

**А. А. Нестеров<sup>1</sup>, Г. Л. Снигур<sup>2</sup>, Ю. В. Ефимов<sup>3</sup>, Д. В. Михальченко<sup>4</sup>, С. С. Сурин<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Кафедра стоматологии и челюстно-лицевой хирургии с курсом последипломного образования АГМУ;

<sup>2</sup> кафедра биологии

<sup>3</sup> кафедра хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии  
кафедра пропедевтики стоматологических заболеваний ВолгГМУ

## **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ОСТЕОНЕКРОЗА НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ**

УДК 617.52-089:616.716.4-002.4

Проведен сравнительный анализ патогистологических изменений при экспериментальном моделировании остеонекроза нижней челюсти у беспородных крыс на фоне введения золендроновой кислоты, красного фосфора и йодида фосфора (P<sub>I3</sub>). Определены оптимальные сроки проведения эксперимента по моделированию бисфосфонатных и дезоморфиновых некрозов.

*Ключевые слова: бисфосфонаты, остеонекроз, дезоморфин.*

**A. A. Nesterov, G. L. Snigur, YU. V. Yefimov, D. V. Mikhal'chenko, S. S. Surin**

## **EKSPERIMENTAL'NOYE MODELIROVANIYE OSTEONEKROZA NIZHNEY CHELYUSTI**

A comparative analysis of histopathological changes in the experimental modeling of osteonecrosis of the mandible in outbred rats on the background of the administration of zoledronic acid, red phosphorus and phosphorus iodide (PI<sub>3</sub>) was performed. The optimal terms of the experiment on modeling bisphosphonate and desomorphine necrosis were determined.

*Key words: bisphosphonates, osteonecrosis, desomorphine.*

Фосфорный некроз челюстей как специфическое заболевание рабочих, соприкасающихся с фосфором, известен с 1845 г., когда австрийским врачом Лоринсером впервые были описаны 22 случая некроза челюстей у женщин, занятых на производстве спичек в Вене. Однако активное использование в XXI веке лекарственных препаратов из группы бисфосфонатов для лечения некоторых злокачественных новообразований и остеопороза стало сопровождаться развитием некрозов челюстных костей. Известно что риск развития бисфосфонатных остеонекрозов увеличивается при наличии очагов хронической одонтогенной инфекции у пациентов [2]. В литературе встречаются сведения о механизмах нарушения ремоделирования костной ткани под воздействием золендроновой кислоты [3].

В отечественной и зарубежной литературе имеются различные варианты моделирования данной патологии с помощью введения в терапевтических дозах золендроновой кислоты [5, 6]. Остеонекрозы нижней челюсти часто встречаются у лиц с наркотической зависимостью от дезоморфина, что может быть обусловлено воздействием различных соединений фосфора. Таким образом, экспериментальное моделирование остеонекроза челюстных костей с после-

дующим гистологическим изучением патологических изменений позволит не только оптимизировать сроки эксперимента, но и выбрать наиболее эффективное вещество для его моделирования.

### **ЦЕЛЬ РАБОТЫ**

Оптимизировать методику моделирования остеонекроза челюстных костей.

### **МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ**

Экспериментальное исследование было одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ (протокол № 4 от 29.08.2018 г.). Все манипуляции с животными проводили с соблюдением международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997). На момент проведения экспериментов животные были здоровыми, изменений поведения, аппетита, режима сна и бодрствования обнаружено не было.

Беспородные половозрелые белые крысы-самцы содержались в стандартных условиях вивария кафедры биологии ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ РФ. Животные имели доступ к поилкам и кормушкам ad libitum и содержались в контролируемых условиях окружающей среды – тем-

пература воздуха в пределах 20–26°C и 30–70 % относительной влажности. В комнатах содержания животных поддерживался 12 часовой цикл освещения, в течение светового дня (совмещенный тип освещения – естественное и люминесцентное).

Животных распределялись по экспериментальным группам рандомизированно:

1. Интактный контроль (n = 8), внутрибрюшинное введение физиологического раствора NaCl в объеме эквивалентном вводимому лекарственному препарату «Зомета» в течение 3 недель.

2. Позитивный контроль (n = 12), внутрибрюшинное введение золендроновой кислоты (лекарственный препарат «Зомета»), в дозировке 66 мкг/кг в течение 3 недель.

3. Экспериментальная группа 1 (n = 12), внутрибрюшинное введение йодида фосфора (P<sub>I</sub>), в дозировке 200 мкг/кг в течение 3 недель.

4. Экспериментальная группа 2 (n = 12), внутрибрюшинное введение водной суспензии красного фосфора, в дозировке 15 мкг/кг в течение 3 недель.

На 4-й неделе эксперимента под хлоралгидратным наркозом у животных удаляли первые правые нижние моляры. Затем животных, находящихся под хлоралгидратным наркозом, выводили из эксперимента с помощью цервикальной дислокации на 5, 6, и 7-й неделе. Ткань нижней челюсти, после фиксации в 10%-м растворе нейтрального забуференного формалина (pH 7,4) в течение 24 часов, подвергали бескислотной декальцинации в растворе ЭДТА (Трилон Б). Степень деминерализации контролировали еженедельно. После завершения декальцинации материал заливали парафином, изготавливали гистологические срезы и окрашивали их гематоксилином и эозином по общепринятым гистологическим методикам [1]. Светооптическую микроскопию проводили на микроскопе «Axio imager A2» (Карл Цейсс, Германия).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Во все сроки эксперимента (5, 6 и 7-я недели) в группе интактного контроля костная ткань сохраняла нормальное гистологическое строение и была представлена преимущественно хаотично расположенными зрелыми костными балками без признаков деструкции и воспаления (рис. 1 А).

При анализе микропрепаратов на 5 неделе у животных, получавших золендроновую кислоту, были выявлены множественные участки остеобластокластической резорбции костных балок и умеренная лейкоцитарная инфильтрация с преобладанием нейтрофильных сегментоядерных гранулоцитов. В экспериментальных группах 1 и 2 отмечались схожие патогистологические изменения в виде очаговых деструктивных процессов и умеренной лейкоцитарной инфильтрации.

На 6-й неделе эксперимента в группе животных, получавших золендроновую кислоту, отмечались выраженные признаки деструкции костных балок и диффузная лейкоцитарная инфильтрация с преобладанием нейтрофильных сегментоядерных гранулоцитов. Присутствовали множественные очаги остеобластокластической резорбции костных балок (рис. 1 Б). В микропрепаратах из экспериментальной группы 1 отмечались очаговые изменения костной ткани в виде участков остеолита, единичных лакун остеобластокластической резорбции и выраженной лейкоцитарной инфильтрацией с преобладанием нейтрофильных сегментоядерных гранулоцитов (рис. 1 В). У животных экспериментальной группы 2 при гистологическом исследовании отмечались единичные очаговые изменения костной ткани в виде участков активного ремоделирования костных балок с наличием незначительной очаговой лейкоцитарной инфильтрацией с примесью нейтрофильных сегментоядерных гранулоцитов (рис. 1 Г).

На 7-й неделе эксперимента степень выраженности деструктивных и воспалительных процессов значительно уменьшалась во всех экспериментальных группах.

В исследованиях *in vitro* было установлено, что золендроновая кислота снижает кровоток в костной ткани, наиболее выраженное воздействие оказывается на костную ткань в зонах, имеющих высокую скорость резорбции и регенерации [4, 7]. Известно, что бисфосфонаты тормозят резорбцию кости путем уменьшения активности и количества остеокластов за счет влияния на их способность к адгезии, подвижности, цитологической структуры, дифференциации длительности жизни. Так же бисфосфонаты оказывают влияние на остеобласты и макрофаги. Данные проведенного экспериментального исследования согласуются с данными экспериментов по моделированию остеонекрозов челюстных костей на животных [2, 3, 5].

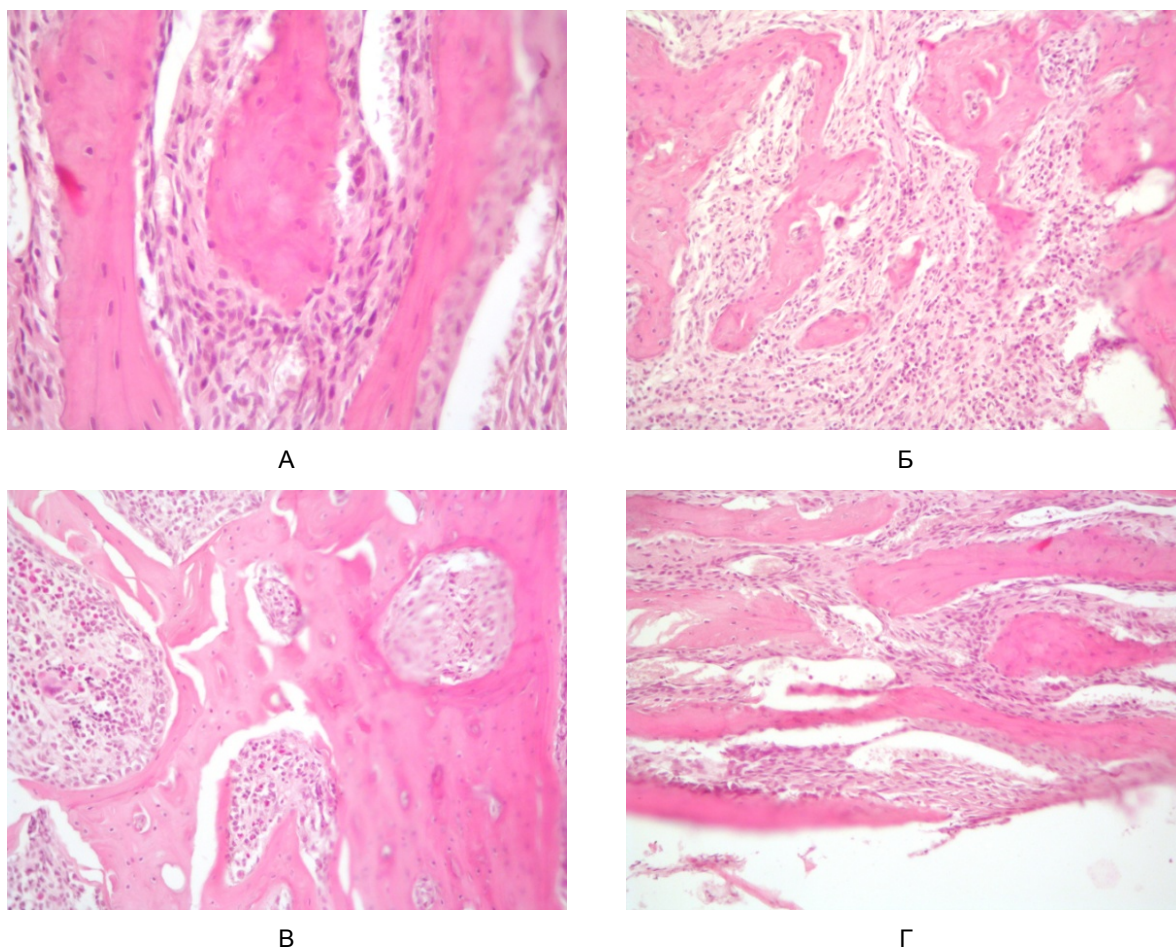


Рис. 1. А. Интактный контроль, 6 неделя. Гистологическая картина губчатой кости без признаков деструкции и воспаления. Ув.  $\times 400$ . Б. Позитивный контроль, 6-я неделя. Массивные участки деструкции костной ткани на фоне выраженной воспалительной инфильтрации. Ув.  $\times 100$ . В. Экспериментальная группа 1, введение  $PI_3$ , 6-я неделя. Участок деструкции костных балок альвеолярного отростка нижней челюсти с очаговой лейкоцитарной инфильтрацией. Ув.  $\times 400$ . Г. Экспериментальная группа 2, введение водной суспензии красного фосфора, 6-я неделя. Единичные участки перестройки костных балок, очаговая лейкоцитарная инфильтрация. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.  $\times 100$

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного эксперимента был выявлен оптимальный срок и способ моделирования остеонекроза.

Наиболее выраженные патогистологические изменения костных балок нижней челюсти отмечались в экспериментальной группе под воздействием золендроновой кислоты на 6-й неделе эксперимента.

Введение йодида фосфора ( $PI_3$ ) на 6-й неделе эксперимента вызывает патогистологические изменения схожие при введении золендроновой кислоты.

Таким образом, для моделирования бисфосфатных и дезоморфиновых остеонекрозов могут использоваться золендроновая кислота и йодид фосфора ( $PI_3$ ).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Коржевский Д. Э. Краткое изложение основ гистологической техники для врачей и лаборантов-гистологов / Д. Э. Коржевский. – СПбг, 2005. – 48 с.
2. Слевак Е. М., Цымбал А. Н. Бисфосфонатные остеонекрозы челюстей: современное состояние проблемы / Е. М. Слевак, А. Н. Цымбал. – Казанский мед. журнал. – 2017. – Т. 98, № 1, – С. 91–95.
3. Assouline-Dayana Y. [et al.] // *Semin Arthritis Rheum.* – 2002. – Vol. 32, № 2. – P. 94–124.
4. Fournier P. [et al.] // *Cancer Res.* – 2002. – Vol. 62, № 15. – P. 6538–6544.
5. Kolpakova M. E., Zubareva A. A., Artamonova T. D. [Electronic resource] // *Br J. Oral Maxillofac. Surg.* – 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjoms.2016.10.006>.
6. Fan M., Pen J., Qin L. // *Rheumatol. Int.* – 2011. – Vol. 31. – P. 983–994.
7. Merigo E. [et al.] // *Acta Biomed.* – 2006. – Vol. 77. – P. 109–117.