

© Коллектив авторов, 2020  
УДК 616.716.3-018.4  
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15135>  
ISSN – 2073-8137

## ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА РЕПАРАТИВНУЮ РЕГЕНЕРАЦИЮ КОСТНОЙ ТКАНИ ЧЕЛЮСТНЫХ КОСТЕЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Е. В. Щетинин<sup>1</sup>, Е. С. Сирак<sup>2</sup>, Г. А. Афанасьева<sup>3</sup>, Г. Г. Петросян<sup>1</sup>,  
Е. Е. Щетинина<sup>1</sup>, С. В. Сирак<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ставропольский государственный медицинский университет,  
Российская Федерация

<sup>2</sup> Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар,  
Российская Федерация

<sup>3</sup> Саратовский государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского,  
Российская Федерация

## EFFECT OF MELATONIN ON REPARATIVE REGENERATION OF BONE TISSUE IN THE JAW BONES EXPERIMENT

Shchetinin E. V.<sup>1</sup>, Sirak E. S.<sup>2</sup>, Afanaseva G. A.<sup>3</sup>, Petrosyan G. G.<sup>1</sup>,  
Shchetinina E. E.<sup>1</sup>, Sirak S. V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Stavropol State Medical University, Russian Federation

<sup>2</sup> Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation

<sup>3</sup> V. I. Razumovsky Saratov State Medical University, Russian Federation

Представлены результаты изучения влияния мелатонина на остеогенез при формировании стандартизованного дефекта на нижней челюсти морских свинок: отверстие диаметром 5 мм. Выявлено оптимизирующее действие хронического применения мелатонина в дозе 5 мг/кг на процессы ремоделирования в челюстных костях, преимущественно на ранних этапах остеогенеза путем увеличения костной массы, в том числе за счет подавления резорбции кости, активизации дифференцировки остеобластов.

*Ключевые слова:* остеогенез, костный дефект, мелатонин, эксперимент

The article presents the results of studying the effect of melatonin on osteogenesis in the formation of a standardized defect in the lower jaw of Guinea pigs: a hole with a diameter of 5 mm. The optimizing effect of chronic use of melatonin at a dose of 5 mg/kg on the processes of remodeling in the jawbones, mainly at the early stages of osteogenesis by increasing bone mass, including by suppressing bone resorption, and activating osteoblast differentiation, was revealed.

*Keywords:* osteogenesis, bone defect, melatonin, experiment

**Для цитирования:** Щетинин Е. В., Сирак Е. С., Афанасьева Г. А., Петросян Г. Г., Щетинина Е. Е., Сирак С. В. ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА РЕПАРАТИВНУЮ РЕГЕНЕРАЦИЮ КОСТНОЙ ТКАНИ ЧЕЛЮСТНЫХ КОСТЕЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2020;15(4):570-573. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15135>

**For citation:** Shchetinin E. V., Sirak E. S., Afanaseva G. A., Petrosyan G. G., Shchetinina E. E., Sirak S. V. EFFECT OF MELATONIN ON REPARATIVE REGENERATION OF BONE TISSUE IN THE JAW BONES EXPERIMENT. *Medical News of North Caucasus*. 2020;15(4):570-573. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15135> (In Russ.)

**М**ногообразие процессов остеогенеза и ремоделирования костной ткани физиологической и патологической направленности определяется широкой вовлеченностью паракринных и эндокринных регуляторов метаболической активности клеток [1–3]. Биологически активные вещества контролируют все этапы остеогенеза, обеспечивая баланс между резорбцией и формированием костной ткани [4, 5]. Среди таких биологически активных веществ особую роль играют естественному гормону эпифиза мелатонину, который, среди прочего, стимулирует образование костной ткани, обеспечивая эффек-

тивность её ремоделирования в дозозависимом режиме [6–8]. Вместе с тем влияние мелатонина на репаративный остеогенез челюстных костей при переломах широко не обсуждается, хотя представляет особый интерес, учитывая расширяющиеся возможности современной хирургической стоматологии и, особенно, имплантологии в возрастном аспекте [9, 10].

Цель исследования – изучить влияние мелатонина на процессы остеоинтеграции челюстных костей в экспериментальных условиях.

**Материал и методы.** Характер изменений в костной ткани под влиянием мелатонина при создании

экспериментального дефекта оценен на 48 морских свинках в возрасте 7–8 месяцев. Все оперативные вмешательства проводились под общим наркозом (Zoletil 50). Оперативным путем у животных на нижней челюсти (с обеих сторон) формировали стандартизованный дефект: отверстие диаметром 5 мм. Опытная группа свинок (24 животных) за 14 дней до операции, а также весь период эксперимента получала перорально с помощью лабораторной пипетки, прикрепленной к инсулиновому шприцу, между 4 и 5 часами вечера мелатонин (в виде препарата Мелаксен®, Unipharm) из расчета 5 мг/кг массы тела животного. Контрольную группу (24 животных) поили эквивалентным объемом физиологического раствора хлорида натрия. Питьевая вода и пища животных не содержала мелатонина.

Животных опытной и контрольной групп (в равных количествах) выводили из эксперимента через 14, 30, 60 и 120 суток после операции. Каждую половину нижней челюсти, взятую у животных, исследовали рентгенологически. После фиксации в 10 % растворе нейтрального формалина часть тканевого материала декальцинировали в 12 % растворе азотной кислоты и заливали в целлоидин. Срезы окрашивали гематоксилином-эозином, пикрофуксином по методу Ван Гизон, по Маллори, Массону и альциановым синим. Другую часть исследуемых костей декальцинировали в растворе ЭДТА и заливали в парафин. Нейтральные мукополисахариды выявляли с помощью ШИК-реакции для идентификации гликогена, аналогичную реакцию проводили после предварительной обработки срезов ферментом амилазой. Кислые мукополисахариды определяли реакцией метакромазии с толуидиновым синим.

Дополнительно для электронно-микроскопического исследования сразу же после выведения животных из эксперимента в сроки через 14, 30 суток (по 2 животных на точку наблюдения) из костного регенерата брали участки ткани (3x2 мм) и помещали в свежеприготовленный 1 % раствор четырехокиси

осмия на фосфатном буфере. Обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации; заливали в смеси аралдита. Полимеризацию проводили при температуре 62 °С в течение 24 часов. Ультратонкие срезы получали на ультратоме Dole (Германия), контрастировали цитратом свинца и альциановым синим. Срезы изучали в электронных микроскопах Olympus BS 500 и Olympus BS 550 при увеличении от 10 000 до 120 000.

**Результаты и обсуждение.** Анализ скорости костеобразования в дефекте, определяемой по данным рентгенологического исследования, показал существенные отличия у животных разных групп. В частности, у контрольных животных элементы формирующейся костной мозоли на месте смоделированного дефекта рентгенологически различимы становились лишь к 30 суткам опыта, в то время как при введении мелатонина периферия дефекта заполнялась рентгенконтрастными структурами костной мозоли уже к 14 суткам после операции, то есть на 28 сутки введения препарата. К следующему сроку изучения у таких животных вновь образованная ткань полностью заполняла дефект, а к 60-м – найти дефект на рентгенограмме было трудно, поскольку костная ткань в области дефекта практически мало отличалась от окружающей нативной костной ткани. Подобный эффект у животных контрольной группы отмечался лишь к 120 суткам эксперимента.

Рентгенологические данные подтверждены гистологическим изучением препаратов. Только у опытных животных к 14 суткам эксперимента выявлено заполнение дефекта нижней челюсти по периферии густой сетью новообразованных костных балок (рис. 1А), в то время как без мелатонина остеогенез лишь к 30 суткам способствовал появлению в области дефекта клеточно-волокнутой ткани. В эти же сроки в опытной группе применение мелатонина обеспечило полное заполнение дефекта мелкотрабекулярной сетью новообразованных костных балок с грубоволокнутой структурой.

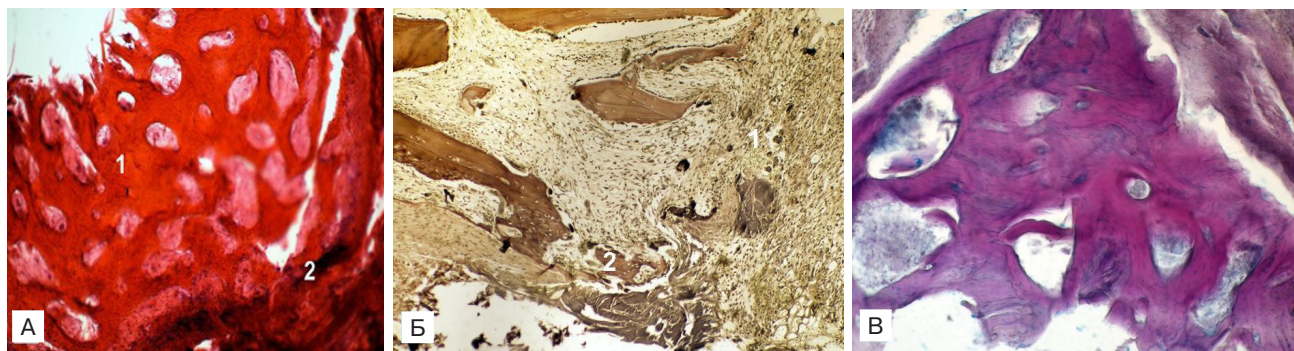


Рис. 1. Микропрепараты основной (А, В) и контрольной (Б) групп на 14 (А) и 60 (Б, В) сутки эксперимента; А – густая сеть новообразованных костных балок (1), заполняющая дефект по направлению от края дефекта (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10, об. 20; Б – неоднородные участки костной мозоли с элементами волокнутой структуры (1), зонами новообразованной костной ткани (2). Окраска по Ван Гизон. Ок. 10, об. 20; В – зрелая костная ткань с выраженным спонгиозным строением. Окраска по Маллори. Ок. 10, об. 20

Неоднородный состав регенерата в группе контрольных животных сохранялся и к 60 суткам после операции (рис. 1Б). Участки клеточно-волокнутой ткани сочетались с элементами вновь образованных костных структур. В эти же сроки при введении мелатонина гистологически выявлялась грубоволокнутой костная ткань, которая полностью замещала область дефекта челюсти (рис. 1В).

Гистологическое исследование препаратов, полученных к 120 суткам эксперимента, выявило, что только применение мелатонина обеспечило вторич-

ную перестройку регенерата в области периферии дефекта с развитием пластинчатой костной ткани.

Гистохимический анализ показал существенные различия в перераспределении мукополисахаридов в ткани регенерата в количественном выражении, в том числе по скорости и длительности таких изменений. В частности, количество кислых мукополисахаридов нарастало в клетках интактной костной мозоли к 30 суткам эксперимента, в то время как использование мелатонина в течение 28 дней обеспечивало такую перестройку уже к 14 дню опыта.

Сходная динамика изменений наблюдалась и в содержании нейтральных мукополисахаридов. Вместе с тем их концентрация, в отличие от кислых мукополисахаридов, к 60 суткам эксперимента оставалась повышенной с момента стабилизации на 30 день после операции, причем как в опытной, так и контрольной группах.

Электронно-микроскопическая оценка регенерата выявила существенные изменения клеточной структуры в первые 2 недели после операции при введении мелатонина. Наиболее показательны изменения при изучении остеобластов, в цитоплазме которых четко структурированы эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи, гранулы рибонуклеотида (рис. 2А). С названными клеточными структурами тесно сопряжены и митохондрии, что свидетельствует об активизации метаболической активности клеток. Это подтверждает и выявляемое большое количество рибосом и полисом, концентрирующихся вокруг скоплений гликогена. Межклеточное вещество формирующейся костной мозоли к 14 дню после операции пронизано кальцификатами (рис. 2Б) только в препаратах животных опытной группы.

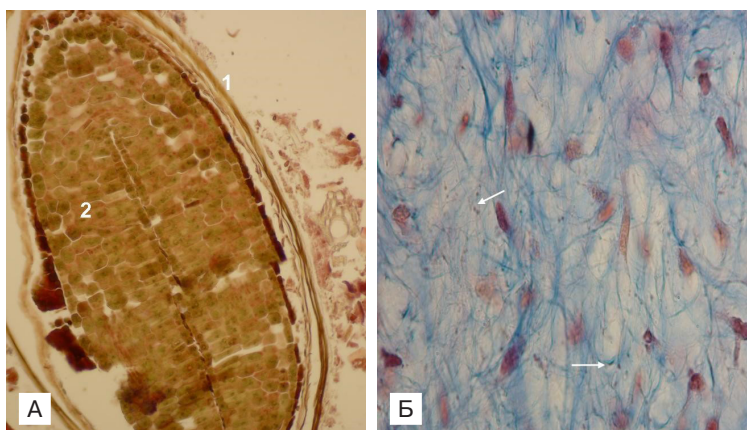


Рис. 2. Микропрепараты в основной группе на 14 сутки эксперимента; А – фрагмент цитоплазмы остеогенной клетки (1) с хорошо развитым эндоплазматическим ретикулумом, цистерны которого расширены, заполнены нежно зернистым содержимым (2); Б – коллагеновые фибриллы с мелкими частицами солей кальция в межклеточном веществе (отмечено стрелками). Контрастирование альциановым синим. Ок. 10, об. 20

Таким образом, по данным визуализирующих методов исследования, только хроническое использование мелатонина к 14 суткам после операции обеспечивает образование костных структур, а не грубой волокнистой ткани, как у контрольной группы животных. Необходимо отметить, что на всем протяжении эксперимента про-

цесс регенерации костной ткани на фоне мелатонина опережал по срокам таковые без его использования на 14–30 суток. Изменения регенеративной активности во многом связаны с активизацией метаболической функции клеток, в частности остеобластов, и их структурной перестройкой на фоне предварительного введения мелатонина, о чем свидетельствует раннее и количественно выраженное появление мукополисахаридов в регенерате животных основной группы.

Полученные в ходе исследования на морских свинках данные подтверждают факт интенсификации остеогенеза под действием мелатонина. Его ремоделирующее действие обеспечивается путем увеличения костной массы, в том числе за счет подавления резорбции кости, активизации дифференцировки остеобластов, что показано в экспериментальных условиях на других животных при использовании мелатонина в дозах от 5 до 50 мг/кг [8, 11, 12].

**Заключение.** Мелатонин оказывает оптимизирующее действие на регенерацию костной ткани челюстных костей. Хроническое применение препарата стимулирует процессы остеогенеза, обеспечивая интенсификацию функциональной и морфологической перестройки клеток на ранних стадиях репаративной регенерации.

**Финансирование.** Научно-исследовательская работа проведена в рамках Государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации на научные исследования и разработки по теме «Направленная регенерация тканей пародонта в условиях экспериментального остеопороза» (Рег. № НИОКТР АААА-А19-119010900 236-0).

**Информированное согласие:** Экспериментальное исследование проведено в полном соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики, изложенными в национальном стандарте «Принципы надлежащей лабораторной практики» ГОСТ Р 53434–2009, с соблюдением Международных принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей (Страсбург, 1986), в соответствии с «Общими этическими принципами экспериментов на животных» (Россия, 2011), правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003) и положительным заключением этического комитета.

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.**

#### Литература/References

- Imerb N., Thonusin C., Chattipakorn N., Chattipakorn S. C. Aging, obese-insulin resistance, and bone remodeling. *Mechanisms of Ageing and Development*. 2020;111335. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2020.111335>
- Mokhtari-Jafari F., Amoabediny G., Dehghan M. M. Role of biomechanics in vascularization of tissue-engineered bones. *J. Biomech*. 2020;110:109920. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2020.109920>
- Kenkre J. S., Bassett J. The bone remodelling cycle. *Ann. Clin. Biochem*. 2018;55(3):308-327. <https://doi.org/10.1177/0004563218759371>
- Sims N. A., Martin T. J. Osteoclasts Provide Coupling Signals to Osteoblast Lineage Cells Through Multiple Mechanisms. *Annual Rev. Physiol*. 2020;82:507-529. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021119-034425>
- Chen H., Senda T., Kubo K. Y. The osteocyte plays multiple roles in bone remodeling and mineral homeostasis. *Medical Molecular Morphology*. 2015;48(2):61-68. <https://doi.org/10.1007/s00795-015-0099-y>
- Арушанян Э. Б. Участие мелатонина в происхождении патологических процессов в костной ткани и их ограничении. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2015;78(2):39-44. [Arushanyan E. B. Melatonin participates in the origin and limitation of bone pathological processes. *Ekspierimentalnaja i klinicheskaja farmakologija. – Experimental and Clinical Pharmacology*. 2015;78(2):39-44. (In Russ.)].
- Li T., Jiang S., Lu C., Yang W., Yang Z. [et al.]. Melatonin: Another avenue for treating osteoporosis? *J. Pineal Res*. 2019;66(2):e12548. <https://doi.org/10.1111/jpi.12548>
- Zhou W., Liu Y., Shen J., Yu B., Bai J. [et al.]. Melatonin Increases Bone Mass around the Prosthesis of OVX Rats by Ameliorating Mitochondrial Oxidative Stress via the SIRT3/SOD2 Signaling Pathway. *Oxidat. Med. Cell. Long*. 2019;2019:4019619. <https://doi.org/10.1155/2019/4019619>
- Sirak S. V., Sletov A. A., Shchetinin E. V., Mikhachenko D. V. Treatment and rehabilitation of patients with subtotal mandible defects. *Res. J. Pharmac. Biol. Chem. Sci*. 2015;6(6):1803-1810.

10. Bahney C. S., Zondervan R. L., Allison P., Theologis A., Ashley J. W. [et al.]. Cellular biology of fracture healing. *J. Orthop. Res.* 2019;37(1):35-50. <https://doi.org/10.1002/jor.24170>
11. Li Y., Feng C., Gao M., Jin M., Liu T. [et al.]. Micro-RNA-92b-5p modulates melatonin-mediated osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells by targeting ICAM-1. *J. Cell. Molec. Med.* 2019;23(9):6140-6153. <https://doi.org/10.1111/jcmm.14490>
12. Bicer M., Baltaci S. B., Patlar S., Mogulkoc R., Baltaci A. K. Melatonin has a protective effect against lipid peroxidation in the bone tissue of diabetic rats subjected to acute swimming exercise. *Hormone Mol. Biol. Clin. Invest.* 2018;34(2):20170079. <https://doi.org/10.1515/hmbci-2017-0079>

#### Сведения об авторах:

Щетинин Евгений Вячеславович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии; тел.: (8652)352524; e-mail: [ev.cliph@rambler.ru](mailto:ev.cliph@rambler.ru); <https://orcid.org/0000-0001-6193-8746>

Сирак Екатерина Сергеевна, студентка; тел.: (8652)350551; e-mail: [sergejsirak@yandex.ru](mailto:sergejsirak@yandex.ru)

Афанасьева Галина Александровна, доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой патологической физиологии; тел.: 88452669768; e-mail: [gafanaseva@yandex.ru](mailto:gafanaseva@yandex.ru)

Петросян Григорий Григорьевич, кандидат медицинских наук, доцент кафедры; тел.: (8652)352684; e-mail: [patphysiology@stgmu.ru](mailto:patphysiology@stgmu.ru)

Щетинина Елизавета Евгеньевна, студентка; тел.: (8652)352684; e-mail: [patphysiology@stgmu.ru](mailto:patphysiology@stgmu.ru)

Сирак Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой стоматологии; тел.: (8652)350551; e-mail: [sergejsirak@yandex.ru](mailto:sergejsirak@yandex.ru); <https://orcid.org/0000-0002-4924-5792>

© Коллектив авторов, 2020

УДК 615.03

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15136>

ISSN – 2073-8137

## ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ НЕЙРОЛЕПТИКОВ НА СОДЕРЖАНИЕ В КРОВИ БЕЛКА S100 И УРОВЕНЬ АУТОАНТИТЕЛ К НЕМУ У КРЫС

М. В. Батурина<sup>1</sup>, Э. В. Бейер<sup>1</sup>, С. А. Журбин<sup>1</sup>, А. А. Филь<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ставропольский государственный медицинский университет,  
Российская Федерация

<sup>2</sup> ООО НПО «Иммунотэкс», Ставрополь, Российская Федерация

## EFFECT OF NEUROLEPTICS CHRONIC ADMINISTRATION ON THE CONTENT OF PROTEIN S100 IN BLOOD AND THE LEVEL OF AUTOANTIBODIES TO IT IN RATS

Baturina M. V.<sup>1</sup>, Beier E. V.<sup>1</sup>, Zhurbin S. A.<sup>1</sup>, Phil A. A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Stavropol State Medical University, Russian Federation

<sup>2</sup> LLC NPO «Immunotex», Stavropol, Russian Federation

Длительное введение нейролептика галоперидола приводит к увеличению уровня белка S100 в плазме крови крыс независимо от использованной дозы препарата (0,1 и 0,5 мг/кг). Рисперидон в дозе 0,5 мг/кг (но не 0,1 мг/кг) также способствовал увеличению концентрации S100 в плазме. Одновременно вещества в обеих дозах повышали содержание аутоантител к белку S100. Этот эффект в наибольшей степени был выражен при введении только высокой дозы рисперидона.

*Ключевые слова:* галоперидол, рисперидон, белок S100, аутоантитела

Long-term haloperidol administration leads to an increase in the level of S100 protein in the blood plasma of rats, regardless of the dose of drugs used (0.1 and 0.5 mg/kg). The use of risperidone 0.5 mg/kg (no more 0.1 mg/kg) also increased S100 protein level in the blood. The S100 level did not change with the risperidone 0.1 mg/kg administration. Simultaneously, the substances in both doses increased the level of autoantibodies to the S100 protein. This effect was most pronounced with the administration of a high dose of risperidone.

*Keywords:* haloperidol, risperidone, S100 protein, autoantibodies

**Для цитирования:** Батурина М. В., Бейер Э. В., Журбин С. А., Филь А. А. ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ НЕЙРОЛЕПТИКОВ НА СОДЕРЖАНИЕ В КРОВИ БЕЛКА S100 И УРОВЕНЬ АУТОАНТИТЕЛ К НЕМУ У КРЫС. *Медицинский вестник Северного Кавказа.* 2020;15(4):573-576. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15136>

**For citation:** Baturina M. V., Beier E. V., Zhurbin S. A., Phil A. A. EFFECT OF NEUROLEPTICS CHRONIC ADMINISTRATION ON THE CONTENT OF PROTEIN S100 IN BLOOD AND THE LEVEL OF AUTOANTIBODIES TO IT IN RATS. *Medical News of North Caucasus.* 2020;15(4):573-576. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15136> (In Russ.)