

© Морозов В.Н., Печерская В.П., 2024
УДК: 664:616.718.5-036.864

В.Н. Морозов¹, В.П. Печерская² МАКРОСКОПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БОЛЬШЕБЕРЦОВОЙ КОСТИ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ РЕГЕНЕРАТА В НЕЙ ПОСЛЕ 60-СУТОЧНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ БЕНЗОАТА НАТРИЯ И ВВЕДЕНИЯ МЕКСИДОЛА

¹Белгородский государственный национальный исследовательский университет, г. Белгород, РФ; ²Яковлевская центральная районная больница, Белгородская область, г. Строитель, РФ

Цель исследования. Установить особенности изменений макроскопических параметров большеберцовой кости при условии протекания в ней репаративного остеогенеза на различных стадиях после 60-суточного воздействия бензоата натрия без или с введением антиоксиданта мексидола. **Материал и методы.** Эксперимент проведен на 90 белых половозрелых самцах-крысах. В первой экспериментальной группе внутрижелудочно в течение 60 суток вводили бензоат натрия в дозе 1000 мг/кг/массы тела. На 61 сутки осуществляли моделирование перелома большеберцовой кости путем нанесения сквозного дырчатого дефекта в проксимальном отделе ее диафиза. Группой контроля послужили животные, подвергавшиеся внутрижелудочному 60-суточному воздействию физиологического раствора с последующим моделированием костной травмы. Во второй экспериментальной группе животным в аналогичных первой экспериментальной группе условиях дополнительно внутримышечно вводили мексидол из расчета 50 мг/кг массы тела. Сроки эксперимента после окончания цикла введения бензоата натрия и костной травмы – 3, 10, 15, 24 и 45 сутки. Во всех группах определяли абсолютную массу большеберцовой кости и линейные размеры: максимальная длина, ширина проксимального и дистального концов, ширина и толщина тела. Полученные данные анализировались в компьютерной программе «JASP». Статистическую значимость межгрупповых отличий параметров определяли при помощи U-критерия Манна-Уитни. Отличия считали значимыми при $p \leq 0,05$. **Результаты.** В первой экспериментальной группе эксперимента наблюдалось статистически значимое уменьшение абсолютной массы большеберцовой кости в диапазоне 8,19%-9,27% (с 3 по 45 сутки), максимальной длины – 6,42%-8,17% (с 3 по 24 сутки), ширины проксимального конца – 6,34%-5,68% (с 3 по 15 сутки), ширины тела – 6,51%-12,44% (с 3 по 45 сутки), толщины тела – 6,63%-9,85% (с 3 по 24 сутки), по сравнению с данными контрольной группы. Во второй экспериментальной группе зарегистрировано значимое увеличение абсолютной массы большеберцовой кости относительно данных первой экспериментальной группы на 45 сутки на 5,83%, длины кости – с 10 по 24 сутки на 2,70%, 3,72%, 3,59%, толщина тела – на 15 и 24 сутки на 4,92% и 6,02%. **Заключение.** Шестидесятисуточное введение бензоата натрия в дозе 1000 мг/кг до момента моделирования перелома в большеберцовой кости сопровождается более медленным, чем в контроле, набором массы костным органом и темпами прироста линейных размеров в различные сроки репаративного остеогенеза. Использование мексидола в дозе 50 мг/кг сочетанно с введением бензоата натрия позволяет уменьшить выраженность изменений органомерических параметров большеберцовой кости, начиная с 10 суток эксперимента.

Ключевые слова: большеберцовая кость, перелом, бензоат натрия, мексидол, органомерия.

Поступила в редакцию 28.04.2024. Принята к печати 01.09.2024.

Для цитирования: Морозов В.Н., Печерская В.П. Макроскопические особенности большеберцовой кости при формировании регенерата в ней после 60-суточного воздействия бензоата натрия и введения мексидола. Морфологический альманах имени В.Г. Ковешникова. 2024;22(3):58-63.

Для корреспонденции: Морозов Виталий Николаевич – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры анатомии и гистологии человека, Медицинский институт ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (308036, РФ, г. Белгород, ул. Губкина, 50). ORCID: 0000-0002-1169-4285.
e-mail: morozov_v@bsu.edu.ru

V.N. Morozov¹, V.P. Pecherskaya²

MACROSCOPIC FEATURES OF THE TIBIA DURING THE FORMATION OF REGENERATE IN IT AFTER 60-DAY EXPOSURE TO SODIUM BENZOATE AND ADMINISTRATION OF MEXIDOL

¹Belgorod State National Research University, Belgorod, Russian Federation; ²Yakovlevskaya Central District Hospital, Belgorod Region, Stroitel town, Russian Federation

The aim of the study. To establish the features of changes in the macroscopic parameters of the tibia under the condition of reparative osteogenesis in it at various stages after 60-day exposure to sodium benzoate without or with the introduction of the antioxidant mexidol. **Materials and methods.** The experiment was carried on 90 white mature male rats. In the first experimental group, sodium benzoate was administered intragastrically for 60 days at a dose of 1000 mg/kg/body weight. The tibial fracture was simulated by applying a hole defect in the proximal part of its diaphysis on day 61. The control group consisted of animals exposed to intragastric 60-day exposure to saline solution followed by bone injury modeling. In the second experimental group, animals in similar conditions to the first experimental group were additionally intramuscularly injected with mexidol at the rate of 50 mg/kg body weight. The terms of the experiment after the end of the cycle of sodium benzoate administration and bone injury are 3, 10, 15, 24 and 45 days. In all groups, the absolute mass of the tibia and linear dimensions were determined: maximum length, width of the proximal and distal ends, width and thickness of the body. The data obtained was analyzed in the computer program «JASP». The statistical significance of the intergroup differences in the parameters was determined using the Mann-Whitney U-test. The differences were considered significant at $p < 0,05$. **Results.** There was a statistically significant decrease in the absolute mass of the tibia in the range of 8,19%-9,27% (from 3rd to 45th days), maximum length – 6,42%-8,17% (from 3rd to 24th days), width of the proximal end – 6,34%-5,68% (from 3rd to 15th days), body width – 6,51%-12,44% (from 3rd to 45th days), body thickness – 6,63%-9,85% (from 3rd to 24th days) in the first experimental group, compared with the data of the control group. It was shown significant increase in the absolute mass of the tibia by 5,83% on day 45, bone length – by 2,70%, 3,72%, 3,59% from 10th to 24th days, body thickness – by 4,92% and 6,02% on days 15 and 24 in the second experimental group compared with the data of the first experimental group. **Conclusion.** Sixty-day administration of sodium benzoate at a dose of 1000 mg/kg until the moment of modeling a fracture in the tibia is accompanied by a slower than in the control, weight gain by the bone organ and the rate of increase in linear size in different stages of reparative osteogenesis. The use of mexidol at a dose of 50 mg/kg combined with the administration of sodium benzoate makes it possible to reduce the severity of changes in the organometric parameters of the tibia, starting from the 10th day of the experiment.

Key words: tibia, fracture, sodium benzoate, mexidol, organometry.

Received: 28.04.2024. Accepted: 01.09.2024.

For citation: Morozov VN, Pecherskaya VP. Macroscopic features of the tibia during the formation of regenerate in it after 60-day exposure to sodium benzoate and administration of mexidol. V.G. Koveshnikov Morphological Almanac. 2024;22(3):58-63.

Corresponding author: Vitaliy N. Morozov - PhD in medicine, associate professor, associate professor of the Department of Human anatomy and Histology, Medical Institute, FSAEI HE «Belgorod National Research University», 308036, Russian Federation, Belgorod, Gubkina Str., 50. ORCID: 0000-0002-1169-4285. e-mail: morozov_v@bsu.edu.ru

Введение. В настоящее время, бензоат натрия остается одной из наиболее применяемой пищевой добавкой – консервантом для увеличения сроков хранения продуктов питания и транспортировки. Это обусловлено его эффективностью в отношении подавления активности грибов и бактерий

[1]. В последнее время, все больше научных работ раскрывает механизмы влияния бензоата натрия на клетки различных тканей, их физиологические и биохимические константы. Имеются данные о таких его неблагоприятных эффектах, как гепато-, нефро- и гонадотоксичность, нарушении прохож-

дения нейробиологических тестов, сенсibiliзирующих свойствах [2, 3]. В связи с этим продолжение изучения свойств бензоата натрия позволит расширить имеющиеся представления и выработать меры по уменьшению их влияния на организм.

В отношении опорно-двигательного аппарата, раскрыто влияние бензоата натрия на процессы роста костей, их реактивные отделы - метаэпифизарный и мышечковый хрящи [4, 5]. Однако, как влияет длительное поступление в организм бензоата натрия на морфогенез кости скелета при условии формирования в ней регенерата на разных стадиях до сих пор не выяснен.

Цель исследования: Установить особенности изменений макроскопических параметров большеберцовой кости при условии протекания в ней репаративного остеогенеза на различных стадиях после 60-суточного воздействия бензоата натрия без или с введением антиоксиданта мексидола.

Материал и методы исследования. Эксперимент проведен на 90 белых половозрелых самцах-крысах (масса 200-210 г. на момент начала исследования). В первой экспериментальной группе (30 животных) внутрижелудочно в течение 60 суток вводили бензоат натрия в дозе 1000 мг/кг/массы тела. На 61 сутки осуществляли моделирование перелома большеберцовой кости путем нанесения сквозного дырчатого дефекта диаметром 2,2 мм в проксимальном отделе ее диафиза [6]. Группой контроля (30 особей) послужили животные, подвергавшиеся внутрижелудочному 60-суточному воздействию физиологического раствора с последующим моделированием костной травмы. Во второй экспериментальной группе (30 особей) животным в аналогичных первой экспериментальной группе условиях дополнительно внутримышечно вводили мексидол из расчета 50 мг/кг массы тела. Сроки эксперимента - 3, 10, 15, 24 и 45 суток, в которые крыс по 6 особей из каждой группы выводили из эксперимента методом декапитации после передозировки наркоза диэтилового эфира. При проведении экспериментальных процедур руководствовались положениями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза [7]. После ске-

летирувания большеберцовой кости на торсионных весах WT-1000 определяли ее абсолютную массу, а для измерения линейных размеров (длина кости, ширина тела, проксимального, дистального эпифизов, толщина тела) использовали штатгенциркуль Зубр ШЦЦ-I-150-0,01. Полученные цифровые данные обрабатывались в лицензионной компьютерной программе «JASP». Вычисляли среднее значение параметра, стандартную ошибку, проверяли тип распределения данных при помощи теста Шапиро-Уилка. Статистическую значимость отличий параметров между группами устанавливали при помощи U-критерия Манна-Уитни. Отличия считали значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты. В первой экспериментальной группе выявлено уменьшение абсолютной массы большеберцовой кости и ее линейных размеров, в сравнении с данными контрольной группы, до 45 суток эксперимента.

В фазу воспаления (3 сутки эксперимента) абсолютная масса большеберцовой кости уменьшалась с $512,83 \pm 6,32$ мг (контрольная группа) по $470,86 \pm 9,00$ мг (первая экспериментальная группа) (8,19% ($p=0,006$)), длина кости - с $38,73 \pm 0,41$ мм по $36,24 \pm 0,34$ мм (6,42% ($p=0,004$)), ширина проксимального конца - с $6,99 \pm 0,07$ мм по $6,54 \pm 0,08$ мм (6,34% ($p=0,007$)), ширина тела - с $2,89 \pm 0,03$ мм по $2,69 \pm 0,04$ мм (6,93% ($p=0,006$)), толщина тела - с $3,69 \pm 0,06$ мм по $3,36 \pm 0,04$ мм (8,91% ($p=0,003$)), ширина дистального конца - с $5,70 \pm 0,08$ мм по $5,44 \pm 0,07$ мм (4,51% ($p=0,053$)).

В фазу дифференцировки клеток и формирования тканеспецифических структур (10 сутки эксперимента) абсолютная масса большеберцовой кости уменьшалась с $508,72 \pm 5,68$ мг (контрольная группа) по $461,57 \pm 9,00$ мг (первая экспериментальная группа) (9,27% ($p=0,002$)), длина кости с с $39,70 \pm 0,34$ мм по $36,46 \pm 0,32$ мм (8,17% ($p=0,002$)), ширина проксимального конца - с $7,04 \pm 0,09$ мм по $6,64 \pm 0,08$ мм (5,68% ($p=0,010$)), ширина тела - с $3,10 \pm 0,12$ мм по $2,71 \pm 0,03$ мм (12,44% ($p=0,003$)), толщина тела - с $3,77 \pm 0,06$ мм по $3,40 \pm 0,05$ мм (9,85% ($p=0,003$)), ширина дистального конца - с $4,97 \pm 0,04$ мм по $4,72 \pm 0,06$ мм (3,54% ($p=0,052$)).

В фазу реорганизации тканевых структур и минерализации (15 сутки эксперимента) абсолютная масса большеберцовой кости уменьшалась с $513,71 \pm 8,32$ мг (контрольная группа) по $468,00 \pm 8,78$ мг (первая экспериментальная группа) (8,90% ($p=0,001$)), длина кости – с $40,07 \pm 0,32$ мм по $36,84 \pm 0,33$ мм (8,06% ($p<0,001$)), ширина проксимального конца – с $7,04 \pm 0,10$ мм по $6,67 \pm 0,08$ мм (5,27% ($p=0,024$)), ширина тела – с $3,01 \pm 0,06$ мм по $2,73 \pm 0,04$ мм (9,48% ($p=0,005$)), толщина тела – с $3,86 \pm 0,05$ мм по $3,49 \pm 0,05$ мм (6,63% ($p=0,003$)), ширина дистального конца – с $5,64 \pm 0,08$ мм по $5,51 \pm 0,07$ мм (2,28% ($p=0,244$)).

В фазу ремоделирования (24 сутки эксперимента) абсолютная масса большеберцовой кости уменьшалась с $515,29 \pm 7,24$ мг (контрольная группа) по $471,29 \pm 11,15$ мг (первая экспериментальная группа) (8,54% ($p=0,017$)), длина кости – с $40,06 \pm 0,42$ мм по $37,46 \pm 0,35$ мм (6,49% ($p=0,005$)), ширина проксимального конца – с $7,00 \pm 0,08$ мм по $6,77 \pm 0,08$ мм (3,27% ($p=0,107$)), ширина тела – с $3,06 \pm 0,04$ мм по $2,81 \pm 0,04$ мм (7,94% ($p=0,005$)), толщина тела – с $3,93 \pm 0,06$ мм по $3,56 \pm 0,06$ мм (9,45% ($p=0,005$)), ширина дистального конца – с $5,66 \pm 0,07$ мм по $5,54 \pm 0,06$ мм (2,02% ($p=0,362$)) (Рисунок 1).



Рисунок 1 - Изменение абсолютной массы (10 сутки), максимальной длины (15 сутки), ширины тела (24 сутки) большеберцовой кости крыс в первой экспериментальной группе, в сравнении с контролем

В фазу исхода (45 сутки эксперимента) абсолютная масса большеберцовой кости уменьшалась с $534,86 \pm 7,96$ мг (контрольная группа) по $487,71 \pm 6,27$ мг (первая экспериментальная группа) (8,81% ($p=0,001$)), длина кости – с $40,04 \pm 0,54$ мм по $38,60 \pm 0,31$ мм (3,60% ($p=0,055$)), ширина проксимального

конца – с $7,10 \pm 0,05$ мм по $6,90 \pm 0,07$ мм (2,82% ($p=0,061$)), ширина тела – с $3,07 \pm 0,04$ мм по $2,87 \pm 0,04$ мм (6,51% ($p=0,013$)), толщина тела – с $3,81 \pm 0,05$ мм по $3,67 \pm 0,06$ мм (3,75% ($p=0,119$)), ширина дистального конца – с $5,76 \pm 0,07$ мм по $5,61 \pm 0,06$ мм (2,48% ($p=0,243$)).

Таким образом, наиболее выраженные изменения макроскопических параметров большеберцовой кости в группе с воздействием бензоата натрия в дозе 1000 мг/кг наблюдались в фазу дифференцировки клеток и формирования тканеспецифических структур (10 суток) и фазу их реорганизации, минерализации (15 суток). К 24 суткам амплитуда отклонений параметров от контроля снижалась, однако статистически значимыми оставались изменения некоторых параметров и на 45 суток. В течение всех фаз репаративного остеогенеза наибольшими по амплитуде были изменения параметров – ширины и толщины тела большеберцовой кости в участке кости непосредственно граничащим с местом костной травмы. Напротив, изменение ширины дистального конца кости, удаленного от места операции, с 10 суток эксперимента было не значимым.

Во второй экспериментальной группе восстановление значений абсолютной массы и линейных размеров большеберцовой кости

до контрольных происходило быстрее, чем в первой экспериментальной группе, начиная с 10 суток. Абсолютная масса увеличивалась с $487,71 \pm 6,27$ мг (первая экспериментальная группа) по $516,14 \pm 6,09$ мг (вторая экспериментальная группа) (5,83% ($p=0,015$)) на 45 суток, длина кости – с $36,46 \pm 0,32$ мм по $37,44 \pm 0,35$ мм (2,70% ($p=0,047$)) на 10 суток, с $36,84 \pm 0,33$ мм по $38,21 \pm 0,28$ мм (3,72% ($p=0,018$)) на 15 суток, с $37,46 \pm 0,35$ мм по $38,80 \pm 0,36$ мм (3,59% ($p=0,015$)) на 24 суток, толщина тела – с $3,49 \pm 0,05$ мм по $3,66 \pm 0,05$ мм (4,92% ($p=0,044$)) на 15 суток, с $3,56 \pm 0,06$ мм по $3,77 \pm 0,06$ (6,02% ($p=0,038$)) на 24 суток (Рисунок 2).

Установленные в первой экспериментальной группе изменения макроскопических параметров большеберцовой кости могут быть обусловлены прямым воздействием бензоата натрия на ДНК остеобластов и их предшественников, а также инициацией им оксидативного стресса путем стимуляции образования активных форм кислорода [8, 9].



Рисунок 2 - Изменение максимальной длины (10 суток), толщины тела (24 суток) большеберцовой кости крыс во второй экспериментальной группе, в сравнении с первой экспериментальной группой

Прямые и непрямые антиоксидантные свойства мексидола позволяют уменьшить выработку активных форм кислорода и, как следствие, сгладить негативные проявления оксидативного стресса на структуру клеток [10].

Заключение. Шестидесятисуточное введение бензоата натрия в дозе 1000 мг/кг до момента моделирования перелома в большеберцовой кости сопровождается бо-

лее медленным, чем в контроле, набором массы костным органом и темпами прироста линейных размеров в различные стадии репаративного остеогенеза. Использование мексидола в дозе 50 мг/кг сочетанно с введением бензоата натрия позволяет уменьшить выраженность изменений органомерических параметров большеберцовой кости, начиная с 10 суток эксперимента.

Конфликт интересов. «Автор деклари-

рует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи».

Источник финансирования. «Автор заявляет о финансировании проведенного исследования из собственных средств».

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Walczak-Nowicka LJ, Herbet M. Sodium Benzoate-Harmfulness and Potential Use in Therapies for Disorders Related to the Nervous System: A Review. *Nutrients*. 2022;14(7):1497. doi: 10.3390/nu14071497
2. Olofinnade AT, Onaolapo AY, Onaolapo OJ, Olowe OA. The potential toxicity of food-added sodium benzoate in mice is concentration-dependent. *Toxicol Res (Camb)*. 2021;10(3):561-569. doi: 10.1093/toxres/tfab024
3. Ali MY, Hassan GM, Hassan AMS, Mohamed ZA, Ramadan MF. In vivo genotoxicity assessment of sunset yellow and sodium benzoate in female rats. *Drug Chem Toxicol*. 2020;43(5):504-513. doi: 10.1080/01480545.2018.1510416.
4. Лукьянцева Г.В. Гистологическая структура проксимального эпифизарного хряща плечевой кости у белых крыс после двухмесячного употребления натрия бензоата и возможности ее коррекции. *Загальна патологія та патологічна фізіологія*. 2015;10(1):112-118. [Lukyantseva GV. Histological structure of proximal epiphyseal cartilage of humerus in rats after 2-month sodium benzoate intake and possibilities of its correction. *Zagal'na patologiya ta patologichna fiziologiya*. 2015;10(1):112-118 (in Russ.)].
5. Бибик В.В., Лузин В.И. Оценка силы влияния нанесения дефекта в большеберцовой кости после 60-суточного введения натрия бензоата на изменение структуры реактивных отделов подвижного комплекса зубочелюстной системы. *Морфологический альманах имени В.Г. Ковешникова*. 2024;22(1):3-8. [Bibik VV, Luzin VI. Evaluation of the influence of the defect in the tibia after 60-day administration of sodium benzoate on the change in the structure of the reactive sections of the mobile complex of the dentofacial system. *V.G. Koveshnikov Morphological Almanac*. 2024;22(1):3-8 (in Russ.)].
6. Лузин В.И., Ивченко Д.В., Панкратьев А.А. Методика моделирования костного дефекта у лабораторных животных. *Український медичний альманах*. 2005;8(2):162. [Luzin VI, Ivchenko DV, Pankrat'ev AA. Metodika modelirovaniya kostnogo defekta u laboratornyh zhyvotnyh. *Ukrains'kij medichnij al'manah*. 2005;8(2):162.].
7. Directive 2010/63/ EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Official Journal of the European Union. 2010;53(L276):33-79.
8. Piper J.D., Piper P.W. A Systematic Review of the Potential Hazards of These Invaluable Preservatives and the Expanding Spectrum of Clinical Uses for Sodium Benzoate. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. 2017;16(5):868-880. doi: 10.1111/1541-4337.12284
9. Shahmohammadi M, Javadi M, Nassiri-Asl M. An Overview on the Effects of Sodium Benzoate as a Preservative in Food Products. *Biotech Health Sci*. 2016;3(3):e35084. doi: 10.17795/bhs-35084
10. Щулькин А.В. Современные представления об антигипоксическом и антиоксидантном эффектах мексидола. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2018; 118 (12-2):87-93. [Shchulkin AV. A modern concept of antihypoxic and antioxidant effects of mexidol. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2018;118(12-2):87-93. doi 10.17116/jnevro201811812287