. Все это указывает

на интенсивный рост в конце внутриутробного периода развития ветви нижней челюсти [2, 7, 8, 9].

2. На основании гистохимических и морфометрических характеристик выделены следующие этапы формирования височно-нижнечелюстного сустава: закладка структурных компонентов сустава (15–16 сутки эмбриогенеза); дифференцировка структурных компонентов сустава (17–18 сутки эмбриогенеза); формирование полости сустава (в нижнем этаже сустава – 18–19 сутки эмбриогенеза; в верхнем этаже сустава – 21 сутки эмбриогенеза – новорожденные).

Развитие височно-нижнечелюстного сустава в эмбриогенезе происходит не из единой закладки, а в результате постепенного сближения мышелка нижней челюсти с чешуей височной кости [4, 9, 11, 13].

3. В популяции клеток мышелкового хряща с помощью цито- и кариометрических, а также гистохимических методов исследования идентифицировано несколько видов хрящевых клеток. С учетом их топографии в мышелке выделено пять слоев: суставной, слой полиморфных клеток, слой уплощенных клеток, верхний и нижний слои гипертрофированных хондроцитов. В процессе гистогенеза мышелкового хряща выявлена зависимость между уровнем дифференцировки клеток и их морфометрическими характеристиками, что позволяет рассматривать последние в качестве количественного эквивалента морфологических признаков дифференцировки хондроцитов [4, 9, 11, 12].

4. Действие тератогенных факторов (облучение, введение циклофосфана), приводит к гипоплазии нижней челюсти, которая развивается в результате снижения пролиферативной активности мезенхимных клеток, уменьшения интенсивности хондро- и остеогенеза. У 18-суточных плодов гипоплазия тела нижней челюсти сочетается с недоразвитием ее ветвей и деформацией отростков.

Последствия тератогенного воздействия наиболее выражены у экспериментальных животных в слоях полиморфных и уплощенных клеток мышелкового хряща. В них усиливается пролиферативная активность, что подтверждается увеличением оптической плотности ДНК ( $p < 0,05$ ). В слоях гипертрофированных хондроцитов наблюдается снижение оптической плотности РНК ( $p < 0,05$ ), что сопровождается снижением синтеза межклеточного матрикса. Нарушение стабильности мышелкового хряща, как биологической системы, в ответ на действие тератогенных факторов подтверждается информационными показателями. У плодов экспериментальных групп в мышелковом хряще

наблюдалось возрастание информационной и относительной энтропий и, наоборот, снижение избыточности ( $p < 0,01$ ).

К 20 суткам эмбриогенеза различия морфометрических показателей у плодов, подвергнутых действию тератогенных факторов, по сравнению с контролем, несколько нивелируются, что можно расценивать как проявление компенсаторно-приспособительной реакции и тенденции системы выйти на уровень, соответствующий данному возрастному периоду. Однако, репаративная регенерация, проявляющаяся в усилении процессов хондро- и остеогенеза, не обеспечивает полного восстановления структуры кости как органа. Отростки нижней челюсти остаются недоразвитыми, что впоследствии приводит к задержке формирования височно-нижнечелюстного сустава и нарушению сбалансированного развития всей зубочелюстной системы, одним из следствий чего также является формирование расщелин твердого неба [1, 3, 5, 6, 8, 10, 12, 13].

#### **Рекомендации по практическому использованию результатов**

Данные диссертационной работы могут быть использованы в высших учебных заведениях медицинского, биологического и ветеринарного профилей, для более углубленного изучения эмбриогенеза челюстно-лицевой области и понимания механизмов развития аномалий зубочелюстной системы.

Комплексный подход к изучению популяции хрящевых клеток в составе головки нижней челюсти с использованием цито- и кариометрии, гистохимии, количественного и информационного анализа, позволяющих оценить пролиферативную и синтетическую активность клеток, и полученные при этом новые данные могут быть использованы в клеточной трансплантологии и тканевой инженерии.

В процессе выполнения работы изготовлена коллекция серийных срезов зародышей, плодов, новорожденных белой крысы в норме и при действии тератогенных факторов, а также создан набор демонстрационных гистологических препаратов к практическим занятиям по темам: «Костная и хрящевая ткань», «Эмбриогенез челюстно-лицевой области», «Аномалии развития зубочелюстной системы».

## СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ АВТОРА

### Статьи

1. Китель, В.В. Влияние рентгеновского облучения на развитие нижней челюсти плодов белой крысы / В.В. Китель // Сборник науч. тр. Смоленской госмедакадемии к 80-летию проф. П.Ф. Степанова. – Смоленск, 2004. – С. 82–87.

2. Китель, В.В. Развитие нижней челюсти белых крыс в пренатальном и раннем постнатальном онтогенезе / В.В. Китель // Мед. журн. – 2006. – № 3. – С. 54–56.

3. Китель, В.В. Влияние циклофосфана на развитие нижней челюсти зародышей белой крысы / В.В. Китель // Актуальные проблемы морфологии : сб. тр. междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 85-летию Белорус. гос. мед. ун-та / Белорус. гос. мед. ун-т ; под ред. П.И. Пивченко. – Минск : БГМУ, 2006. – С. 71–72.

4. Китель, В.В. Эмбриогенез височно-нижнечелюстного сустава белой крысы / В.В. Китель // Мед. журн. – 2007. – № 2. – С. 54–56.

5. Китель, В.В. Моделирование врожденных аномалий развития нижней челюсти с использованием циклофосфана / В.В. Китель // Мед. журн. – 2007. – № 2. – С. 52–54.

6. Китель, В.В. Влияние тератогенных факторов на развитие нижней челюсти и височно-нижнечелюстного сустава / В.В. Китель // Актуальные проблемы медицины : сб. науч. статей Респ. науч.-практ. конф. и 19-й итоговой науч. сессии УО ГоГМУ : в 4 т. – Гомель : ГоГМУ, 2010. – Т. 2. – С. 127–128.

### Материалы конференций

7. Китель, В.В. Морфогенез нижней челюсти белой крысы / В.В. Китель // Актуальные вопросы современной медицины : материалы юбил. науч. конф., посвящ. 80-летию БГМУ : в 2 ч. / под ред. С.Л. Кабака. – Минск, 2001. – Ч. 1. – С. 193–195.

8. Китель, В.В. Линейные размеры нижней челюсти плодов белой крысы / В.В. Китель // Фундаментальные проблемы морфологии : материалы междунар. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения акад. П.Я. Герке / Белорус. гос. мед. ун-т, каф. гистологии, цитологии эмбриологии ; под ред. С.Д. Денисова, Б.А. Слуки. – Минск : БГМУ, 2004. – С. 53–56.

9. Китель, В.В. Морфогенез нижней челюсти и височно-нижнечелюстного сустава плодов белых крыс / В.В. Китель //

Морфология. – 2006. – Т. 129, № 4. – С. 63. [Материалы докл. VIII конгресса междунар. ассоциации морфологов, Орел, 15 сент. 2006. г.].

10. Китель, В.В. Моделирование врожденных аномалий развития нижней челюсти плодов белых крыс / В.В. Китель // Морфология. – 2007. – Т. 131, № 3. – С. 74. [Материалы конф., посвящ. 100-летию Л.И. Фалина].

11. Китель, В.В. Гистогенетические преобразования в процессе формирования височно-нижнечелюстного сустава белой крысы в эмбриогенезе и раннем постнатальном онтогенезе / В.В. Китель // Актуальные вопросы медицины: материалы конф., посвящ. 50-летию УО ГрГМУ / под ред. П.В. Гарелика [и др.]. – Гродно: ГрГМУ, 2008. – С. 154–155.

12. Китель, В.В. Морфометрическая характеристика популяций хрящевых клеток в составе хряща мышечного отростка нижней челюсти с основами информационного анализа / В.В. Китель // БГМУ : 90 лет в авангарде медицинской науки и практики : сб. науч. тр. / Белорус. гос. мед. ун-т ; редкол. : А.В. Сикорский [и др.]. – Минск, 2011. – Т. 1. – С. 72–73.

#### **Тезисы докладов**

13. Китель, В.В. Пролиферативная и синтетическая активность хрящевых клеток в головке нижней челюсти / В.В. Китель // Морфология. – 2004. – Т. 126, № 4. – С. 59. [Тез. докл. VII конгр. междунар. ассоциации морфологов, Казань, 16–18 сент. 2004 г.].

## РЭЗЮМЭ

### Кіцель Валянціна Ўладзіміраўна Эмбрыягенез ніжняй сківіцы і скронева-ніжнясківічнага сустава белага пацука ў норме і пры ўздзеянні тэратагенных фактараў

**Ключавыя словы:** ніжняя сківіца, скронева-ніжнясківічны сустав, мекелеў хросток, астэагенез, хондрагенез, мышчалкавы хросток, хандрабласты, хандрацыты.

**Мэта даследавання:** устанавіць заканамернасці морфагенезу ніжняй сківіцы і скронева-ніжнясківічнага сустава ў антагенезе белага пацука ў норме і пры ўздзеянні тэратагенных фактараў.

**Метады даследавання:** анатамічны (астэаметрыя), гісталагічны, гістахімічны, морфаметрычны (метад кропкавага ліку, цыта- і карыяметрыя), эксперыментальны, статыстычны.

**Вынікі даследавання і іх навізна.** Упершыню з выкарыстаннем апаратна-праграмавага комплексу Bioscan і спецыяльнай метадыкі на татальна афарбаваных і прасветленых прэпаратах праведзена морфаметрыя ніжняй сківіцы, атрыманы колькасныя параметры асобных этапаў яе морфагенезу ў норме і пры эксперыментальным уздзеянні. Выяўлены заканамернасці морфагенезу ніжняй сківіцы і скронева-ніжнясківічнага сустава ў эмбрыягенезе і раннім постнатальным антагенезе белага пацука ў норме і пры ўздзеянні тэратагенных фактараў. Упершыню ў ходзе эксперыментальнага даследавання вывучана ўздзеянне цытастатычнага прэпарата – цыклафасфану на развіццё ніжняй сківіцы і скронева-ніжнясківічнага сустава пладоў белых пацукоў. Упершыню дадзена якасная і колькасная характарыстыка анамалій развіцця ніжняй сківіцы пры ўздзеянні цыклафасфану і рэнтгенаўскага выпраменьвання, устаноўлены прычынна-выніковыя сувязі ў развіцці гіпаплазіі ніжняй сківіцы ў пладоў белага пацука.

**Рэкамендацыі па выкарыстанні.** Даныя дысертацыйнай працы могуць быць выкарыстаны ў вышэйшых навучальных установах медыцынскага, біялагічнага і ветэрынарнага профіляў, у мэтах паглыбленага вывучэння эмбрыягенезу сківічна-тваравай вобласці і разумення механізмаў развіцця анамалій зуба-сківічнай сістэмы, а таксама ў клетачнай транспланталогіі і тканкавай інжынерыі.

**Вобласць прымянення:** цыталогія, гісталогія, эмбрыялогія, біялогія, анатомія, стаматалогія.

## РЕЗЮМЕ

**Китель Валентина Владимировна**

### **Эмбриогенез нижней челюсти и височно-нижнечелюстного сустава белой крысы в норме и при действии тератогенных факторов**

**Ключевые слова:** нижняя челюсть, височно-нижнечелюстной сустав, меккелев хрящ, остеогенез, хондрогенез, мышцелковый хрящ, хондробласты, хондроциты.

**Цель исследования:** установить закономерности морфогенеза нижней челюсти и височно-нижнечелюстного сустава в онтогенезе белой крысы в норме и при воздействии тератогенных факторов.

**Методы исследования:** анатомический (остеометрия), гистологический, гистохимический, морфометрический (метод точечного счета, цито- и kariометрия), экспериментальный, статистический.

**Полученные результаты и их новизна.** Впервые с использованием аппаратно-программного комплекса Bioscan и специальной методики на тотально окрашенных и просветленных препаратах выполнена морфометрия нижней челюсти, получены количественные параметры отдельных этапов ее морфогенеза в норме и при экспериментальном воздействии. Выявлены закономерности морфогенеза нижней челюсти и височно-нижнечелюстного сустава в эмбриогенезе и раннем постнатальном онтогенезе белой крысы в норме и при действии тератогенных факторов. Впервые в ходе экспериментального исследования изучено влияние цитостатического препарата – циклофосфана на развитие нижней челюсти и височно-нижнечелюстного сустава плодов белых крыс. Впервые дана качественная и количественная характеристика аномалий развития нижней челюсти при действии циклофосфана и рентгеновского облучения, установлены причинно-следственные связи в развитии гипоплазии нижней челюсти у плодов белой крысы.

**Рекомендации по использованию.** Данные диссертационной работы могут быть использованы в высших учебных заведениях медицинского, биологического и ветеринарного профилей, для более углубленного изучения эмбриогенеза челюстно-лицевой области и понимания механизмов развития аномалий зубочелюстной системы, а также в клеточной трансплантологии и тканевой инженерии.

**Область применения:** цитология, гистология, эмбриология, биология, анатомия, стоматология.

## SUMMARY

**Kitel Valentina Vladimirovna**

### **Embryogenesis of White Rat Mandible and Temporomandibular Joint under Normal Conditions and Experimental Exposure to Teratogenic Factors**

**Key words:** mandible, temporomandibular joint, Meckel's cartilage, osteogenesis, chondrogenesis, condylar cartilage, chondroblasts, chondrocytes.

**Aim of the research:** to establish the mechanisms of mandible and temporomandibular joint morphogenesis in white rat ontogenesis under normal and experimental teratogenic conditions.

**Methods of the research:** anatomical (osteometry), histological, histochemical, morphometric (the method of point counting, cyto- and karyometry), experimental, statistical.

**The results obtained and their novelty.** For the first time, mandible morphometry has been performed by using hard and software-based complex Bioscan and a special technique of totally stained and cleared specimens. We also obtained quantitative parameters of its certain morphogenesis stages under normal conditions and in experimental exposure to teratogenic factors. Morphogenesis mechanisms of mandible and temporomandibular joint were established in embryogenesis and early post-natal ontogenesis of white rats under normal and teratogenic conditions. For the first time the effect of cytostatic preparation cyclophosphan on the white rat fetus mandible and temporomandibular joint development was studied experimentally. Qualitative and quantitative characteristics of mandible and temporomandibular joint development anomalies under the effect of cyclophosphan and X-ray irradiation were given; cause-and-effect relation in the development of mandible hypoplasia in white rat fetuses was determined.

**Recommendations on application.** The data of the given thesis may be used in higher medical, biological, and veterinary educational establishments for deeper studying maxillofacial embryogenesis and understanding the mechanisms of dentition anomalies development as well as in cell transplantology and tissue engineering.

**Field of application:** cytology, histology, embryology, biology, anatomy, dentistry.

Подписано в печать 02.10.12. Формат 60×84/16. Бумага писчая «Zoom».

Печать ризографическая. Гарнитура «Times».

Усл. печ. л. 1,16. Уч.-изд. л. 1,22. Тираж 60 экз. Заказ 691.

Издатель и полиграфическое исполнение:

учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет».

ЛИ № 02330/0494330 от 16.03.2009.

Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.