



DOI: <https://doi.org/10.15688/jvolsu11.2016.4.2>

УДК 616.71:617-089.844

ББК 54.548

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОСТНОЙ ТКАНИ В УСЛОВИЯХ ЭКЗОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ У КРЫС

Анна Сергеевна Крылова

Аспирант кафедры биоинженерии и биоинформатики,
Волгоградский государственный университет
krylova.volsu@mail.ru, biobio@volsu.ru
просп. Университетский, 100, 400062 г. Волгоград, Российская Федерация

Аннотация. В экспериментальном исследовании изучены морфологические изменения в костной ткани при хроническом действии малых доз двух токсикантов с различными механизмами действия на организм. Количественные определения включали в себя расчет средней толщины кортикального слоя кости, костных трабекул, объемной доли костной ткани, численной плотности клеток, иммунопозитивных к остеонектину, маркеру макрофагов и остеокластов, матриксной металлопротеиназе ММР-9 и ее тканевому ингибитору ТИМР-1. Факторами, вызывающими нарушения регенераторной функции костной ткани, могут выступать не только внутренние факторы среды, но и воздействия внешних условий, такие как токсическое действие химических веществ. Токсиканты, поступающие в окружающую среду, кумулируются в различных тканях организма и способны вызывать системные патологические изменения в их функционировании. Хроническая интоксикация сопровождалась нарушениями естественной регенерации костной ткани, в результате которых вначале увеличивался, а затем значительно снижался регенераторный потенциал ткани, активизировались процессы резорбции костного матрикса и развивались признаки остеопороза. Наблюдалось преобладание процессов разрушения костной ткани над процессами остеосинтеза. Объемная доля и масса кости уменьшалась, ткань приобретала более рыхлую пористую структуру, вследствие чего наблюдалось снижение прочности кости и повышение ее хрупкости. В резорбируемой костной ткани наблюдалось преобладание остеокластов, разрушающих внеклеточный матрикс, тогда как количество остеобластов и их активность снижались. Показано, что выявление при морфологическом исследовании костной ткани этих признаков может считаться одним из индикаторов хронического токсического воздействия на организм химических факторов внешней среды.

Ключевые слова: кость, скелет, хроническая интоксикация, тетрахлорметан, гентамицин, остеокластическая резорбция, остеоцитарное ремоделирование, остеопороз.

Введение

Особенностью костной ткани является относительно небольшое количество клеток всего двух специализированных популяций и

небольшое число сосудов, в то время как ее основные функциональные свойства в основном определяются наличием органического и минерального внеклеточного матрикса [1; 9; 19; 23]. Нормальное функционирование ко-

стной ткани обеспечивается равновесием процессов восстановления и разрушения, поддерживаемых специализированными клетками, их рецепторами и сигнальными молекулами [16; 17; 25].

Постоянное обновление (ремоделирование) матрикса кости требует комплексной деятельности остеобластов, остеоцитов и остеокластов, которая регулируется достаточно сложным комплексом нервных, иммунных и эндокринных механизмов [3; 24; 27]. В процессе жизнедеятельности в организме аккумулируются токсические соединения, избыток которых способен вызывать негативные последствия для нормального течения восстановительных процессов в костной ткани, также проявляющихся в органах-мишенях, таких как почки, печень, легкие [6; 8]. Процесс ремоделирования кости напрямую связан с функцией печени и почек, которые относятся к основным органам, вовлеченным в детоксикацию и часто повреждаемых токсинами [8; 30].

Следовательно, неблагоприятное воздействие факторов химической природы, помимо прямого воздействия на клетки костной ткани, может нарушать механизмы регуляции и метаболического обеспечения этого процесса, что в совокупности должно сопровождаться нарушением строения и свойств кости [8]. Длительно существующее токсическое прямое или косвенное воздействие на костную ткань и ее физиологические механизмы способно спровоцировать системные патологические изменения. В то же время исследование костной ткани до настоящего времени не относится к типичным процедурам для индикации неблагоприятного воздействия на организм химических факторов внешней среды [12].

Для активной регенерации костной ткани необходимо сочетание ряда восстанавливающих мероприятий [14; 15; 18; 26]. Здесь не только важны подходы, основанные на базовой терапии исключительно костной ткани, но и требуется разработка комплексного подхода, основанного на восстановлении систем детоксикации в организме. Восстановление системных отрицательных изменений, вызванных токсическим действием, даст преимущество в успешности имплантации в области стоматологии и ортопедии [31].

Применение специальных регенеративных методов костной инженерии, основанных на использовании биомиметических наноконструкций и покрытий, оказало существенное положительное воздействие на процесс остеоинтеграции внутрикостных имплантатов [4; 11; 14; 20; 29]. В современной клинической практике уже используются имплантационные конструкции с уникальными биологическими и функциональными покрытиями и наноматериалами для обеспечения долговечности и надежности остеоинтеграции [10; 13; 22; 28]. Для усовершенствования регенерации костной ткани при имплантации разрабатываются новые биомиметические органические и неорганические составы [2; 5; 7; 21].

Цель работы – изучить морфофункциональные изменения костной ткани в условиях введения экзогенных токсинов.

Материалы и методы

Исследование проводилось на 15 крысах-самцах линии Wistar массой 200–250 г. Работа с животными проводилась в соответствии с этическими нормами, изложенными в «Правилах проведения работ с использованием экспериментальных животных» и Директиве 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях. Выведение животных осуществляли с помощью введения 10-кратной дозы «Рометар» (Россия) (0,4 мл/кг массы животного).

При моделировании дегенеративных изменений костной ткани крысы оценивались через 30 суток, после чего проводили сравнение с группой интактных животных. В первой серии эксперимента хроническую интоксикацию воспроизводили пероральным введением тетралорметана из расчета 0,5 мл/кг массы в виде 30 %-ного масляного раствора через день (серия ТХМ). Во второй серии эксперимента использовали с той же частотой внутрибрюшинные инъекции нефротоксичного антибиотика гентамицина (серия ГМ) из расчета 20 мг/кг массы. Животных выводили из опыта по 5 особей на 30-е сутки после начала эксперимента. 5 крыс составили группу интактных животных.

Гистологические препараты костной ткани приготавливали после фиксации в 10 %-ном

растворе нейтрального забуференного формалина и декальцинации в растворе «Cal-Ex®» (Fisher Scientific, США), окрашивали по стандартной методике гематоксилином и эозином. Иммуногистохимическое исследование проводили с использованием моноклональных антител к маркеру клеток остеогенного ряда остеонектину (NCL O-nectin, 15G12, Novocastra, Великобритания), маркеру макрофагов и остеокластов CD-68 (Novocastra, Великобритания), металлопротеиназе MMP-9 (клон MMP9-439, Leica Microsystems, Германия) и ее ингибитору TIMP-1 (клон VT7, Dako Cytomation, Дания). Фотосъемка сочеталась с количественным морфологическим исследованием и была проведена с помощью аппаратного комплекса «TourView» (США). Он включал в себя бинокулярный исследовательский микроскоп «Микомед-5» (Россия), цифровую камеру «TourCam» (США), компьютер с цветным принтером высокого разрешения и программным обеспечением «TourView», «ImageJ версия 1.48v» (США).

Морфометрическое исследование проводилось по общепринятым принципам системного количественного анализа. В работе была проанализирована средняя толщина кортикального слоя кости (мкм), костных трабекул (мкм), объемная доля костной ткани (%). Подсчитывали численную плотность костных и иммунопозитивных клеток ($1/\text{мм}^3$) [23].

Количественные данные обрабатывали с помощью программы Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США) с расчетом показателей, принятых для характеристики непараметрических выборок в медико-биологических исследованиях (медиана [1-й квартиль ÷ 3-й квартиль]). Для доказательства достоверности различий применен дисперсионный анализ с использованием непараметрического критерия Фридмана для множественных групп ($p < 0,01$).

Результаты и их обсуждение

Результаты морфометрии костной ткани у крыс в условиях введения экзогенных токсинов у первой и второй опытной серии, а также группы интактных животных приведены в таблице 1.

В результате введения токсинов наблюдается снижение толщины кортикального слоя

кости на 30-е сутки эксперимента на 60 % и 80 % по сравнению с интактными животными. Также наблюдается разница между ТМХ и ГМЦ, что позволяет предположить, что влияние токсинов на функциональное состояние почек значительно сказывается на усилении процессов резорбции костной ткани. При этом объемная доля костной ткани возрастала в обеих опытных сериях по сравнению с контролем при введении ТМХ в 1,04 раза, а при введении ГМЦ – в 1,32 раза ($p < 0,05$). Толщина трабекул через 30 суток после введения экзотоксинов не изменялась в опытных сериях в сравнении с интактными животными. Численная плотность клеток костной ткани уменьшилась на 30-е сутки в 1,07 раза ($p < 0,05$) при введении ТМХ, при введении ГМЦ достоверных изменений не происходило. В результате эксперимента значительно увеличилась численная плотность остеокластов и макрофагов CD-68 по сравнению с интактной группой при интоксикации ГМЦ в 2,75 ($p < 0,05$) раза, что свидетельствует о том, что поражение почек приводит к увеличению остеокластов в костной ткани, запускающих интенсивную резорбцию кости.

Результаты полуколичественного определения синтетической активности остеобластов и остеокластов костной ткани после интоксикации ТМХ и ГМЦ показали следующие результаты, представленные в таблице 2.

Синтетическая активность остеобластов и остеокластов изменяется на 30-е сутки эксперимента по сравнению с интактными животными. Индекс синтетической активности остеонектина снизился в 1,21 раза при введении ТМХ, а при введении ГМЦ – в 1,63 раза ($p < 0,05$). Такое снижение остеонектина связано с увеличением синтеза MMP-9 остеокластами, численная плотность которых увеличивалась к концу эксперимента в 1,68 (ТМХ) и 1,42 (ГМЦ) раза ($p < 0,05$) по сравнению с интактными животными. В результате усиления резорбции костной ткани снизилась синтетическая активность ТИМП-3 при введении ТМХ в 2,03 раза, а ГМЦ – в 1,36 раза ($p < 0,05$).

Полученные данные свидетельствуют о том, что при интоксикации развивается дисбаланс процессов, обеспечивающих восстановление костной ткани: на фоне уменьшения остеосинтетических процессов в ткани значи-

Таблица 1

Морфометрические показатели костной ткани интактных крыс и при введении экзотоксинов (Ме [1-й квартиль ÷ 3-й квартиль])

Показатель	Интактные животные	Сроки эксперимента – 30 суток	
		ТМХ	ГМЦ
Толщина кортикального слоя кости, мкм	75,75 [70,73 ÷ 83,29]	47,75*# [22,70 ÷ 57,71]	19,91*# [8,84 ÷ 28,14]
Объемная доля костной ткани, %	41,34 [34,84 ÷ 55,47]	43,05# [32,70 ÷ 50,60]	54,51*# [44,70 ÷ 60,60]
Толщина костных трабекул, мкм	15,88 [7,84 ÷ 16,47]	15,65 [8,70 ÷ 18,60]	14,05 [11,03 ÷ 20,24]
Численная плотность, 1/мм ³	4192 [3500 ÷ 5200]	3900* [2956 ÷ 4325]	4133 [3100 ÷ 5032]
Объемная доля CD-68-позитивных клеток, %	456 [355 ÷ 514]	645*# [620 ÷ 671]	1257*# [1162 ÷ 1317]

Примечание. * – достоверные различия с величиной показателя в контрольной группе; # – достоверные различия между показателями в группах ГТ и НТ.

Таблица 2

Экспрессия остеоонектина, MMP-9 и TIMP-1 у интактных крыс и при введении экзотоксинов

Показатель	Интактные животные	Сроки эксперимента – 30 суток	
		ТМХ	ГМЦ
Индекс синтетической активности остеоонектина, %	30,99 [25,53 ÷ 35,75]	25,56*# [23,84 ÷ 26,49]	18,92*# [15,62 ÷ 22,50]
Индекс синтетической активности MMP-9, %	16,17 [12,53 ÷ 18,09]	27,17* [22,53 ÷ 30,09]	23,12* [21,87 ÷ 25,00]
Индекс синтетической активности TIMP-1, %	19,61 [16,53 ÷ 23,09]	9,66*# [8,60 ÷ 10,59]	14,41*# [13,12 ÷ 16,25]

Примечание. * – достоверные различия с величиной показателя в контрольной группе; # – достоверные различия между показателями в группах ГТ и НТ.

тельно возрастает остеорезорбция. В итоге постепенно убывает объем минерального и органического матрикса и развивается остеопороз, что снижает эффективность остеоинтеграции при имплантации.

ны к воздействию химическими факторами внешней среды. Полученные результаты в дальнейшем можно использовать для изучения остеоинтеграции в условиях имплантации зубных и костных имплантатов.

Заключение

Проведенный морфофункциональный анализ костной ткани в условиях интоксикации позволил произвести оценку дегенеративных и регенеративных процессов в кости. Изучение механизмов ремоделирования костной ткани позволит достичь благоприятного течения восстановительных процессов в костной ткани. Для улучшения протекания остеосинтетических процессов необходимо не только проведение комплексного воздействия на костную ткань, но и системное лечение детоксицирующих органов, так как они чувствитель-

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аврунин, А. С. Остеоцитарное ремоделирование костной ткани: история вопроса, морфологические маркеры / А. С. Аврунин, Р. М. Тихилов // Морфология. – 2011. – № 1. – С. 86–94.
2. Зайцев, В. В. Костные морфогенетические белки (ВМР): общая характеристика, перспективы клинического применения в травматологии и ортопедии / В. В. Зайцев, А. С. Карягина, В. Г. Лунин // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – 2009. – № 4. – С. 79–84.
3. Лычкова, А. Э. Нервная регуляция метаболизма костной ткани / А. Э. Лычкова // Вестник РАМН. – 2011. – № 3. – С. 42–47.

4. Модификация поверхностей внутрикостных имплантатов: современные исследования и нанотехнологии / В. И. Калита, Д. А. Маланин, В. А. Мамаева [и др.] // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2009. – № 4. – С. 17–22.

5. Новые препараты, стимулирующие регенерацию костной ткани / А. Л. Гинцбург, Н. Е. Шаропова, С. В. Надеждин [и др.] // Современные медицинские технологии. – 2011. – № 7. – С. 60–62.

6. Остеоинтеграция имплантатов с биоактивной поверхностью, модифицированной напылением хитозана в эксперименте у крыс / В. В. Новочадов, Н. М. Гайфуллин, Д. А. Залевский [и др.] // Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова. – 2013. – № 2. – С. 30–35.

7. Остеопластические препараты нового поколения «Гамалант», содержащие факторы роста и регенерации костной ткани / М. С. Бартов, А. С. Карягина, А. В. Громов [и др.] // Журнал травматологии и ортопедии. – 2012. – № 2. – С. 21–25.

8. Ремоделирование костной ткани в условиях эндогенной интоксикации / В. В. Новочадов, Н. М. Гайфуллин, Д. М. Фролов [и др.] // Вестник Волгоградского государственного университета. Серия 11, Естественные науки. – 2012. – № 2. – С. 4–10.

9. Шемонаев, В. И. Сравнительная информативность морфологических, рентгенологических и динамометрических критериев при изучении остеинтеграции в эксперименте / В. И. Шемонаев, В. В. Новочадов // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2014. – № 3. – С. 54–57.

10. Экспериментальная оценка остеиндуктивности рекомбинантного костного морфогенетического белка (rhBMP-2) отечественного производства, фиксированного на биокомпозиционном материале или костном матриксе / С. П. Миронов, А. Л. Гинцбург, Н. А. Еськин [и др.] // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – 2010. – № 4. – С. 38–44.

11. Advances in surfaces and osseointegration in implantology / M. Albertini, M. Fernandez-Yague, P. Lázaro [et al.] // Biomimetic surfaces. Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal. – 2015. – Vol. 20, № 3. – e316–e325.

12. Barker, K. L. A qualitative systematic review of patients' experience of osteoporosis using meta-ethnography / K. L. Barker, F. Toye, C. J. Minns Lowe // Arch. Osteoporos. – 2016. – Vol. 11, № 1. – e33.

13. Bessa, P. C. Bone morphogenetic proteins in tissue engineering: the road from the laboratory to the clinic, part I (basic concepts) / P. C. Bessa, M. Casal, R. L. Reis // J. Tissue Eng. Regen. Med. – 2008. – № 2. – P. 1–13.

14. Biomimetic approaches with smart interfaces for bone regeneration / G. S. Sailaja, P. Ramesh, S. Vellappally [et al.] // J. Biomed. Sci. – 2016. – Vol. 23. – e77.

15. Biomimetics: forecasting the future of science, engineering, and medicine / J. Hwang, Y. Jeong, J. M. Park [et al.] // Int. J. Nanomedicine. – 2015. – Vol. 10. – P. 5701–5713.

16. Brewa, K. The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): An ancient family with structural and functional diversity / K. Brewa, H. Nagaseb // Biochim. Biophys. Acta. – 2010. – Iss. 1803 (1). – P. 55–71.

17. Chang, P.-C. Evaluation of functional dynamics during osseointegration and regeneration associated with oral implants: a review / P.-C. Chang, N. P. Lang, W. V. Giannobile // Clin. Oral Implants Res. – 2010. – Vol. 21, № 1. – P. 1–12.

18. Clinical outcomes measures for assessment of longevity in the dental implant literature: ORONet approach. / F. Bassi, A. B. Carr, T. L. Chang [et al.] // Int. J. Prosthodont. – 2013. – Vol. 26, № 4. – P. 323–330.

19. Contribution of mineral to bone structural behavior and tissue mechanical properties / E. Donnelly, D. X. Chen, A. L. Boskey [et al.] // Calcif. Tissue Int. – 2010. – Vol. 87, № 5. – P. 450–460.

20. Dzenis, Y. Materials science - structural nanocomposites / Y. Dzenis // Science. – 2008. – Iss. 319 (5862). – P. 419–420.

21. Enhanced bone regeneration around dental implant with bone morphogenetic protein 2 gene and vascular endothelial growth factor protein delivery / T. Luo, W. Zhang, B. Shi [et al.] // Clin. Oral Implants Res. – 2012. – Vol. 23, № 4. – P. 467–473.

22. Guo X. Signaling cross-talk between TGF-beta/BMP and other pathways / X. Guo, X. F. Wang // Cell Res. – 2009. – Vol. 19, № 1. – P. 71–88.

23. Handbook of histology methods for bone and cartilage / ed. by Y. H. An, K. L. Martin. – N. Y. : Humana Press, 2003. – 587 p.

24. Immunoregulation of bone remodeling / A. Singh, A. A. Mehdi, R. N. Srivastava [et al.] // Int. J. Crit. Illn. Inj. Sci. – 2012. – Vol. 2, № 2. – P. 75–81.

25. Kamiya, N. New insights on the roles of BMP signaling in bone – a review of recent mouse genetic studies / N. Kamiya, Y. Mishina // Biofactors. – 2011. – Vol. 37, № 2. – P. 75–82.

26. Mechanomics: an emerging field between biology and biomechanics / J. Wang, D. Lü, D. Mao [et al.] // Protein Cell. – 2014. – Vol. 5, № 7. – P. 518–531.

27. Microstructure and nanomechanical properties in osteons relate to tissue and animal age / J. Burket, M. C. H van der Meulen, S. Gourion-Arsiquaud [et al.] // J. Biomech. – 2011. – Vol. 44, № 2. – P. 277–284.

28. Production of the recombinant human bone morphogenetic protein-2 in Escherichia coli and testing of its biological activity in vitro and in vivo / N. E. Sharapova, A. P. Kotnova, Z. M. Galushkina [et al.] // Mol. Biol. (Moscow). – 2010. – Vol. 44, № 6. – P. 923–930.

29. Structure and shear strength of implants with plasma coatings / V. I. Kalita, A. I. Mamaev, V. A. Mamaeva [et al.] // *Inorganic Materials: Applied Research*. – 2016. – Vol. 7, № 3. – P. 376–387.

30. The relationship between adipokines, osteocalcin and bone quality in chronic kidney disease / J. Bacchetta, S. Boutroy, F. Guebre-Egziabher [et al.] // *Nephrol. Dial. Transplant*. – 2009. – Vol. 24, № 10. – P. 3120–3125.

31. Trindade, R. Current concepts for the biological basis of dental implants: foreign body equilibrium and osseointegration dynamics / R. Trindade, T. Albrektsson, A. Wennerberg // *Oral Maxillofac. Surg. Clin. North Am.* – 2015. – Vol. 27, № 2. – P. 175–183.

REFERENCES

1. Avrunin A.S., Tikhilov R.M. Osteotsitarnoe remodelirovanie kostnoy tkani: istoriya voprosa, morfologicheskie markery [Osteocitarian Remodeling of Bone Tissue: History of the Issue, Morphological Markers]. *Morfologiya*, 2011, no. 1, pp. 86-94.

2. Zaytsev V.V., Karyagina A.S., Lunin V.G. Kostnye morfogeneticheskie belki (BMP): obshchaya kharakteristika, perspektivy klinicheskogo primeneniya v travmatologii i ortopedii [Bone Morpho-Genetic Proteins: General Characteristics, Prospects of Clinical Application in Traumatology and Orthopedy]. *Vestnik travmatologii i ortopedii im. N.N. Priorova*, 2009, no. 4, pp. 79-84.

3. Lychkova A.E. Nervnaya regulyatsiya metabolizma kostnoy tkani [Neural Regulation of Metabolism of Bone Tissue]. *Vestnik RAMN*, 2011, no. 3, pp. 42-47.

4. Kalita V.I., Malanin D.A., Mamaeva V.A., et al. Modifikatsiya poverkhnostey vnutrikostnykh implantatov: sovremennye issledovaniya i nanotekhnologii [Modification of Surfaces of Intra-Bone Implants: Modern Research and Nanotechnology]. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*, 2009, no. 4, pp. 17-22.

5. Gintsburg A.L., Sharapova N.E., Nadezhdin S.V., et al. Novye preparaty, stimuliruyushchie regeneratsiyu kostnoy tkani [New Medicines Stimulating Bone Tissue Regeneration]. *Sovremennye meditsinskie tekhnologii*, 2011, no. 7, pp. 60-62.

6. Novochadov V.V., Gayfullin N.M., Zalevskiy D.A., eds. Osteointegratsiya implantatov s bioaktivnoy poverkhnostyu, modifitsirovannoy napyleniem khitozana v eksperimente u krys [Osteo-Integration of Implants with Bioactive Surface Modified by Chitosan Coating in Rat Experiments]. *Rossiyskiy mediko-biologicheskii vestnik im. akademika I.P. Pavlova*, 2013, no. 2, pp. 30-35.

7. Bartov M.S., Karyagina A.S., Gromov A.V., et al. Osteoplasticheskie preparaty novogo pokoleniya «Gamalant», sodержashchie faktory rosta i regeneratsii kostnoy tkani [Osteo-plastic Medicines of New Generation Gamalant Containing Factors of Growth and Bone Tissue Regeneration]. *Zhurnal travmatologii i ortopedii*, 2012, no. 2, pp. 21-25.

8. Novochadov V.V., Gayfullin N.M., Frolov D.M., et al. Remodelirovanie kostnoy tkani v usloviyakh endogennoy intoksikatsii [Remodeling of Bone Tissue in the Conditions of Endogenous Intoxication]. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya 11, Estestvennye nauki* [Science Journal of Volgograd State University. Natural Sciences], 2012, no. 2, pp. 4-10.

9. Shemonaev V.I., Novochadov V.V. Sravnitel'naya informativnost morfologicheskikh, rentgenologicheskikh i dinamometricheskikh kriteriev pri izuchenii osteointegratsii v eksperimente [Comparative Informativity of Morphological, X-ray and Dynamometric Criteria at Studying Osteo-Integration in Experiment]. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal*, 2014, no. 3, pp. 54-57.

10. Mironov S.P., Gintsburg A.L., Eskin N.A. Eksperimental'naya otsenka osteoinduktivnosti rekombinantnogo kostnogo morfogeneticheskogo belka (rhVMR-2) otechestvennogo proizvodstva, fiksirovannogo na biokompozitsionnom materiale ili kostnom matrikse [Experimental Evaluation of Osteo-Inductivity of Recombinant Bone Morpho-Genetic Protein (rhVMR-2) of Russian Production Fixed on Bio-Composite Material or Bone Matrix]. *Vestnik travmatologii i ortopedii im. N.N. Priorova*, 2010, no. 4, pp. 38-44.

11. Albertini M., Fernandez-Yague M., Lázaró P., et al. Advances in surfaces and osteointegration in implantology. Biomimetic surfaces. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.*, 2015, vol. 20, no. 3, pp. e316-e325.

12. Barker K.L., Toye F., Minns Lowe C.J. A qualitative systematic review of patients' experience of osteoporosis using meta-ethnography. *Arch. Osteoporos.*, 2016, vol. 11, no. 1, p. e33.

13. Bessa P.C., Casal M., Reis R.L. Bone morphogenetic proteins in tissue engineering: the road from the laboratory to the clinic, part I (basic concepts). *J. Tissue Eng. Regen. Med.*, 2008, no. 2, pp. 1-13.

14. Sailaja G.S., Ramesh P., Vellappally S., et al. Biomimetic approaches with smart interfaces for bone regeneration. *J. Biomed. Sci.*, 2016, vol. 23, p. e77.

15. Hwang J., Jeong Y., Park J.M., et al. Biomimetics: forecasting the future of science, engineering, and medicine. *Int. J. Nanomedicine*, 2015, vol. 10, pp. 5701-5713.

16. Brewa K., Nagaseb H. The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): An ancient family with structural and functional diversity. *Biochim. Biophys. Acta*, 2010, iss. 1803 (1), pp. 55-71.

17. Chang P.-C., Lang N.P., Giannobile W.V. Evaluation of functional dynamics during osseointegration and regeneration associated with oral implants: a review. *Clin. Oral Implants Res.*, 2010, vol. 21, no. 1, pp. 1-12.
18. Bassi F., Carr A.B., Chang T.L., et al. Clinical outcomes measures for assessment of longevity in the dental implant literature: ORONet approach. *Int. J. Prosthodont.*, 2013, vol. 26, no. 4, pp. 323-330.
19. Donnelly E., Chen D.X., Boskey A.L., et al. Contribution of mineral to bone structural behavior and tissue mechanical properties. *Calcif. Tissue Int.*, 2010, vol. 87, no. 5, pp. 450-460.
20. Dzenis Y. Materials science - structural nanocomposites. *Science*, 2008, iss. 319 (5862), pp. 419-420.
21. Luo T., Zhang W., Shi B., et al. Enhanced bone regeneration around dental implant with bone morphogenetic protein 2 gene and vascular endothelial growth factor protein delivery. *Clin. Oral Implants Res.*, 2012, vol. 23, no. 4, pp. 467-473.
22. Guo X., Wang X.F. Signaling cross-talk between TGF-beta/BMP and other pathways. *Cell Res.*, 2009, vol. 19, no. 1, pp. 71-88.
23. An Y.H., Martin K.L. *Handbook of histology methods for bone and cartilage*. N.-Y., Humana Press, 2003. 587 p.
24. Singh A., Mehdi A.A., Srivastava R.N., et al. Immunoregulation of bone remodeling. *Int. J. Crit. Illn. Inj. Sci.*, 2012, vol. 2, no. 2, pp. 75-81.
25. Kamiya N., Mishina Y. New insights on the roles of BMP signaling in bone – a review of recent mouse genetic studies. *Biofactors*, 2011, vol. 37, no. 2, pp. 75-82.
26. Wang J., Lü D., Mao D., et al. Mechanomics: an emerging field between biology and biomechanics. *Protein Cell*, 2014, vol. 5, no. 7, pp. 518-531.
27. Burket J., van der Meulen M.C.H., Gourion-Arsiquaud S., et al. Microstructure and nanomechanical properties in osteons relate to tissue and animal age. *J. Biomech.*, 2011, vol. 44, no. 2, pp. 277-284.
28. Sharapova N.E., Kotnova A.P., Galushkina Z.M., et al. Production of the recombinant human bone morphogenetic protein-2 in *Escherichia coli* and testing of its biological activity in vitro and in vivo. *Mol. Biol. (Moscow)*, 2010, vol. 44, no. 6, pp. 923-930.
29. Kalita V.I., Mamaev A.I., Mamaeva V.A., et al. Structure and shear strength of implants with plasma coatings. *Inorganic Materials: Applied Research*, 2016, vol. 7, no. 3, pp. 376-387.
30. Bacchetta J., Boutroy S., Guebre-Egziabher F., et al. The relationship between adipokines, osteocalcin and bone quality in chronic kidney disease. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2009, vol. 24, no. 10, pp. 3120-3125.
31. Trindade R., Albrektsson T., Wennerberg A. Current concepts for the biological basis of dental implants: foreign body equilibrium and osseointegration dynamics. *Oral Maxillofac. Surg. Clin. North Am.*, 2015, vol. 27, no. 2, pp. 175-183.

MORPHO-FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF THE BONE TISSUE AT EXOGENOUS INTOXICATION IN RAT EXPERIMENTS

Anna Sergeevna Krylova

Postgraduate Student, Department of Bioengineering and Bioinformatics,
Volgograd State University
krylova.volsu@mail.ru, biobio@volsu.ru
Prosp. Universitetsky, 100, 400062 Volgograd, Russian Federation.

Abstract. The author of this pilot study investigates the morphological changes in the bone tissue in chronic low doses of two toxicants with different mechanisms of action in the body. Quantitative determination included the calculation of the average thickness of the cortical bone, trabecular bone, the volume fraction of the bone tissue, the numerical density of cells immunopositive to osteonectin, a marker of macrophages and osteoclasts, matrix metalloproteinases MMP-9 and its tissue inhibitor TIMP-1. The factors causing disturbances in regenerative function of bone tissue include not only internal factors of the environment, but also the impact of external conditions, such as the toxic effects of chemicals. Toxicants from the environment, cumulated in different tissues of the body can cause systemic pathological changes in their functioning. Chronic intoxication is accompanied by violations of the natural regeneration of bone tissue, resulting in firstly increased and then decreased regenerative capacity of tissues to intensify the process of resorption of bone matrix and osteoporosis symptoms development. There was a predominance of the processes of destruction of bone

fixation processes. The volume fraction and decreased bone mass, the fabric becomes more friable porous structure, whereby there was a decrease of bone strength and increase in its brittleness. The resorbable bone osteoclast showed predominance destroying extracellular matrix, while the number of osteoblasts is decreased. It is shown that the identification of the morphological study of the bone tissue of these features can be considered as one of the indicators of chronic toxic effects of chemical environmental factors on the body.

Key words: bone, skeleton, chronic intoxication, tetrachloromethane, gentamicin, osteoclastic resorption, osteocyte remodeling, osteoporosis.