

ДИНАМИКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ КОСТНОЙ ТКАНИ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ АТОРВАСТАТИН И А-КАЛЬЦИДОЛ В ТЕЧЕНИЕ 3-х И 6-ти МЕСЯЦЕВ

ОСОЧУК С.С., ЯКОВЛЕВА О.С., МАРЦИНКЕВИЧ А.Ф., КАРПЕНКО Е.А.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск,
Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2021. – Том 20, №1. – С. 31-39.

THE DYNAMICS OF BONE TISSUE MORPHOLOGIC CHANGES IN LABORATORY RATS RECEIVING ATORVASTATIN AND A-CALCIDOL DURING THREE AND SIX MONTHS

ASOCHUK S.S., YAKOVLEVA O.S., MARTSINKEVICH A.F., KARPENKO E.A.

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2021;20(1):31-39.

Резюме.

Среди наиболее значимых заболеваний человека 4-е место, после сердечно-сосудистых, онкологических заболеваний и сахарного диабета, занимает остеопороз.

Целью нашей работы было сравнение влияния 3- и 6-месячного введения аторвастатина (АТВ) и α -кальцидола (α -К) на морфологические показатели костной ткани лабораторных крыс.

Эксперимент проводился в течение 3-х и 6-ти месяцев на 240 лабораторных крысах, разделенных на 5 групп: интактные; «плацебо» (внутрижелудочное введение эквивалентного препаратам объема 1% крахмала); животные, внутрижелудочно получавшие только АТВ; животные, внутрижелудочно получавшие α -К и животные, внутрижелудочно получавшие АТВ и α -К. Эвтаназия осуществлялась под эфирным наркозом. Кусочки бедренной кости размером 0,5 см выпиливали в области проксимального метафиза, а ветви нижнечелюстной кости – диастемы. Зону роста пропитывали серебром по Лилли и окрашивали по Ванн-Гизону. Исследование гистосрезов проводили на микроскопе Olympus BX-40. Размер вновь образованной костной ткани, окрашенной солями серебра в черный цвет, измеряли с помощью программы ImageScore-M. Количество сосудов считали в 10 полях зрения с расчетом среднего значения. Статистический анализ данных проведен с помощью пакета прикладных программ R 3.6.3 с учетом соответствия закону нормального распределения и применением поправок на множественные исследования. Отличия считали статистически значимыми при p -значении $<0,05$.

В результате исследования сделаны следующие выводы:

1. Зона роста костной ткани бедренной кости увеличивается через 6 месяцев больше, чем через 3 месяца эксперимента.

2. Основные изменения в исследуемых показателях под влиянием вводимых лекарственных средств происходят уже через 3 месяца и остаются практически неизменными по сравнению с 3 месяцами к 6 месяцам эксперимента.

Ключевые слова: костная ткань, α -кальцидол, аторвастатин, кость нижней челюсти, бедренная кость, остеопороз, остеогенез.

Abstract.

Osteoporosis ranks fourth among the most significant human illnesses, after cardiovascular diseases, cancer and diabetes mellitus.

The aim of our work was to compare the effect of three- and six-month administration of atorvastatin and α -calcidol on the morphologic parameters of the laboratory rats bone tissue.

The experiment was carried out during 3 and 6 months on 240 laboratory rats divided into five groups: intact animals, «placebo» animals, animals with the introduction of atorvastatin alone, α -calcidol alone, atorvastatin and α -calcidol intragastrically. Euthanasia was performed under ether anesthesia. Pieces of the femur 0.5 cm in size were cut out in the

proximal metaphysis area, and the branches of the mandibular bone were cut out in the diastema. The growth zone was impregnated with silver according to Lilly and stained according to Van Gieson.

The examination of histosections was carried out on the Olympus BX-40 microscope. The size of the newly formed bone tissue stained with silver salts in black was measured using the ImageScope-M software. The number of vessels was counted in 10 fields of view with the calculation of the average value. Statistical analysis of the data was carried out using the R 3.6.3 software package, taking into account compliance with the law of normal distribution and applying corrections for multiple studies. Differences were considered statistically significant at p-values <0.05.

As a result of the study the following conclusions have been made:

1. The growth zone of the femur bone tissue increases more after 6 months than after 3 months of the experiment.
2. The main changes in the studied parameters under the influence of the administered drugs occur already after 3 months and remain practically unchanged in comparison with 3 months to 6 months of the experiment.

Key words: bone tissue, α -calcidol, atorvastatin, mandibular bone, femur, osteoporosis, osteogenesis.

Среди наиболее значимых заболеваний человека 4-е место, после сердечно-сосудистых, онкологических заболеваний и сахарного диабета, занимает остеопороз [1]. Остеопороз является дегенеративным заболеванием, наиболее часто встречающимся в пожилом возрасте и ассоциированным с атеросклерозом [2]. Ассоциация остеопороза с атеросклерозом обуславливает возможность использования одинаковых подходов к профилактике остеопороза и атеросклероза и в частности использования ингибиторов ключевого фермента синтеза холестерина β -окси- β -метил-кофермент-А-редуктазы (ОМГ-редуктазы) – статинов. В научной литературе описана способность статинов стимулировать остеогенез за счет активации остеобластов и ингибирования остеокластов [3]. Однако способность статинов позитивно влиять на костную ткань неоднозначна. Неоднозначность может быть обусловлена, в том числе, способностью статинов снижать содержание тестостерона в крови [4], который, в свою очередь, контролирует уровень активной формы витамина D в крови через стимуляцию 1α -гидроксилазы почек [5]. В связи с этим оправданным является применение совместно со статинами продукта реакции катализируемой этим ферментом – 1 гидроксиколекальциферола (α -кальцидол). Учитывая, что статины должны приниматься длительное время, значительный интерес представляет оценка их совместного с α -кальцидолом действия на костную ткань в различные промежутки времени.

Известно, что максимальная продолжительность жизни лабораторной крысы колеблется от 3-х до 5-и лет. 1 месяц жизни крысы равен 3-4 годам жизни человека, 2 месяца — 7-8 годам и 3 месяца — 12-13 годам [6]. Учитывая, что продолжительность приема статинов исчисляется года-

ми и даже десятилетиями, целесообразно изучение длительного приема статинов и α -кальцидола в эквиваленте 10-20 годам.

Учитывая вышеизложенное, целью нашей работы было сравнение влияния 3- и 6-месячного введения аторвастатина (АТВ) и α -кальцидола (α -К) на морфологические показатели костной ткани лабораторных крыс.

Материал и методы

Работа финансировалась Государственной программой научных исследований «Фундаментальные и прикладные науки – медицине» (№ ГР 20190142 от 26.02.2019). Эксперимент проводился в течение 3-х и 6-ти месяцев на 240 неимбранных лабораторных крысах-самцах, разделенных на 5 групп: 1 группа – интактные животные; 2 группа – животные плацебо (внутрижелудочное введение 1% крахмала); 3 группа – внутрижелудочное введение АТВ в дозе 10 мг/кг массы тела в 1% крахмале; 4 группа – внутрижелудочное введение α -К в дозе 0,1 мкг/кг в 1% крахмале; 5 группа – внутрижелудочное введение АТВ в дозе 10 мг/кг массы тела совместно с α -К в дозе 0,1 мкг/кг в 1% крахмале. Животные содержались в условиях вивария Витебского государственного медицинского университета на сбалансированном зерновом корме. Эвтаназия животных осуществлялась декапитацией под эфирным наркозом в утренние часы, через сутки после последнего введения лекарственных средств. Непосредственно после эвтаназии извлекали и очищали от мягких тканей правую бедренную и правую часть нижнечелюстной костей. Кусочки бедренной кости размером 0,5 см выпиливали в области проксимального метафиза, а ветви нижнечелюстной кости – диастемы (промежутка

между резцами и молярами). Фиксацию костей осуществляли в 10%-м растворе нейтрального формалина 48 часов. Для определения отличий между предшествующей и вновь образованной минерализованной костной тканью кусочки костной ткани импрегнировали серебром по Лилли [7]. Декальцинация костной ткани проводилась 10% р-ром ЭДТА (рН=7,0) [8]. Обезвоживание костей осуществляли на автоматическом процессоре Microm STP-120, а уплотнение путем заливки в парафин при помощи аппарата ЕС – 350 по общепринятым методикам [9]. Срезы (толщиной 4-5 мкм) образцов ткани изготавливались на роторном микротоме Leica RM 2125 и доокрашивались в аппарате Microm HMS-170 по Ван-Гизону [7]. Исследование гистосрезов проводили на микроскопе Olympus BX-40, (окуляр х10, объективы х20, 60), оснащенном цифровой камерой. Размер вновь образованной костной ткани, окрашенной солями серебра в черный цвет, измеряли с помощью программы ImageScore-M в гистосрезках бедренной кости грызунов со стороны пери- и эндооста, а в нижней челюсти – преддверия рта и периодонта. Количество кровеносных сосудов в срезах костной ткани подсчитывали в 10 полях зрения с последующим расчетом среднего показателя.

Статистический анализ данных проведен с помощью пакета прикладных программ R 3.6.3. Распределение исследуемых показателей оценивали по критерию Шапиро-Уилка. При условии наличия гауссовского распределения, для дальнейшего анализа использовались параметрические методы статистики, в противном случае – непараметрические методы. Парное сравнение осуществляли на основании критерия Стьюдента или критерия Вилкоксона-Манна-Уитни. Множественное сравнение выполняли при помощи ANOVA (ANalysis of VAriance, дисперсионного анализа) или Н-критерия Краскела-Уоллиса. Анализ post hoc выполняли согласно критерия Тьюки или критерия Н-критерия Краскела-Уоллиса в модификации Данна с поправкой на множественные сравнения по методу Бенджамини-Иекутиели [10]. Размер эффекта оценивали при помощи g-Хеджеса [11]. Отличия считали статистически значимыми при р-значении <0,05.

Результаты и обсуждение

Оценка распределения показателя размера вновь образованной костной ткани с эндо-

стальной поверхности в бедренной кости у экспериментальных животных через 3 и 6 месяцев эксперимента показала статистически значимое отклонение от Гауссовского распределения (табл. 1). Дальнейшая оценка различий с использованием критерия Вилкоксона, показала, что через 6 месяцев размеры вновь образованной костной ткани с эндоостальной поверхности в бедренной кости статистически значимо увеличивались более чем в 2 раза ($p < 0,0001$).

У животных группы «плацебо» распределение изучаемого показателя не отличалось от нормального. И использованный критерий Стьюдента продемонстрировал, как и в контрольной группе, наличие статистически значимого увеличения зоны роста со стороны эндооста бедренной кости (табл. 1).

Применение ATV в течение 6 месяцев не повлияло на размеры вновь образованной костной ткани со стороны эндоостальной поверхности бедренной кости грызунов, по сравнению с животными 3-месячного эксперимента (табл. 1). Однако учитывая, что величина вновь образованной костной ткани со стороны эндоостальной поверхности бедренной кости животных, принимавших ATV 3 месяца, была больше, чем в контрольной группе ($p = 0,033$), можно заключить, что ATV увеличил зону роста со стороны эндооста лишь при приеме до 3-х месяцев. Дальнейший (до 6 месяцев) прием ATV не оказывает дополнительного влияния на зону роста костной ткани бедренной кости грызунов со стороны эндооста.

В группе животных, принимавших α -К, как и в контрольных группах, отмечен статистически значимый рост зоны роста костной ткани бедра со стороны эндооста. Учитывая, что изучаемый показатель значимо ($p < 0,05$) был выше, по сравнению с животными контрольной группы, можно заключить, что выявленные отличия обусловлены совместным влиянием временного фактора и α -К.

В группе животных, получавших совместно ATV и α -К, так же выявлено статистически значимое увеличение изучаемого показателя через 6 месяцев по сравнению с 3-месячным приемом лекарственных средств. При этом в первый период исследования отмечено статистически значимое увеличение изучаемого показателя по сравнению с животными контрольной и группы «плацебо». Учитывая вышесказанное, можно заключить, что совместное применение ATV и α -К увеличивает

Таблица 1 – Размеры вновь образованной костной ткани со стороны эндоостальной поверхности бедренной кости грызунов, мкм

	3 месяца	6 месяцев
Интактные		
Me Q ₁ Q ₃	19,51 (17,30; 23,07)	43,64 (31,90; 66,44) ¹
Критерий Шапиро-Уилка P	0,5450	0,0209
Плацебо		
Me Q ₁ Q ₃	21,52 (20,19; 26,16)	36,90 (33,16; 41,41) ²
Критерий Шапиро-Уилка P	0,0578	0,9409
ATV		
Me Q ₁ Q ₃	35,47 (24,02; 37,62)*	41,37 (33,49; 48,56)
Критерий Шапиро-Уилка P	0,7907	0,0130
α-K		
Me Q ₁ Q ₃	35,69 (30,23; 40,48)*	51,81 (40,17; 72,40) ³
Критерий Шапиро-Уилка P	0,0211	0,6259
ATV+α-K		
Me Q ₁ Q ₃	30,23 (26,31; 38,41)	52,72 (44,16; 66,06) ^{4**}
Критерий Шапиро-Уилка P	0,1815	0,2551

Примечание: 1 – p<0,0001 (3 мес., 6 мес.), 2 – p<0,001 (3 мес., 6 мес.), 3 – p=0,0251 (3 мес., 6 мес.), 4 – p=0,024 (3 мес., 6 мес.); * – по сравнению с интактными p<0,05; ** – по сравнению с «плацебо» p=0,019.

Таблица 2 – Размеры зоны роста костной ткани в бедренной кости крыс со стороны периоста, мкм

	3 месяца	6 месяцев
Интактные		
Me Q ₁ Q ₃	20,72 (19,02; 26,17)	40,82 (37,63; 50,45) ¹
Критерий Шапиро-Уилка P	0,1765	0,0011
Плацебо		
Me Q ₁ Q ₃	26,91 (23,92; 32,04)	36,69 (34,59; 40,50) ²
Критерий Шапиро-Уилка P	0,9016	0,8529
ATV		
Me Q ₁ Q ₃	31,17 (26,21; 40,07)*	50,83 (41,80; 61,26) ^{3**}
Критерий Шапиро-Уилка P	0,7534	0,8274
α-K		
Me Q ₁ Q ₃	23,21 (20,98; 24,28)	57,37 (53,55; 62,42) ⁴
Критерий Шапиро-Уилка P	0,7321	0,6939
ATV+α-K		
Me Q ₁ Q ₃	34,75 (26,38; 38,75)*	54,52 (39,83; 61,82) ^{5**}
Критерий Шапиро-Уилка P	0,3434	0,2549

Примечание: 1 – p<0,001 (3 мес., 6 мес.); 2 – p=0,0016 (3 мес., 6 мес.); 3- p=0,008 (3 мес., 6 мес.); 4 – p<0,001; 5 – p<0,001 (3 мес., 6 мес.); * – по сравнению с интактными p<0,05; ** – по сравнению с «плацебо» p=0,0024, 0,004 (3 мес., 6 мес.).

зону роста бедренной кости со стороны эндооста вне зависимости от фактора времени.

Сравнение величины зоны роста со стороны периоста через 3 и 6 месяцев приема лекарственных средств (ЛС) показало (табл. 2) статистически значимый рост изучаемого показателя во всех группах экспериментальных животных. Учитывая, что у крыс, получавших ATV и ATV

с α-K, изучаемый показатель был статистически значимо выше по сравнению с контролем (3 месяца) и «плацебо» (6 месяцев), можно заключить, что выявленное увеличение размера вновь образованной костной ткани в бедренной кости со стороны периоста обусловлено введением ЛС, а не временным фактором.

Исходя из вышеизложенного можно сде-

Таблица 3 – Размеры зоны роста костной ткани в нижней челюсти крыс со стороны периодонта, мкм

	3 месяца	6 месяцев
Интактные		
Me Q ₁ Q ₃	22,70 (19,14; 28,06)	43,06 (39,19; 44,80) ¹
Критерий Шапиро-Уилка P	0,1237	0,3417
Плацебо		
Me Q ₁ Q ₃	22,59 (21,49; 24,14)	41,22 (35,49; 45,03) ²
Критерий Шапиро-Уилка P	0,5436	0,4865
ATV		
Me Q ₁ Q ₃	26,86 (23,59; 30,00)	38,25 (31,08; 42,61) ³
Критерий Шапиро-Уилка P	0,7255	0,9910
α -K		
Me Q ₁ Q ₃	26,79 (25,78; 27,91)	31,12 (25,27; 39,39) ^(**)
Критерий Шапиро-Уилка P	0,2222	0,1214
ATV+ α -K		
Me Q ₁ Q ₃	29,58 (27,55; 32,15) ^{**}	34,10 (31,88; 41,32) ⁴
Критерий Шапиро-Уилка P	0,0932	0,6214

Примечание: 1 – $p < 0,001$ (3 мес., 6 мес.); 2 – $p < 0,001$ (3 мес., 6 мес.); 3 – $p = 0,0159$ (3 мес., 6 мес.); 4 – $p = 0,0025$ (3 мес., 6 мес.); * – по сравнению с интактными $p < 0,0052$; ** – по сравнению с «плацебо» $p = 0,0382, 0,0386$ (3 мес., 6 мес.).

лать вывод: за 3 месяца наблюдений отмечается увеличение зоны роста костной ткани в бедренной кости, при этом введение ATV и α -K потенцирует этот процесс.

Анализ влияния ЛС на размеры вновь образованной костной ткани нижнечелюстной кости со стороны периодонта показало, что через 6 месяцев у животных всех экспериментальных групп, за исключением животных, получавших α -K, данный показатель был статистически достоверно больше, чем у животных 3-месячного эксперимента (табл. 3). Однако у грызунов, получавших в течение 6 месяцев α -K, вышеуказанный показатель был статистически значимо меньше, чем у животных интактной и группы «плацебо» ($p = 0,0382$ и $0,0386$ соответственно). Совместное применение ATV и α -K увеличивало зону роста костной ткани в нижней челюсти со стороны периодонта через 3 месяца их введения по сравнению с группой «плацебо».

Таким образом, совместное применение ATV и α -K оказывает стимулирующее действие на образование костной ткани со стороны периодонта в нижней челюсти крыс через 3 месяца их ежедневного введения, что свидетельствует об интенсификации ремоделирования костной ткани [12]. Введение α -K в течение 6 месяцев снижает активность ремоделирования костной ткани челюсти.

Анализ величины зоны роста костной ткани со стороны преддверия рта показал увели-

чение данного показателя в группах интактных животных, получавших ATV и получавших ATV вместе с α -K ($p = 0,0016, 0,0282$ и $< 0,001$ соответственно) (табл. 4). Отсутствие изменений у крыс в группе «плацебо» говорит о наличии стрессорного воздействия на образование костной ткани в нижней челюсти с вестибулярной поверхности. В свою очередь, отсутствие изменений в группе животных, получавших ATV и α -K, обусловлено способностью этих лекарственных средств увеличивать данный показатель по сравнению с контрольными и животными группы «плацебо» через 3 месяца их введения. Полученные изменения свидетельствуют о способности ATV и α -K увеличивать моделирование костной ткани челюсти через 3 месяца их совместного введения.

Оценка влияния ЛС на количество сосудов в костной ткани бедренной кости показало, что стрессирование животных в течение 6 месяцев снижало ($p = 0,044$) количество сосудов в поле зрения по сравнению с аналогичным показателем 3-месячного эксперимента (табл. 5). Данный результат можно расценить как негативное действие длительного стресса. Введение ATV в течение 6 месяцев не оказало позитивного влияния на изучаемый показатель. Как и в предыдущем случае, сохранялось негативное влияние длительного стрессирования животных внутрижелудочным введением зонда ($p = 0,019$). Введение α -K устраняло данный негативный эффект, по сравнению

с животными 3-месячного эксперимента, однако снижало количество сосудов в костной ткани бедра по сравнению с интактными крысами ($p=0,024$). Совместное введение ATV и α -К уже через 3 месяца введения увеличивало количество сосудов в поле зрения на 38,5% по сравнению с интактными грызунами ($p=0,0086$). Эффект сохранялся и через 6 месяцев введения комбинации

препаратов по сравнению с животными группы «плацебо» ($p<0,001$) и крысами, которым вводили только α -К и только ATV ($p<0,001$ и $0,0028$ соответственно).

Таким образом, исходя из представленных результатов, можно заключить, что 6-месячное стрессирование животных внутрижелудочным введением зонда уменьшает количество сосудов

Таблица 4 – Размер зоны роста костной ткани в нижней челюсти грызунов с вестибулярной поверхностью, мкм

	3 месяца	6 месяцев
Интактные		
Me Q ₁ Q ₃	29,31 (22,06; 34,08)	44,70 (36,55; 47,58) ¹
Критерий Шапиро-Уилка Р	0,9629	0,4007
Плацебо		
Me Q ₁ Q ₃	29,32 (25,82; 31,27)	43,03 (29,82; 49,72)
Критерий Шапиро-Уилка Р	0,2047	0,4368
ATV		
Me Q ₁ Q ₃	37,98 (34,68; 41,71)	48,83 (41,74; 50,88) ²
Критерий Шапиро-Уилка Р	0,9492	0,0045
α -К		
Me Q ₁ Q ₃	28,71 (25,45; 31,88)	54,25 (41,10; 57,46) ³
Критерий Шапиро-Уилка Р	0,9360	0,2212
ATV+ α -К		
Me Q ₁ Q ₃	43,70 (41,85; 49,73)*(**)	51,62 (47,70; 56,01)
Критерий Шапиро-Уилка Р	0,2234	0,9371

Примечание: 1 – $p=0,0016$ (3 мес., 6 мес.); 2 – $p=0,0282$ (3 мес., 6 мес.); 3 – $p<0,001$ (3 мес., 6 мес.); * – по сравнению с интактными $p=0,0069$; ** – по сравнению с «плацебо» $p=0,002$.

Таблица 5 – Количество сосудов в костной ткани бедренной кости крыс, мкм

	3 месяца	6 месяцев
Интактные		
Me Q ₁ Q ₃	5,70 (4,20; 6,82)	6,70 (6,20; 7,05)
Критерий Шапиро-Уилка Р	0,2493	0,9647
Плацебо		
Me Q ₁ Q ₃	6,40 (5,97; 6,95)	5,50 (4,80; 6,20) ^{1*}
Критерий Шапиро-Уилка Р	0,5845	<0,001
ATV		
Me Q ₁ Q ₃	6,60 (6,12; 7,73)	5,50 (4,60; 6,35) ² (****)
Критерий Шапиро-Уилка Р	0,7897	0,3524
α -К		
Me Q ₁ Q ₃	5,30 (4,60; 5,50)	5,40 (5,20; 5,70)*
Критерий Шапиро-Уилка Р	0,8274	0,4440
ATV+ α -К		
Me Q ₁ Q ₃	7,90 (7,35; 8,40)*	7,70 (6,60; 8,30)** (***)
Критерий Шапиро-Уилка Р	0,7610	0,4410

Примечание: 1 – $p=0,044$ (3 и 6 мес.); 2 – $p=0,019$ (3 и 6 мес.); 3 – $p<0,001$ (3 и 6 мес.); 3 месяца – * по сравнению с интактными $p=0,0086$; 6 месяцев – * по сравнению с интактными $p=0,024$, $0,0117$ (3 мес., 6 мес.); ** – по сравнению с «плацебо» $p<0,001$; *** – по сравнению с α -К $p<0,001$; **** – по сравнению с ATV+ α -К $p=0,0028$.

в костной ткани бедренной кости. Введение α -К снижает стрессорное воздействие, а совместное применение α -К и ATV обладает не только антистрессорной активностью, но и способностью увеличивать количество сосудов в костной ткани бедренной кости экспериментальных грызунов.

Анализ данных о влиянии ЛС на количество сосудов в костной ткани нижней челюсти показал, как и в случае с бедренной костью, что стрессирование животных внутрижелудочным введением зонда уменьшало количество сосудов в поле зрения ($p < 0,001$) (табл. 6). Введение ATV, а также ATV + α -К не снизило стрессорное воздействие, оставляя количество сосудов статистически значимо сниженными по сравнению с животными 3-месячного эксперимента. Отдельное введение α -К крысам устраняло негативное действие стресса, в том числе увеличивая количество сосудов по сравнению с животными группы «плацебо» ($p = 0,0038$).

Таким образом, полученные данные позволяют заключить, что стрессирование животных в течение 6 месяцев внутрижелудочным введением зонда оказывает негативное действие на количество сосудов в костной ткани нижней челюсти, а применение α -К устраняет данное влияние.

Заключение

1. Размеры вновь образованной костной ткани в бедренной и нижнечелюстной костях

животных как со стороны эндооста/периодонта, так и со стороны периоста/преддверия увеличиваются к окончанию эксперимента по сравнению с 3-месячным исследованием.

2. Введение ATV стимулирует увеличение размеров костной ткани со стороны эндо- и периостальной поверхностей бедренной кости грызунов уже в первый период исследования, не оказывая дополнительного влияния через 6 месяцев введения ЛС.

3. Совместное введение ATV и α -К увеличивает размеры костной ткани в бедренной кости через 3 месяца их введения и остается неизменным через 6 месяцев введения этой комбинации ЛС.

4. Совместное применение ATV и α -К стимулирует увеличение зоны роста костной ткани в нижней челюсти со стороны периодонта через 3 месяца, но не через 6 месяцев введения комбинации ЛС.

5. Длительное стрессирование животных 6-месячным внутрижелудочным введением зонда уменьшает количество сосудов в костной ткани бедра и нижней челюсти.

6. Введение α -К снижает активность стрессового воздействия на количество сосудов костной ткани бедра и нижней челюсти животных, а совместно введенные α -К и ATV обладают не только антистрессорной активностью, но и способностью увеличивать количество сосудов в костной ткани бедренной кости через 3 месяца их введения.

Таблица 6 – Количество сосудов в костной ткани нижней челюсти крыс, мкм

	3 месяца	6 месяцев
Интактные		
Me Q ₁ Q ₃	3,65 (3,20; 4,20)	3,20 (2,65; 4,35)
Критерий Шапиро-Уилка P	0,1449	0,3600
Плацебо		
Me Q ₁ Q ₃	4,35 (3,70; 5,30)	2,60 (2,05; 3,53) ¹
Критерий Шапиро-Уилка P	0,3256	0,3388
ATV		
Me Q ₁ Q ₃	5,10 (4,70; 5,73)*	2,80 (2,60; 3,85) ²
Критерий Шапиро-Уилка P	0,8435	0,0571
α -К		
Me Q ₁ Q ₃	3,70 (3,15; 5,10)	4,05 (3,50; 4,53)**
Критерий Шапиро-Уилка P	0,1321	0,7413
ATV+ α -К		
Me Q ₁ Q ₃	5,30 (4,92; 5,73)*	3,00 (2,70; 3,40) ³
Критерий Шапиро-Уилка P	0,6186	0,6265

Примечание: 1 – $p < 0,001$ (3 мес., 6 мес.); 2 – $p < 0,001$ (3 мес., 6 мес.); 3 – $p < 0,001$ (3 мес., 6 мес.); * – по сравнению с контролем $p = 0,0036$, 0,028 (3 мес., 6 мес.); ** – по сравнению с «плацебо» $p = 0,0038$.

Источники финансирования: Работа выполнялась в рамках задания Государственной программы научных исследований «Фундаментальные и прикладные науки – медицине» (№ ГР 20190142 от 26.02.2019).

Sources of financing: The research was conducted within the frames of the theme task of State Research Programs (GPN) «Basic and applied sciences to medicine» (№GR 20190142 of 26.02.2019).

Литература

1. Пасиешвили, Л. М. Остеопороз – безмолвный костный «вор» / Л. М. Пасиешвили // Восточноевроп. журн. внутр. и семейн. мед. – 2015. – № 1. – С. 16–24.
2. Масенко, В. Л. Атерокальциноз и остеопороз. Связи и условия взаимного влияния. Обзор / В. Л. Масенко, С. Е. Семенов, А. Н. Коков // Комплекс. проблемы сердеч.-сосудистых заболеваний. – 2017. – Т. 6, № 2. – С. 9–102.
3. Шварц, Г. Я. Молекулярно-биологические основы создания новых лекарственных средств для лечения остеопороза: II. Статины и формирование кости / Г. Я. Шварц // Остеопороз и остеопатии. – 2003. – № 3. – С. 17–20.
4. Буянова, С. В. Влияние статинов на гормональный спектр крови и содержание холестерина в надпочечниках белых лабораторных крыс / С. В. Буянова, С. С. Осочук // Вестн. ВГМУ. – 2014. – Т. 13, № 1. – С. 31–37.

5. Associations between testosterone, bone mineral density, vitamin D and semen quality in fertile and infertile Chinese men / B. Yang [et al.] // Int. J. Androl. – 2012 Dec. – Vol. 35, N 6. – P. 783–792.
6. Оценка биохимических показателей потомства самок крыс, в различные возрастные периоды, получавших высокобелковый, обогащенный кальцием и витамином D, молочный продукт / Т. П. Бондарь [и др.] // Наука. Инновации. Технологии. – 2016. – № 1. – С. 157–166.
7. Лилли, Ф. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Ф. Лилли ; под ред. В.В. Португалова. – Москва : Мир, 1969. – 645 с.
8. Callis, G. Decalcification of Bone: Literature Review and Practical Study of Various Decalcifying Agents. Methods. and Their Effects on Bone Histology / G. Callis, D. Sterchi // J. Histotechnol. – 1998. – Vol. 21, N 1. – P. 49–58.
9. Меркулов, Г. А. Курс патологистологической техники / Г. А. Меркулов. – Изд. 5-е, испр. и доп. – Ленинград : Медицина, 1969. – 423 с.
10. Benjamini, Y. The control of the false discovery rate in multiple testing under dependency / Y. Benjamini, D. Yekutieli // Ann. Statist. – 2001 Aug. – Vol. 29, N 4. – P. 1165–1188.
11. Hedges, L. Statistical Methods for Meta-Analysis / L. Hedges, I. Olkin. – Academic Press, 2014. – 369 p.
12. Langdahl, B. Bone modeling and remodeling: potential as therapeutic targets for the treatment of osteoporosis / B. Langdahl, S. Ferrari, D. W. Dempster // Ther. Adv. Musculoskelet Dis. – 2016 Dec. – Vol. 8, N 6. – P. 225–235.

Поступила 14.01.2021 г.

Принята в печать 15.02.2021 г.

References

1. Pasieshvili LM. Osteoporosis - the silent bone thief. Vostochnoevroп Zhurn Vnutr Semein Med. 2015;(1):16-24. (In Russ.)
2. Masenko VL, Semenov SE, Kokov AN. Atherocalcinosis and osteoporosis. Relations and conditions of mutual influence. Overview. Kompleks Problemy Serdech-sosudistykh Zabolevanii. 2017;6(2): 9-102. (In Russ.)
3. Shvartc GIa. Molecular biological basis for the creation of new drugs for the treatment of osteoporosis: II. Statins and bone formation. Osteoporoz Osteopatii. 2003;(3):17-20. (In Russ.)
4. Buianova SV, Osochuk SS. Effect of statins on the hormonal spectrum of blood and cholesterol content in the adrenal glands of white laboratory rats. Vestn VGMU. 2014;13(1):31-7. (In Russ.)
5. Yang B, Sun H, Wan Y, Wang H, Qin W, Yang L, Zhao H, Yuan J, Yao B. Associations between testosterone, bone mineral density, vitamin D and semen quality in fertile and infertile Chinese men. Int J Androl. 2012 Dec;35(6):783-92. doi: 10.1111/j.1365-2605.2012.01287.x
6. Bondar TP, Svetlitskii KS, Svetlitskaia IuS, Aseeva OA. Evaluation of the biochemical parameters of the offspring of

female rats at different age periods receiving a high-protein, calcium and vitamin D-fortified dairy product. Nauka Innovatsii Tekhnologii. 2016;(1):157-66. (In Russ.)

7. Lilli F; Portugalova VV, red. Histopathological technique and practical histochemistry. Moscow, RF: Mir; 1969. 645 p. (In Russ.)
8. Callis G, Sterchi D. Decalcification of Bone: Literature Review and Practical Study of Various Decalcifying Agents. Methods. and Their Effects on Bone Histology. J Histotechnol. 1998;21(1):49-58. doi: 10.1179/his.1998.21.1.49
9. Merkulov GA. Course of pathologic-histological technique. Izd 5-e, ispr i dop. Leningrad, RF: Meditsina; 1969. 423 p. (In Russ.)
10. Benjamini Y, Yekutieli D. The control of the false discovery rate in multiple testing under dependency. Ann Statist. 2001 Aug;29(4):1165-88.
11. Hedges L, Olkin I. Statistical Methods for Meta-Analysis. Academic Press; 2014. 369 p.
12. Langdahl B, Ferrari S, Dempster DW. Bone modeling and remodeling: potential as therapeutic targets for the treatment of osteoporosis. Ther Adv Musculoskelet Dis. 2016 Dec;8(6):225-235. doi: 10.1177/1759720X16670154

Submitted 14.01.2021

Accepted 15.02.2021

Сведения об авторах:

Осочук С.С. – д.м.н., профессор, заведующий научно-исследовательской лабораторией, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2074-3832>;

Яковлева О.С. – старший преподаватель кафедры стоматологии детского возраста и ортодонтии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6833-5005>;

Марцинкевич А.Ф. – к.б.н., доцент кафедры общей и клинической биохимии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3655-4489>;

Карпенко Е.А. – к.вет.н., старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4099-8405>.

Information about authors:

Asochuk S.S. – Doctor of Medical Sciences, professor, head of the Scientific-Research Laboratory, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2074-3832>;

Yakovleva O.S. – senior lecturer of the Chair of Pediatric Dentistry & Orthodontics with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6833-5005>;

Martsinkevich A.F. – Candidate of Biological Sciences, associate professor of the Chair of General & Clinical Biochemistry with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3655-4489>;

Karpenko E.A. – Candidate of Veterinary Sciences, senior research officer of the Scientific-Research Laboratory, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4099-8405>.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра стоматологии детского возраста и ортодонтии с курсом ФПК и ПК. E-mail: olga.lobkova88@gmail.com – Яковлева Ольга Святославна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Pediatric Dentistry & Orthodontics with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining. E-mail: olga.lobkova88@gmail.com – Olga S. Yakovleva.