

УДК 616.31-089:616.6:611-018.4:615.21:616-092.9

**ИДЕНТИФИКАЦИЯ ЭТИОЛОГИЧЕСКОГО ФАКТОРА, ВЫЗЫВАЮЩЕГО
«ВИНТОВЫЕ ОСТЕОМИЛИТЫ», И ОЦЕНКА ЕГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА
КОСТНУЮ ТКАНЬ И МОЧЕВИДЕЛИТЕЛЬНУЮ СИСТЕМУ
ЛАБОРАТОРНЫХ БЕЛЫХ КРЫС**

Мостовой С.О.¹, Остапенко О.В.², Шульгин В.Ф.³

¹*Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского,
Симферополь, Украина*

²*Национальный медицинский университет им. А.А.Богомольца, Киев, Украина*

³*Таврический национальный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
E-mail: vshul@crimea.edu*

Изучено действие на костную ткань и мочевыделительную систему лабораторных крыс ненаркотического аналога психотропного препарата "первитин" суррогатного производства. Высказано предположение о фосфонатной природе наблюдаемых поражений.

Ключевые слова: первитин, фосфонаты, остеомиелиты.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы заметно возросло число обращений в челюстно-лицевые отделения пациентов с нетипичными формами воспалительных заболеваний челюстей. При этом основную массу пациентов составляют лица, употребляющие психотропный препарат суррогатного производства - "винт" (суррогатный "первитин"). Данной проблеме посвящено достаточное количество публикаций [1-3], авторы которых обычно связывают причину возникновения данного поражения с воздействием красного фосфора, не учитывая, что он используется в качестве реагента при получении первинтина, но сам по себе является малоактивным веществом, поскольку практически не растворим в воде и биологических жидкостях. В то же время течение заболеваний у данных пациентов имеет явно выраженное сходство с клинической картиной поражений нижних челюстей при длительной терапии с использованием препаратов класса бифосфонатов [4]. Это позволяет высказать предположение, что механизм поражения челюстей у наркоманов связан с воздействием побочных фосфорсодержащих продуктов, образующихся в процессе кустарного приготовления психотропных препаратов с использованием красного фосфора.

Целью данного исследования является идентификация побочных продуктов, которые могут образовываться в процессе суррогатного приготовления первинтина, и изучение их воздействия на биологические объекты. В качестве модельной реакции было изучено взаимодействие (RS)-1-изопропиламино-3-(1-нафтокси)-2-пропанола (действующее вещество лекарственного препарата "анаприлин"), не обладающего

психотропными свойствами, с иодидом фосфора(III). Реакция проводилась в безводной среде, максимально благоприятствующей протеканию побочных процессов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

(RS)-1-изопропиламино-3-(1-нафтокси)-2-пропанол извлечен из лекарственного препарата анаприлин.

Исследуемый препарат приготовлен по следующей методике. К суспензии, содержащей 13,00 г (0,05 моля) 1-изопропиламино-3-(1-нафтокси)-2-пропанола и 1,55 г (0,05 моля) красного фосфора в 50 мл бензола, нагретой до кипения, мелкими порциями при энергичном перемешивании добавляли 19,05 г (0,075 моль) кристаллического йода. Полученную смесь кипятили 1 час при перемешивании на магнитной мешалке, после чего бензол отгоняли при нагревании на водяной бане. Остаток нейтрализовали 10 % раствором соды и обрабатывали тиосульфатом натрия для удаления остатков йода. Выделившееся масло отделяли от раствора, промывали водой и экстрагировали хлороформом. Полученный раствор сушили хлористым кальцием, загружали в колонку, заполненную силикагелем (100 - 200 мкм) и промывали колонку хлороформом (\approx 350 мл). Затем элюировали вещество 96 %-ным этиловым спиртом. Полученный раствор (\approx 100 мл) упаривали досуха. В остатке получили 6,25 г воскоподобного вещества оранжевого цвета, медленно кристаллизующегося при стоянии. Вещество не растворимо в воде и неполярных органических растворителях, хорошо растворимо в спирте. Для эксперимента был использован раствор исследуемого препарата в 50 %-ном водном этаноле с концентрацией 10 мг/мл.

Содержание фосфора определено в аналитической лаборатории Института органической химии НАН Украины (г. Киев). Найдено, $\omega_p(\%)$: 3,74 и 3,41.

Спектры ПМР записаны на спектрометре Bruker VXR-400 (400 МГц), внутренний стандарт - Me_4Si , растворитель – DMSO-d_6 .

Биологический эксперимент был проведен на 10 лабораторных белых крысах массой 180-200 г, которым на протяжении одного месяца ежедневно внутрижелудочно вводили исследуемый препарат из расчёта 70 мг/кг. Доза подбиралась, с учетом пероральной дозы, используемой наркозависимыми лицами, которая доходит до 700 мг в сутки [5].

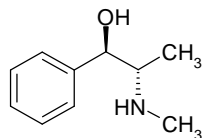
Животных выводили из эксперимента путём декапитации на 30 сутки. Исследовались бедренные кости и правая почка (выбор органов обусловлен их наибольшей чувствительностью к бифосфонатной терапии). Материал фиксировали в 10 % нейтральном формалине. Декальцинацию бедренных костей проводили в 5 % растворе муравьиной кислоты, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафиновые блоки. Готовили послойно микроскопические срезы толщиной 6-8 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином, а также по Ван Гизону.

Изучение микросрезов проводили на цитоморфометрическом комплексе, состоящем из микроскопа "Олимпус" – CX 31 и цифровой видеокамеры "Олимпус" - C 5050 ZOOM с объективами микроскопа Plan 4x/0,10 и Plan 40x/0,65. Проводили качественную оценку степени поражения исследуемых тканей.

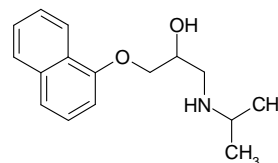
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Синтез и анализ исследуемого препарата

Анаприлин является отдаленным структурным аналогом эфедрина, который используется для суррогатного приготовления психотропных препаратов.

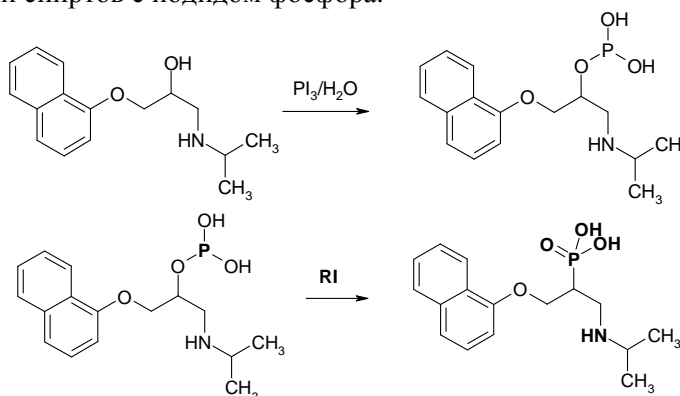


Эфедрин



Анаприлин

При восстановлении эфедрина йодистым водородом, который генерируется при взаимодействии красного фосфора с йодом в присутствии воды, возможно протекание ряда процессов, приводящих к образованию побочных продуктов, в том числе и аминоксидов – структурных аналогов бифосфонатов. Ключевой стадией данного процесса является перегруппировка Арбузова [6], переводящая фосфиты в фосфонаты. Для протекания данного превращения достаточно образования каталитических количеств иодалканов, которые легко получают при взаимодействии спиртов с иодидом фосфора.



Невысокое содержание фосфора в исследуемом препарате свидетельствует о том, что соотношение органический радикал – фосфор может достигать 3 к 1. В этом случае содержание фосфора приближается к 4,0 масс. %.

Спектр ПМР анаприлина (рис. 1) полностью согласуется с его структурой. Так, в области 7,0 – 8,5 м.д. наблюдаются сигналы от семи ароматических протонов с расщеплением, характерным для 1-замещенного нафталинового цикла. В области 1,0 – 4,0 м.д. регистрируются сигналы от 12 алифатических протонов, из которых наиболее интенсивным является сигнал в области 0,95 – 1,00 м.д., расщепленный в дублет дублетов за счет спин-спинового взаимодействия протонов двух метильных групп с третичным протоном изопропильной группы и одиночным протоном вторичной аминогруппы (рис. 2).

Спектр ПМР исследуемого препарата имеет сложный вид (рис. 3) и не поддается однозначной интерпретации, что свидетельствует об образовании смеси веществ. Сопоставление интенсивности сигналов в области 6,5 – 7,0 м.д. указывает на наличие как минимум трех веществ в соотношении 0,1:0,6:1,0. О таком же соотношении компонентов свидетельствует соотношение интегральной интенсивности сигналов в области поглощения протонов СН₃-групп (рис. 4).

Наличие сигналов в области полей, характерных как для ароматических, так и для алифатических протонов, свидетельствует о сохранении углеродного скелета анаприлина во всех продуктах реакции. В то же время в спектре не проявляются сигналы подвижных протонов гидроксильной и вторичной аминогруппы, что с одной стороны может свидетельствовать об их фосфорилировании, а с другой стороны, может быть вызвано наличием в составе продуктов реакции кислотных функциональных групп, например, таких как Р-ОН.

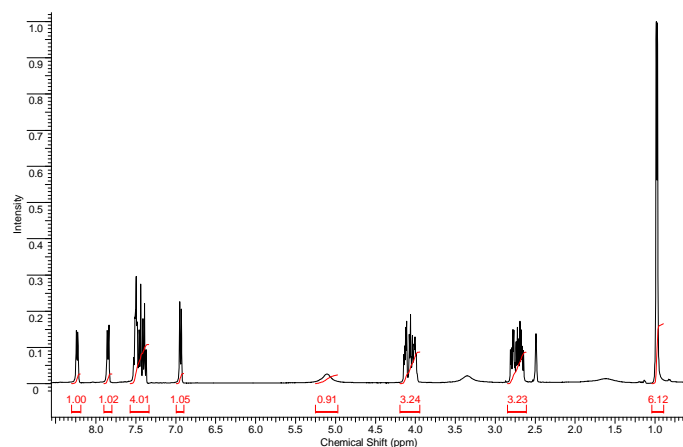


Рис. 1. Спектр ПМР анаприлина.

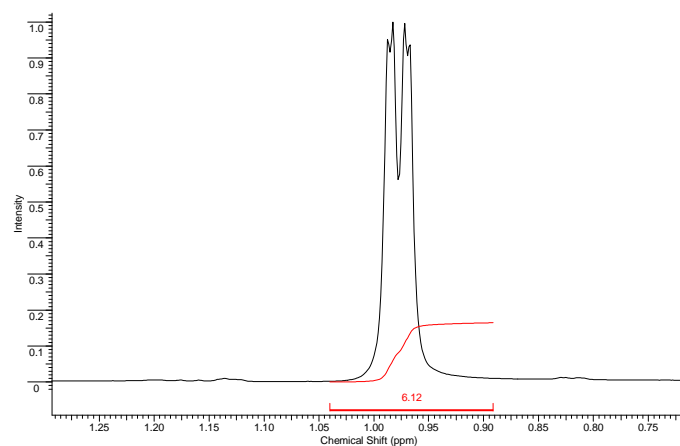


Рис. 2. Фрагмент спектра ПМР анаприлина в области поглощения метильных групп.

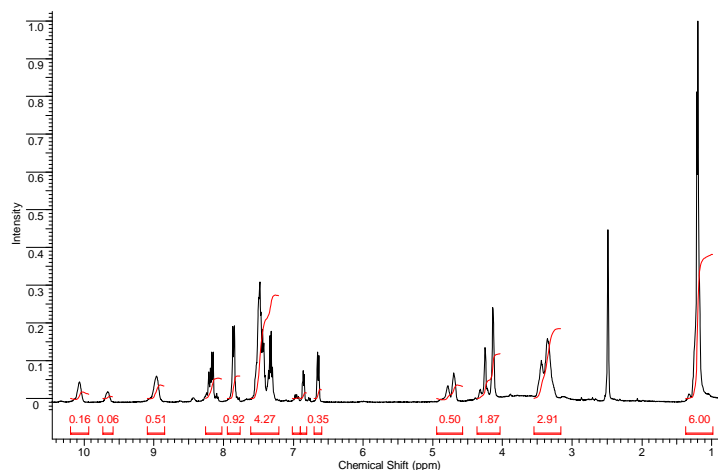


Рис. 3. Спектр ПМР исследуемого препарата.

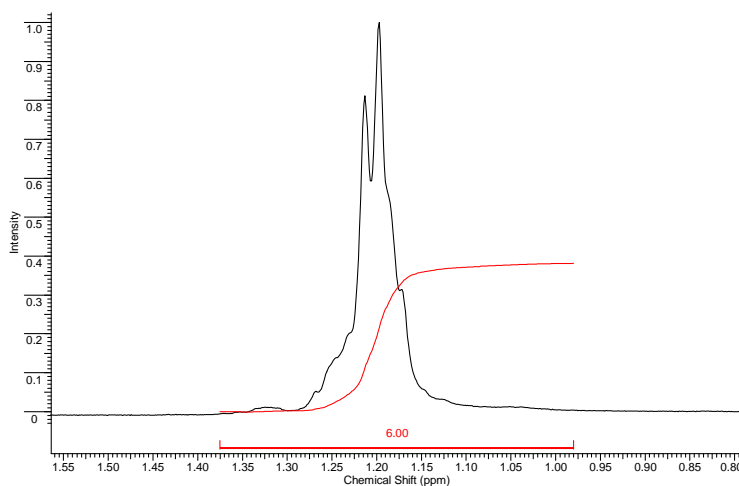


Рис. 4. Фрагмент спектра ПМР исследуемого препарата в области поглощения метильных групп.

Результаты биологического исследования препаратов

Изменения метафизарной пластинки

Исследуемая метафизарная пластинка (рис. 5) характеризуется неравномерной толщиной, нарушением непрерывности и утратой зональности. Частично или полностью отсутствуют такие зоны, как зоны индифферентных, пролиферирующих дефинитивных и индифферентных хондроцитов, зона деструкции и первичного остеогенеза. Клеточный хондробластический пул метафиза представлен гипертрофированными и пузырчатými клетками.

Наличие по всей исследуемой поверхности метафизарной пластинки тонких первичных оксифильных трабекул (формирующих в отдельных участках

костномозговые полости), островков остеогенеза, локально располагающихся остаточных циркулярных островков минерализующегося хряща с характерной базофилией, окружённых пластинчатой костной тканью, свидетельствует в пользу «смешанного хряще-костного состояния» метафизарной пластинки [7].

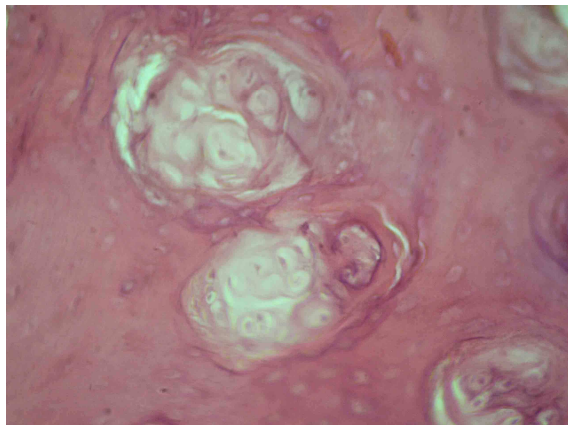


Рис. 5. Циркулярные участки хряща, окружённые пластинчатой костной тканью (окраска гематоксилин-эозин, Увеличение 15x40).

Изменения почечных структур

Отмечается увеличение размеров большинства клубочков, как интактных, так и поврежденных. Преобладают гипертрофированные за счет полнокровия капиллярных петель клубочки, единичны ишемизированные клубочки с признаками сморщивания и гиалиноза (рис.6А). Большинство клубочков характеризуется диффузным утолщением базальной мембраны. В отдельных клубочках сосуды смещены к одному из полюсов (синехии капилляров с капсулой клубочка) и перекрывают пространство капсулы Шумлянско-Боумана. Капиллярные петли заполняют значительную часть мочевого просвета, в нем определяется отложение гомогенной эозинофильной массы. Вышеперечисленные патоморфологические изменения являются характерными признаками первой стадии фокально-сегментарного гломерулосклероза (ФСГС), стадии начальных морфологических изменений [8, 9], (рис.6Б). Признаки токсического воздействия определяются и в системе канальцев в виде неравномерного их расширения и состояния эпителия, в котором определяются признаки зернистой и гидропической дистрофии. Просвет канальцев перекрывается за счет отека эпителиоцитов. В просвете отдельных канальцев присутствуют зернистые цилиндры, что говорит о тубулоинтерстициальном повреждении, в частности об остром тубулярном некрозе. [9,10]. Наряду с тубулопатией отдельных нефронов отмечается незначительные нарушения сосудистой системы органа. В мозговом веществе почки обнаруживаются очаговые полнокровные сети кровеносных капилляров, окружающих почечные канальцы, визуализируются отдельные участки кровоизлияний.

Таким образом, для данной садии ФСГГ характерны фокальные изменения клубочков с умеренным повреждением тубулоинтерстициального компонента, выраженной почечной недостаточности это позволяет предположить фосфонатную природу повреждения что характерно для других препаратов фосфонатной группы (бифосфонатов), воздействие которых на организм также приводит к возникновению колапсирующей гломерулопатии одной из форм вторичного фокально-сегментарного гломерулосклероза (ФСГС) [11,12].

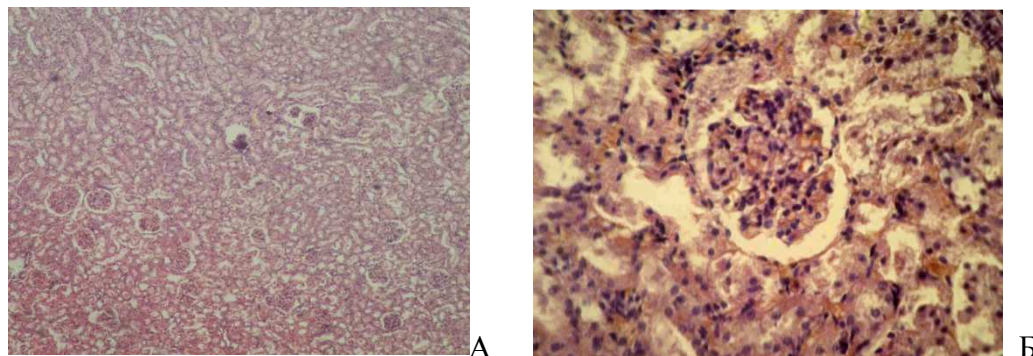


Рис. 6. А - Паренхима почки, содержащая нефроны с различной степенью структурных нарушений. Окраска гематоксилин-эозин, увеличение 12,5х10.

Б. - Почечное тельце с признаками токсического повреждения. Окраска гематоксилин-эозин, увеличение 12,5 х40.

ВЫВОД

На основании результатов изучения химической природы исследуемого препарата и его индентификации как вещества фосфонатной природы, а так же выраженного оссифицирующего действия и наличия нефротоксического эффекта, которые проявляются при передозировке бифосфонатов, возникающие «винтовые остеомиэлиты» с высокой долей вероятности можно отнести к фосфонатным остеонекрозам челюстных костей

Список литературы

1. Иващенко А.Л. Современные аспекты этиопатогенеза. Клинической картины и лечения остеомиэлитов челюстей у пациентов с наркотической зависимостью и вич-инфекцией / А.Л. Иващенко, И.Н. Матрос-Таранец, А.С. Прилуцкий // Питання експериментальної та клінічної медицини. – 2009. – Т 1, № 13. – С. 213–219.
2. Тимофеев А.А. Фосфорный некроз челюстей у наркозависимых больных, употребляющих суррогатный психостимулятор «Винт» / А.А. Тимофеев, И.Г. Лесова // Современная стоматология. – 2009. – № 5. – С. 94– 98.
3. Тимофеев А.А. Клиническое течение гнойно-воспалительных заболеваний челюстей и мягких тканей челюстно-лицевой области у больных, употребляющих наркотик «Винт» / А.А. Тимофеев, А.В. Дакал // Современная стоматология. – 2010. – № 1. – С. 96–102.
4. Marx R.E. Bisphosphonate-Induced Exposed Bone (Osteonecrosis/Osteopetrosis) of the Jaws: Risk Factors, Recognition, Prevention, and Treatment / R.E. Marx, M. Fortin, V. Broumand // Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. – 2005. – Vol. 63. – P. 1567–1575.

5. Врублевский А.Г. Наркомании и токсикомании: Клинические формы наркоманий токсикоманий / А.Г. Врублевский // Лекции по наркологии [под. ред. Н.Н. Иванца] - М.: Медицина. – 2000. – 241 с.
6. Вацуру К.В. Именные реакции в органической химии / К.В. Вацуру, Г.Л. Мищенко. – М.: Химия. – 1976. – 528 с.
7. Некачалов В.В. Патология костей и суставов. Руководство / В.В. Некачалов // - С-Пб.: Сотис - 2000. - С. 266–271.
8. Джаналиев Б.Р. Клинико-морфологическая характеристика фокального сегментарного гломерулосклероза/гиалиноза / Б.Р. Джаналиев, В.А. Варшавский, Е.П. Проскурнева // Нефрология и диализ.– 2002.– Т. 4, №1. – С. 1–12.
9. Nagai C. A case of collapsing variant of FSGS. / C. Nagai, S. Yokota, Y. Kido et al. // Nippon Jinzo Gakkai Shi Feb.– 2000.– Vol. 42(2).– P. 47– 52.
10. Петросян Э.К. Фокально-сегментарный гломерулосклероз – этиопатогенетические, клинические и морфологические особенности / Э.К. Петросян // Педиатрия. - 2007. – Т. 86, № 3. – С. 129–132.
11. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease / V. Kumar, N. Fausto, A. Abbas [et al.] // Saunders Edition. – 2003.– P. 982–983.
12. Perazella M.A. Bisphosphonate nephrotoxicity / A.M. Perazella and G.S. Markowitz // International Society of Nephrology. Kidney International.– 2008.– P. 1–9.

Мостовий С.О. Ідентифікація етіологічного фактору, що спричиняє «гвинтові остеомиєліти», та оцінка його дії на кісткову тканину і сечотворну систему лабораторних білих щурів / С.О. Мостовий, О.В. Остапенко, В.Ф. Шул'гін // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2012. – Т. 25 (64), № 2. – С. 244-251.

Досліджено дію на кісткову тканину і сечотворну систему лабораторних щурів ненаркотичного аналогу психотропного препарату "первітин" сурогатного виробництва. Зроблено припущення про фосфонатну природу уражень, що спостерігаються.

Ключові слова: первітин, фосфонати, остеомиєліти.

Mostovoy S.O. Authentication of the etiologic factor, that defiant "Screw Osteomyelitis" and estimation of its affecting on bone fabric and uric system of laboratory white rats / S.O. Mostovoy, O.V. Ostapenco, V.F. Shul'gin // Scientific Notes of Taurida V. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2012. – Vol. 25 (64), No. 2. – P. 244-251.

The unnarcotic analogue of psychotropic preparation "pervitin" of substitute production action on the bone fabric and urea system of laboratory rats has been investigated. Supposition about phosphonate nature of the looked hurts was outspoken.

Keywords: pervitin, phosphonates, osteomyelitis.

Поступила в редакцію 18.05.2012 г.