

УДК 577.152.1:616.711.11:599.323.45

## ВЛИЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА ГИСТОАРХИТЕКТониКУ И ЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ КОСТНОЙ ТКАНИ ТЕЛА ПОЗВОНКА КРЫС

Луканина С.Н., Сахаров А.В., Просенко А.Е., Ефремов А.В., Романова К.А.

*Новосибирский государственный педагогический университет, г. Новосибирск*

### РЕЗЮМЕ

Цель исследования – изучить влияние окислительного стресса на морфофункциональную характеристику и элементный состав костной ткани тела позвонка крыс.

**Материал и методы.** Исследование проводили на самцах крыс линии Вистар массой тела 250–300 г. Все животные были распределены в четыре группы по 10 особей в каждой: 1-я – интактная, 2-я и 3-я – группы сравнения, 4-я – контрольная. У крыс 2–4-й групп инициировали развитие окислительного стресса путем ежедневного (в течение 14 сут) введения с помощью внутрижелудочного зонда водной суспензии синтетического глюкокортикоида «Преднизолон» («Никомед Австрия ГмбХ», Австрия) в дозе 50 мг/кг массы тела. Через 3 ч после преднизолона животным 2-й группы внутривенно вводили антиоксидант «Тиофан» (НИИ химии антиоксидантов НГПУ, Россия) (в дозе 100 мг/кг массы тела), растворенный в 0,2 мл растительного масла. Крысы контрольной группы по аналогичной схеме получали только растворитель – растительное масло (0,2 мл). Для чистоты эксперимента и стандартизации манипуляций, связанных с введением в организм веществ, крысам 3-й группы через 3 ч после преднизолона вводили 0,2 мл водопроводной воды.

Особенности структурной организации костной ткани тел позвонков изучали методами морфогистохимического анализа. Элементный состав костной ткани определяли методом атомно-эмиссионного анализа с индуктивно связанной плазмой (спектрометр Optima 2100 DV (Perkin Elmer, США), шифр методики КХА: МУК 4.1.1482-03).

**Результаты.** Развитие глюкокортикоид-индуцированного окислительного стресса приводит к нарушению гистоархитектоники костной ткани тел позвонков и снижению содержания катионов, входящих в состав активных центров ферментов антиоксидантной защиты и простетических групп белков, обладающих антиоксидантной активностью. При применении антиоксиданта «Тиофан» у препарата обнаружены выраженные остеопротективные свойства. Это проявляется в снижении уровня резорбции костной ткани тел позвонков при моделировании окислительного стресса и повышении содержания в костной ткани Ca, P, Cu, Fe, Zn по сравнению с соответствующими показателями интактных животных.

**Заключение.** Полифункциональный серосодержащий антиоксидант нового поколения «Тиофан» является перспективным средством защиты клеток и матрикса костной ткани от повреждения активными метаболитами кислорода при окислительном стрессе.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** окислительный стресс, антиоксиданты, глюкокортикоиды, костная ткань, макро-, микроэлементы.

### Введение

Свободнорадикальное перекисное окисление липидов (СПОЛ) представляет собой универсальную реакцию клеток тканей и органов на физиологические и супрафизиологические раздражители. В настоящее время СПОЛ отводится важная роль в развитии многих

патологических состояний, что обуславливает пристальное внимание специалистов к изучению патогенетических механизмов окислительного стресса (ОС) [1, 2]. Независимо от причин развития ОС, в основе его молекулярных механизмов лежит депрессия системы антиоксидантной защиты и повышение уровня СПОЛ.

Актуальность изучения влияния ОС на состояние костной ткани и показатели минерального гомеостаза обусловлены высокой распространенностью воспалительных заболеваний опорно-двигательного аппарата

✉ Луканина Светлана Николаевна, тел. 8-905-936-0110; e-mail: lukanina@ngs.ru

среди трудоспособного населения и широким использованием в этиотропной терапии глюкокортикоидов. Считается, что одним из осложнений при лечении этими препаратами является свободнорадикальное повреждение клеток различных тканей и органов. В отношении костной ткани сведения по данной проблеме в литературных источниках представлены недостаточно. В качестве рабочей гипотезы авторами настоящей публикации формулируется идея о возможности повреждения клеток остеогенного дифферона активными метаболитами кислорода (АМК) при глюкокортикоид-индуцированном ОС и, как следствие, нарушения моделирования и ремоделирования костной ткани. В связи с тем, что ионы Cu, Fe, Zn, Mn входят в состав активных центров ключевых ферментов антиоксидантной защиты, настоящей необходимостью явилось изучение их содержания в данной ткани при экспериментальном воспроизведении ОС и оценке возможности управления процессами СПОЛ на лабораторных животных [3–6].

## Материал и методы

Исследование проводили на самцах крыс линии Вистар массой тела 250–300 г. Манипуляции с животными осуществлялись в соответствии с международными принципами Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным. Все крысы были распределены на четыре группы по 10 особей в каждой. Животных 1-й (интактной) группы содержали в стандартных условиях вивария без ограничения доступа к воде и корму. Крысам 2-й и 3-й групп (сравнения) и 4-й (контрольной) ежедневно в течение 14 сут вводили водную суспензию синтетического глюкокортикоида «Преднизолон» («Никомед Австрия ГмбХ», Австрия) в дозе 50 мг/кг массы тела с помощью внутрижелудочного зонда, инициируя у них развитие ОС [7]. Животные 2-й группы по аналогичной схеме получали антиоксидант «Тиофан» (в дозе 100 мг/кг массы тела), растворенный в 0,2 мл растительного масла. Для чистоты эксперимента и стандартизации манипуляций, связанных с введением в организм веществ, крысам 3-й группы через 3 ч после преднизолона вводили 0,2 мл водопроводной воды. В связи с тем, что «Тиофан» – жирорастворимый антиоксидант, крысам контрольной группы после приема преднизолона внутрижелудочно вводили только растворитель антиоксиданта «Тиофан» (НИИ химии антиоксидантов НГПУ, Россия) – растительное масло (0,2 мл).

На 15-е сут наблюдения крыс выводили из эксперимента под эфирным наркозом. У животных всех групп забирали тела позвонков грудного отдела позвоночного столба. Для проведения морфологического исследования образцы позвонков фиксировали в 10%-м

растворе нейтрального формалина, декальцинировали в трилоне Б, обезжировали в растворах изопропанола возрастающей концентрации и заливали в гистомикс. С помощью полуавтоматического ротационного микротомы (SLEE CUT 5062, Германия) изготавливали серийные срезы толщиной 3–5 мкм. Для получения обзорных препаратов срезы окрашивали гематоксилином Бёмера и эозином. Распределение коллагена в межклеточном веществе костной ткани определяли по методике Маллори [8]. Морфометрические параметры моделирования и ремоделирования костной ткани оценивали с помощью комплекса оптико-структурного анализа на базе AxioImager.M2 с программным обеспечением для анализа изображений AxioVision Z2 M2 (Carl Zeiss, Германия). Съемку изображений осуществляли CCD-камерой AxioCam HR с программным обеспечением ZenLite (Carl Zeiss, Германия).

В образцах костной ткани тел позвонков методом атомно-эмиссионного анализа с индуктивно связанной плазмой определяли содержание ионов Ca, P, Cu, Fe, Zn (спектрометр Optima 2100 DV (Perkin Elmer, США), шифр методики КХА: МУК 4.1.1482-03).

Статистический анализ результатов исследования проводили на основе определения медианы  $Me$  и квартилей ( $Q_{25}$ ;  $Q_{75}$ ). Различия показателей между группами оценивали методом вариационной статистики по непараметрическому  $U$ -критерию Манна–Уитни для независимых выборок и считали статистически значимыми при уровне  $p \leq 0,05$ . Расчеты производили по общепринятым формулам с использованием стандартных программ пакета Statistica 7.0 for Windows.

## Результаты и обсуждение

В ранних исследованиях А.В. Сахарова, С.Н. Луканиной, А.Е. Просенко (2007, 2010) было доказано, что используемая в работе модель позволяет стабильно воспроизводить у крыс ОС на организменном уровне [9, 10]. В этой связи изучение состояния уровня СПОЛ и активности системы антиоксидантной защиты в крови животных всех групп в рамках настоящего исследования не проводилось.

Результаты морфологического исследования показали, что у животных интактной группы на сагиттальных срезах тела позвонка с вентральной и дорсальной поверхности ограниченно компактным слоем пластинчатой костной ткани. С краниальной и каудальной поверхности тела позвонка выполнено волокнистым хрящом межпозвонковых дисков. В плоскости среза тела позвонка заметны костные ячей, представленные губчатым слоем пластинчатой костной ткани. Полости костных ячеек выполнены преимущественно миелоидным костным мозгом (рис. 1, а).

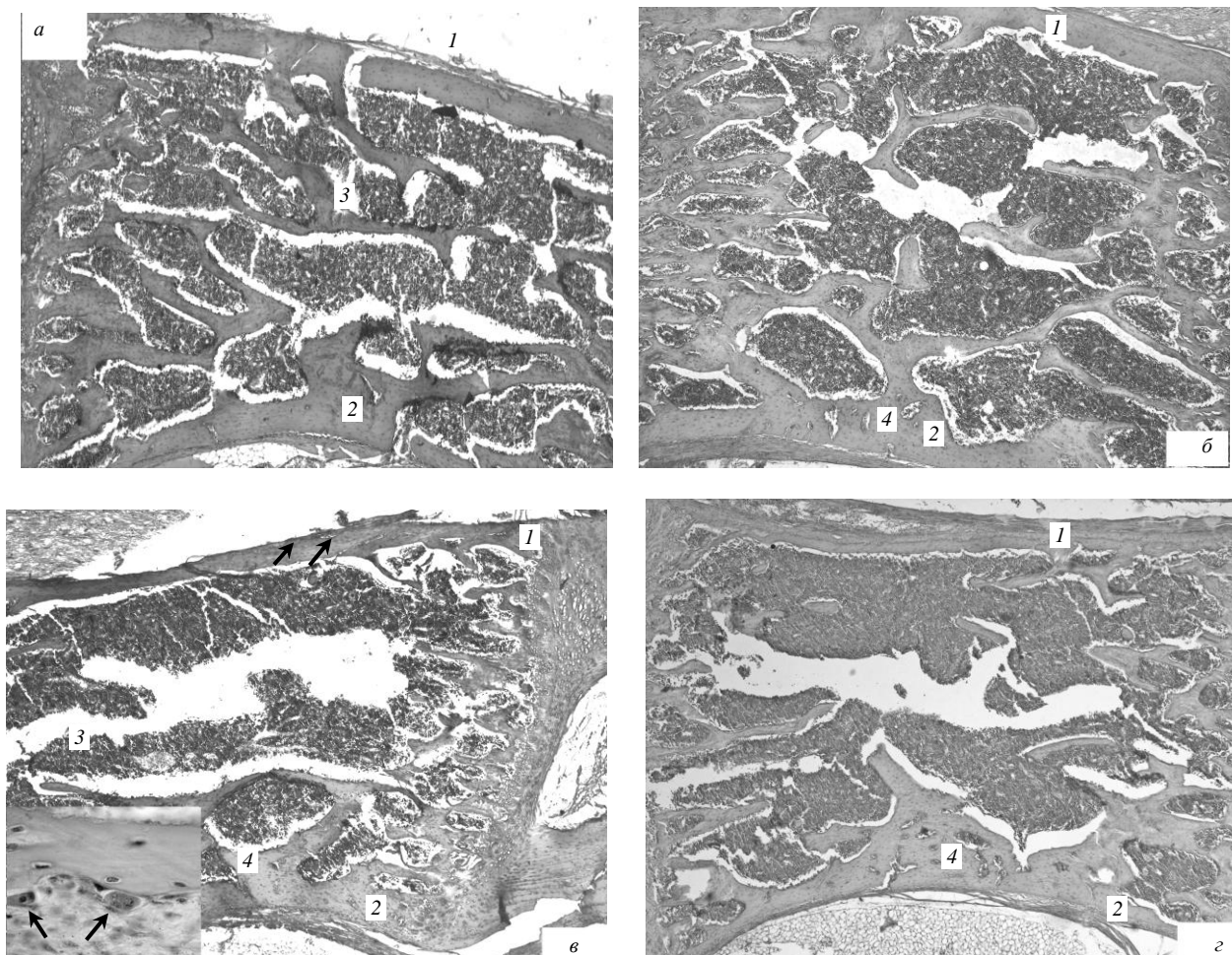


Рис. 1. Структурная организация костной ткани тел позвонков животных исследуемых групп: *а* – интактные животные; *б* – животные 2-й группы; *в* – животные 3-й группы; *з* – животные контрольной группы; 1 – дорсальная кортикальная пластинка, 2 – вентральная кортикальная пластинка, 3 – костные ячеи, 4 – очаги резорбции матрикса костной ткани. Стрелками обозначена локализация остеокластов. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 200

При гистологическом анализе образцов тел позвонков крыс, получавших только глюкокортикоиды, установлено, что введение преднизолон приводило к уменьшению площади компактного и губчатого слоев костной ткани на 58,8 и 53,3% соответственно, по сравнению с животными интактной группы (рис. 1, *в*, табл. 1). Обращало внимание неравномерное уменьшение толщины кортикальных пластинок со стороны дорсальной и вентральной поверхностей тела позвонка. На дорсальной поверхности отмечались очаги интенсивной резорбции матрикса костной ткани. Анализ препаратов в проходящем свете позволяет считать, что снижение толщины кортикальной пластинки на дорсальной поверхности тела позвонка обусловлено преобладанием остеокластического компонента резорбции костной ткани. Об этом свидетельствует локализация в кортикальной пластинке, покрытой периостом многочисленных гаушиповых лакун с остеокластами (рис. 1, *в*, вставка). Изменения губчатого

слоя пластинчатой костной ткани проявляются истончением костных перекладин, снижением занимаемой ими площади по сравнению с аналогичными образцами позвонков животных интактной группы. В структуре костных балок отчетливо видно расширение лакун остеоцитов и снижение тинкториальных свойств матрикса на их периферии. Типичным признаком остается наличие многочисленных бесклеточных лакун. Морфологические признаки истончения и разрежения костных структур в данном компартменте тела позвонка указывают не на присутствие остеокластического, а на преобладание иного механизма снижения костной массы – гладкой резорбции матрикса. Подобные изменения характерны также для образцов тел позвонков животных контрольной группы (рис. 1, *з*, табл. 1).

Неравнозначный уровень резорбции костной ткани в различных компартментах тела позвонка, в частности, компактного слоя пластинчатой костной ткани

Таблица 1

Морфометрическая характеристика костной ткани тела позвонка, мкм <sup>2</sup> (Me (Q <sub>25</sub> ; Q <sub>75</sub> ))		
Группа животных	Площадь	
	компактного слоя пластинчатой костной ткани	губчатого слоя пластинчатой костной ткани
Интактная	1086319 (1078529; 1094108)	1036279 (1034626; 1037904)
2-я группа	658281 (656613; 659837)**	650898 (640747; 661050)**
3-я группа	447889 (447731; 448046)*	483831 (475909; 491753)
Контрольная	526908 (519478; 534337)#	549278 (531640; 566918)#

Примечание. Здесь и в табл. 2 отличия показателей животных ( $p \leq 0,05$ ): \* – между интактной и 3-й группой; \*\* – 2-й и 3-й группами; # – отличия показателей животных между контрольной и 3-й группой.

со стороны дорсальной поверхности тела позвонка и губчатого слоя пластинчатой костной ткани трабекул, с нашей точки зрения является отражением структурного следа адаптации костного органа к действию АМК при окислительном стрессе. Вероятно, данная закономерность обусловлена дифференциальным уровнем нагрузки на различные отделы тела позвонка. В этой связи резорбция костного матрикса в наименее нагружаемой дорсальной поверхности тела позвонка осуществляется интенсивнее, чем в вентральной. Считаем, что реализация стратегии адаптации костного органа к повреждающему действию ОС реализуется через дифференциальный уровень функциональной активности клеток остеогенного дифферона, обеспечивающих синтез компонентов костного матрикса и остеокластов, осуществляющих его резорбцию. На обзорных препаратах заметно, что повышенный уровень резорбции костного матрикса в дорсальном компартменте тела позвонка в большей степени обеспечивается остеокластами. Эти клетки являются типичными представителями тканевых макрофагов, эволюционно приспособленных для деградации органических соединений а, следовательно, способны в большей степени, чем остеобласты и остециты к синтезу ферментативных и неферментативных компонентов системы антиоксидантной защиты. Вероятно, в условиях развития ОС остеокласты оказываются более устойчивыми к воздействию АМК, чем остеогенные клетки. Как известно, остеобласты детерминированы в направлении синтеза компонентов матрикса. На этом основании можно полагать, что при воздействии ОС для обеспечения собственного гомео-

стаза метаболизм данных клеток изменяется в направлении усиления синтеза ферментов антиоксидантной защиты, а не синтеза компонентов костного матрикса [11]. Опираясь на известные представления о механизмах гладкой резорбции костной ткани с большой вероятностью можно считать, что в условиях повреждения костной ткани остециты в процессе гибели выделяют лизосомальные ферменты, которые обуславливают вторичное повреждение субклеточных структур и компонентов межклеточного вещества. Морфологическим отражением этого является гладкая резорбция костных балок [12].

С нашей точки зрения, лизис преимущественно вертикальных трабекул костных ячеек, усиление резорбции матрикса костной ткани в области дорсальной поверхности тела позвонка при моделировании ОС обусловлены особенностями биомеханики компонентов осевого скелета. Известно, что в условиях ОС на организменном уровне нарушение минерального гомеостаза требует адекватного поступления элементов из депо, которым является костная ткань, что осуществляется, в первую очередь, за счет лизиса костного матрикса наименее нагружаемых участков тела позвонка. Анализ гистологических препаратов показывает, что на фоне повышенной резорбции костной ткани и снижения костной массы в дорсальном компартменте тела позвонка регистрируется увеличение костной массы в его вентральном отделе. Вместе с тем, выраженная положительная реакция межклеточного вещества костной ткани на коллаген по Маллори в данном компартменте тела позвонка указывает на несовершенный остеогенез, разобщение синтетических процессов и оссификацию.

Изучение образцов костной ткани животных 2-й группы показало, что использование антиоксиданта «Тиофан» при моделировании ОС препятствует развитию структурных нарушений костной ткани тела позвонка. Результаты исследования препаратов животных данной группы в проходящем свете позволяют отметить статистически значимое увеличение площади компактного и губчатого слоев пластинчатой костной ткани на 34,5 и 46,97% соответственно, по сравнению с животными, получавшими только глюкокортикоиды (см. рис. 1, б, табл. 1). По данным статистического анализа, исследуемые параметры животных 2-й группы хотя и отличаются от соответствующих значений интактных крыс, но, как и в исследуемых образцах животных интактной группы, костные балки располагаются параллельно продольной оси тела позвонка и формируют характерную для строения губчатого слоя кости ячеистую структуру. При постановке гистохимической реакции на коллаген по Маллори ко-

стная ткань животных данной группы не имеет различий по тинкториальным свойствам от аналогичных образцов ткани крыс интактной группы. Полученные результаты позволяют заключить, что длительное использование глюкокортикоидов приводит к нарушению гистоархитектоники костной ткани тел позвонков. На тканевом уровне это проявляется в лизисе вертикальных трабекул тела позвонка, резорбции костного матрикса в дорсальном компартменте и усилению процессов моделирования костной ткани в его вентральном отделе. Применение антиоксиданта «Тиофан» оказывает протективный эффект, препятствуя развитию резорбции костной ткани тел позвонков и обосновывает высокую роль АМК в механизмах моделирования и ремоделирования костной ткани при глюкокортикоид-индуцированном окислительном стрессе.

При анализе элементного состава тканей тел позвонков установлено, что длительное применение глюкокортикоидов приводит к статистически значимому снижению содержания в матриксе костной ткани таких остеотропных макроэлементов, как Са и Р (табл. 2). Так, у интактных крыс содержание кальция в кости составило 98651,76 мкг/кг массы тела, фосфора – 61850,00 мкг/кг массы тела. У животных, получавших преднизолон, значения данного показателя были ниже, чем у крыс интактной группы в 8,3 и 1,3 раза соответственно. Полученные результаты являются отражением нарушения обмена важнейших элементов костной ткани при глюкокортикоидной нагрузке. Вместе с тем, содержание Са и Р в костной ткани крыс, получавших антиоксидант «Тиофан» на фоне приема глюкокортикоидов, не имело статистически значимых отличий от показателей животных интактной группы и составило соответственно 86045,32 и 63760,00 мкг/кг массы тела.

Изучение влияния глюкокортикоидной нагрузки на содержание в костной ткани Fe, Zn указывает на снижение этих значений по сравнению с аналогичными образцами ткани интактных животных (табл. 1). Схожая закономерность была характерна и для крыс контрольной группы. У животных, получавших антиоксидант «Тиофан», содержание данных микроэлементов (МЭ) в образцах костной ткани приближалось к показателям интактных крыс. Вместе с тем, содер-

жание ионов Cu в костной ткани всех групп не имело существенных отличий.

Вероятно, коррекция антиоксидантом «Тиофан» как структурных нарушений костного органа, так и обмена наиболее важных катионов в костной ткани может свидетельствовать о важной роли свободнорадикального механизма в развитии осложнений глюкокортикоидной терапии.

В связи с тем, что в структуре молекул ключевых ферментов антиоксидантной защиты (каталазы, супероксиддисмутазы) в состав их активных центров входят Fe, Zn, то можно полагать, что снижение содержания данных катионов в ткани при глюкокортикоид-индуцированном ОС определяет депрессию активности этих ферментов. Об этом может свидетельствовать пониженное содержание ионов Fe и Zn в костной ткани крыс 3-й группы по сравнению с аналогичными показателями крыс интактной группы.

Известно, что Zn является основным МЭ, входящим в состав активного центра молекул металлотионинов – внутриклеточных цистеин-богатых белков, играющих важную роль в регуляции гомеостаза металлов в тканях и представляющих собой соединения, обладающие антиоксидантной активностью [13]. Пониженное содержание этого элемента в образцах костной ткани крыс при глюкокортикоид-индуцированном ОС и приближение значений животных, получавших антиоксидант «Тиофан», к показателям интактных крыс может свидетельствовать о депрессии в костной ткани при ОС не только ферментного, но и неферментного звена системы антиоксидантной защиты.

Важной характеристикой микроэлементного статуса организма, по мнению некоторых авторов, является не только абсолютное содержание МЭ, но и их соотношение [14]. Считается, что чем выше значение коэффициента Zn/Cu, тем устойчивее система антиоксидантной защиты [15]. В исследуемых образцах крыс интактной и 2-й группы значение этого коэффициента составляло 40,98 и 35,67 соответственно и не имело между собой статистически значимых различий. У животных, получавших только глюкокортикоиды, и крыс контрольной группы коэффициент Zn/Cu имел показатели 23,17 и 29,74 соответственно.

Таблица 2

Содержание макро- и микроэлементов в тканях тел позвонков крыс, мкг/кг (Me (Q <sub>25</sub> ; Q <sub>75</sub> ))					
Группа животных	Са	Р	Fe	Zn	Cu
Интактная	98651,76 (98509,60; 98793,92)	61850,00 (61729,85; 61970,17)	44,33 (41,93; 46,73)	103,67 (101,27; 106,07)	2,53 (2,14; 2,92)
2-я группа	86045,32 (85925,16; 86165,48)**	63760,03 (63639,87; 63880,19)**	35,20 (32,80; 37,60)**	98,43 (96,03; 100,83)	2,76 (2,37; 3,15)
3-я группа	11871,17 (11751,01; 11991,33)*	49000,01 (48879,85; 49120,17)*	23,67 (21,27; 26,07)*	78,33 (75,93; 80,73)*	3,38 (2,99; 3,77)

Контрольная	48823,50 (48703,34; 48943,66) <sup>#</sup>	52400,02 (52279,86; 52520,18) <sup>#</sup>	19,00 (18,33; 19,68)	84,75 (82,35; 87,15)	2,85 (2,46; 3,24)
-------------	-----------------------------------------------	-----------------------------------------------	-------------------------	-------------------------	----------------------

Вероятно, данный параметр может использоваться в качестве критерия оценки уровня развития ОС и структурно-функциональных нарушений костной ткани.

## Заключение

Развитие глюкокортикоид-индуцированного окислительного стресса приводит к нарушению структурно-функциональной организации костной ткани тел позвонков и снижению содержания Са и Р, а также металлов, входящих в состав активных центров ферментов антиоксидантной защиты и простетических групп белков, обладающих антиоксидантной активностью.

Полифункциональный серосодержащий антиоксидант нового поколения «Тиофан» позиционируется как перспективное средство защиты клеток и матрикса костной ткани от повреждения активными метаболитами кислорода.

## Литература

1. Владимирцов Ю.А. Свободнорадикальное окисление липидов и физические свойства липидного слоя биологических мембран // Биофизика. 1987. Т. 32, Вып. 5. С. 830–844.
2. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньшикова Е.Б. Оксидативный стресс. Биохимический и патофизиологический аспекты. М.: МАИК «Наука/Интерпериодика», 2001. 343 с.
3. Бельмер С.В. Микроэлементы, пребиотики, кишечная микрофлора, иммунитет // Педиатрия. 2009. Т. 87, № 3. С. 92–94.
4. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З. Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания. Новосибирск: АР-ТА, 2008. 284 с.

5. Мухамеджанова Л.Р., Галиев И.М. Микроэлементы костной ткани у больных генерализованным пародонтитом // Казанский мед. журн. 2004. № 2. С. 123–124.
6. Оситова Е.В. Роль химических элементов в деятельности нервной системы / Бюл. ВСНЦ СО РАМН. 2005. Т. 1 (39). С. 79–84.
7. Валеева И.Х., Зиганишина Л.Е., Бурнашова З.А., Зиганишин А.У. Влияние димефосфона и ксидифона на показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы крыс, длительно получавших преднизолон // Эксперимент. и клинич. фармакология. 2002. № 2.
8. Ромейс Б. Микроскопическая техника. М.: Иностранная литература, 1954. 165 с.
9. Луканина С.Н. Влияние антиоксиданта тиофана на структурно-функциональную организацию кишечника крыс в условиях глюкокортикоидной нагрузки // Сиб. вестн. сельскохоз. науки. 2010. № 3. С. 61–68.
10. Сахаров А.В., Жучаев К.В., Просенко А.Е., Луканина С.Н. Влияние окислительного стресса на состояние костной ткани тела позвонка свиньи // Сиб. вестн. сельскохоз. науки. 2007. № 6. С. 81–86.
11. Сахаров А.В., Глотова А.А. Сравнительное изучение репаративной регенерации костной ткани при использовании тканеинженерной матрицы на основе материала «ТИОПРОСТ» и материала «КоллАпан-М» // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2011. Т. 6, № 4. С. 89–94.
12. Павлова В.Н., Павлов Г.Г., Шостак Н.А., Слуцкий Л.И. Сустав: морфология, клиника, диагностика, лечение. М.: Мед. информ. агентство, 2011. 552 с.
13. Cai L. Metallothionein as an adaptive protein prevents diabetes and its toxicity // Nonlinearity in Biology, Toxicology and Medicine. 2004. V. 2. P. 89–103.
14. Ракитский В.Н., Юдина Т.В. Антиоксидантный и микроэлементный статус организма: современные проблемы диагностики // Вестн. РАМН. 2005. № 3. С. 33–36.
15. Селятицкая В.Г., Пальчикова Н.А., Заксас Н.П. Содержание микроэлементов в тканях печени и легкого крыс с аллоксановым диабетом // Фундаментальные исследования. 2012. № 4 (Ч. 1). С. 201–205.

Поступила в редакцию 07.05.2015 г.

Утверждена к печати 02.07.2015 г.

**Луканина Светлана Николаевна** (✉) – канд. биол. наук, доцент, доцент кафедры анатомии, физиологии и безопасности жизнедеятельности НГПУ (г. Новосибирск).

**Сахаров Андрей Валентинович** – д-р биол. наук, профессор, зав. кафедрой зоологии и методики обучения биологии НГПУ (г. Новосибирск).

**Просенко Александр Евгеньевич** – д-р хим. наук, профессор, зав. кафедрой химии НГПУ (г. Новосибирск).

**Ефремов Анатолий Васильевич** – заслуженный деятель науки РФ, д-р мед. наук, д-р социол. наук, профессор, член-корреспондент РАН, зав. кафедрой патологической физиологии и клинической патофизиологии лечебного факультета НГПУ (г. Новосибирск).

**Романова Ксения Алексеевна** – мл. науч. сотрудник лаборатории морфологии НГПУ (г. Новосибирск).

✉ Луканина Светлана Николаевна, тел. 8-905-936-0110; e-mail: lukanina@ngs.ru

## EFFECT OF OXIDATIVE STRESS ON HISTOARCHITECTONICS AND ELEMENTAL COMPOSITION OF BONE TISSUE OF THE VERTEBRAL BODY RATS

Lukanina S.N., Sakharov A.V., Prosenko A.Ye., Yefremov A.V., Romanova K.A.

Novosibirsk State Pedagogical University, Novosibirsk, Russian Federation

### ABSTRACT

This paper is concerned with study an influence of the oxidative stress on morphofunctional characteristics and elemental composition of bone tissue of the vertebral body rats.

**Material and methods.** The research carried out on male rats of the Wistar line with weight 250–300 g. All rats were categorized into 4 groups with 10 ones in each: 1 – intact group; 2 and 3 – experimental groups; 4 – control group. Rats from groups 2–4 were under the development of oxidized stress which caused by daily stomach-pump injection (during fortnight) with aqua suspension of synthetic glucocorticoid “Prednisolone” in dose 50 mg/kg. Through three hours after “Prednisolone” the antioxidant “Tiophan” was injected by stomach-pump (dose 100 mg/kg), which was dissolved in 0.2 ml of vegetation oil to laboratory animals from the group 2. Rats from control group got only solvent (vegetative oil 0.2 ml) according the same scheme. Three hours after “Prednisolone” to rats from group 3 were injected of 0.2 ml aqua Fontana. It was made for purity the experiment and standartization of manipulations, which are connected with injections into rats’ organisms. The peculiarities of structure of bone tissue of vertebra have been studied by methods of morphohistochemical analysis. The elemental composition of bone tissue was defined by atom-emission analysis method with inductive coupled plasma (spectrometer OPTIMA, code of methodics KHA: MUK.4.1.1482-03).

**Results.** A development of glucocorticoid-induced oxidative stress results to infraction the histoarchitectonics of bone tissue of vertebra and decreasing the content of cations, which are included to the composition of active centres of pherments of antioxidant protection and prosthetic groups of proteins with an antioxidant activity. Using the antioxidant “Tiophan” proved an existence of its expressed osteoprotective properties. This can be seen from decreasing a level of resorbtion of bone tissue of vertebra while modeling the oxidative stress and increasing the content of Ca, P, Cu, Fe, Zn in bone tissue in compare to data of intact animals.

**Conclusion.** Polyfunctional S-containing antioxidant of new generation “Tiophan” is a prospective remedy of protecting cells and matrix of bone tissue against infraction caused by active oxygen metabolites during an oxidative stress.

**KEY WORDS:** oxidative stress, antioxidants, glucocorticoids, bone tissue, macro- and microelements.

*Bulletin of Siberian Medicine, 2015, vol. 14, no. 4, pp. 33–40*

### References

1. Vladimirov Yu.A. Free radical oxidation of lipids and physical properties of the lipid layer of biological membranes. *Biofizika – Biophysics*, 1987, vol. 32, no. 5, pp. 830–844 (in Russian).
2. Zenkov N.K., Lankin V.Z., Menshikova Ye.B. *Oxidative stress. The biochemical and pathophysiological aspects*. Moscow, MAIK “Nauka/Interperiodica” Publ., 2001. 343 p. (in Russian).
3. Belmer S.V. Microelements, prebiotics, intestinal microflora, immunity. *Pediatriya – Pediatrics*, 2009, vol. 87, no. 3, pp. 92–94 (in Russian).
4. Menshikova E.B., Zenkov N.K., Lankin V.Z. *Oxidative stress: pathological conditions and deseases*. Novosibirsk, AR-TA Publ., 2008. 284 p. (in Russian).
5. Mukhamedzhanova L.R., Galiev I.M. Microelements of bone tissue in patients with generalized periodontitis. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal – Kazan Medical Journal*, 2004, no. 2, pp. 123–124 (in Russian).
6. Osipova Ye.V. The role of chemical elements in the nervous system activity. *Bulletin ESSC SB RAMS*, 2005, vol. 1 (39), pp. 79–84 (in Russian).
7. Valeyeva I.Kh., Ziganshina L.Ye., Burnashova Z.A., Ziganshin A.U. The influence of dimephosphone and xidiphone to the rates of peroxide oxidation of lipids and antioxidant system of rats with long-term injection of Prednizolon. *Ekspiermental'naya i klinicheskaya farmakologiya – Experimental and Clinical Pharmacology*, 2002, no. 2 (in Russian).
8. Romeys B. Microscopic technique. Moscow, Inistrannayz literatura Publ., 1954. 165 p. (in Russian).

9. Lukanina S.N. Effect of antioxidant Thiophane on the structural and functional organization of the intestine of rats in the conditions of glucocorticoid load. *Sibirskiy vestnik sel'skokhozyaistvennoy nauki – Siberian Bulletin of Agricultural Science*, 2010, no. 3, pp. 61–68 (in Russian).
10. Sakharov A.V., Zhuchaev K.V., Prosenko A.E., Lukanina S.N. Effect of oxidative stress on the bone tissue of the vertebral body pigs. *Sibirskiy vestnik sel'skokhozyaistvennoy nauki – Siberian Bulletin of Agricultural Science*, 2007, no. 6, pp. 81–86 (in Russian).
11. Sakharov A.V., Glotova A.A. Comparative study of reparative regeneration bone tissue when using tissue-matrix based on material "TIOPROST" and material "CollapAn-M". *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya – Cellular Transplantation and Tissue Engineering*, 2011, vol. 6, no. 4, pp. 89–94 (in Russian).
12. Pavlova V.N., Pavlov G.G., Shostak N.A., Slutsky L.I. *Joint: morphology, clinic, diagnostics, treatment*. Moscow, Medical Information Agency Publ., 2011. 552 p. (in Russian).
13. Cai L. Metallothionein as an adaptive protein prevents diabetes and its toxicity. *Nonlinearity in Biology, Toxicology and Medicine*, 2004, vol. 2, pp. 89–103.
14. Rakitskiy V.N., Yudina T.V. Antioxidant and microelemental status of the organism: the modern problems of diagnosis. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk – Herald of the Russian Academy of Sciences*, 2005, no. 3, pp. 33–36 (in Russian).
15. Selyatitskaya V.G., Palchikova N.A., Zaksas N.P. The content of microelements in the liver and lung of rats with alloxan diabetes. *Fundamentalnie issledovaniya*, 2012, no. 4 (part 1), pp. 201–205 (in Russian).

**Lukanina Svetlana N.** (✉), Novosibirsk State Pedagogical University, Novosibirsk, Russian Federation.

**Sakharov Andrei V.**, Novosibirsk State Pedagogical University, Novosibirsk, Russian Federation.

**Prosenko Aleksandr Ye.**, Novosibirsk State Pedagogical University, Novosibirsk, Russian Federation.

**Yefremov Anatoly V.**, Novosibirsk State Pedagogical University, Novosibirsk, Russian Federation.

**Romanova Ksenia A.** Novosibirsk State Pedagogical University, Novosibirsk, Russian Federation.

✉ **Lukanina Svetlana N.**, Ph. +7-905-936-0110; e-mail: lukanina@ngs.ru

## **Уважаемые читатели!**

### **Предлагаем вам подписаться на наш журнал с любого номера**

В 2015 году стоимость подписки на полугодие составляет 1500 рублей, на год — 3000 рублей.

**Как оформить подписку на журнал «Бюллетень сибирской медицины»**

**На почте во всех отделениях связи**

Подписной индекс **46319** в каталоге агентства Роспечати «Газеты и журналы 2015, 2-е полугодие».

**В редакции**

- Без почтовых наценок.
- С любого месяца.
- Со своего рабочего места.

По телефону (382-2) 51-41-53; факс (382-2) 51-53-15.

На сайте <http://bulletin.tomsk.ru>

Если вы являетесь автором публикаций или хотите приобрести наш журнал, он будет выслан вам наложенным платежом при заполнении заявки. Стоимость приобретения одного номера 450 рублей.

Заявку на приобретение журнала нужно выслать по адресу редакции:

634050, г. Томск, пр. Ленина, 107,

Научно-медицинская библиотека Сибирского государственного медицинского университета,

редакция журнала «Бюллетень сибирской медицины»,

тел. (8-3822) 51-41-53. E-mail: [bulletin@bulletin.tomsk.ru](mailto:bulletin@bulletin.tomsk.ru)