

УДК 616-092.2

DOI: 10.24884/1682-6655-2024-23-2-84-89

А. А. ПЕТРОСЯН

Влияние накопительного эффекта золедроновой кислоты на состояние микроциркуляции в пародонте крысы

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия
Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6-8
E-mail: 89119309875@mail.ru

Статья поступила в редакцию 22.01.24 г.; принята к печати 05.04.24 г.

Резюме

Цель. Установить характер изменения реактивности микрососудов пародонта крысы в зависимости от кратности введения золедроновой кислоты. **Материал и методы.** Крысы линии Вистар (n=36) были разделены на группы по 9 крыс: группа № 1 (контрольная) – крысам 1 раз в неделю в течение 3 недель вводили 0,9 % стерильный раствор хлорида натрия; группа № 2 – крысам однократно вводили золедроновую кислоту (ЗК); группа № 3 – крысам 1 раз в неделю в течение 3 недель внутривенно вводили ЗК; группа № 4 – крысам 1 раз в неделю в течение 6 недель вводили ЗК. ЗК вводилась в дозе 0,18 мг/кг в 0,9 % стерильном растворе хлорида натрия в объеме 1 мл/кг. Определяли показатели микроциркуляции в пародонте до введения ЗК и на 3-й день после введения методами лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) и ультразвуковой высокочастотной доплерографии (УЗДГ). С помощью ацетилхолиновой пробы определяли реактивность сосудов пародонта. **Результаты.** После введения ЗК показатели реакции сосудов микроциркуляторного русла уменьшились относительно результатов, полученных до введения ЗК, у крыс групп № 3 и № 4: при исследовании методом УЗДГ максимальный прирост скорости кровотока отмечен на 2-й минуте и составил 133±8,5 и 112±7,8 % соответственно. У крыс группы № 2 прирост скорости кровотока соответствовал значению контрольной группы. При исследовании методом ЛДФ максимальные показатели притока крови были ниже, чем в контроле у крыс, которым вводили препарат в течение 3 и 6 недель соответственно. **Заключение.** Золедроновая кислота дозозависимо вызывает нарушение реакции сосудов и приводит к уменьшению эндотелийзависимой вазодилатации.

Ключевые слова: бисфосфонатный остеонекроз челюсти (БОН), микроциркуляции в пародонте, состояние кровотока в костной ткани нижней челюсти, ультразвуковая высокочастотная доплерография, лазерная доплеровская флоуметрия

Для цитирования: Петросян А. А. Влияние накопительного эффекта золедроновой кислоты на состояние микроциркуляции в пародонте крысы. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2024;23(2):84–89. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-2-84-89.

UDC 616-092.2

DOI: 10.24884/1682-6655-2024-23-2-84-89

A. L. PETROSYAN

Influence of the zoledronic acid accumulative effect on the microcirculation state in the rat periodontium

Pavlov University, Saint Petersburg, Russia
6-8, L'va Tolstogo street, Saint Petersburg, Russia, 197022
E-mail: 89119309875@mail.ru

Received 22.01.24; accepted 05.04.24

Summary

Objective. To determine the character of changes in the reactivity of rat periodontal microvessels depending on the multiplicity of zoledronic acid administration. **Material and Methods.** Wistar rats (n = 36) were divided into groups of 9 rats each. In group No. 1 (control), rats were injected with 0.9% sterile sodium chloride solution once a week for 3 weeks; in group No. 2, rats were injected once with zoledronic acid (ZA) once a week; in group No. 3, rats were injected intravenously with ZA once a week for 3 weeks; in group No. 4, rats were injected with ZA once a week for 6 weeks. ZA was administered at a dose of 0.18 mg/kg in 0.9% sterile sodium chloride solution in the volume of 1 ml/kg. The microcirculation parameters in the periodontium were determined before ZA administration and on the 3rd day after administration by laser Doppler flowmetry (LDF) and ultrasound high-frequency dopplerography (UHFD) methods. Periodontal vascular reactivity was determined using acetylcholine assay. **Results.** After ZA administration, the indices of microcirculatory vascular reactivity decreased in rats of groups No. 3 and No. 4 in comparison with the results obtained before ZA administration: at ultrasound examination the maximum increase of blood flow velocity was noted at the 2nd minute and amounted to 133±8,5, 112±7,8 %, respectively. In rats of group No. 2, the increase in blood flow velocity corresponded to the value of the control group. In LDF study, the maximal blood flow rates were lower than in the control group in rats administered the drug for 3 and 6 weeks, respectively. **Conclusion.** Zoledronic acid dose-dependently causes impaired vascular responsiveness and leads to a decrease in endothelium-dependent vasodilation.

Keywords: bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ), microcirculation in the periodontium, the state of blood flow in the bone tissue of the mandible, ultrasound high-frequency dopplerography, laser doppler flowmetry

For citation: Petrosyan A. L. Influence of the zoledronic acid accumulative effect on the microcirculation state in the rat periodontium. Regional hemodynamics and microcirculation. 2024;23(2):84–89. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-2-84-89.

Введение

Онкологические заболевания – одна из самых серьезных проблем современной медицины, которая требует постоянного внимания и исследований. Раковые заболевания ставят под угрозу жизни и здоровье миллионов людей по всему миру, и каждый год число заболевших только увеличивается [1]. Поэтому изучение причин возникновения рака, методов диагностики и лечения становится все более актуальной задачей. Поздние стадии рака зачастую характеризуются яркой клинической симптоматикой, а у 40–50 % пациентов опухоль метастазирует в кости [2].

Также существует довольно высокая распространенность онкологических осложнений, в частности развитие остеонекрозов на фоне применения препаратов группы бисфосфонатов [3].

Бисфосфонаты – ингибиторы резорбции костной ткани, используемые в онкологии для профилактики SRE (skeletal related events) у пациентов с метастазами в костях и лечения гиперкальциемии на фоне злокачественных новообразований. Единственным препаратом для профилактики SRE при солидных опухолях с доказанной эффективностью является золедроновая кислота.

Золедроновая кислота – это бисфосфонат, обладающий избирательным действием на костную ткань. Препарат, защищающий кости от потенциальных переломов и проникновения метастазов в кости при злокачественных опухолях. Этот препарат также является ингибитором костной резорбции и оказывает противоопухолевое действие: подавляет размножение и трансформацию раковых клеток и индуцирует их гибель.

Однако при нанесении травмы (удалении зуба), на фоне развития иммунодефицита, вызванного опухолью или противоопухолевым лечением, у пациентов, получающих лечение бисфосфонатами, нередко развивается бисфосфонатный остеонекроз (БОН) верхней или нижней челюсти как осложнение терапии бисфосфонатами.

Наиболее значимыми факторами, запускающими механизмы остеонекроза, считаются: наследственный фактор, нарушение метаболизма костной ткани, нарушение иммунной регуляции и избыточное воспаление, ускорение апоптоза остеобластов и остеоцитов [4]. В то же время в некоторых работах отмечается патогенетическое значение нарушения кровообращения, связанного с тромбозом сосудов, а также повреждением эндотелия [5], что приводит к нарушению кровообращения в костной ткани. Перечисленные механизмы развития остеонекроза не являются взаимоисключающими, тем более что многие из них описаны на фоне комплексного применения противоопухолевой терапии.

Поскольку золедроновая кислота имеет долгий период полувыведения из костей крысы – 150–200 дней [6],

то еженедельный режим ее введения сопровождается накоплением, а следовательно, увеличением концентрации в тканях. Ранее нами было показано, что реактивность микрососудов пародонта крысы нарушается при трехкратном введении золедроновой кислоты [7]. Однако вопрос, является ли этот эффект накопительным и зависит ли он от кратности введения ЗК, остается открытым.

Цель работы – установить характер изменения реактивности микрососудов пародонта крысы в зависимости от кратности введения золедроновой кислоты.

Материал и методы исследования

Исследование выполнено в соответствии с основными принципами доказательной медицины, изложенными в Хельсинкской декларации (принята в июне 1964 г., пересмотрена в октябре 2013 г.), и одобрено локальным этическим комитетом, выписка из протокола 03/2022 ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России от 28 марта 2022 г. Исследования проводились на крысах линии Вистар. Животные содержались при неограниченном потреблении корма и воды. Все эксперименты на животных проводились в соответствии с принципами Базельской декларации, одобрения биоэтического комитета Института и рекомендациями, используемыми при проведении работ на животных.

Все животные (n=36) были разделены на четыре группы по 9 крыс в каждой (рис. 1):

1) группа № 1 (контрольная) – крысам 1 раз в неделю в течение 3 недель вводили 0,9 % стерильный раствор хлорида натрия;

2) группа № 2 (ЗК 1 неделя) – крысам однократно вводили золедроновую кислоту (ЗК);

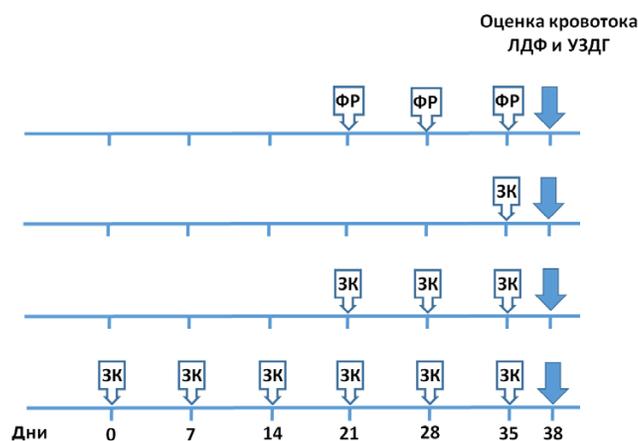


Рис. 1. Дизайн эксперимента по исследованию регионарного кровообращения в ткани пародонта у крыс: ФР – физиологический раствор, ЗК – золедроновая кислота

Fig. 1. Experimental design for the study of regional blood circulation in periodontal tissue in rats: ФР – physiological solution; ЗК – zoledronic acid

3) группа № 3 (ЗК 3 недели) – крысам 1 раз в неделю в течение 3 недель внутривенно вводили ЗК;

4) группа № 4 (ЗК 6 недель) – крысам 1 раз в неделю в течение 6 недель вводили ЗК.

Золедроновая кислота вводилась в дозе 0,18 мг/кг в 0,9 % стерильном растворе хлорида натрия. Все введения проводились внутривенно, в объеме 1 мл/кг.

Показатели микроциркуляции в пародонте определяли до введения золедроновой кислоты, а также на 3-й день после последнего введения.

Оценку микроциркуляции проводили методами Лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) и ультразвуковой высокочастотной доплерографии (УЗДГ).

УЗДГ проводили с помощью прибора «Минимакс-Доплер-К» (Санкт-Петербург, Россия) с использованием двухэлементного высокочастотного ультразвукового датчика с частотой 25 МГц. Диаметр рабочей части датчика, находящейся в непосредственном контакте с тканью, составлял 1,5 мм. Ультразвук с датчика этой частоты способен проникать в ткани на глубину до 3,5 мм [8]. Таким образом, определяли тканевую перфузию слизистой оболочки и твердых тканей нижней челюсти на глубине до 3,5 мм. Угол установки датчика к исследуемой поверхности составлял 60° для наилучшего доплеровского сигнала. Кровоток измеряли в проекции бифуркации корней зубов как с язычной, так и щечной стороны.

ЛДФ проводили на приборе BLF21 фирмы *Transonic*, США (длина волны $\lambda=780$ нм) с иглообразным датчиком 1,2 мм (ABLPHN18 тип N). Этот датчик позволяет исследовать кровоток в участке ткани площадью 1 мм², на глубине до 1 мм. Датчик устанавливали перпендикулярно поверхности слизистой оболочки до соприкосновения с ней, без давления, с помощью лабораторного штатива.

Реактивность сосудов пародонта определяли с помощью ацетилхолиновой пробы. Ацетилхолин вызывает эндотелийзависимую вазодилатацию, которая в сосудах кожи крысы связана с образованием оксида азота (NO), простаглицлина (PGI₂), эндотелиального гиперполяризующего фактора (EDHF) [9]. Для стандартизации дозы ацетилхолин наносили на слизистую оболочку десны с помощью кружков фильтровальной бумаги диаметром 6 мм. Фильтровальную бумагу смачивали 3 % раствором Ацетилхолина гидрохлорида («Ксантис Фарма Лимитед», Словацкая Республика), после чего накладывали на зону, в которой измерялась скорость кровотока. Расчетное среднее количество ацетилхолина, содержащееся в фильтровальной бумаге, составило 0,0118 мг. Время экспозиции составляло 1 мин, после этого в течение последующих 6 мин измеряли кровоток либо методом УЗДГ, либо ЛДФ и записывали показатели динамики кровотока с последующим расчетом прироста тканевой перфузии (объемного кровотока) в процентном отношении к исходному уровню. При ацетилхолинстимулированной вазодилатации сосудов слизистой оболочки пародонта у крыс с помощью методов УЗДГ и ЛДФ оценивали следующие показатели:

T_1 – время начала реакции, мин;

T_{max} – время наступления максимума реакции, мин;

A – амплитуда реакции, % от исходного уровня;

T_2 – время восстановления кровотока к исходному уровню, мин;

AUC – площадь под огибающей кривой (area under the curve) – показатель, который часто используют для суммарной оценки эффектов, изменяющихся во времени;

AUC (0–2) – площадь под огибающей кривой за 0–2 мин;

AUC (0–5) – площадь под огибающей кривой за 0–5 мин;

AUC (2–5) – площадь под огибающей кривой за 2–5 мин.

Единицы измерения AUC зависят от метода: ЛДФ – перфузионные единицы/мин, УЗДГ – мл/мин/с.

Статистическую обработку осуществляли с помощью программного обеспечения IBM SPSS Statistics 20 (США). Описательные характеристики количественных показателей представлены в виде среднего арифметического \pm среднеквадратичное отклонение ($M \pm SD$) для показателей, имеющих нормальное распределение (например, линейные размеры дефектов), или в виде медианы (Q1–Q3), где Q1 – первый квартиль (25 %) и Q3 – третий квартиль (75 %). Рассчитывали следующие гемодинамические показатели, оцениваемые методом УЗДГ: T_1 – время начала реакции, мин; T_{max} – время наступления максимума реакции, мин; A – амплитуда реакции, процент от исходного уровня; T_2 – время восстановления кровотока к исходному уровню, мин.

Кроме того, применяли расчетный показатель площади под кривой (AUC, area under curve), динамики сосудистых реакций, выраженной в процентах к исходному кровотоку в разные временные интервалы. Площади под кривой рассчитывали методом трапеций Симпсона–Ньютона.

Для линейной визуализации статистически достоверных данных были смоделированы графики в статистическом пакете программ MS Excel (*Office Professional 2016*). На графиках представлены арифметические средние показатели и 95 % доверительные интервалы.

Ненормальное распределение большинства показателей и небольшие группы животных в каждом отдельном эксперименте позволили в качестве основных использовать непараметрические критерии: для сравнения экспериментальных групп – критерий Манна–Уитни, для сравнения изменений во времени (внутри групп) – критерий Вилкоксона.

Для оценки корреляции размеров костных дефектов, представленных на компьютерных томограммах крыс, и кровотока костной ткани вышележащих гистологических слоев рассчитывали коэффициент корреляции Пирсона.

За критический уровень статистической значимости был принят $p=0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

При исследовании кровотока в пародонте крыс до начала введения золедроновой кислоты была от-

Таблица 1

Скорость кровотока, измеренная методом УЗДГ, в пародонте у крыс контрольной группы и в группах ЗК 1, 3, 6 недель

Параметр	Контрольная группа	ЗК 1 нед.			ЗК 3 нед.			ЗК 6 нед.			P						
		Т ₁ , мин	Т _{max} , мин	A _{max} , %	A ₁ (Qas), мл/с	A _{max} (Qas), мл/с	Т ₁ , мин	Т _{max} , мин	A _{max} , %	Т ₁ , мин	Т _{max} , мин	A _{max} , %	ЗК1 и К	ЗК3 и ЗК1	ЗК6 и ЗК3	ЗК3 и К	ЗК6 и К
Т ₁ , мин	0,43 (0,39–0,52)	0,48 (0,38–0,61)	0,56 (0,47–0,62)	0,62 (0,56–0,68)*	0,62 (0,56–0,68)*	0,48 (0,38–0,61)	0,56 (0,47–0,62)	0,62 (0,56–0,68)*	0,62 (0,56–0,68)*	0,48 (0,38–0,61)	0,56 (0,47–0,62)	0,62 (0,56–0,68)*	0,08	0,6	0,5	0,3	0,03*
Т _{max} , мин	2,00 (1,84–2,28)	2,01 (1,83–2,11)	2,13 (1,37–1,76)*, **	2,23 (1,41–1,66)*, ***	2,23 (1,41–1,66)*, ***	2,01 (1,83–2,11)	2,13 (1,37–1,76)*, **	2,23 (1,41–1,66)*, ***	2,23 (1,41–1,66)*, ***	2,01 (1,83–2,11)	2,13 (1,37–1,76)*, **	2,23 (1,41–1,66)*, ***	0,14	0,02**	0,07	0,01*	0,02*
A _{max} , %	142 (140–164)	142 (139–145)	133 (124–136)*, **	112 (110–121)*, ***	112 (110–121)*, ***	142 (139–145)	133 (124–136)*, **	112 (110–121)*, ***	112 (110–121)*, ***	142 (139–145)	133 (124–136)*, **	112 (110–121)*, ***	0,4	0,04**	0,03***	0,03*	0,01*
A ₁ (Qas), мл/с	1,25 (1,12–1,35)	0,9 (0,86–1,04)	0,91 (0,8–1,12)**	0,55 (0,59–0,78)*, ***	0,55 (0,59–0,78)*, ***	0,9 (0,86–1,04)	0,91 (0,8–1,12)**	0,55 (0,59–0,78)*, ***	0,55 (0,59–0,78)*, ***	0,9 (0,86–1,04)	0,91 (0,8–1,12)**	0,3	0,2	0,04***	0,08	0,04*	
A _{max} (Qas), мл/с	1,84 (1,52–1,99)	1,11 (1,04–1,44)	1,21 (1,01–1,3)	0,62 (0,57–0,88)*, ***	0,62 (0,57–0,88)*, ***	1,11 (1,04–1,44)	1,21 (1,01–1,3)	0,62 (0,57–0,88)*, ***	0,62 (0,57–0,88)*, ***	1,11 (1,04–1,44)	1,21 (1,01–1,3)	0,31	0,2	0,03***	0,3	0,02*	
Т ₁ , мин	4,02 (3,79–4,51)	4,32 (4,19–5,02)	4,31 (4,28–4,57)	4,94 (4,79–5,19)*, ***	4,94 (4,79–5,19)*, ***	4,32 (4,19–5,02)	4,31 (4,28–4,57)	4,94 (4,79–5,19)*, ***	4,94 (4,79–5,19)*, ***	4,32 (4,19–5,02)	4,31 (4,28–4,57)	0,24	0,4	0,03***	0,07	0,02*	
AUC (0–5 мин), мл·мин/с	7,86 (7,72–8,07)	7,16 (7,12–7,37)	6,63 (6,58–6,82)*, **	4,7 (3,95–4,39)*, ***	4,7 (3,95–4,39)*, ***	7,86 (7,72–8,07)	7,16 (7,12–7,37)	6,63 (6,58–6,82)*, **	4,7 (3,95–4,39)*, ***	7,86 (7,72–8,07)	7,16 (7,12–7,37)	0,2	0,02**	0,02***	0,02*	0,01*	
AUC (0–2 мин), мл·мин/с	3,85 (3,11–4,02)	3,36 (3,04–3,82)	4,02 (3,92–4,12)*, **	2,6 (2,31–2,63)*, ***	2,6 (2,31–2,63)*, ***	3,85 (3,11–4,02)	3,36 (3,04–3,82)	4,02 (3,92–4,12)*, **	2,6 (2,31–2,63)*, ***	3,85 (3,11–4,02)	3,36 (3,04–3,82)	0,71	0,02**	0,04***	0,04*	0,02*	
AUC (2–5 мин), мл·мин/с	3,75 (3,14–4,01)	3,80 (3,53–3,92)	2,61 (2,4–3,12)**	2,1 (2,08–2,18)*, ***	2,1 (2,08–2,18)*, ***	3,75 (3,14–4,01)	3,80 (3,53–3,92)	2,61 (2,4–3,12)**	2,1 (2,08–2,18)*, ***	3,75 (3,14–4,01)	3,80 (3,53–3,92)	0,5	0,03**	0,04***	0,07	0,02*	

Примечание: здесь и в таблице 2 данные представлены в виде медианы (Q1–Q3), Q1 – мин, квартиль (25 %), Q1 – max, квартиль (75 %); AUC – площадь под кривой, мл·мин/с; полужирным шрифтом выделены статистически значимые различия; * – достоверные отличия от контрольной группы; ** – достоверные отличия от группы ЗК 1 нед. (ЗК1); *** – достоверные отличия от группы ЗК 3 нед. (ЗК3); ЗК1 – группа введения золедроновой кислоты 1 раз в неделю; ЗК3 – группа введения золедроновой кислоты 1 раз в неделю 3 недели; ЗК6 – группа введения золедроновой кислоты 1 раз в неделю 6 недель; К – контрольная группа

Таблица 2

Скорость кровотока, измеренная методом ЛДФ, в пародонте у крыс контрольной группы и групп ЗК 1, 3, 6 недель

Параметр	Контрольная группа	ЗК 1 нед.			ЗК 3 нед.			ЗК 6 нед.			P					
		Т ₁ , мин	Т _{max} , мин	A _{max} , %	A ₁ (Qas), мл/с	A _{max} (Qas), мл/с	Т ₁ , мин	Т _{max} , мин	A _{max} , %	Т ₁ , мин	Т _{max} , мин	A _{max} , %	ЗК1 и К	ЗК3 и ЗК1	ЗК6 и ЗК3	ЗК3 и К
Т ₁ , мин	0,11 (0,10–0,14)	0,48 (0,38–0,61)*	0,56 (0,47–0,62)***	0,44 (0,39–0,55)*	0,44 (0,39–0,55)*	0,11 (0,10–0,14)	0,48 (0,38–0,61)*	0,56 (0,47–0,62)***	0,44 (0,39–0,55)*	0,11 (0,10–0,14)	0,48 (0,38–0,61)*	0,03*	0,4	0,5	0,02*	0,03*
Т _{max} , мин	2,04 (1,26–1,63)	2,01 (1,83–2,11)*	2,23 (2,01–2,41)*	2,33 (2,21–2,66)*, ***	2,33 (2,21–2,66)*, ***	2,04 (1,26–1,63)	2,01 (1,83–2,11)*	2,23 (2,01–2,41)*	2,33 (2,21–2,66)*, ***	2,04 (1,26–1,63)	2,01 (1,83–2,11)*	0,02*	0,03**	0,03***	0,01*	0,02*
A _{max} , %	162 (152–197)	159 (150–161)	145 (139–148)*	133 (130–138)*, **, ***	133 (130–138)*, **, ***	162 (152–197)	159 (150–161)	145 (139–148)*	133 (130–138)*, **, ***	162 (152–197)	159 (150–161)	0,31	0,04**	0,04***	0,03*	0,01*
A ₁ (Qas), мл/с	8,6 (7,86–9,24)	7,92 (7,86–8,24)	5,42 (5,28–5,62)*	6,99 (6,82–7,12)***	6,99 (6,82–7,12)***	8,6 (7,86–9,24)	7,92 (7,86–8,24)	5,42 (5,28–5,62)*	6,99 (6,82–7,12)***	8,6 (7,86–9,24)	7,92 (7,86–8,24)	0,08	0,2	0,04***	0,03*	0,06
A _{max} (Qas), мл/с	13,92 (12,02–15,6)	11,96 (9,12–11,78)*	10,96 (9,12–10,78)*	8,0 (7,8–8,12)*, ***	8,0 (7,8–8,12)*, ***	13,92 (12,02–15,6)	11,96 (9,12–11,78)*	10,96 (9,12–10,78)*	8,0 (7,8–8,12)*, ***	13,92 (12,02–15,6)	11,96 (9,12–11,78)*	0,03*	0,2	0,03***	0,02*	0,02*
Т ₁ , мин	3,23 (2,88–3,42)	3,34 (3,28–3,38)	3,91 (3,78–4,01)*, ***	3,94 (3,89–4,09)*	3,94 (3,89–4,09)*	3,23 (2,88–3,42)	3,34 (3,28–3,38)	3,91 (3,78–4,01)*, ***	3,94 (3,89–4,09)*	3,23 (2,88–3,42)	3,34 (3,28–3,38)	0,31	0,03**	0,5	0,04*	0,01*
AUC (0–5 мин), мл·мин/с	8,1 (8,05–8,4)	6,93 (6,72–7,14)	6,51 (6,22–6,74)*	5,17 (4,95–5,29)*, ***	5,17 (4,95–5,29)*, ***	8,1 (8,05–8,4)	6,93 (6,72–7,14)	6,51 (6,22–6,74)*	5,17 (4,95–5,29)*, ***	8,1 (8,05–8,4)	6,93 (6,72–7,14)	0,08	0,2	0,02***	0,03*	0,01*
AUC (0–2 мин), мл·мин/с	5,93 (5,27–6,29)	4,02 (3,92–4,12)	2,91 (2,6–3,18)*, **	2,07 (1,91–2,2)*, ***	2,07 (1,91–2,2)*, ***	5,93 (5,27–6,29)	4,02 (3,92–4,12)	2,91 (2,6–3,18)*, **	2,07 (1,91–2,2)*, ***	5,93 (5,27–6,29)	4,02 (3,92–4,12)	0,24	0,03**	0,04***	0,04*	0,02*
AUC (2–5 мин), мл·мин/с	2,17 (2,03–2,67)	2,91 (2,6–3,18)	3,61 (3,3–3,78)*, ***	3,1 (2,88–3,38)*	3,1 (2,88–3,38)*	2,17 (2,03–2,67)	2,91 (2,6–3,18)	3,61 (3,3–3,78)*, ***	3,1 (2,88–3,38)*	2,17 (2,03–2,67)	2,91 (2,6–3,18)	0,07	0,04**	0,5	0,03*	0,04*

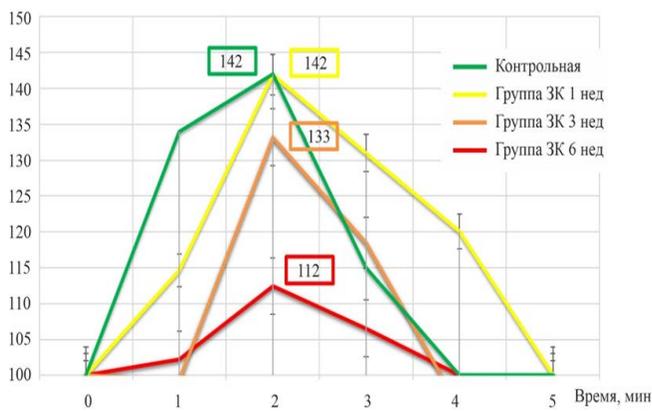


Рис. 2. Скорость кровотока, измеренная методом УЗДГ, в пародонте при аппликации ацетилхолина крысам контрольной группы и в группах ЗК 1, 3, 6 недель (процент от исходного уровня)

Fig. 2. Blood flow velocity measured by UHFDF in the periodontium during acetylcholine application to rats of the control group and in the groups of ZA 1, 3, 6 weeks old (percent of baseline)

мечена следующая реакция на аппликацию ацетилхолина: прирост скорости кровотока начинался на 1-й минуте после окончания воздействия ацетилхолина, на 2-й минуте достигал максимальных значений ($142 \pm 17\%$), после чего снижался и достигал исходного уровня к 5-й минуте.

Реакция сосудов у крыс контрольной группы в течение 3 недель на аппликацию ацетилхолина не изменилась, из чего можно сделать вывод, что введение физиологического раствора не повлияло на эндотелийзависимую вазодилатацию. После введения ЗК показатели реакции сосудов микроциркуляторного русла уменьшились у крыс двух групп, которым вводили препарат в течение 3 и 6 недель соответственно. Так, при исследовании методом УЗДГ максимальный прирост скорости кровотока отмечен также на 2-й минуте и составил $133 \pm 8,5$ и $112 \pm 7,8\%$ у крыс 3-й и 4-й групп соответственно, что достоверно ниже, чем в контрольной группе ($142 \pm 17\%$); у крыс 2-й группы (1 неделя введения ЗК) – $142 \pm 42\%$, что соответствовало значению контрольной группы (табл. 1, рис. 2). При измерении скорости кровотока методом ЛДФ максимальный приток крови был также ниже, чем в контроле у крыс, которым вводили препарат в течение 3 и 6 недель соответственно. Это достоверно ниже значений контрольной группы – $162 \pm 31,8\%$ (табл. 2, рис. 3).

Причем оба метода измерения кровотока показали максимальные нарушения реактивности сосудов при введении ЗК в течение 6 недель. Из полученных результатов видно, что однократное введение золедроновой кислоты не приводило к изменению скорости кровотока в пародонте крысы.

В настоящей работе нами была сделана попытка не только установить роль сосудистого компонента в развитии БОН, но и найти возможные пути его профилактики. Мы использовали достаточно высокую дозу ЗК ($0,18$ мг/кг в неделю), но не максимальную, описанную в литературе ($0,6$ мкг/кг в неделю [10]), и вводили ее внутривенно. Это в наибольшей степени соответствует клиническим случаям, так как именно внутривенное введение

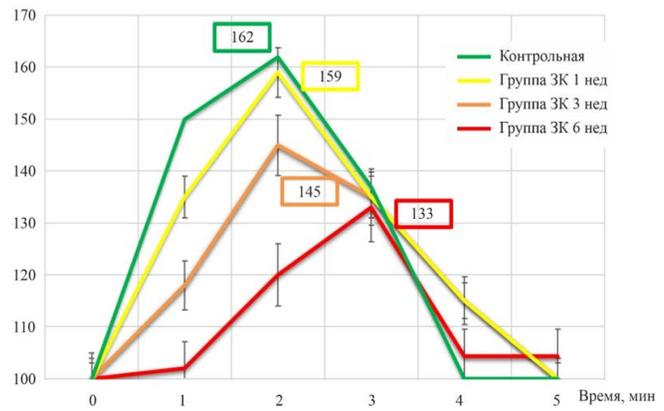


Рис. 3. Скорость кровотока, измеренная методом ЛДФ, в пародонте при аппликации ацетилхолина крысам контрольной группы и в группах ЗК 1, 3, 6 недель (процент от исходного уровня)

Fig. 3. Blood flow velocity measured by LDF method in the periodontium during acetylcholine application to rats of the control group and in the groups of ZA 1, 3, 6 weeks old (percent of baseline)

ЗК у человека сопровождается наибольшим риском развития БОН. Введение ЗК 1 раз в неделю в течение 1, 3 или 6 недель отражает не столько длительность лечения, сколько степень ее накопления в тканях крысы.

Время полувыведения ЗК из костей крысы, по данным Н. М. Weiss et al. [6], составляет 150–200 дней. Из мягких тканей, безусловно, ЗК удаляется быстрее, хотя по показателю площади под кривой (AUC) на протяжении 256 дней соотношение концентрации ЗК в тканях и в плазме крови составило 8/40. Таким образом, трех- и шестикратное введение ЗК 1 раз в неделю сопровождается ее накоплением в костной ткани, а также увеличением содержания в мягких тканях, включая стенку сосуда.

Мы оценивали состояние микроциркуляции в области интактного пародонта, то есть до нанесения травмы в виде удаления зуба. Таким образом, мы отмечали исходное состояние кровотока, который влияет как на заживление, так и на степень вторичного повреждения в зоне заживления, а следовательно, может быть напрямую связан с некрозом.

Мы получили данные, что введение ЗК дозозависимо (соответственно числу введений) влияет на состояние микроциркуляции в интактном пародонте. Ранее мы получили данные, что однократное введение ЗК не влияло на костный дефект после удаления зуба, в то время как введение ЗК в течение 3 и 6 недель сопровождалось увеличением костного дефекта, а также появлением гистологических признаков остеонекроза [11]. При этом введение ЗК в течение 6 недель приводило к максимальному повреждению. Таким образом, полученные нами данные позволяют предположить прямую связь между степенью остеонекроза и нарушением реактивности микрососудов. Наши данные подтверждаются и результатами других авторов. Так, показано, что после введения ЗК происходит нарушение кровообращения в микрососудах нижней челюсти у крысы, при этом результаты были показаны с помощью микро-КТ, то есть методом, имеющим высокую чувствительность [12]. Таким образом, наши данные

не исключают возможной ишемии и даже, скорее, подтверждают нарушение кровообращения в пародонте до удаления зуба.

Вывод

Золедроновая кислота дозозависимо вызывает нарушение реакции сосудов и приводит к уменьшению эндотелийзависимой вазодилатации. Максимальные расстройства регионарного кровообращения наблюдали при шестинедельном введении ЗК, в то время как однократное введение не сопровождалось изменением сосудистой реакции.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Автор заявил об отсутствии конфликта интересов. / Author declares that they have no conflicts of interest.

Литература / References

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2016 году. – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2017. – 236 с. [Kaprin AD, Starinskij VV, Petrova GV. *Sostoyanie onkologicheskoy pomoshchi naseleniyu Rossii v 2016 godu*. M, MNIOI im. P.A. Gercena - filial FGBU «NMIRC» Minzdrava Rossii, 2017:236. (In Russ.)]. ISBN 978-5-85502-231-5.

2. Oprea-Lager DE, Cysouw MCF, Boellaard R, Deroose CM, de Geus-Oei LF, Lopci E, Bidaut L, Herrmann K, Fournier LS, Bäuerle T, deSouza NM, Lecouvet FE. Bone Metastases Are Measurable: The Role of Whole-Body MRI and Positron Emission Tomography. *Front Oncol*. 2021;19:11:772530. Doi: 10.3389/fonc.2021.772530.

3. Остеонекроз. Часть I / Ильиных Е.В., Барскова П.И., Лидов П.И., Насонов Е.Л. // *Соврем. ревматол.* – 2013. – Т. 7, № 1. – С. 17–24. [Ilyinyh EV, Barskova PI, Nasonov EL. *Osteonekroz. Chast' I. Sovremennaya revmatologiya*. 2013;7(1):17-24. (In Russ.)]. Doi: 10.14412/1996-7012-2013-2362.

4. Andrew E, Rosenberg A, Khurana JS. Osteomyelitis and osteonecrosis. *Diagnostic Histopathology*. 2016;22(10):355–368. Doi: 10.1016/j.mpdhp.2016.09.005.

5. Роль микроциркуляторных нарушений в патогенезе бисфосфонат-ассоциированного остеонекроза / Петросян А.Л., Яременко А.И., Виноградов С.Ю., Власов Т.Д. // *Институт стоматол.* – 2023. – Т. 101, №4. – С. 96–98. [Petrosyan AL, Yaremenko AI, Vinogradov SYu, Vlasov TD. *Rol' mikrocirkulyatornyh narushenij v patogeneze bisfosfonat-associirovannogo osteonekroza*. Institut stomatologii. 2023;101(4):96-98. (In Russ.)].

6. Weiss HM, Pfaar U, Schweitzer A, Wiegand H, Skerjanec A, Schran H. Biodistribution and plasma protein binding of zoledronic acid. *Drug Metab Dispos*. 2008;36(10):2043–2049. Doi: 10.1124/dmd.108.021071.

7. Петросян А.Л., Кутукова С.И., Чефу С.Г. и др. Изменения микроциркуляции в области пародонта крыс под воздействием золедроновой кислоты // *Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова* – 2019. – Т. 105, № 4. – С. 473–480. [Petrosyan AL, Kutukova SI, Chefu SG, Kosach SA, Kosach GA, Yaremenko AI, Vlasov TD. *Changes of Microcirculation in the Periodontal Area of Rats under the Influence of Zoledronic Acid*. *Russ J Physiol*. 2019;105(4):473-480. (In Russ.)]. Doi: 10.1134/S0869813919040083.

8. Петрищев Н.Н., Менишутина М.А., Власов Т.Д. и др. Комплекс диагностики дисфункции эндотелия сосудов: патент на полезную модель № 47202. Приоритет полезной модели 12.04.2005. [Petrishhev N. N., Menshutina M. A. et al. *Kompleks diagnostiki disfunkcii jendotelija sosudov: Patent na poleznuju model' No 47202*. *Prioritet poleznoj modeli 12.04.2005*. [Complex of endothelial dysfunction diagnostics]. (In Russ.)].

9. Роль различных эндотелиальных вазодилататоров в регуляции тонуса артерий у крыс / Лобов Г.И., Васина Е.Ю., Малахова З.Л., Власов Т.Д. // *Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*. – 2018. – Т. 104, № 3. – С. 327–337. [Lobov GI, Vasina EYu, Malakhova ZL, Vlasov TD. *The role of various endothelial vasodilators in regulation of artery tonus in rats*. 2018;104(3):327-337. (In Russ.)].

10. Ersan N, van Ruijven LJ, Bronckers AL, Olgaç V, Ilgüyü D, Everts V. Teriparatide and the treatment of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a rat model. *Dentomaxillofac Radiol*. 2014;43(1):20130144. Doi: 10.1259/dmfr.20130144.

11. Kosach GA, Petrosyan AL, Yaremenko AI, Zubareva AA, Kutukova SI, Yagmurov OD, Chefu SG, Molokova VA, Ignatova VD, Kosach SA, Vlasov TD. Disorders of microcirculation in the mechanism of bisphosphonate osteonecrosis: preliminary study in rats. *Br J Oral Maxillofacial Surgery*. 2020;58(9):38-44. Doi:10.1016/j.bjoms.2020.05.030.

12. Guevarra CS, Borke JL, Stevens MR, Bisch FC, Zakhary I, Messer R, Gerlach RC, Elsalanty ME. Vascular alterations in the sprague-dawley rat mandible during intravenous bisphosphonate therapy. *J Oral Implantology*. 2015;41(2):24-29. Doi: 10.1563/AAID-JOI-D-13-00074.

Информация об авторе

Петросян Александр Львович – ассистент кафедры стоматологии хирургической и челюстно-лицевой хирургии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия, E-mail: 89119309875@mail.ru, ORCID: 0000-0002-0397-2767.

Author information

Petrosyan Aleksandr L. – Assistant, Department of Surgical Stomatology and Maxillofacial Surgery, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, E-mail: 89119309875@mail.ru, ORCID: 0000-0002-0397-2767.