

DOI: 10.18481/2077-7566-21-17-3-69-76
УДК 616.31

ОЦЕНКА МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ ПАРОДОНТА, ЧЕЛЮСТИ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ АНТИРЕЗОРБТИВНОГО ПРЕПАРАТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Косач Г. А.¹, Петросян А. Л.¹, Ойсиева К. Ш.¹, Кутукова С. И.^{1,2}, Зубарева А. А.¹, Чефу С. Г.¹, Яременко А. И.¹, Власов Т. Д.¹

¹ Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И. П. Павлова, г. Санкт-Петербург, Россия

² Городской клинический онкологический диспансер, г. Санкт-Петербург, Россия

Аннотация

Предмет. Определение влияния медикаментозных препаратов в развитии различных заболеваний является обязательным условием адекватного комплексного лечения пациентов. В настоящее время отсутствует достаточное количество данных о влиянии антиостеокластических препаратов на состояние микроциркуляторного русла.

Цель. В эксперименте на животных оценить влияние внутривенного введения деносумаба на микроциркуляцию пародонта, челюсти до и после операции удаления зуба.

Методология. Исследование проводилось на 36 крысах линии Вистар на кафедре патофизиологии с курсом клинической патофизиологии ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова. Проводилось индуцирование остеонекроза челюстей крыс посредством удаления моляра нижней челюсти. Наблюдение проводилось с диагностическими исследованиями микроциркуляции (доплерография), костной структуры (3D компьютерная томография челюстей) с последующей статистической обработкой данных.

Результаты. Выявлено, что максимальное уменьшение скорости кровотока и наибольший костный дефект определяется в группе крыс с максимальной дозировкой препарата моноклонального антитела деносумаб к сроку 4 недели, 0,5 мг/кг внутривенного введения. Также были получены данные о различии уменьшения скорости кровотока между гистологическими слоями нижней челюсти. Так, внутрикостный кровоток повреждался значительно больше, нежели слой слизистой оболочки десны.

Выводы. Комбинированный метод доплерографии позволяет определить состояние кровотока на различных гистологических слоях. Так можно определить степень влияния различных фармакологических препаратов на скорость кровотока в локальной области без инвазивных вмешательств. Изучение моноклонального антитела является острой проблемой в мире хирургической стоматологической практики, что требует дальнейшего изучения.

Ключевые слова: медикаментозно-ассоциированный остеонекроз челюсти, деносумаб, моноклональные антитела, комбинированная доплерография, деносумабовый остеонекроз

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Герман Александрович КОСАЧ ORCID ID 0000-0002-1135-4678

Аспирант кафедры стоматологии хирургической и челюстно-лицевой хирургии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И. П. Павлова, г. Санкт-Петербург, Россия
german1kosach@gmail.com

Александр Львович ПЕТРОСЯН ORCID ID 0000-0002-2269-9233

Ассистент кафедры стоматологии хирургической и челюстно-лицевой хирургии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И. П. Павлова, г. Санкт-Петербург, Россия
89119309875@mail.ru

Карина Шариповна ОЙСИЕВА ORCID ID 0000-0003-1305-8386

Студентка 5-го курса стоматологического факультета, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И. П. Павлова, г. Санкт-Петербург, Россия
koisieva@mail.ru

Светлана Игоревна КУТУКОВА ORCID ID 0000-0003-2221-4088

К. м. н., врач-онколог химиотерапевтического отделения, Городской клинический онкологический диспансер; доцент кафедры стоматологии хирургической и челюстно-лицевой хирургии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И. П. Павлова, г. Санкт-Петербург, Россия
dr.s.kutukova@gmail.com

Анна Анатольевна ЗУБАРЕВА ORCID ID 0000-0002-1156-5862

Д. м. н., профессор кафедры оториноларингологии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И. П. Павлова, г. Санкт-Петербург, Россия
a.zubareva@bk.ru

Светлана Григорьевна ЧЕФУ ORCID ID 0000-0002-9249-660X

Д. б. н., заведующая Лабораторией экспериментальных исследований, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И. П. Павлова, г. Санкт-Петербург, Россия
chefusveta@yandex.ru

Андрей Ильич ЯРЕМЕНКО ORCID ID 0000-0002-7700-7724

Д. м. н., профессор, зав. кафедрой хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, директор клиники челюстно-лицевой и пластической хирургии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И. П. Павлова, г. Санкт-Петербург, Россия
ayaremenko@me.com

Тимур Дмитриевич ВЛАСОВ ORCID ID 0000-0002-6951-7599

Д. м. н., профессор, зав. кафедрой патофизиологии с курсом клинической патофизиологии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И. П. Павлова, г. Санкт-Петербург, Россия
tvlasov@yandex.ru

Адрес для переписки: Герман Александрович КОСАЧ

195067, г. Санкт-Петербург, ул. Бестужевская, 41–70
german1kosach@gmail.com
+7 9217983244

Образец цитирования:

Косач Г. А., Петросян А. Л., Ойсиева К. Ш., Кутукова С. И., Зубарева А. А., Чефу С. Г., Яременко А. И., Власов Т. Д. ОЦЕНКА МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ ПАРОДОНТА, ЧЕЛЮСТИ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ АНТИРЕЗОРБТИВНОГО ПРЕПАРАТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ. 2021; 3: 69-76.

© Косач Г. А. и др., 2021

DOI: 10.18481/2077-7566-21-17-3-69-76

Поступила 19.09.2021. Принята к печати 26.10.2021

DOI: 10.18481/2077-7566-21-17-3-69-76

ESTIMATION OF PERIODONTAL MICROCIRCULATION, JAW AFTER INJECTION OF ANTI-RESORPTIVE DRUG IN EXPERIMENT

Kosach G.A.¹, Petrosyan A.L.¹, Oisieva K.S.¹, Kutukova S.I.^{1,2}, Zubareva A.A.¹, Chefu S.G.¹, Yaremenko A.I.¹, Vlasov T.D.¹

¹ Pavlov First State Medical University of St. Petersburg, Saint Petersburg, Russia

² City Clinical Oncological Dispensary, Saint Petersburg, Russia

Annotation

Importance. Determining the influence of different medications in the development of different diseases is a prerequisite for adequate comprehensive treatment of patients. At present, there is insufficient data on the influence of anti-osteoclastic drugs on the microcirculation, which may have an impact.

The aim. To study the effects of the monoclonal antibody denosumab on the development of osteonecrosis of the jaw of rats.

Methodology. The study was carried out on 36 Wistar Line rats in the Department of Pathophysiology with the course of clinical pathophysiology First Pavlov State Medical University. The osteonecrosis of the jaws of rats was induced by the extracted of a lower first molar. The observation was carried out with diagnostic studies of microcirculation (doppler), bone structure (3D computer tomography of jaws), followed by statistical processing of the data.

Results. It has been shown that the greatest decrease in blood flow rate and the greatest bone defect is determined in the group of rats with the maximum dose of the monoclonal antibody preparation of denosumab by the time of 4 weeks, 0.5 mg/kg intravenous administration. Also, there has been evidence of a difference in blood flow reduction between the histological layers of the lower jaw. Thus, the intrabone blood flow was damaged much more, than the layer of mucous membrane of the gum.

Conclusions. The combined method of dopplerography allows the determination of blood flow status on different histological layers. It is possible to determine the extent to which different pharmacological preparations influence the rate of blood flow in the local area without invasive interventions. The study of monoclonal antibodies is an acute problem in the world of surgical dental practice, which requires further study.

Keywords: medication-related osteonecrosis of the jaw, denosumab, monoclonal antibodies, combined doppler, denosumab osteonecrosis

The authors declare no conflict of interest.

German A. KOSACH ORCID ID 0000-0002-1135-4678

Postgraduate student, Department of Dentistry of Surgical and Maxillofacial Surgery, Pavlov First State Medical University of St. Petersburg, Saint Petersburg, Russia
german1kosach@gmail.com

Alexander L. PETROSYAN ORCID ID 0000-0002-2269-9233

Assistant, Department of Dentistry of Surgical and Maxillofacial Surgery, Pavlov First State Medical University of St. Petersburg, St. Petersburg, Russia
89119309875@mail.ru

Karina S. OISIEVA ORCID ID 0000-0003-1305-8386

5th year student, Faculty of Dentistry, Pavlov First State Medical University of St. Petersburg, Saint Petersburg, Russia
koisieva@mail.ru

Svetlana I. KUTUKOVA ORCID ID 0000-0003-2221-4088

PhD in Medical sciences, Oncologist of the Chemotherapeutic Department No. 11 of the City Clinical Oncological Dispensary; Associate Professor of the Department of Dentistry of Surgical and Maxillofacial Surgery, Pavlov First State Medical University of St. Petersburg, Saint Petersburg, Russia
drs.kutukova@gmail.com

Anna A. ZUBAREVA ORCID ID 0000-0002-1156-5862

Grand PhD in Medical sciences, Professor of the Department of Otorhinolaryngology, Pavlov First State Medical University of St. Petersburg, Saint Petersburg, Russia
a.zubareva@bk.ru

Svetlana G. CHEFU ORCID ID 0000-0002-9249-660X

Grand PhD in Biological sciences, Head of the Experimental Research Laboratory, Pavlov First State Medical University of St. Petersburg, Russia
chefusveta@yandex.ru

Andrey I. YAREMENKO ORCID ID 0000-0002-7700-7724

Grand PhD in Medical sciences, Professor, Head of the Department of Surgical Dentistry and Maxillofacial Surgery, Director of the Clinic of Maxillofacial and Plastic Surgery, Pavlov First State Medical University of St. Petersburg, Saint Petersburg, Russia
ayaremenko@me.com

Timur D. VLASOV ORCID ID 0000-0002-6951-7599

Grand PhD in Medical sciences, Professor, Head of the Department of Pathophysiology with the Course of Clinical Pathophysiology, Pavlov First State Medical University of St. Petersburg, Saint Petersburg, Russia
tvlasov@yandex.ru

Correspondence address: German A. KOSACH

195067, Saint Petersburg, Bestuzhevskaya 41-70

german1kosach@gmail.com

+7 9217983244

For citation:

Kosach G.A., Petrosyan A.L., Oisieva K.S., Kutukova S.I., Zubareva A.A., Chefu S.G., Yaremenko A.I., Vlasov T.D. ESTIMATION OF PERIODONTAL MICROCIRCULATION, JAW AFTER INJECTION OF ANTI-RESORPTIVE DRUG IN EXPERIMENT. *Actual problems in dentistry*. 2021; 3: 69-76. (In Russ.)

© Kosach G.A. et al., 2021

DOI: 10.18481/2077-7566-21-17-3-69-76

Received 19.09.2021. Accepted 26.10.2021

Введение

Медикаментозный остеонекроз челюсти (МАОНЧ) — редкое, но потенциально серьезное побочное явление, связанное с высокими кумулятивными дозами бисфосфонатов или деносуаба. Остеонекроз можно определить как обнаженный участок кости или кость, которую можно прощупать через интраоральный или экстраоральный свищ в челюстно-лицевой области, сохраняющийся более 8 недель [1]. Антирезорбтивная терапия, включающая бисфосфонаты и деносуаб, повышает минеральную плотность костной ткани (МПКТ) и снижает риск переломов на 20–70% [3]. При подкожном введении 60 мг деносуаба каждые 6 месяцев отмечается снижение развития риска переломов у женщин с постменопаузальным остеопорозом. Через 3 года наблюдается снижение частоты появления новых переломов позвоночника на 68%. Частота невертебральных переломов снижается на 20%, а переломов бедра — на 40% [4].

Деносуаб представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело, которое обладает высокой аффинностью и специфичностью к лиганду рецептора активатора ядерного фактора каппа В (RANKL), что препятствует активации единственного рецептора RANKL — активатора ядерного фактора кВ (RANK). Таким образом, ингибирование образования, активации и продолжительности существования остеокластов связано с претотвращением взаимодействия RANKL/RANK [2, 5, 12, 14, 18, 20, 21].

По разным современным источникам, частота возникновения остеонекроза челюсти на фоне приема деносуаба варьирует от 1–18,6%, в основном, в полости онкологических пациентов [9, 10, 16]. В одном из исследований было обследовано 63 пациента с диагностированным остеонекротическим поражением костной ткани челюстей (МАОНЧ). Средний возраст пациентов составил 70 ± 9 лет. Очаги остеонекроза преимущественно располагались на нижней челюсти (63,5%) [11, 17]. Наиболее распространенным предшествующим фактором является операция удаления зуба (55,6%) [6]. По результатам исследования, было отмечено увеличение некротической кости, пустые лакуны с уменьшением количества остеоцитов. При исследовании лунок удаленных зубов на 2 и 4 неделе отмечалось снижение титров фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), тартрат-резистентной кислой фосфатазы (TRAP), снижение количества лимфатических и кровеносных сосудов, а также снижение лимфатических Т-клеток и макрофагов в мягких тканях вокруг лунок удаленных зубов [8, 19]. В связи с чем становится возможным предположить, что одним из ключевых звеньев патогенеза является нарушение кровотока, что и послужило предметом данного исследования.

Цель

В эксперименте на животных оценить влияние внутривенного введения деносуаба на микроцир-

куляцию пародонта, челюсти до и после операции удаления зуба.

Материалы и методы

Исследование проводилось на 36 крысах-самцах линии Вистар (ФГУП «Питомник лабораторных животных “Рапполово”») 4-месячного возраста со средними показателями массы тела 240–270 г. Животные содержались при неограниченном потреблении корма (стационарный рацион для лабораторных крыс К-120, ООО «Лаборатор-корм», РФ) 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 были разделены на четыре основные группы: А — контрольная группа ($n = 9$). Крысам в течение всего исследования вводился физиологический раствор; В — крысам 2 раза в неделю в течение 2 недель внутривенно вводился деносуаб — 0,25 мг ($n = 9$); С — крысам 2 раза в неделю в течение 4 недель внутривенно вводился деносуаб — 0,25 мг ($n = 9$); D — животным 1 раз в неделю в течение 4 недель внутривенно вводился деносуаб — 0,5 мг ($n = 9$).

Время инфузии препарата составляло 1 мин. Животным всех групп производили удаление интактного 4.2 зуба на 7 день от начала эксперимента, после чего продолжалось введение физиологического раствора (контроль) или деносуаба опытным группам вплоть до вывода животных из эксперимента на 4 неделе (рис. 1).

Удаление зуба производилось при инъекции золетил-ксилазинового наркоза из расчета: Золетил 100 (Zoletil 100) (VIRBAC, Франция) — 1 мл, Ксила (Xyla, Xylazine 2%) (Interchemie werken «De Adelaar B.V.», Нидерланды) — 1 мл, вода для инъекций — 1 мл. Вводят крысам внутримышечно из расчета 0,88 мл/кг. Операция удаления зуба проводилась в стерильных условиях. После наступления наркоза с помощью микрохирургического десневого ножа проводилась отслоение слизисто-надкостничного лоскута вокруг 4.2 зуба с последующим наложением, продвижением, фиксацией, тракцией детскими хирургическими клювовидными щипцами для удаления боковой группы зубов. В связи с анатомическими особенностями групповой принадлежности зубов у грызунов (многокорневой зуб) люксация не проводилась. Для контроля вводилась маленькая кюретажная ложка с целью определения границ альвеолярной лунки. Зуб оценивался визуально на целостность удаленных фрагментов. Оценивалось состояние слизистой оболочки в месте удаления зуба до удаления и на 4 неделе перед выведением из эксперимента.

Кровоток в пародонте крыс оценивали со второй недели после первого введения препарата до удаления зуба (7 день) и после удаления зуба на 14-й,

21-й и 28-й день. Кровоток оценивался в условиях анестезии с помощью двух методов: высокочастотной ультразвуковой доплерографии и лазерной доплеровской флоуметрии.

Для оценки реактивности сосудов микроциркуляторного русла пародонта проводилась функциональная проба с 3% ацетилхолином (АХ) [15] с последующей доплерографией (высокочастотная ультразвуковая доплерография (УЗВЧ) прибором «Минимакс Допплер К» и лазерная флоуметрия прибором BLF21 «Transonic»). После наложения в область моляра датчик ультразвукового доплерографа продвигался книзу, в характерную область краевой десны в проекции бифуркации корней с язычной стороны. Оценивались показатели объемной скорости кровотока Qas. Данные показателей фиксировались в компьютерной программе Biopac Student Lab PRO. Показатели регистрировались в перфузионных единицах, после чего производили расчеты в условных единицах.

При оценке динамики изменений кровотока после ацетилхолин-стимулированной вазодилатации сосудов слизистой оболочки пародонта крыс с помощью обоих методов оценивались следующие показатели: T1 — время начала реакции (мин), где T1 представляет собой время, которое прошло от аппликации ацетилхолина до начала изменений в скорости кровотока; Tmax — время наступления максимума реакции (мин), где Tmax представляет собой время, которое прошло от аппликации ацетилхолина до достижения максимального изменения скорости кровотока; A — амплитуда реакции (в % к исходному уровню), где A — отношение разности между первоначальными показателями уровня кровотока и измененным уровнем к изначальному уровню кровотока, умноженное на 100%; T2 — время восстановления кровотока к исходному уровню (мин), где T2 — время, которое прошло от начала фиксации изменений в скорости кровотока до возврата к первоначальным показателям. Кроме того, применялся расчетный показатель площадь под кривой (AUC, area under curve): AUC (0–5 мин), AUC (0–2 мин), AUC

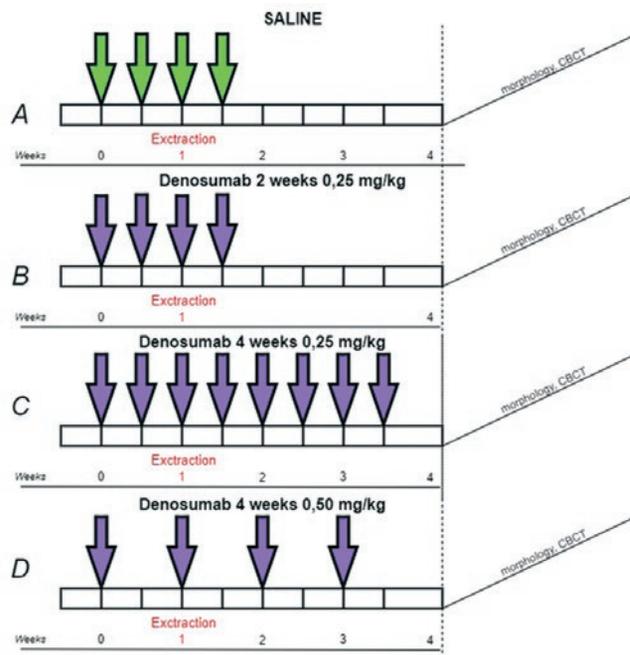


Рис. 1. Дизайн эксперимента деносумабового остеонекроза челюстей крыс. А — группа контроля, В — ДБ 2 нед, С — ДБ 4 нед 2 р/нед, D — ДБ 4 нед 1 р/нед

Fig. 1. Denosumab osteonecrosis study design A — control group, B — DB 2 weeks, C — DB 4 weeks 2 o/week, D — DB 4 weeks 1 o/week

(2–5 мин), динамики сосудистых реакций, выраженной в процентах к исходному кровотоку в разные временные интервалы. Площади под кривой, рассчитывались методом Симпсона–Ньютона.

Использование рангового критерия Манна и Уитни подтвердило статистическую достоверность различий между группами. Мы использовали два метода, дублирующих друг друга, для получения более объективной информации, поскольку при измерении кровотока в мягких тканях сравнение двух методов доплерографии дает сходные результаты в относительных единицах и степень прироста кровотока на один и тот же стимул одинакова, как было показано в работе Н. Lenasi и соавт. [13].

Таблица 1

Изменение массы тела (δ %) в эксперименте к исходным значениям массы тела непосредственно перед введением препаратов (1 неделя)

Table 1. Change in body weight (δ %) in the experiment to the initial values of body weight immediately before the administration of drugs (1 week)

	Группа А	Группа В	Группа С	Группа D	p – группа В и группа А	p – группа С и группа А	p – группа D и группа А	p – группа С и группа В	p – группа D и группа В	p – группа D и группа С
контроль	5,81 (4,96-5,91)	3,23 (3,1-3,8)	3,41 (2,57-4,21)	2,4 (2,07-2,67)	0,01*	0,02*	0,04*	0,22	0,03#	0,09
2 неделя	3,34 (3,59-5,68)	3,09 (2,29-4,40)	2,94 (2,55-3,4)	4,71 (3,65-4,96)	0,09	0,04*	0,15	0,22	0,09	0,03*#
4 неделя	8,65 (7,29-10,0)	6,05 (5,48-6,45)	4,72 (4,68-5,25)	3,82 (3,25-5,52)	0,02*	0,04*	0,02*	0,04#	0,07	0,03*#

Примечание. Данные представлены в виде Медиана (квартиль [Q1] – Q2). Достоверная разница принята при $p < 0,05$, * – группа А, # – группа В, *# – группа С

Результаты и их обсуждение

Динамика массы тела крыс. В ходе эксперимента регистрировались изменения массы тела крыс и потребление пищи перед каждым измерением кровотока для оценки общего влияния препаратов на характер питания и метаболизм животных (табл. 1). Введение препарата деносумаб достоверно приводило к снижению прибавки массы тела крыс.

Допплерография. При проведении УЗДГ и ЛДФ исследования исходно у всех животных была отмечена следующая динамика аппликации ацетилхолина на слизистую оболочку полости рта: максимальное значение кровотока было выявлено на второй минуте, после чего кровоток снижался, достигая исходного уровня к пятой минуте (табл. 2–9).

В ходе 4-х-недельного изучения реактивности сосудов пародонта с предложенными методами регистрации кровотока в контрольной группе изменений со стороны реактивности сосудов пародонта не наблюдалось.

Введение деносумаба на вызывало снижения значений показателей реактивности микрососудов пародонта. Эти изменения начали проявляться с первой недели после начала введения деносумаба и достигли максимума к концу исследования, на 4-й неделе введения препарата (рис. 2, табл. 2). Причем эти результаты были подтверждены как методикой высокочастотной ультразвуковой доплерографии, так и лазерной доплерографии.

Также воздействие АХ-индуцированной реакции на пародонт приводило к снижению показателей ЛДФ по сравнению с контрольной группой.

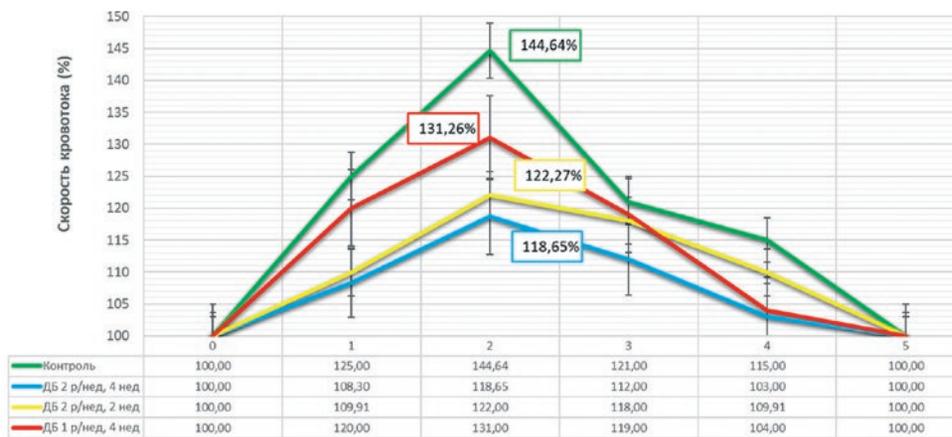


Рис. 2. Динамика показателей кровотока в пародонте крыс на аппликацию АХ 3% методом УЗДГ — 4 неделя (в % к исходному)

Fig. 2. Dynamics of blood flow parameters in the periodontium of rats on the application of acetylcholine by the HFUS — 4th week (in % to the original)

Таблица 2

Параметры кровотока. УЗДГ — 4 неделя
Table 2. Blood flow parameters. HFUS — 4th week

Параметры	Группа А	Группа В	Группа С	Группа D	p – Группа А – Группа В	p – Группа С – Группа А	p – группа D – Группа А	p – группа В – Группа С	p – группа D – Группа В	p – группа D – Группа С
A max (ед.изм)	13,6 (13,1-14,17)	8,05 (6,05-8,55)	7,9 (7,39-8,05)	8,15 (7,93-10,33)	0,01*	0,01*	0,01*	0,12	0,06	ц0,06
A max (%)	144,64 (141,42-149,43)	122,27 (121,75-127,31)	118,65 (114,92-120,45)	131,26 (129,31-134,77)	0,01*	0,01*	0,01*	0,04#	0,04#	0,01*#
AUC (0-5 мин)	1,08 (0,94-1,14)	0,58 (0,56-0,61)	0,5 (0,48-0,51)	0,66 (0,55-0,68)	0,01*	0,01*	0,01*	0,02#	0,06	0,03*#
AUC (0-2 мин)	0,44 (0,42-0,51)	0,4 (0,36-0,41)	0,28 (0,24-0,31)	0,37 (0,3-0,41)	0,04*	0,01*	0,01*	0,03#	0,05	0,06
AUC (2-5 мин)	0,64 (0,58-0,66)	0,18 (0,15-0,21)	0,22 (0,15-0,26)	0,29 (0,24-0,33)	0,01*	0,01*	0,03*	0,05	0,01#	0,05

Примечание. Данные представлены в виде Медиана (квартиль [Q1] – Q2). Достоверная разница принята при $p < 0,05$, * – Контроль, # ДБ 2 р/нед 2 нед, *# – ДБ 2 р/нед 4 нед.

Костный кровоток. Были рассчитаны показатели кровотока костной ткани (надкостница и кость) нижней челюсти крысы (патент № 2018143432 от 07.12.2018 «Способ неинвазивной оценки скорости кровотока кости») (рис. 11). Для расчета использовалась формула:

$$(U_{BK}) = U_1 - L_2 \frac{U|2| - U_1}{L|2| - L_1}$$

где U_{BK} — значения МЦК толщины слоя Кости, полученные УЗ, L_1 — исходные показатели методом ЛДФ, U_1 — исходные показатели УЗДГ, L_2 — показатели ЛДФ после аппликации АХ, U_2 — показатели УЗДГ после аппликации АХ.

Исходя из полученных расчетов, показатели кровотока в костной ткани таковы (табл. 4).

Конусно-лучевая компьютерная томография (КЛКТ) челюстей крыс.

КТ-сканер с коническим лучом (Dentisply Sirona) использовался с программным обеспечением Galaxis (Dentisply Sirona) (рис. 4). Голова крысы фиксирова-

лась на неподвижной жесткой подставке, центровка производилась с помощью лазерной разметки прибора.

Анализ КЛКТ челюстей показал, что размер костного дефекта отмечался максимально в группе ДБ 2 р/нед 4 нед при дозировке 0,5 мг и минимально — у группы контроля (табл. 5, рис. 5, 6).

Коэффициент корреляции Пирсона кровотока костной ткани к размеру дефекта (r) составил отрицательное значение: $r = -0,72$ ($p = 0,01$). Интерпретация коэффициента может быть представлена следующим: отрицательное значение до -1 позволяет нам принять гипотезу о наличии линий отрицательной связи. Уменьшение костного кровотока в эксперименте коррелировало с увеличением костного дефекта нижней челюсти в эксперименте с лабораторными животными.

Обсуждение результатов

В литературе имеется ряд исследований на лабораторных крысах, целью которых было индуцирование остеонекроза челюсти с помощью введения деносу-маба. В эксперименте Williams D.W. et al (Вильямс



Рис. 3. Динамика показателей кровотока в пародонте крыс на аппликацию АХ 3% методом ЛДФ — 4 неделя (в % к исходному)

Fig. 3. Dynamics of blood flow parameters in the periodontium of rats on the application of acetylcholine by the LDF — 4th week (in % to the original)

Таблица 3

Параметры кровотока. ЛДФ — 4 неделя

Table 3. Blood flow parameters. HFUS — 4th week

Параметры	Группа А	Группа В	Группа С	Группа D	p – Группа А – Группа В	p – Группа С – Группа А	p – группа D – Группа А	p – группа В – Группа С	p – группа D – Группа В	p – группа D – Группа С
A max (ед.изм)	10,2 (9,57-11,1)	7,1 (6,8-7,4)	8,0 (7,62-8,1)	7,1 (6,8-7,4)	0,01*	0,01*	0,01*	0,06	0,05	0,01*#
A max (%)	144,39 (139,2-147,33)	132,01 (130,01-136,68)	129,29 (127,29-131,07)	130,01 (129,35-133,68)	0,03*	0,01*	0,01*	0,05	0,05	0,09
AUC (0-5 мин)	6,35 (6,18-6,54)	3,05 (2,44-3,21)	2,98 (2,48-3,64)	2,88 (2,51-2,98)	0,01*	0,01*	0,01*	0,05	0,13	0,05
AUC (0-2 мин)	4,77 (4,19-4,78)	2,96 (2,44-3,61)	2,23 (2,01-2,67)	2,16 (1,94-2,61)	0,01*	0,01*	0,01*	0,06	0,07	0,05
AUC (2-5 мин)	1,58 (1,15-1,44)	0,78 (0,67-0,84)	0,74 (0,64-0,81)	0,72 (0,64-0,78)	0,01*	0,01*	0,03*	0,08	0,05	0,08

Примечание. Данные представлены в виде Медиана (квартиль [Q1] — Q2). Достоверная разница принята при $p < 0,05$, * — Контроль, # ДБ 2 р/нед 2 нед, *# — ДБ 2 р/нед 4 нед.



Рис. 4. Методика проведения КЛКТ челюстей крыс
Fig. 4. CBCT technique for rat jaws

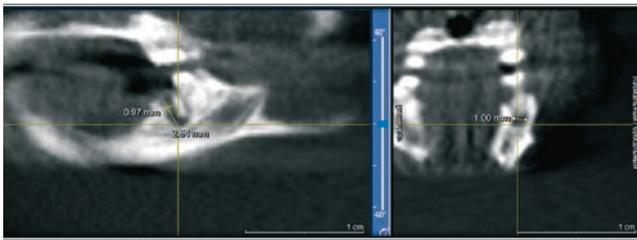


Рис. 5. КЛКТ челюстей крысы (Контрольная группа)
Fig. 5. Rat jaw CBCT (Control group)

Примечание. В зоне альвеолярного отростка нижней челюсти слева (на уровне удаленного моляра) — костная структура не изменена. Определяются четкие контуры костного дефекта после удаления зуба.

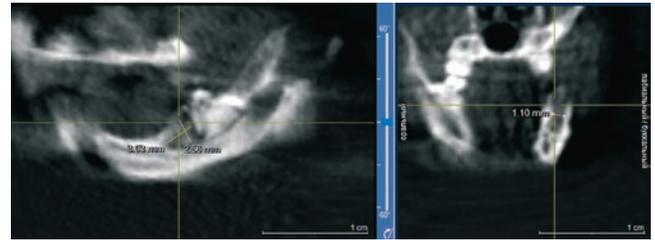


Рис. 6. КЛКТ челюстей крысы ДБ 1 р/нед 4 нед 0,5 мг
Fig. 6. CBCT of rat jaws DB 1 o / week 4 weeks 0.5 mg

Примечание. В зоне альвеолярного отростка нижней челюсти слева определяется ограниченный участок остеонекроза: разряжение плотности костной ткани с четкими и ровными (оссифицированными) контурами, определяются признаки периодонтальных изменений в области второго моляра нижней челюсти слева.

Таблица 4

Сравнительная характеристика костного кровотока в эксперименте
Table 4. Comparative characteristics of bone blood flow in the experiment

Недели	Группа А (мл/с/см ³)	Группа В (мл/с/см ³)	Группа С (мл/с/см ³)	Группа D (мл/с/см ³)
1	2,75±0,1	2,53±0,4	2,34±0,2;	2,1±0,2
2	2,68±0,4	2,29±0,2;	2,33±0,2	2,01±0,3
3	2,4±0,4	1,88 ±0,2;	1,44±0,2	1,85±0,2
4	2,39±0,3	1,79±0,2	1,19±0,2.	1,35±0,2

Примечание. Данные представлены в виде [мл/с/см³] ± ср. арифм.

Таблица 5

Параметры размеров остеонекроза по КЛКТ в контрольной и экспериментальных группах
Table 5. Parameters of the sizes of osteonecrosis according to CBCT in the control and experimental groups

Параметры, мм	Группа А	Группа В	Группа С	Группа D	p – группа В – Группа А	p – Группа D – Группа А	p – Группа С – Группа А	p – Группа В – группа D	p – Группа В – Грунаа С	p – Группа С – Группа D
Длина	0,97± 0,02	1,15±0,37	2,2±0,37	1,45±0,07	0,07	0,02*	0,01*	0,06	0,02*#	0,01*#
Ширина	1±0,05	1,36±0,11	2,12±0,2	2,06±0,11	0,02*	0,01*	0,01*	0,04#	0,01*#	0,08
Глубина	2,18±0,11	2,34±0,23	2,94±0,41	2,41±0,23	0,06	0,06	0,11	0,06	0,06	0,07
Объем костного дефекта	2,11±0,57	3,66±0,46	13,71±1,57	7,19±0,46	0,04*	0,01*	0,02*	0,02#	0,01*#	0,01*#

Примечание. Данные представлены в виде среднего значения ± арифметической ошибки (стандартное отклонение [SD]). Достоверная разница принята при $p < 0,05$, * — Контроль, # ДБ 2 р/нед 2 нед, *# — ДБ 1 р/нед 4 нед.

остеонекроза удалялся зуб на 2 неделе эксперимента. Во второй части эксперимента авторы предлагали после индуцирования остеонекроза (удаления зуба) отменить введение антирезорбтивных препаратов.

В настоящем эксперименте было выбрано введение препарата деносуаб с учетом периода полувыведения препарата у крыс ($t_{1/2}$ при дозе 0,25 мг/кг = 260 ч), что приводило к накопительному эффекту деносуаба и выражалось в видимом нарушении кости.

При оценке состояния слизистой оболочки до удаления во всех группах отмечалась физиологическая окраска. На 4 неделе в контрольной группе слизистая оболочка была физиологической окраски. В группе D — наличие обнаженного участка измененной в цвете костной ткани челюсти. В группах B и C — незаживающая размягченная слизистая оболочка с грануляционной тканью.

Принимая во внимание тот факт, что деносуаб является моноклональным человеческим, но не крысиным антителом, мы старались понизить риск воспалительной реакции по типу феномена Артюса, который мог развиваться при подкожном введении крысам, а также воспалительной реакции со стороны брюшной полости при интраперитонеальном методе введения, поэтому вводили деносуаб внутривенно.

Существуют данные о том, что полностью человеческое антитело не оказывает резорбтивного действия на линии крыс в связи с химической структурой. Однако в исследовании Kostenuik P.J. et al (Костенюк П. Дж. с соавт.) (2009) указано, что остеопрогерин OPG человека, участвующий связующим звеном в комплексе RANK/RANKL/OPG, распознает не только человеческие RANKL, но и различных видов грызунов [11]. Деносуаб не подавлял резорбцию кости у нормальных мышей или крыс, но предотвращал резорбтивную реакцию у мышей линии C57BL/6, генетически модифицированных фрагментами RANKL человека, кодируемым в основном пятым экзоном гена RANKL. Однако развитие остеонекроза после введения препарата деносуаб крысам неоднократно подтверждается.

На основании настоящего исследования можно сделать вывод о том, что в его иницировании лежит первоначально не нарушение резорбтивной функции и ремоделирования кости, а нарушение микроциркуляции, что дает большой потенциал в исследовании данного направления. Исследование воздействия фармакологических препаратов на состояние микроциркуляции в области пародонта позволит более детально изучить особенности реакции в челюстно-лицевой области в модели для улучшения качества оказываемой комплексной стоматологической помощи.

Литература/References

1. Aljohani S., Gaudin R., Weiser J., Tröltzsch M., Ehrenfeld M., Kaeppler G., Smeets R., Otto S. Osteonecrosis of the jaw in patients treated with denosumab: A multicenter case series // *J Craniomaxillofac Surg.* – 2018;46(9):1515-1525. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2018.05.046>
2. McDonald M.M., Kim A.S., Mulholland B.S., Rauner M. New Insights Into Osteoclast Biology // *JBM R Plus.* – 2021;30(5):e10539. <https://doi.org/10.1002/jbm4.10539>
3. Bone H.G., Wagman R.B., Brandi M.L., Brown J.P., Chapurlat R., Cummings S.R., Czerwiński E., Fahrleitner-Pammer A., Kendler D.L., Lippuner K., Reginster J.Y., Roux C., Malouf J., Bradley M.N., Daizadeh N.S., Wang A., Dakin P., Pannacciulli N., Dempster D.W., Papapoulos S. 10 years of denosumab treatment in postmenopausal women with osteoporosis: results from the phase 3 randomised FREEDOM trial and open-label extension // *Lancet Diabetes Endocrinol.* – 2017;5(7):513-523. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(17\)30138-9](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(17)30138-9)
4. Migliorini F., Maffulli N., Colarossi G., Eschweiler J., Tingart M., Betsch M., Betsch M. Effect of drugs on bone mineral density in postmenopausal osteoporosis: a Bayesian network meta-analysis // *J Orthop Surg Res.* – 2021;27(16):533. <https://doi.org/10.1186/s13018-021-02678-x>
5. Egloff-Juras C., Gallois A., Salleron J., Massard V., Dolivet G., Guillet J., Phulpin B. Denosumab-related osteonecrosis of the jaw: A retrospective study // *J Oral Pathol Med.* – 2018;47(1):66-70. <https://doi.org/10.1111/jop.12646>
6. Fassio A., Bertoldo F., Idolazzi L., Viapiana O., Rossini M., Gatti D. Drug-induced osteonecrosis of the jaw: the state of the art // *Reumatismo.* – 2017;22(69)(1):9-15. <https://doi.org/10.4081/reumatismo.2017.983>
7. Hadaya D., Soundia A., Gkouveris I. et al. Antiresorptive-Type and Discontinuation-Timing Affect ONJ Burden // *Journal of Dental Research.* – 2021;100(7):746-753. <https://doi.org/10.1177/0022034520986804>
8. Hoefert S., Yuan A., Munz A., Grimm M., Elayouti A., Reinert S. Clinical course and therapeutic outcomes of operatively and non-operatively managed patients with denosumab-related osteonecrosis of the jaw (DRONJ) // *J Craniomaxillofac Surg.* – 2017;45(4):570-578. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2017.01.013>
9. Khan A., Morrison A., Cheung A., Hashem W., Compston J. Osteonecrosis of the jaw (ONJ): diagnosis and management in 2015 // *Osteoporos Int.* – 2016;27(3):853-859. <https://doi.org/10.1007/s00198-015-3335-3>
10. Lorusso L., Pieruzzi L., Gabriele M., Nisi M., Viola D., Molinaro E., Bottici V., Elisei R., Agate L. Osteonecrosis of the jaw: a rare but possible side effect in thyroid cancer patients treated with tyrosine-kinase inhibitors and bisphosphonates // *J Endocrinol Invest.* – 2021;21. <https://doi.org/10.1007/s40618-021-01634-0>
11. Kostenuik P.J., Nguyen H.Q., McCabe J., Warmington K.S., Kurahara C., Sun N., Chen C., Li L., Cattley R.C., Van G., Scully S., Elliott R., Grisanti M., Morony S., Tan H.L., Asuncion F., Li X., Ominsky M.S., Stolina M., Dwyer D., Dougall W.C., Hawkins N., Boyle W.J., Simonet W.S., Sullivan J.K. Denosumab, a fully human monoclonal antibody to RANKL, inhibits bone resorption and increases BMD in knock-in mice that express chimeric (murine/human) RANKL // *J Bone Miner Res.* – 2009;24(2):182-195. doi: 10.1359/jbmr.081112. PMID: 19016581
12. Kanis J.A., Cooper C., Rizzoli R., Reginster J.Y. Scientific Advisory Board of the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis (ESCEO) and the Committees of Scientific Advisors and National Societies of the International Osteoporosis Foundation (IOF). European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women // *Osteoporos Int.* – 2019;30(1):3-44. <https://doi.org/10.1007/s00198-018-4704-5>
13. Lenasi H., Potočnik N., Petrišičev N., Papp M., Egorikina A., Girina M., Skedina M., Kovaleva A. The measurement of cutaneous blood flow in healthy volunteers subjected to physical exercise with ultrasound Doppler imaging and laser Doppler flowmetry // *Clin Hemorheol Microcirc.* – 2017;65(4):373-381. doi: 10.3233/CH-16204. PMID: 27983546
14. Alsalihi A., Dam A., Lindberg P., Truedsson A. Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws Initiated by Zoledronic Acid and Potential Pathophysiology // *Dent J (Basel).* – 2021;30(9):85. <https://doi.org/10.3390/dj9080085>
15. Akther F., Razan M.R., Shaligram S., Graham J.L., Stanhope K.L., Allen K.N., Vázquez-Medina J.P., Havel P.J., Rahimian R. Potentiation of Acetylcholine-Induced Relaxation of Aorta in Male UC Davis Type 2 Diabetes Mellitus (UCD-T2DM) Rats: Sex-Specific Responses // *Front Physiol.* – 2021;22:12:616317. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.616317>
16. Querrer R., Ferrare N., Melo N., Stefani C.M., Dos Reis P.E.D., Mesquita C.R.M., Borges G.A., Leite A.F., Figueiredo P.T. Differences between bisphosphonate-related and denosumab-related osteonecrosis of the jaws: a systematic review // *Support Care Cancer.* – 2021;29(6):2811-2820. <https://doi.org/10.1007/s00520-020-05855-6>
17. Eleutherakis-Papaikou E., Bamias A. Antiresorptive treatment-associated ONJ // *Eur J Cancer Care (Engl).* – 2017;26(6). <https://doi.org/10.1111/ecc.12787>
18. Loyson T., Van Cann T., Schöffski P., Clement P.M., Bechter O., Spriet I., Coropciuc R., Politis C., Vandeweyer R.O., Schoenaers J., Dumez H., Berteloot P., Neven P., Nackaerts K., Woei-A-Jin F.J.S.H., Punie K., Wildiers H., Beuselink B. Incidence of osteonecrosis of the jaw in patients with bone metastases treated sequentially with bisphosphonates and denosumab // *Acta Clin Belg.* – 2018;73(2):100-109. <https://doi.org/10.1080/17843286.2017.1348001>
19. Thanakun S., Pornprasertsuk-Damrongsri S., Na Mahasarakham C.P., Techatanawat S., Izumi Y. Increased Plasma Osteocalcin, Oral Disease, and Altered Mandibular Bone Density in Postmenopausal Women // *Int J Dent.* – 2019;24:2019:3715127. <https://doi.org/10.1155/2019/3715127>
20. Rugani P., Walter C., Kimbauer B., Acham S., Begus-Nahrman Y., Jakse N. Prevalence of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw in Patients with Breast Cancer, Prostate Cancer, and Multiple Myeloma // *Dent J (Basel).* – 2016;27(4):32. <https://doi.org/10.3390/dj4040032>
21. Chen J., Chen Q., Hu B., Wang Y., Song J. Effectiveness of alendronate as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of periodontitis: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials // *J Periodontol Implant Sci.* – 2016;46(6):382-395. <https://doi.org/10.5051/jpis.2016.46.6.382>
22. Williams D.W., Lee C., Kim T. et al. Impaired bone resorption and woven bone formation are associated with development of osteonecrosis of the jaw-like lesions by bisphosphonate and anti-receptor activator of NF- κ B ligand antibody in mice // *Am J Pathol.* – 2014;184(11):3084-3093. doi:10.1016/j.ajpath.2014.07.010