

DOI: 10.31116/tsitol.2018.06.09

КОРРЕКЦИЯ С ПОМОЩЬЮ ХЕЛАТООБРАЗУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ ОСТЕОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В НИЖНЕЧЕЛЮСТНОЙ КОСТИ КРЫС, ВЫЗВАННЫХ ПРИЕМОМ БИСФОСФОНАТОВ

© С. О. Мостовой,^{1,*} В. Ф. Шульгин,² М. В. Пешков³

¹ Медицинская академия им. С. И. Георгиевского Крымского федерального университета им. В. И. Вернадского, Симферополь, Республика Крым, 295051,

² Таврическая академия Крымского федерального университета им. В. И. Вернадского, Симферополь, Республика Крым, 295007, и

³ Патолого-анатомическое бюро, Таганрог, 347930;

* электронный адрес: Semem-34@yandex.ru

Изучена динамика коррекции остеосклеротических изменений в нижнечелюстных костях лабораторных белых крыс, вызванных воздействием памидроновой кислоты в дозе 63 мг/кг в течение 1 и 3 мес с последующим воздействием водного раствора трилона Б в дозе 250 мг/кг. С помощью световой микроскопии исследовали структурное состояние нижнечелюстной кости. Был применен node-strut-анализ с использованием определений, предложенных комитетом по гистоморфометрической номенклатуре Американского общества по исследованию костей и минералов, и введены четыре дополнительных функциональных показателя. Установлено, что внутрижелудочное введение трилона Б на протяжении 1 мес в дозе 250 мг/кг лабораторным белым крысам после внутрибрюшинного введения в течение 1 и 3 мес памидроновой кислоты в дозе 63 мг/кг приводит к нормализации процессов ремоделирования костной ткани нижней челюсти и активизации процессов, ведущих к нивелированию остеосклеротических изменений и инволюции зон миелофиброза.

Ключевые слова: аминокислотный бисфосфонат, остеосклероз, нижнечелюстная кость, инволюция, трилон Б.

Актуальной проблемой современной хирургической стоматологии, челюстно-лицевой хирургии и онкологии является лечение остеонекроза челюсти у пациентов, получающих терапию бисфосфонатами (Montebugno et al., 2007; Allen, Burr, 2009; Тарасенко и др., 2012). В предшествующих исследованиях на разработанной нами экспериментальной модели описаны морфологические изменения, возникающие в нижнечелюстной кости на фоне приема высоких доз аминокислотных бисфосфонатов (Мостовой и др., 2017). Эти соединения приводят к остеосклеротическим изменениям, а именно к одной из форм асептического остеонекроза, вызванного избыточным накоплением кальция в костях скелета и ангиотоксическим действием бисфосфонатов (Allen, Burr, 2009; Tardast et al., 2015). Данные нарушения соответствуют нулевой стадии течения бисфосфонатных остеонекрозов челюстей по клинической классификации (Тарасенко и др., 2012; Tardast et al., 2015; Мостовой и др., 2017).

До настоящего времени не выработано оптимальной тактики лечения пациентов с остеонекрозом челюсти, получающих терапию бисфосфонатами, следовательно, поиск эффективных методов лечения и профилактики возникновения этого заболевания у данной категории пациентов является приоритетным в этой области медицины (Тарасенко и др., 2012; Tardast et al., 2015). В этом аспекте наше внимание привлечен препарат трилон Б, явля-

ющийся хелатирующим соединением, которое используется в медицине как антидот при отравлении тяжелыми металлами и связывает кальций при различных видах кальцинозов.

Целью настоящего исследования являлось изучение морфологических изменений в нижнечелюстных костях лабораторных белых крыс, получающих хелатообразующие соединения (трилон Б), после предварительного воздействия высоких доз аминокислотных бисфосфонатов (памидроновой кислоты).

Материал и методика

Экспериментальные исследования проведены на 40 белых беспородных крысах-самцах с массой тела 150—200 г.

Животные были разделены на четыре равные группы по 10 животных в каждой. Первую и вторую группы составили животные, которым на протяжении 1 и 3 мес 1 раз в сутки внутрибрюшинно вводили памидроновую кислоту в дозе 63 мг/кг (Мостовой и др., 2017). Третью и четвертую группы составили животные, которым также на протяжении 1 и 3 мес внутрибрюшинно вводили памидроновую кислоту в дозе 63 мг/кг 1 раз в сутки. После этого им вводили внутрижелудочно 1 раз в сутки на про-

тажении 1 мес трилон Б в дозе 250 мг/кг (Bonazzi et al., 1981). Для создания равноценных условий опыта животным первой и второй групп после введения памидроновой кислоты на протяжении 1 мес 1 раз в сутки внутривенно вводили 1 мл дистиллированной воды.

Животных выводили из эксперимента на 30-е и 90-е сут путем декапитации под кетаминевым наркозом из расчета 4.4 мг/кг в соответствии с международными правилами проведения работ с экспериментальными животными (Strasbourg, 1986). Материалом для исследования служили скелетированные нижние челюсти крыс, фиксированные более 72 ч в 10%-ном нейтральном забуференном формалине, декальцинированные в 14%-ном водном растворе трилона Б, забуференном до pH 7.0 гидроксидом натрия. Контроль конечной точки декальцинации проводили с помощью гравиметрического метода (Пешков, 2012). Далее осуществляли гистологическую проводку с использованием изопропанола и минерального масла и заключали ткани в парафин (Buesa, Peshkov, 2009). Парафиновые срезы толщиной 3 мкм получали на ротационном микротоме Leica RM2245 (Германия) лезвиями Surgipath DB80LX (США). Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по Романовскому—Гимза, Массону—Голднеру и альциановым синим (pH 2.5) с иодной кислотой и реактивом Шиффа (АС+ШИК). Морфометрическое исследование проводили на компьютерном морфометрическом комплексе, в состав которого входили микроскоп Olympus CX-31 с объективами 10×, 20×, 40× и 100× и цифровая камера Olympus C5050Z (КНР).

В данной работе использованы определения, предложенные Комитетом по гистоморфометрической номенклатуре Американского общества по исследованию костей и минералов (American Society of Bone and Mineral Research Histomorphometry Nomenclature Committee) (Dempster et al., 2013). Мы определяли параметры, характеризующие собственно микроархитектонику трабекулярной кости: объем губчатого вещества (Cn-BV/TV) — содержание костного вещества между кортикальными слоями (%), толщину трабекул (Tb.Th., мкм), сепарацию трабекул (Tb.Sp., мкм) и количество трабекул (Tb.N., в пересчете на 1 мм²). Затем проводили node-strut-анализ, заключающийся в подсчете количества соединений (N.Nd.) и окончаний (N.Tm.) на площади 1 мм² (Dempster et al., 2013), расстояния между соединениями (Nd.Nd.), расстояния между окончаниями (Tm.Tm.) и расстояния от соединения до окончания (Nd.Tm.). Под соединениями понимали места разветвления трабекул, а под окончаниями — свободно расположенные концы трабекул в составе трабекулярной сети. Наряду с этим проводили оценку состояния костного вещества по следующим параметрам: BDS — процент поверхности костного вещества, подверженного некрозу, OS/BS — поверхность остеоида; процентная часть общего периметра губчатого вещества, покрытого остеоидом, а также N.Ос. — количество остеокластов на площади в 1 мм². Для оценки физиологических процессов нами были исследованы три функциональных показателя, которым мы присвоили следующие аббревиатуры: OOL (osteocytic osteolysis, остеоцитарный остеолит) — процент поверхности костного вещества, покрытого остеоцитарными лакунами с признаками литических процессов; FBM (fibrosis of the bone marrow, фиброз костного мозга) — процент поверхности костномозговой полости, подверженной фиброзу; AOS (area of osteosclerosis, площадь остеосклероза) — процент поверхности

костного вещества, подверженного склерозу (Мостовой и др., 2017). Также в этой работе нами был введен и изучен еще один функциональный показатель — NCR (non-cellular resorption, неклеточная резорбция), процент поверхности костного матрикса, подверженной неклеточной резорбции. Для суммарной оценки степени сцепленности трабекул в губчатом веществе определяли звездчатый объем костномозговых полостей V* (Vestergby, 1993). В каждом образце измерения производили в 30 полях зрения. Статистическую обработку результатов исследования на предмет выявления различий между группами проводили с использованием стандартных методов математической статистики. Вычисляли среднее арифметическое значение каждого показателя в каждой группе \bar{X} и его среднюю квадратичную ошибку $m_{\bar{X}}$. Анализ соответствия вида распределения признаков закону нормального распределения проводили с использованием критерия Шапиро—Уилка ($P \leq 0.05$). Так как распределения значений признаков в группах соответствовали нормальному распределению, значимость различий оценивали с использованием параметрического *t*-критерия Стьюдента. Различия средних значений в группах признавали значимыми для $P \leq 0.05$. Вычисления выполняли в программе STATISTICA 6.0 (StatSoft, США).

Результаты

При воздействии памидроновой кислоты у животных первой и второй групп, как и в наших более ранних исследованиях, были выявлены нарушения структурной организации костной ткани нижней челюсти, постепенно нарастающие при увеличении срока воздействия памидроновой кислоты. Эти нарушения вызваны кальцифицирующими и ангиотоксическими свойствами памидроновой кислоты, которые обусловили развитие гипоксии, протекающей на фоне блокирования остеокластического резорбционного компонента, что сместило процессы ремоделирования в сторону остеоцитарного остеолита как компенсаторного процесса. Исходом этих явлений явились процессы миелофиброза с переходом в отдельные участки на явления остеометаплазии, гиперостоза и остеосклероза. Выявленные изменения напоминали оссифицирующий остит (одна из форм асептических остео-некротических изменений, соответствующих нулевой стадии клинической классификации остео-некроза челюстей) (Тарасенко и др., 2012; Tardast et al., 2015; Мостовой и др., 2017).

В группе животных, получавших трилон Б после воздействия памидроновой кислоты в течение 1 мес (группа 3), отмечали частичную нормализацию морфологии костной ткани нижней челюсти. Отмечали снижение плотности гиперостозного трабекулярного массива за счет расширения просветов межтрабекулярных пространств.

В трабекулярной сети было отмечено увеличение количества трабекул и расстояния между ними на 14.7 и 14.68 % ($P > 0.05$) и уменьшение их толщины на 8.3 % ($P > 0.05$) по сравнению с аналогичными показателями первой группы. Результаты проведенного node-strut-анализа также подтверждают нормализацию структуры нижней челюсти. Отмечено увеличение количества соединений трабекул на 12.9 % ($P < 0.05$), расстояния между ними на 5.7 % ($P > 0.05$) и свободными окончаниями на 7.2 % ($P < 0.05$). Количество последних также увеличи-

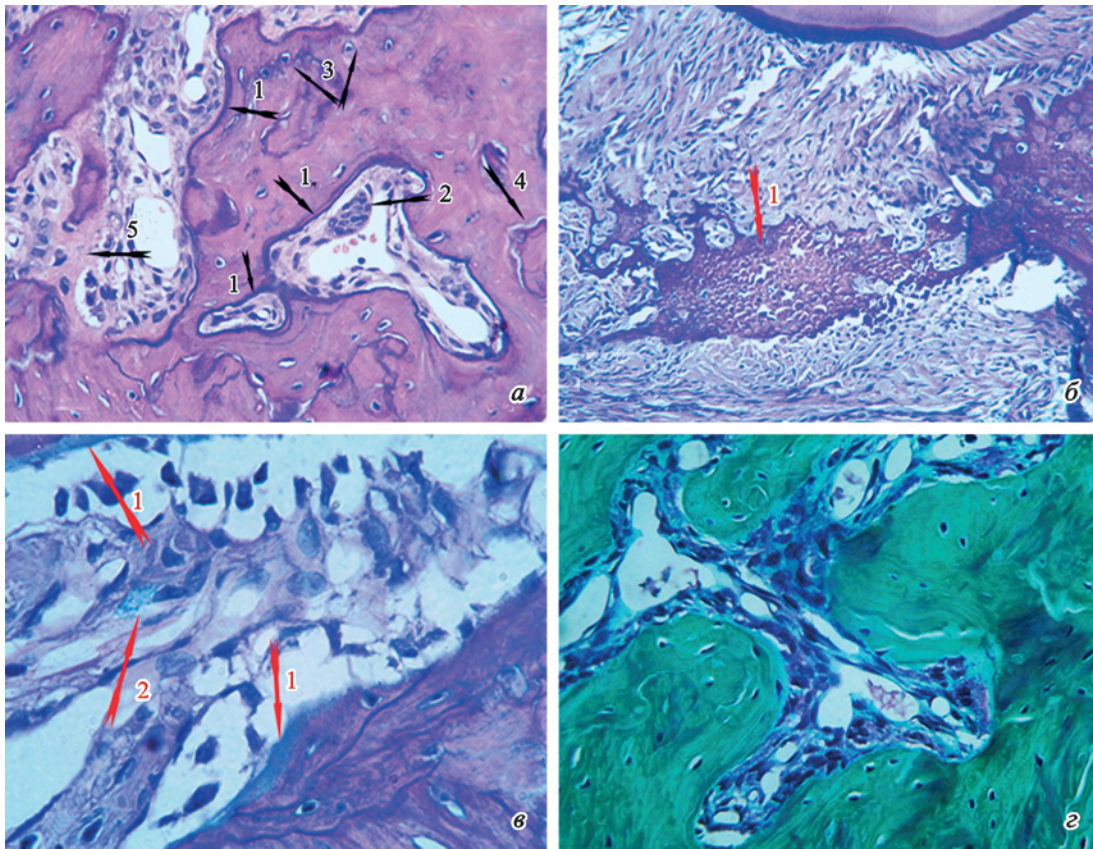


Рис. 1. Структура костной ткани нижней челюсти после 1 мес воздействия памидроновой кислоты и 1 мес терапии трилоном Б.

a — морфологические признаки сочетания механизмов ремоделирования костной ткани: базофильная кайма в участках растворения кости (1), активный остеокласт (2), остеоцитарный остеолит (3), отслоение фрагментов костного матрикса (4) и образование остеоида (5). Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 40×. *б* — остеолит участков остеосклероза (1). Окраска альциановым синим с рН 2.5 + ШИК. Увел. 20×. *в* — голубая кайма в зонах бесклеточного остеолита костного матрикса (1); накопление кислых гликозаминогликанов в участках клеточной перестройки грубоволокнистой соединительной ткани (2). Окраска альциановым синим с рН 2.5 + ШИК. Увел. 100×. *г* — обогащение сосудами и клеточными элементами волокнистого компонента костномозговых полостей. Окраска по Массону—Голднеру. Увел. 40×.

лось на 9.9 % ($P < 0.05$). Объем губчатого вещества уменьшился на 8.5 % ($P < 0.05$) (см. таблицу; рис. 1, *a*).

Выявлены ячеистые структуры, закрытые минерализующимся остеоидом и пластинчатой костью с отсутствием промежуточных состояний в виде гипертрофированных лакун с жидким белковым содержимым, оттесняющим остециты к периферии (рис. 1, *a*, *б*).

Обнаружено уменьшение общей площади остеоцитарного остеолита на 7.5 % ($P < 0.05$) и двукратное увеличение количества остеокластов, представленных в основном молодыми формами. Они располагались как в участках, примыкающих к областям остеоцитарного остеолита, так и на эндостальных поверхностях. Молодые активные остеокласты находились в лакунах Хаушипа и имели по 3—5 ядер и оксифильную окраску цитоплазмы (см. таблицу; рис. 1, *a*). Эти морфологические признаки, подтверждаемые морфометрическим исследованием, свидетельствуют о нормализации процессов ремоделирования костной ткани с участием сбалансированных клеточных механизмов резорбции.

При сохранении метакроматичной окраски костного матрикса, наиболее четко выявленной при окраске препаратов по Романовскому—Гимза, наблюдали резкое снижение интенсивности импрегнации базофильных вкраплений (обызвествленная белковая субстанция в костном веществе краевых балок и в зонах остеоцитарного остео-

лиза) (Русаков, 1959; Мостовой, 2017). Явления остеонекроза (наличие трех и более пустых остеоцитарных лакун в поле зрения и лакун с остеоцитами в состоянии кариопикноза и кариолизиса) отсутствовали. При окраске АС+ШИК костный матрикс как элемент неклеточной резорбции костного матрикса локально (по краю трабекул) окрашивался в фиолетово-синий цвет в виде узкой каймы, к которой примыкали светло-голубые полосы со стороны костномозговых пространств в отдельных участках, не содержащих остеокластов (рис. 1, *в*). В костномозговых полостях отсутствовал отек, увеличилось количество и полнокровие новообразованных сосудов. В фиброзной ткани выявляли большое количество остеобластов, очаговые скопления макрофагов, эозинофилов и фибробластов. Определялись участки разволокнения и фрагментации фиброзной ткани с наличием фиброкластоподобных клеток, цитоплазма которых при окраске АС+ШИК окрасилась в интенсивно-голубой цвет, что свидетельствовало о накоплении кислых гликозаминогликанов. Площадь фиброзной ткани, составляющей основу миелофиброза, при окраске по Массону—Голднеру уменьшилась на 26.4 % ($P < 0.05$) в сравнении с аналогичным показателем первой группы животных (см. таблицу). Описанные явления позволяют говорить о возникновении инволюционных процессов в участках миелофиброза (Серов, Шехтер, 1981).

Гистоморфометрические показатели нижней челюсти крыс из разных экспериментальных групп

Показатели	1-я группа	2-я группа	3-я группа	4-я группа
Объем губчатого вещества (Sp-BV/TV), %	53.52 ± 1.97	48.92 ± 0.52*	62.48 ± 1.9	54.42 ± 0.94**
Количество трабекул (Tb.N), ед./мм ²	5.50 ± 0.34	6.31 ± 0.13*	17.2 ± 0.63	19.5 ± 0.71**
Толщина трабекул (Tb.Th), мкм	113.47 ± 0.85	104.06 ± 1.12*	83.95 ± 2.96	73.28 ± 2.58**
Сепарация трабекул (Tb.Sp), мкм	32.86 ± 0.59	37.69 ± 0.62*	50.13 ± 1.66	55.96 ± 0.12**
Количество соединений (N.Nd), ед./мм ²	6.17 ± 0.23	6.97 ± 0.19*	8.5 ± 0.43	9.6 ± 0.23**
Количество окончаний (N.Tm), ед./мм ²	4.83 ± 0.1	5.31 ± 0.16*	11.4 ± 0.64	11.4 ± 0.64
Расстояние между соединениями (Nd.Nd), мкм	173.50 ± 0.64	183.42 ± 3.38*	351.1 ± 2.86	382 ± 4.35**
Расстояние от соединения до окончания (Nd.Tm), мкм	132.70 ± 1.01	125.8 ± 1.6*	232.7 ± 1.01	244.2 ± 3.76**
Расстояние между окончаниями (Tm.Tm), мкм	41.38 ± 0.66	44.36 ± 0.92*	64.03 ± 1.87	69.06 ± 1.23**
Фиброз костного мозга (FBM), %	23.41 ± 0.56	17.22 ± 0.32*	73.41 ± 0.54	63.33 ± 0.66**
Поверхность остеоида (OS/BS), %	13.79 ± 0.55	6.04 ± 0.27*	15.45 ± 1.43	5.74 ± 0.14**
Площадь остеонекроза (BDS), %	14.79 ± 0.59		24.85 ± 0.56	
Площадь остеосклероза (AOS), %			7.07 ± 0.33	6.31 ± 0.14**
Остеоцитарный остеолит (OOL), %	7.86 ± 0.12*	7.27 ± 0.22*	14.36 ± 0.26	12.77 ± 0.19**
Количество остеокластов (N.Oc), ед./мм ²	2.00 ± 0.42	4.30 ± 0.63*	4.5 ± 0.32	6.2 ± 0.35**
Звездчатый объем (V*), мм ³	0.00002241 ± 0.00000076	0.00002476 ± 0.00000074*	0.01154 ± 0.00025281	0.01246 ± 0.00013674**
Неклеточная резорбция (NCR), %		11.46 ± 0.52		19.64 ± 0.76***

Примечание. Данные представлены в форме $\bar{X} \pm m_{\bar{x}}$, где \bar{X} — среднее арифметическое значение, $m_{\bar{x}}$ — средняя квадратическая ошибка среднего выборочного значения. Звездочками обозначены достоверные различия показателей между группами ($P < 0.05$): * — между показателями первой и третьей групп; ** — между показателями второй и четвертой групп; *** — между показателями третьей и четвертой групп.

По краю отдельных костных балок выявляли тонкие прерывистые полосы обызвествленного остеоида. Поверхность, занимаемая остеомом, уменьшилась на 56.2 % ($P < 0.05$) (см. таблицу; рис. 1, з). Звездчатый объем в сравнении с аналогичным показателем первой группы животных увеличился на 10.5 % ($P < 0.05$) (см. таблицу).

В четвертой группе животных, получавших памидроновую кислоту в течение 3 мес и далее трилон Б в течение 1 мес, также была выявлена частичная нормализация структуры нижней челюсти (см. таблицу). Поверхность костного матрикса приобрела еще большую неоднородность. Участки со средними и крупными костномозговыми полостями перемежались с зонами уменьшающихся остеосклеротических изменений и мелкими костномозговыми полостями. Качественные изменения костного матрикса были подтверждены всеми рассчитанными морфометрическими показателями, характеризующими трабекулярный массив нижней челюсти. Отмечали увеличение количества соединений трабекул на 12.9 % ($P < 0.05$) и расстояния между ними на 8.8 %, свободных окончаний — на 11.2 % ($P < 0.05$) и расстояния от соединения до окончания — на 5 % ($P < 0.05$). Объем губчатого вещества уменьшился на 12.9 % ($P < 0.05$) (см. таблицу).

Резкое снижение метахромазии костной ткани, исчезновение базофильных вкраплений в зонах перестройки кости и уменьшение размеров базофильных фрагментов в глубине кости, замещение неполноценных участков нормальной пластинчатой костью, покрытой активными остеобластами, свидетельствовало о нормализации процессов ремоделирования (см. таблицу; рис. 2, а, б). По краю костномозговых полостей и в глубине костного матрикса

в участках интенсивной базофилии отмечено отслаивание фрагментов кости от основной массы. При окраске АС+ШИК основа таких костных фрагментов и края окрашивалась в темно-синий цвет с переходом в полосы голубого цвета со стороны костномозговых пространств. Эти участки образуются в результате преобладающих процессов внеклеточной резорбции и являются остатками лизируемой органической составляющей костной ткани (рис. 2, в) (Русаков, 1959; Серов, Шехтер, 1981).

Активность остеоцитарного остеолита снизилась на 11 % ($P < 0.05$), и как следствие уменьшилась площадь участков кости с ячеистыми структурами, заполненными минерализующимся остеомом и пластинчатой костью, составляющими основу зон остеосклероза.

По краю костных балок преобладала рыхлая волокнистая соединительная ткань с большим количеством мелких полнокровных сосудов, инфильтрацией стромы макрофагами, эозинофилами и фиброклостоподобными клетками. В участках, обогащенных сосудами, фиброзная ткань, так же как у животных второй группы, получавших памидроновую кислоту в течение 1 мес и корригирующую терапию трилоном Б, имела признаки инволюции и замещалась клетками миелоидного ряда. Ее площадь уменьшилась на 13.7 % ($P < 0.05$) в сравнении с аналогичным показателем животных второй группы (см. таблицу; рис. 2, в, з).

Фрагменты метапластической костной ткани в глубине костномозговых полостей подвергались смешанному типу остеолита. Такие фрагменты были окружены фиброзной тканью с выраженной клеточной инфильтрацией. При окраске АС+ШИК края лизирующихся фрагментов окрашивались в темно-синий цвет в виде каймы, в фиб-

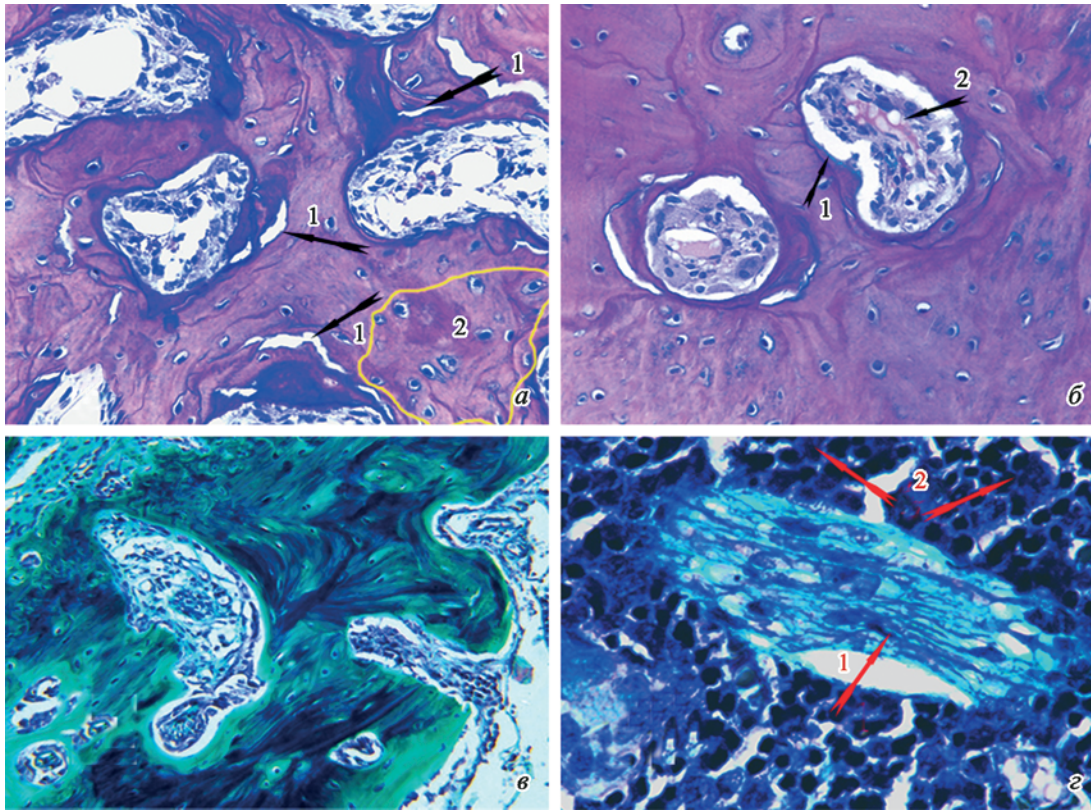


Рис. 2. Структура костной ткани нижней челюсти после 3 мес воздействия памидроновой кислоты и 1 мес терапии трилоном Б.

а — отслаивание фрагментов костного матрикса в участках интенсивной базофилии (1) и зона затухающего остеоцитарного остеолиза (2). Окраска альциановым синим с рН 2.5 + ШИК. Увел. 40×. *б* — голубая кайма в участках бесклеточного остеолиза (1) и лизис фрагмента метаплазированной кости в костномозговой лакуне (2). Окраска альциановым синим с рН 2.5 + ШИК. Увел. 40×. *в* — перестройка грубоволокнистой соединительной ткани в участках инволюции миелофиброза, обогащение клеточными элементами и новообразованными сосудами. Окраска по Массону—Голднеру. Увел. 100×. *г* — инволюция участка миелофиброза (1), клетки миелоидного ряда (2). Окраска по Массону—Голднеру. Увел. 100×.

розной ткани выявляли облаковидные участки голубого цвета в местах скопления макрофагов и фиброкластоподобных клеток. Также отмечалось наличие остеокластов в резорбционных лакунах. Количество остеокластов возросло на 37.7 % ($P < 0.05$) в основном за счет молодых активных форм с 3—5 ядрами и эозинофильной цитоплазмой.

Обсуждение

Выведение кальция из костной ткани трилоном Б при его пероральном и парентеральном поступлении в нетоксических дозах подтверждено в достаточном числе исследований (Bonazzi et al., 1981; Lanigan, Yamarik, 2002; Lamas et al., 2013; Lei et al., 2013). Получены результаты, доказывающие взаимодействие трилона Б с кальцием плазмы крови, за счет чего активируется паратгормон, запускающий механизм остеокластической резорбции, а также проявляются его свойства как кальциевого антикоагулянта, что позволяет предположить опосредованное влияние трилона Б на состояние минерального обмена кости (Goossens et al., 1991; Guldager et al., 1993; Mosayebi et al., 2010; Lei et al., 2013; Ferrero, 2016). Также описаны противовоспалительные и антиоксидантные свойства трилона Б (Ferrero, 2016). Возможность непосредственного влияния трилона Б на кристаллическую решетку гидроксипатита и растворения аморфного трикальцийфос-

фата, по нашему мнению, также имеет место, так как следы этих веществ находили в моче через 72 ч после однократного перорального введения трилона Б в используемой нами дозе (Bonazzi et al., 1981).

На основании результатов нашего исследования можно с уверенностью утверждать, что во все изученные нами сроки исследования воздействие трилона Б приводит к частичной нормализации структуры нижнечелюстной кости. Однако степень выраженности наблюдаемых нами морфологических изменений зависела от длительности воздействия памидроновой кислотой, а следовательно, и от глубины вызываемых ею структурных нарушений костной ткани.

Частично сохраненная микроциркуляция, отсутствие остеометапластических и остеосклеротических изменений, низкая выраженность явлений миелофиброза, характерные для костной ткани после воздействия памидроновой кислоты в течение 1 мес, создавали условия для более выраженного проявления фармакологических свойств трилона Б. Отсутствие явлений токсической васкулопатии, отеков, обогащение грубоволокнистой ткани сосудистым компонентом и полнокровие сосудов можно расценивать как морфологические проявления ангиопротекторных и противовоспалительных свойств исследуемого вещества. Восстановление активности остеокластов и увеличение их количества также можно отнести к морфологическим проявлениям результата взаимодействия трилона Б с кальцием плазмы и активацией паратгормона и,

как следствие, с его опосредованным влиянием на процессы ремоделирования костной ткани. Наличие по краю трабекул узкой каймы фиолетово-синего цвета, к которой примыкали светло-голубые полосы, расположенные со стороны костномозговых пространств в отдельных участках, не содержащие костнорезорбтивных клеток (окраска АС+ШИК), рассматривалось нами как элемент нектелочной резорбции костного матрикса (рис. 1, в).

Эти выявляемые качественные морфологические признаки следует рассматривать как результат последовательного растворения неорганической и органической составляющих костной ткани в ходе клеточных и нектелочных резорбционных процессов: растворение минерального компонента (базофильная кайма) и «оголение» коллагенового матрикса (полосы светло-голубого цвета) (Русаков, 1959; Серов, Шехтер 1981) (рис. 1, а—з). Описанные нами признаки нектелочной резорбции костного матрикса можно расценить как морфологические проявления двух механизмов — выброса кальция, находящегося в аморфных соединениях костной ткани за счет изменения кислотно-щелочного равновесия плазмы крови, и непосредственного взаимодействия трилона Б с кальцием решетки гидроксилатапата. Следует отметить, что в местах с сохраненной микроциркуляцией возможно сочетание действия клеточных и нектелочных механизмов резорбции костного матрикса, что не позволяло провести четкую их дифференцировку.

Морфологические преобразования, выявленные при изучении структуры нижнечелюстной кости животных после воздействия памидроновой кислоты в течение 3 мес (в том числе устранение явлений токсической васкулопатии и отеков), были явно недостаточными для полноценного проявления клеточных механизмов резорбции в нижней челюсти, деструктурированной зонами миелофиброза, остеометаплазии и остеосклероза. Эти зоны изначально характеризуются низким содержанием клеточного и сосудистого компонентов, что не позволяет в полной мере проявиться всем фармакологическим свойствам трилона Б. Поэтому выявляемые морфологические признаки резорбции костной ткани, такие как уменьшение размеров костных фрагментов в участках интенсивного осадения базофильного крапа; отслаивание фрагментов в глубине склерозированного костного матрикса, свидетельствующее об ослаблении молекулярных связей неорганического компонента кости в результате деминерализации; увеличение на 71 % ($P < 0.05$) площади полос кислых гликозаминогликанов со стороны костномозговых пространств, не содержащих клеточных элементов, в сравнении с аналогичным показателем животных третьей группы можно связать с проявлением хелатирующих свойств трилона Б.

Таким образом, использование трилона Б после 1 и 3 мес воздействия памидроновой кислоты приводило к частичной нормализации структуры костной ткани нижней челюсти в виде уменьшения части избыточно образованного костного вещества и инволюции зон миелофиброза в костномозговых пространствах. При коротких сроках воздействия памидроновой кислоты (1 мес) резорбция костной ткани осуществлялась по смешанному механизму с преобладанием клеточного остеолита, обусловленного проявлением ангиопротекторных свойств исследуемого соединения. При более длительном воздействии памидроновой кислоты (3 мес) резорбция осуществлялась с преобладанием нектелочного механизма, связанного с прямыми фармакологическими свойствами

трилона Б как хелатного соединения (взаимодействие с кальцием минерального компонента кости), что обусловлено наличием аваскулярных остеосклеротических и миелофибротических зон, затрудняющих проявление других фармакологических эффектов исследуемого корригирующего соединения.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (базовая часть государственного задания в сфере научной деятельности, проект № 3874).

Список литературы

- Мостовой С. О., Шульгин В. Ф., Пешков М. В. 2017. Патоморфологическое исследование побочных эффектов воздействия аминобисфосфонатов на нижнечелюстные кости лабораторных белых крыс. Клинический экспериментальный морфологический журнал. 1 : 41—46. (Mostovoy S. O., Shul'gin V. F., Peshkov M. V. 2017. Pathomorphological study of the side effects of aminobisphosphonates on the mandibular bones of white laboratory rats. Clin. Exp. Morphol. 1 : 41—46.)
- Пешков М. В. 2012. Декальцинация в гистологической лабораторной технике. Архив патол. 6 : 44—46. (Peshkov M. V. 2012. Decalcification in histology laboratory techniques. Arkhiv Patologii. 6 : 44—46.)
- Русаков А. В. 1959. Введение в физиологию и патологию костной ткани. В кн.: Многотомное руководство по патологической анатомии. Под ред. проф. Т. П. Виноградовой. Т. 5. М.: Медгиз. 536 с. (Rusakov A. V. 1959. Introduction to the physiology and pathology of bone tissue. Ed. Prof. T. P. Vinogradova. Vol. 5. Moscow: Medgiz. 536 p.)
- Серов В. В., Шехтер А. Б. 1981. Соединительная ткань. Функциональная морфология и общая патология. М.: Медицина. 312 с. (Serov V. V., Shekhter A. B. 1981. Connective tissue. Functional morphology and general pathology. Moscow: Medgiz. 312 p.)
- Тарасенко С. В., Дробышев А. Ю., Шипкова Т. П., Жукова Н. А. 2012. Тактика лечения больных с бисфосфонатным остеонекрозом челюстей. Рос. стоматол. 2 : 3—13. (Tarasenko S. V., Drobyshev A. Yu., Shipkova T. P., Zhukova N. A. 2012. Treatment strategy for the patients presenting with bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw. Rossiiskaya Stomatologiya. 2 : 3—13.)
- Allen M. R., Burr D. B. 2009. The pathogenesis of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: so many hypotheses, so few data. J. Oral. Maxillofac. Surg. 67 (Suppl. 5) : 61—70.
- Bonazzi P., Lanzoni J., Marcucci F., Mussini E. 1981. Pharmacokinetic studies of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) in rats. Eur. J. Drug Metab. Pharmacokin. 6 : 21—26.
- Buesa R. J., Peshkov M. V. 2009. Histology without xylene. Ann. Diagn. Pathol. 13 : 246—256.
- Dempster D. W., Compston J. E., Drezner M. K., Glorieux F. H., Kanis J. A., Malluche H., Meunier P. J., Ott S. M., Recker R. R., Parfitt A. M. 2013. Standardized nomenclature, symbols, and units for bone histomorphometry: a 2012 update of the report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. J. Bone Mineral Res. 28 : 1—16.
- Ferrero M. E. 2016. Rationale for the successful management of EDTA chelation therapy in human burden by toxic metals. Biomed. Res. Int. 2016 : 8274504.
- Goossens W., Van Duppen V., Verwilghen R. L. 1991. K2- or K3-EDTA: the anticoagulant of choice in routine haematology. Clin. Lab. Haematol. 13 : 291—295.
- Guldager B., Brixen K. T., Jørgensen S. J., Nielsen H. K., Moskilde L., Jørgensen R. 1993. Effects of intravenous EDTA treatment on serum parathyroid hormone (1—84) and biochemical markers of bone turnover. Dan. Med. Bull. 40 : 627—630.
- Lamas G. A., Goertz C., Boineau R., Mark D. B., Rozema T., Nahin R. L., Lindblad L., Lewis E. F., Drisko J., Lee K. L. TACT

Investigators. 2013. Effect of disodium EDTA chelation regimen on cardiovascular events in patients with previous myocardial infarction: the TACT randomized trial. *JAMA.* 309 : 1241—1250.

Lanigan R. S., Yamarik T. A. 2002. Final report on the safety assessment of EDTA, calcium disodium EDTA, diammonium EDTA, dipotassium EDTA, disodium EDTA, TEA-EDTA, tetrasodium EDTA, tripotassium EDTA, trisodium EDTA, HEDTA, and trisodium HEDTA. *Int. J. Toxicol.* 21 (Suppl. 2) : 95—142.

Lei Y., Sinha A., Vyavahare N. 2013. Efficacy of reversal of aortic calcification by chelating agents. *Calcif. Tissue Int.* 93 : 426—435.

Montebugnoli L., Felicetti L., Messi D., Pizzi Gallo A., Pelliccioni G., Marchetti C. 2007. Bisphosphonate associated osteonecrosis can be controlled by nonsurgical management. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 104 : 473—477.

Mosayebi G., Haghmorad D., Namaki S., Ghazavi A., Ekhtiaripour P., Mirshafiey A. 2010. Therapeutic effect of EDTA in experimental model of multiple sclerosis. *Immunopharm. Immunotoxic.* 32 : 321—326.

Tardast A., Sjomani R., Loes S., Abtahi J. 2015. Bisphosphonate associated osteomyelitis of the jaw in patients with bony exposure: prevention, a new way of thinking. *J. Appl. Oral Sci.* 23 : 310—314.

Vesterby A. 1993. Star volume in bone research. A histomorphometric analysis of trabecular bone structure using vertical sections. *Anat. Rec.* 235 : 325—334.

Поступила 5 II 2018

CORRECTION OF OSTEOSCLEROTIC CHANGES IN MANDIBLE, CAUSED BY BISPHOSPHONATES, DUE TO CHELATING AGENTS

S. O. Mostovoy,^{1,*} V. F. Shul'gin,² M. V. Peshkov³

¹ Medical Academy named after S. I. Georgievsky of V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, 295051,

² Taurida Academy of V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, 295007, and

³ Postmortem Bureau, Taganrog, 347930;

* e-mail: Semen-34@yandex.ru

Management patterns of osteosclerotic changes in mandible of laboratory white rats under one-month- and three-month use of pamidronic acid at a dose of 63 mg/kg (with Trilon B at a dose of 250 mg/kg) were researched. Structural condition of mandible was researched by applying of light microscopy. Four additional functional indices and elements of node-strut analysis with usage of indices and their abbreviations that have been proposed by Committee on histomorphometric nomenclature ASBMR were applied. It was found that intragastric introduction of Trilon B at a dose of 250 mg/kg for laboratory white rats that preliminary were treated with pamidronic acid at a dose of 63 mg/kg during 1 and 3 months lead to recovery of mandible bone remodeling. Also enhancement of processes that lead to removal of osteosclerotic changes and involution of myelofibrotic areas took place.

Key words: aminobisphosphonates, osteosclerosis, mandible, involution, trilon B.