

Изменения морфометрических параметров периферических эндокринных желез и показателей микроструктуры, фазового состава биоминерала регенерата большеберцовых костей после длительного воздействия бензоата натрия

В.Н. Морозов

ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Министерства науки и высшего образования России, Белгород, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Бензоат натрия является консервантом, широко применяемым в пищевой промышленности для увеличения сроков хранения продуктов питания. Однако установлены его генотоксичные, гепато- и нефротоксичные свойства, что требует продолжения изучения его влияния на организм.

Ц е л ь . Изучить влияние 60-дневного воздействия бензоата натрия на структуру С-клеток щитовидной железы, главных паратироцитов околощитовидных желез и спонгиоцитов пучковой зоны надпочечников с учетом изменений микроструктуры и фазового состава биоминерала регенерата большеберцовых костей при моделировании механической травмы.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Сто двадцать белых половозрелых крыс-самцов были разделены на четыре группы (по 30 особей в каждой). Животные 1-й и 2-й групп подвергались 60-дневному воздействию бензоата натрия в дозах 500 и 1000 мг/кг, после чего моделировали травму в большеберцовых костях. В 3-й группе вместо бензоата натрия животным вводился физиологический раствор. В 4-й группе крысы получали физиологической раствор без моделирования травмы большеберцовых костей. Изучение изменений цитоморфометрических параметров С-клеток щитовидной железы осуществлялось методом электронной микроскопии на 3-и и 24-е сутки после моделирования травмы большеберцовых костей. Изучение морфометрических параметров главных паратироцитов и спонгиоцитов пучковой зоны надпочечников проводилось методом световой микроскопии на 3-и, 10, 15, 24, 45-е сутки, а показателей, характеризующих микроструктуру и фазовый состав биоминерала регенерата костей – методом рентгеноструктурного анализа в эти же сроки.

Р е з у л ь т а т ы . В 1-й группе площадь, занимаемая эухроматином в ядрах С-клеток, значительно уменьшалась по сравнению с 3-й группой на 24-е сутки наблюдения на 21.13 %, а во 2-й группе на 3-и и 24-е сутки – на 5.83 и 16.29 %. В 1-й и 2-й группах на 3-и, 24-е сутки соотношение площадей эухроматина и гетерохроматина было меньше на 2.65, 22.25 и 6.69, 17.69 %, диаметр секреторных гранул – на 7.47, 15.43 и 8.92, 16.00 %. Количество ядер главных паратироцитов на единицу площади уменьшалось значительно только во 2-й группе с 3-х по 15-е сутки на 3.96, 3.34, 3.68 %, а индекс функциональной активности – на 3-и сутки на 6.34 %. Количество ядер спонгиоцитов на единицу площади в пучковой зоне значительно уменьшалось в обеих группах с 3-х по 45-е сутки на 2.87, 2.40 и 5.57, 3.91 %. В 1-й группе индекс функциональной активности спонгиоцитов был меньше лишь с 3-х по 15-е сутки на 7.20, 6.78, 4.54 %, а во второй группе – во все сроки на 10.73 и 7.23 %. В биоминерале регенерата большеберцовых костей у крыс 1-й группы выявлено значимое увеличение размера элементарных ячеек вдоль оси *c* на 15 и 24-е сутки на 0.23 и 0.17 %. Во 2-й группе увеличение размера элементарных ячеек вдоль оси *a* было значимым с 15-х по 45-е сутки на 0.28, 0.15, 0.13 %, а размера элементарных ячеек вдоль оси *c* – с 10-х по 45-е сутки на 0.18, 0.23, 0.21, 0.12 %. В этих же группах установлена значимая положительная связь между такими параметрами, как количество ядер главных паратироцитов, спонгиоцитов пучковой зоны и размером элементарных ячеек вдоль осей *a*, *c*, процентным содержанием витлокита, а связь между параметром «соотношение площадей эухроматина и гетерохроматина в ядрах С-клеток» была положительной на 3-и сутки и отрицательной на 24-е сутки.

З а к л ю ч е н и е . Морфофункциональное состояние С-клеток, главных паратироцитов и спонгиоцитов пучковой зоны дозозависимо угнетается предшествующим 60-дневным введением бензоата натрия. Это сопровожда-

Поступила в редакцию 31.01.2024
Прошла рецензирование 13.02.2024
Принята к публикации 01.03.2024

Автор, ответственный за переписку
Морозов Виталий Николаевич: ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Министерства образования и науки РФ. 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85.
E-mail: morozov_v@bsu.edu.ru

Received 31.01.2024
Revised 13.02.2024
Accepted 01.03.2024

Corresponding author
Vitaliy N. Morozov: Belgorod National Research University, 85, Pobedy str., Belgorod, 308015, Russia.
E-mail: morozov_v@bsu.edu.ru

ется нарушением компенсаторно-восстановительных процессов в периоде репаративного остеогенеза. Методом корреляционного анализа установлены различные по силе и направленности связи между изменениями морфометрических параметров эндокринных желез и микроструктуры регенерата.

Ключевые слова: С-клетки, главные паратироциты, спонгиозиты пучковой зоны, морфометрические параметры, микроструктура и фазовый состав, регенерат, бензоат натрия, корреляционный анализ.

Образец цитирования: Морозов В.Н. Изменения морфометрических параметров периферических эндокринных желез и показателей микроструктуры, фазового состава биоминерала регенерата большеберцовых костей после длительного воздействия бензоата натрия // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(3):19-36. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-3-19-36

Changes in the morphometric parameters of the peripheral endocrine glands and microstructure indicators, phase composition of the biomineral of the regenerating tibias after long-term exposure to sodium benzoate

V.N. Morozov

Belgorod National Research University, Belgorod, Russia

ABSTRACT

Introduction. Sodium benzoate is a preservative widely used in the food industry to increase the shelf life of food products. However, its genotoxic, hepatotoxic and nephrotoxic properties have been established, which requires further study of its effects on the body.

Aim. To study the effect of a 60-day exposure to sodium benzoate on the structure of the thyroid C-cells, the main parathyroid cells and the spongiosocytes of the adrenal zona fasciculata, taking into account changes in the microstructure and phase composition of the biomineral of the regenerating tibias amid modeling a mechanical injury.

Materials and methods. One hundred and twenty albino mature male rats were divided into four groups (30 animals in each group). Animals of groups 1 and 2 were exposed to sodium benzoate for 60 days at doses of 500 and 1000 mg/kg, after which a defect in the tibias was simulated. In group 3, instead of sodium benzoate, the animals were injected with saline solution. In group 4, rats received saline without simulating the tibial injury. The study of changes in the cytomorphometric parameters of the thyroid C-cells was carried out using electron microscopy on the 3rd and 24th days after defect modeling. The study of the morphometric parameters of the main parathyroid cells and spongiosocytes of the adrenal zona fasciculata was carried out by light microscopy on days 3, 10, 15, 24, 45, and the indicators characterizing the microstructure and phase composition of the biomineral of the regenerating bones were studied by X-ray diffraction analysis at the same time points.

Results. In group 1, the area occupied by euchromatin in the nuclei of C-cells significantly decreased compared to group 3 on the 24th day by 21.13%, and in group 2 on the 3rd and 24th day – by 5.83 and 16.29%. In groups 1 and 2, on the 3rd and 24th day, the ratio of euchromatin and heterochromatin areas was less by 2.65, 22.25 and 6.69, 17.69%, the diameter of secretory granules – by 7.47, 15.43 and 8.92, 16.00%. The number of nuclei of the main parathyroid cells per area unit decreased significantly only in group 2 from the 3rd to 24th day by 3.96, 3.34, 3.68%, and the functional activity index decreased on the 3rd day by 6.34%. The number of spongiosocyte nuclei per area unit in the zona fasciculata decreased significantly in both groups from the 3rd to 45th day – by 2.87, 2.40 and 5.57, 3.91%. In the 1st group, the index of functional activity of spongiosocytes was lower only from the 3rd to 15th day by 7.20, 6.78, 4.54%, and in the second group – in all time points by 10.73 and 7.23%. In the biomineral of the regenerating tibias in rats of group 1, a significant increase in the size of unit cells along the **c** axis was revealed on the 15th and 24th days by 0.23 and 0.17%. In group 2, the increase in the size of unit cells along the **a** axis was significant from the 15th to 45th day by 0.28, 0.15, 0.13%, and the increase in the size of the unit cells along the **c** axis was significant from the 10th to 45th day by 0.18, 0.23, 0.21, 0.12%. In same groups, a significant positive correlation was found between such parameters as the number of nuclei of the main parathyroid cells, spongiosocytes of the zona fasciculata and the size of unit cells along the **a**, **c** axes, the percentage of whitlockite, and the correlation between the parameter “ratio of the areas of euchromatin and heterochromatin in the C-cell nuclei” was positive on the 3rd day and negative on the 24th day.

Conclusion. The morphofunctional state of C-cells, main parathyroid cells and spongiosocytes of the zona fasciculata is dose-dependently inhibited by the previous 60-day administration of sodium benzoate. This is accompanied by alteration of compensatory and restorative processes during reparative osteogenesis. Using the correlation analysis, rela-

tionships of varying strength and direction were found between changes in the morphometric parameters of the endocrine glands and the microstructure of the regenerating bones.

Keywords: C-cells, main parathyroid cells, spongicytes of the zona fasciculata, morphometric parameters, microstructure and phase composition, regenerate, sodium benzoate, correlation analysis.

Citation example: Morozov V.N. Changes in the morphometric parameters of the peripheral endocrine glands and microstructure indicators, phase composition of the biomineral of the regenerating tibias after long-term exposure to sodium benzoate. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(3):19-36. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-3-19-36

ВВЕДЕНИЕ

Травматизм является актуальной медико-социальной проблемой, затрагивающей каждого человека в процессе жизнедеятельности [1]. Травматическое повреждение твердых и мягких тканей организма сопровождается системной реакцией организма, в которой первоочередную роль играют железы внутренней секреции, в частности щитовидная, околощитовидные железы и надпочечники. Гормоны, синтезируемые и секретируемые данными органами, создают, в зависимости от степени тяжести травмы, необходимый гормональный фон для поддержания баланса анаболических и катаболических процессов и обеспечения восстановления целостности области повреждения [2].

В настоящее время индустрия производства продуктов питания не может обходиться без использования пищевых добавок, в частности пищевых консервантов. Это связано с тем, что без их добавления в состав продуктов последние подвергаются быстрой порче даже после предварительной термической обработки и имеют короткий срок годности [3]. Использование в промышленных целях пищевого консерванта – бензоата натрия – позволяет устранить данную проблему, поскольку он обладает свойствами угнетать активность бактерий и грибов [4]. При этом не следует игнорировать сообщения о побочных действиях бензоата натрия на организм – его способности в кишечнике преобразовываться в бензол в сочетании с аскорбиновой кислотой, оказывать гено-, нефро- и гепатоксические эффекты [5, 6], что ставит вопрос об актуальности дальнейшего изучения его влияния на организм.

В имеющейся научной литературе морфофункциональные изменения щитовидной, околощитовидных желез и надпочечников [7], а также микроструктуры и фазового состава биоминерала регенерата костей [8] в разные периоды после травмы довольно полно освещены.

INTRODUCTION

Traumatism is an urgent medical and social problem that affects every person throughout life [1]. Traumatic damage to hard and soft tissues of the body is accompanied by a systemic reaction of the body, in which the primary role is played by the endocrine glands, in particular, thyroid, parathyroid glands and adrenal glands. Hormones synthesized and secreted by these organs create, depending on the severity of injury, the necessary endocrine profile to maintain the balance of anabolic and catabolic processes and ensure restoration of the integrity of the damaged area [2].

Currently, food industry cannot exist without the use of food additives, in particular food preservatives. This is due to the fact that without their addition to products, the latter are subject to rapid degradation even after preliminary heating, and have a short shelf life [3]. The use of a food preservative, sodium benzoate for industrial purposes eliminates this problem since it has the properties of inhibiting bacterial and fungal growth [4]. At the same time, one should not ignore reports of side effects of sodium benzoate on the body – its ability in the intestine to be converted into benzene in combination with ascorbic acid, to have geno-, nephro- and hepatotoxic effects [5, 6], which raises the question of the relevance of further study of its influence on the body.

In the available literature, morphofunctional changes in the thyroid, parathyroid glands and adrenal glands [7], as well as the microstructure and phase composition of the biomineral of regenerating bones [8] in different periods after injury are quite fully covered. However, data on the reactivity of these organs under long-term previous intake of food additives, in particular sodium benzoate, into the body is not provided.

AIM OF THE RESEARCH

To study the effect of a 60-day exposure to sodium benzoate on the structure of the thyroid C-cells, the

Однако информация о реактивности данных органов в условиях длительного предшествующего поступления в организм пищевых добавок, в частности бензоата натрия, не представлена.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить влияние 60-дневного воздействия бензоата натрия на структуру С-клеток щитовидной железы, главных паратироцитов околощитовидных желез и спонгиозитов надпочечников с учетом изменений микроstructures и фазового состава биоминерала регенерата большеберцовых костей при механической травме.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Из 120 белых половозрелых крыс-самцов (масса 200–210 г) сформировали четыре экспериментальные группы (по 30 особей в каждой). Животным первых двух групп внутрижелудочно в течение 60 сут вводили 1 мл раствора бензоата натрия в дозах 500 и 1000 мг/кг, а после завершения данного воздействия моделировали механическую травму большеберцовых костей (стоматологическим бором диаметром 2 мм создавался сквозной циркулярный дефект в месте перехода проксимального эпифиза большеберцовой кости в ее диафиз) [9]. В третьей группе животным вводили 0.9% изотонический раствор натрия хлорида вместо бензоата натрия и также моделировали механическую травму большеберцовых костей. Четвертая группа была сформирована из животных, которые в течение 60 сут получали только физиологический раствор без моделирования травмы костей. Поскольку видовая чувствительность крысы и человека к экспериментальным воздействиям разная, то доза вводимого бензоата натрия корректировалась с использованием формулы Рыболовлевых [10]. В ходе эксперимента с использованием лабораторных крыс руководствовались положениями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза [11]. Протокол исследования утвержден на заседании комиссии по биоэтике Луганского государственного медицинского университета им. Святителя Луки» (№ 2, 25.03.2022 г.) Для исследования изменений околощитовидных желез и надпочечников на светоптическом уровне на 3-и, 10, 15, 24 и 45-е сутки после моделирования травмы большеберцовых костей крысы подвергались эвтаназии путем вдыхания летальной дозы наркоза диэтилового эфира с последующей декапитацией. Забор щитовидных желез для электронно-микроскопического исследования осуществляли на 3-и и

main parathyroid cells and the adrenal spongiocytes, taking into account changes in the microstructure and phase composition of the biomineral of the regenerating tibias amid a mechanical injury.

MATERIALS AND METHODS

Four experimental groups (30 animals in each group) were formed from 120 albino mature male rats (weight 200–210 g). Animals of the first two groups were administered intragastrically for 60 days with 1 ml of sodium benzoate solution at doses of 500 and 1000 mg/kg, and after completion of this exposure, a mechanical injury to the tibias was simulated (a dental 2 mm bur was used to make a perforated circular defect at the junction at the point of transition of the proximal epiphysis of the tibias and its diaphysis) [9]. In the third group, animals were injected with 0.9% saline instead of sodium benzoate, and a mechanical injury to the tibias was also simulated. The fourth group was formed from animals that received only saline for 60 days without simulating bone defect. Since the species sensitivity of rats and humans to experimental influences is different, the dose of sodium benzoate was adjusted using the Rybolovlev formula [10]. During the experiment using laboratory rats, we were guided by the provisions of Directive 2010/63/EU of the European Parliament and the Council [11]. The study protocol was approved by the Bioethics Commission of St. Luka Lugansk State Medical University (No. 2, 25.03.2022). To study changes in the parathyroid and adrenal glands at the light-optical level on days 3, 10, 15, 24 and 45 after modeling the injury to the tibias, rats were euthanized by inhaling a lethal dose of diethyl ether followed by decapitation. The thyroid glands were collected for electron microscopy on the 3rd and 24th days after the animals were removed from the experiment by decapitation. Histological processing of samples of glands, their embedding in homogenized Histomix paraffin, sectioning, and staining were carried out in accordance with standard protocols for light and electron microscopy [12]. For morphometry of histological sections, we used a hardware complex consisting of a personal computer with Nis-Elements BR 4.60.00 software, a Nikon Eclipse Ni microscope and a Nikon DS-Fi3 digital camera (Nikon Corporation, Japan). In the central and peripheral parts of parathyroid glands, the number of nuclei of the main cells of parathyroid glands per area unit was counted, and the maximal (D_{max}) and minimal diameters (D_{min}) of their nuclei measured, followed by calculation of the average value (MD_{nucl}) using the formula [13]

$$MD_{nucl} = \sqrt{D_{max} \cdot D_{min}}$$

24-е сутки после выведения животных из эксперимента методом декапитации. Гистологическую проводку кусочков желез, их заливку в гомогенизированную парафиновую среду Histomix, изготовление срезов, их окраску проводили в соответствии со стандартными протоколами для световой и электронной микроскопии [12]. Для морфометрии гистологических срезов использовали аппаратный комплекс, состоящий из персонального компьютера с программным обеспечением Nis-Elements BR 4.60.00, микроскопа Nikon Eclipse Ni и цифровой камеры Nikon DS-Fi3 (Nikon Corporation, Japan). В окошечковидных железах в центральных и периферических отделах подсчитывали количество ядер главных паратироцитов на единицу площади и измеряли наибольший ($D_{\max}$) и наименьший диаметры ($D_{\min}$) их ядер с последующим вычислением среднего значения ($MD_{\text{яд}}$) по формуле [13]

$$MD_{\text{яд}} = \sqrt{D_{\max} \cdot D_{\min}}$$

Индекс функциональной активности (InFA) главных паратироцитов рассчитывался по формуле [13]

$$\text{InFA} = (N_{\text{яд}} \cdot MD_{\text{яд}}) / 20,$$

где $N_{\text{яд}}$ – количество ядер главных паратироцитов на единицу площади.

В надпочечниках подсчитывали количество ядер спонгиозитов на единицу площади в пучковой зоне и измеряли наибольший и наименьший диаметры их ядер на гистологических срезах. Определение среднего диаметра ядер этих клеток и их функциональной активности проводили по вышеуказанным формулам.

В компьютерной программе ImageJ (NIH, USA) на загруженных электронограммах C-клеток щитовидной железы не менее чем в десяти клетках проводили измерение площади, занимаемой эухроматином и гетерохроматином, с последующим вычислением их соотношения в ядре, а также средней площади митохондрий и диаметра секреторных гранул.

Для изучения микроструктуры биоминерала регенерата большеберцовых костей и его фазового состава использовали метод рентгеноструктурного анализа [14]. Рассчитывали размер элементарных ячеек вдоль осей **a** и **c** – структурно-функциональных единиц минерала, представляющих собой наименьшую упаковку атомов, формирующую вещество конкретного минерала. Также определяли процентное содержание вителокита и кальцита в биоминерале регенерата большеберцовых костей.

The index of functional activity (InFA) of the main cells of the parathyroid glands was calculated using the formula [13]

$$\text{InFA} = (N_{\text{nuc}} \cdot MD_{\text{nuc}}) / 20,$$

where N_{nuc} – number of nuclei of the main cells of the parathyroid glands per unit area.

In the adrenal glands, the number of spongiocyte nuclei per area unit in the zona fasciculata was counted, and the maximal and minimal diameters of their nuclei were measured on histological sections. The average diameter of the nuclei of these cells and their functional activity were determined using the abovementioned formulas.

Using ImageJ software (NIH, USA), the areas of euchromatin and heterochromatin were measured on downloaded electron diffraction patterns of the thyroid C-cells in at least ten cells, followed by calculation of their ratio in the nucleus, as well as the average area of mitochondria and the diameter of secretory granules.

To study the microstructure of the biomineral of regenerating tibias and its phase composition, X-ray diffraction analysis was used [14]. The size of unit cells along the **a** and **c** axes was calculated – the structural and functional units of the mineral, which represent the smallest atomic packing that forms the substance of a particular mineral. The percentage of whitlockite and calcite in the biomineral of the regenerating tibias was also determined.

Next, the numerical data were downloaded into Microsoft Office Excel 2017 (Microsoft, USA), where variation series were built and the data were checked for the normality of distribution using the Shapiro-Wilk test. In case of normal data distribution, the parametric Student's *t*-test for differences in means was used. In other cases, the non-parametric Mann-Whitney test was used in Statistica 10.0 (StatSoft Inc., USA) for comparative analysis of data from different groups. Differences were deemed statistically significant if the probability of error was less than 5%. To identify the relationship between the cytomorphometric parameters of endocrine gland cells and the indicators obtained during X-ray analysis of the regenerating tibias, a correlation analysis was used. The latter was carried out between the parameters of the peripheral endocrine glands (the number of nuclei of the main parathyroid cells per area unit, the number of nuclei of spongiocytes of the adrenal zona fasciculata per area unit, the ratio of the areas of euchromatin and heterochromatin of the C-cell nuclei), and the parameters of the microstructure and phase composition of the biomineral of the regenerating tibias (size of unit cells along **a** and **c**

Далее числовые данные замеров переносили в программу Microsoft Office Excel 2017 (Microsoft, USA), где выстраивали вариационные ряды и осуществляли проверку данных на нормальность распределения при помощи критерия Шапиро – Уилка. В случае нормального распределения данных использовали параметрический критерий Стьюдента для сравнения средних величин. В остальных случаях в программе Statistica 10.0 (StatSoft Inc., USA) для сравнительного анализа данных различных групп применяли непараметрический критерий Манна – Уитни. Различия считали статистически значимыми при вероятности ошибки менее 5 %. Для выявления связи между цитоморфометрическими параметрами клеток изучаемых эндокринных желез и показателями, полученными после проведения рентгенструктурного анализа регенерата большеберцовых костей, использовали корреляционный анализ. Последний был проведен между параметрами периферических эндокринных желез (количество ядер главных паратироцитов на единицу площади, количество ядер спонгиозитов пучковой зоны надпочечников на единицу площади, соотношение площадей эухроматина и гетерохроматина ядер С-клеток) и параметрами микроструктуры и фазового состава биоминерала регенерата большеберцовых костей (размер элементарных ячеек вдоль осей a и c , процентное содержание кальцита и витлокита). Коэффициент ранговой корреляции Спирмена был использован для оценки степени связи между вышеуказанными параметрами. Слабой корреляционную связь считали при значении коэффициента корреляции $\rho \leq 0.19$, умеренной – $0.30-0.49$, средней – $0.50-0.69$, сильной ≥ 0.70 . Степень связи между параметрами считали достоверной в случаях, когда фактическое значение коэффициента корреляции Спирмена было больше критического ($\rho = 0.829$ при $\alpha = 0.05$ для 6 животных в группе).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В третьей группе, в которой моделирование механической травмы большеберцовых костей осуществлялось после 60-дневного введения физиологического раствора, изменение площади, занимаемой эухроматином в ядрах С-клеток, по сравнению с значениями четвертой группы, имело лишь характер тенденции к увеличению на 3-и сутки (на 5.41 %), и значение данного параметра было значимо выше на 24-е сутки наблюдения на 20.84 % ($p < 0.05$). Соотношение площадей эухроматина и гетерохроматина стати-

axes, percentage of calcite and whitlockite). Spearman's rank correlation coefficient (ρ) was used to assess the strength of association between the above-mentioned parameters. A correlation was considered low when the correlation coefficient was $\rho \leq 0.19$, mild – $0.30-0.49$, moderate – $0.50-0.69$, strong ≥ 0.70 . The degree of correlation between parameters was considered reliable if the actual value of the Spearman's correlation coefficient was greater than the critical value ($\rho = 0.829$ at $\alpha = 0.05$ for 6 animals in the group).

RESULTS

In the third group with the tibial mechanical injury simulated after a 60-day administration of saline, the change in the area of euchromatin in the of C-cell nuclei, compared with the values of the fourth group, only tended to increase on the 3rd day (by 5.41%), and the value of this parameter was significantly higher on the 24th day of the experiment – by 20.84% ($p < 0.05$). The ratio of the areas of euchromatin and heterochromatin significantly increased by 9.12 ($p < 0.05$), 30.34% ($p < 0.05$), and the change in the area of heterochromatin, on the contrary, had only a tendency to decrease on the 3rd and 24th days (on 3.38 and 7.33%). The diameter of secretory granules and the average area of C-cell mitochondria increased significantly on the 24th day by 22.09 and 11.89% ($p < 0.05$), and on the 3rd day their changes tended to increase (by 4.03 and 2.42%) (Table 1). These ultrastructural changes indicate a gradual increase in the functional activity of these cells towards the late stages of reparative osteogenesis.

In the same group, it was found that the tibial injury simulation is accompanied by an increase in the proliferative potential and functional activity of the main parathyroid cells, as evidenced by a statistically significant increase in the number of nuclei of these cells per area unit from the 3rd to 45th day by 6.63, 6.46, 6.78, 5.89 and 3.55% ($p < 0.05$). The change in the average diameter of the nuclei of these cells only tended to increase at the same time (by 21.5, 1.24, 1.80, 1.23 and 1.67%). The index of functional activity of the main parathyroid cells increased significantly from the 3rd to 24th day by 8.98, 7.84, 8.79, 7.22% ($p < 0.05$) and did not change significantly on the 45th day (by 5.32%) compared with the data in the control group.

In the adrenal glands, spongiocytes of the zona fasciculata responded to the tibial injury by enhancing their morphofunctional state. In the third group, the number of nuclei of these cells per area unit was greater than the values in the fourth group from the

Таблица 1. Параметры ультраструктуры С-клеток щитовидной железы крыс в группах в зависимости от сроков наблюдения**Table 1.** Parameters of the ultrastructure of thyroid C-cells of rats in groups depending on the time point

Номер группы / Group number	3-и сутки / 3rd day	24-е сутки / 24th day
<i>Площадь, занимаемая эухроматином, мкм² / Area of euchromatin, μm²</i>		
1	9.01 ± 0.14	10.35 ± 0.13 [•]
2	7.48 ± 0.12 [•]	9.20 ± 0.10 [•]
3	9.49 ± 0.12	10.99 ± 0.13*
4	9.00 ± 0.10	9.09 ± 0.09
<i>Площадь, занимаемая гетерохроматином, мкм² / Area of heterochromatin, μm²</i>		
1	4.97 ± 0.08	5.01 ± 0.10
2	5.17 ± 0.08 [•]	5.05 ± 0.08 [•]
3	5.10 ± 0.10	4.97 ± 0.10
4	5.28 ± 0.08	5.35 ± 0.07
<i>Соотношение площадей эухроматина и гетерохроматина, усл. ед. Ratio of areas of euchromatin and heterochromatin, arbitrary units</i>		
1	1.81 ± 0.004 [•]	2.07 ± 0.02 [•]
2	1.45 ± 0.01 [•]	1.82 ± 0.01 [•]
3	1.86 ± 0.01*	2.21 ± 0.02*
4	1.70 ± 0.01	1.70 ± 0.01
<i>Диаметр секреторных гранул, нм / Diameter of secretory granules, nm</i>		
1	155.54 ± 1.70 [•]	180.42 ± 1.71 [•]
2	142.15 ± 1.31 [•]	166.41 ± 0.84 [•]
3	168.09 ± 2.18	198.10 ± 2.12*
4	161.58 ± 1.92	162.25 ± 1.69
<i>Средняя площадь митохондрий, мкм² / Average area of mitochondria, μm²</i>		
1	9.61 ± 0.11 [•]	10.94 ± 0.15 [•]
2	9.05 ± 0.13	9.97 ± 0.15 [•]
3	10.28 ± 0.10	11.30 ± 0.17*
4	10.03 ± 0.14	10.10 ± 0.16

* Достоверное отличие показателей третьей группы от показателей четвертой группы при $p < 0.05$.

Significant difference between the indicators of the third and fourth groups at $p < 0.05$.

• Достоверное отличие показателей первой и второй групп от показателей третьей группы при $p < 0.05$.

Significant difference between the indicators of the first and second groups from the indicators of the third group at $p < 0.05$.

стически значимо увеличивалось на 9.12 ($p < 0.05$), 30.34 % ($p < 0.05$), а изменение площади, занимаемой гетерохроматином, напротив, имело лишь характер тенденции к уменьшению на 3-и и 24-е сутки (на 3.38 и 7.33 %). Диаметр секреторных гранул и средняя площадь митохондрий С-клеток значимо увеличивались на 24-е сутки на 22.09 и 11.89 % ($p < 0.05$), а на 3-и сутки их изменения имели характер тенденции к увеличению (на 4.03 и 2.42 %) (табл. 1). Данные ультраструктурные изменения указывают на постепенное увеличение функциональной активности данных клеток к поздним срокам репаративного остеогенеза.

В этой же группе было установлено, что моделирование травмы большеберцовых костей

3rd to 45th day by 15.32, 10.60, 8.80, 7.49 and 3.02% ($p < 0.05$). The average diameter of the spongocyte nuclei in the zona fasciculata increased significantly from the 3rd to 15th day by 8.26, 6.05, 5.65% ($p < 0.05$), and their index of functional activity increased from the 3rd to 24th day by 24.84%, 17.29, 14.94, 9.58% ($p < 0.05$). The change in the values of the first parameter on the 24th and 45th days had only an increasing tendency (by 1.94 and 1.02%), and the second indicator – on the 45th day (by 4.37%). As can be seen from the dynamics of changes in indicators, the maximal range of their deviations is on the 3rd day, after which it gradually decreases by the 45th day.

X-ray structural analysis of the biomineral of the regenerating tibias showed that the size of the unit

сопровождается увеличением пролиферативного потенциала и функциональной активности главных паратироцитов, о чем свидетельствует статистически значимое увеличение количества ядер данных клеток на единицу площади с 3-х по 45-е сутки на 6.63, 6.46, 6.78, 5.89 и 3.55 % ($p < 0.05$). Изменение среднего диаметра ядер данных клеток имело лишь характер тенденции к возрастанию в эти же сроки (на 21.5, 1.24, 1.80, 1.23 и 1.67 %). Индекс функциональной активности главных паратироцитов значимо возрастал с 3-х по 24-е сутки на 8.98, 7.84, 8.79, 7.22 % ($p < 0.05$) и не достоверно изменялся на 45-е сутки (на 5.32 %) по сравнению с данными контрольной группы.

В надпочечниках на травму в большеберцовых костях спонгиоциты пучковой зоны реагировали усилением своего морфофункционального состояния. В третьей группе количество ядер этих клеток на единицу площади было больше значений в четвертой группе с 3-х по 45-е сутки на 15.32, 10.60, 8.80, 7.49 и 3.02 % ($p < 0.05$). Средний диаметр ядер спонгиоцитов пучковой зоны статистически значимо возрастал с 3-х по 15-е сутки на 8.26, 6.05, 5.65 % ($p < 0.05$), а их индекс функциональной активности – с 3-х по 24-е сутки на 24.84, 17.29, 14.94, 9.58 % ($p < 0.05$). Изменение значений первого параметра на 24 и 45-е сутки имело лишь характер тенденции к увеличению (на 1.94 и 1.02 %), а второго показателя – на 45-е сутки (на 4.37 %). Как видно из динамики изменений показателей, максимальная амплитуда их отклонений регистрируется на 3-и сутки, после чего она постепенно снижается к 45-м суткам.

Рентгеноструктурный анализ биоминерала регенерата большеберцовых костей показал, что размер элементарных ячеек вдоль оси *a* значимо увеличивался на 3-и и 10-е сутки наблюдения на 0.15 и 0.13 % ($p < 0.05$) и уменьшался с 15-х по 45-е сутки на 0.12, 0.13, 0.10 % ($p < 0.05$). Изменение размера элементарных ячеек вдоль оси *c* имело лишь характер тенденции к увеличению на 3-и и 10-е сутки (на 0.13 и 0.06 %). Значение данного параметра статистически значимо уменьшалось на 15 и 24-е сутки на 0.24 и 0.17 % ($p < 0.05$) и не значимо – на 45-е сутки на 0.06 %.

В третьей группе содержание кальцита было больше, чем значение данного показателя в четвертой группе, с 3-х по 24-е сутки на 50.73, 42.71, 15.45, 12.30 % и меньше на 45-е сутки на 3.41 % ($p < 0.05$). Изменение содержания витлокита в биоминерале имело характер тенденции к уменьшению на 3-и и 45-е сутки (на 0.96 и 5.84 %) и увеличению с 10-х по 24-е сутки (на 7.48, 4.26, 9.07 %).

cells along the *a* axis significantly increased on the 3rd and 10th days by 0.15 and 0.13% ($p < 0.05$) and decreased between days 15th and 45th by 0.12, 0.13, 0.10 % ($p < 0.05$). The change in the size of unit cells along the *c* axis only tended to increase on the 3rd and 10th days (by 0.13 and 0.06%). The value of this parameter decreased significantly on the 15th and 24th day by 0.24 and 0.17% ($p < 0.05$) and not significantly on day 45 by 0.06%.

In the third group, the calcite content has increased in the fourth group between the 3rd and 24th day by 50.73, 42.71, 15.45, 12.30%, and decreased on the 45th day by 3.41% ($p < 0.05$). The change in the whitlockite content in the biomineral tended to decrease on the 3rd and 45th day (by 0.96 and 5.84%) and increase from the 10th to 24th day (by 7.48, 4.26, 9.07%).

A sixty-day administration of sodium benzoate before the simulation of the tibial injury caused a decrease in the values of cytomorphometric parameters of C-cells, compared with the data of the group without the food additive administration (third group). In the first group, the change in the area of euchromatin only tended to decrease on the 3rd day (by 5.08%), and on the 24th day this parameter differed significantly from the values in the control group – by 21.13% ($p < 0.05$). The ratio of the areas of euchromatin and heterochromatin was smaller on days 3 and 24 – by 2.65 and 22.25% ($p < 0.05$); the diameter of secretory granules was lower by 7.47 and 15.43% ($p < 0.05$); the average area of mitochondria – by 6.55 and 11.97% ($p < 0.05$). In the second group, the area of euchromatin decreased significantly on the 3rd and 24th days – by 5.83 and 16.29% ($p < 0.05$); the ratio of the areas of euchromatin and heterochromatin – by 6.69 and 17.69% ($p < 0.05$); the diameter of the secretory granules – by 8.92 and 16.00% ($p < 0.05$); the average area of mitochondria – on the 24th day by 11.77% ($p < 0.05$). The value of the latter on the 3rd day in the second group had only a tendency to decrease (by 3.13%).

In the first group, the change in the area of heterochromatin only tended to decrease on the 3rd day (by 2.55%) and increase on the 24th day (by 0.91%). In the second group, this parameter increased significantly in both time points by 1.37 and 1.64% ($p < 0.05$). From the above it follows that in the first and second groups, the thyroid C-cells are in a depressed morphofunctional state at the time of mechanical bone injury simulation, and during reparative osteogenesis, the range of reactive changes in their cytomorphometric parameters is less than in animals of the third group.

Шестидесятисуточное введение бензоата натрия до момента моделирования травмы в большеберцовых костях вызывало уменьшение значений цитоморфометрических параметров С-клеток, по сравнению с данными группы без введения пищевой добавки (третья группа). В первой группе изменение площади, занимаемой эухроматином, имело лишь характер тенденции к уменьшению на 3-и сутки (на 5.08 %), а на 24-е сутки данный параметр значимо отличался от значений контрольной группы на 21.13 % ($p < 0.05$). Соотношение площадей эухроматина и гетерохроматина было меньше на 3-и и 24-е сутки на 2.65 и 22.25 % ($p < 0.05$), диаметр секреторных гранул – на 7.47 и 15.43 % ($p < 0.05$), средняя площадь митохондрий – на 6.55 и 11.97 % ($p < 0.05$). Во второй группе площадь, занимаемая эухроматином, статистически значимо уменьшалась на 3-и и 24-е сутки на 5.83 и 16.29 % ($p < 0.05$), соотношение площадей эухроматина и гетерохроматина – на 6.69 и 17.69 % ($p < 0.05$), диаметр секреторных гранул – на 8.92 и 16.00 % ($p < 0.05$), средняя площадь митохондрий – на 24-е сутки на 11.77 % ($p < 0.05$). Значение последнего параметра на 3-и сутки во второй группе имело лишь характер тенденции к уменьшению (на 3.13 %).

В первой группе изменение площади, занимаемой гетерохроматином, имело лишь характер тенденции к уменьшению на 3-и сутки (на 2.55 %) и увеличению на 24-е сутки (на 0.91 %). Во второй группе данный параметр значимо увеличивался в оба срока наблюдения на 1.37 и 1.64 % ($p < 0.05$). Из вышеуказанного следует, что в первой и второй группах С-клетки щитовидной железы находятся к моменту моделирования механической травмы костей в угнетенном морфофункциональном состоянии, и в периоде репаративного остеогенеза амплитуда реактивных изменений их цитоморфометрических параметров меньше, чем у животных третьей группы.

Подобная дозозависимая тенденция зафиксирована в околощитовидных железах крыс первой и второй групп. В первой группе изменение количества ядер главных паратироцитов на единицу площади, их среднего диаметра и индекса функциональной активности имело лишь характер тенденции к уменьшению с 3-х по 45-е сутки (на 1.9, 1.53, 1.72, 0.61, 0.06 %, на 1.24, 0.85, 2.17, 0.25, 0.59 % и на 3.19, 2.36, 3.83, 0.83, 0.65 %). Во второй группе количество ядер главных паратироцитов было значимо меньше значений третьей группы с 3-х по 15-е сутки на 3.96, 3.34, 3.68 % ($p < 0.05$), а индекс функциональной активно-

A similar dose-dependent trend was revealed in the parathyroid glands of rats of the first and second groups. In the first group, the change in the number of nuclei of the main parathyroid cells per area unit, their average diameter and the index of functional activity had only a tendency to decrease from the 3rd to the 45th day (by 1.9, 1.53, 1.72, 0.61, 0.06%, by 1.24, 0.85, 2.17, 0.25, 0.59% and by 3.19, 2.36, 3.83, 0.83, 0.65%). In the second group, the number of nuclei of the main parathyroid cells was significantly lower than in the third group from the 3rd to 15th day by 3.96, 3.34, 3.68% ($p < 0.05$), and the index of functional activity – on the 3rd day – by 6.34% ($p < 0.05$). In the same group, the change in the number of nuclei of the main parathyroid cells per area unit on the 24th and 45th day had only a tendency to decrease (by 2.58 and 0.19%), the average diameter of the nuclei of these cells – from the 3rd to 45th day (on 2.48, 1.10, 2.82, 0.62, 1.55%) and their functional activity index – from the 10th to 45th day (at 4.41, 6.36, 3.17, 1.72%) (Table 2).

In the adrenal glands, the injury in the tibias after a previous 60-day administration of sodium benzoate was accompanied by a decrease in the values of morphometric parameters of the spongocytes of the zona fasciculata compared to the third group. In the first and second groups, the number of the spongocyte nuclei per area unit in this zone was significantly lower from the 3rd to 45th day by 2.87, 3.33, 2.17, 3.21, 2.40% ($p < 0.05$) and 5.57, 4.19, 3.50, 4.00, 3.91% ($p < 0.05$). In the first group, the change in the average diameter of the spongocyte nuclei had only a tendency to decrease between the 15th to 45th day (by 2.43, 0.53, 1.70%), and their index of functional activity – on the 24th and 45th day (by 3.73, 4.06%). In this group, the values of the first parameter were significantly lower than those in the third group on days 3 and 10 by 4.47 and 3.57% ($p < 0.05$), and the values of the second parameter – between the 3rd and 15th day by 7.20, 6.7, 4.54% ($p < 0.05$). In the second group, the average diameter of the spongocyte nuclei and the index of their functional activity decreased significantly during all time points, respectively, by 5.47, 5.09, 4.63, 3.52%, 3.45% ($p < 0.05$) and 10.73, 9.07, 7.96, 7.38, 7.23% ($p < 0.05$) (Table 3). These changes indicate a decrease in the reactivity of the spongocytes of the zona fasciculata in response to bone injury due to previous long-term exposure to a chemical factor – sodium benzoate. Considering the range of changes in morphometric parameters in the first and second groups, we can conclude that they are associated with the dose of sodium benzoate administered.

Таблица 2. Параметры главных паратироцитов крыс в группах в зависимости от сроков наблюдения
Table 2. Parameters of the main parathyroid cells of rats in groups depending on the time point

Номер группы Group number	3-е сутки 3rd day	10-е сутки 10th day	15-е сутки 15th day	24-е сутки 24th day	45-е сутки 45th day
<i>Количество ядер главных паратироцитов на единицу площади, шт. Number of nuclei of the main parathyroid cells per area unit, pcs.</i>					
1	31.94 ± 0.33	31.98 ± 0.39	32.11 ± 0.35	32.22 ± 0.30	31.79 ± 0.35
2	31.30 ± 0.35	31.40 ± 0.28	31.47 ± 0.33	31.58 ± 0.40	31.74 ± 0.34
3	32.59 ± 0.35*	32.48 ± 0.36*	32.67 ± 0.31*	32.42 ± 0.26*	31.81 ± 0.38*
4	30.56 ± 0.42	30.51 ± 0.35	30.60 ± 0.45	30.61 ± 0.32	30.72 ± 0.32
<i>Средний диаметр ядер главных паратироцитов, мкм Average diameter of nuclei of the main parathyroid cells, μm</i>					
1	5.32 ± 0.07	5.26 ± 0.06	5.27 ± 0.07	5.33 ± 0.11	5.35 ± 0.07
2	5.25 ± 0.05•	5.25 ± 0.06•	5.23 ± 0.09•	5.31 ± 0.07	5.30 ± 0.10
3	5.38 ± 0.05	5.31 ± 0.06	5.39 ± 0.07	5.34 ± 0.08	5.38 ± 0.07
4	5.27 ± 0.06	5.24 ± 0.04	5.29 ± 0.08	5.28 ± 0.06	5.29 ± 0.07
<i>Индекс функциональной активности главных паратироцитов, усл. ед. Index of functional activity of main parathyroid cells, arbitrary units</i>					
1	8.49 ± 0.19	8.42 ± 0.20	8.47 ± 0.20	8.59 ± 0.25	8.51 ± 0.21
2	8.22 ± 0.18•	8.25 ± 0.17	8.24 ± 0.23	8.39 ± 0.21	8.42 ± 0.24
3	8.77 ± 0.18*	8.63 ± 0.20*	8.80 ± 0.19*	8.66 ± 0.20*	8.57 ± 0.21
4	8.06 ± 0.14	8.00 ± 0.11	8.09 ± 0.15	8.08 ± 0.15	8.14 ± 0.17

* Достоверное отличие показателей третьей группы от показателей четвертой группы при $p < 0.05$.

Significant difference between the indicators of the third and fourth group at $p < 0.05$.

• Достоверное отличие показателей первой и второй групп от показателей третьей группы при $p < 0.05$.

Significant difference between the indicators of the first and second groups from the indicators of the third group at $p < 0.05$.

сти – на 3-и сутки на 6.34 % ($p < 0.05$). В этой же группе изменение количества ядер главных паратироцитов на единицу площади на 24 и 45-е сутки имело лишь характер тенденции к уменьшению (на 2.58 и 0.19 %), среднего диаметра ядер данных клеток – с 3-х по 45-е сутки (на 2.48, 1.10, 2.82, 0.62, 1.55 %) и их индекса функциональной активности – с 10-х по 45-е сутки (на 4.41, 6.36, 3.17, 1.72 %) (табл. 2).

В надпочечниках травма в большеберцовых костях после предшествующего 60-дневного введения бензоата натрия сопровождалось уменьшением значений морфометрических параметров спонгиозитов пучковой зоны по сравнению с третьей группой. В первой и второй группах количество ядер спонгиозитов на единицу площади в этой зоне было значимо меньше с 3-х по 45-е сутки на 2.87, 3.33, 2.17, 3.21, 2.40 % ($p < 0.05$) и 5.57, 4.19, 3.50, 4.00, 3.91 % ($p < 0.05$). В первой группе изменение среднего диаметра ядер спонгиозитов имело лишь характер тенденции к уменьшению с 15-х по 45-е сутки (на 2.43, 0.53, 1.70 %), а их индекса функциональной активности – на 24 и 45-е сутки (на 3.73, 4.06 %). В этой группе значения первого параметра были зна-

A study of the microstructure of the biomineral of the regenerating tibias and its phase composition in animals of the first group showed that the change in the size of unit cells along the **a** axis only tended to increase from the 3rd to 45th day (by 0.01, 0.05, 0.24, 0.10, 0.07 %), and the size of unit cells along the **c** axis – on the 3rd, 10th, 45th day (by 0.07, 0.12, 0.06%). In this group, the value of the second parameter significantly increased on days 15 and 24 by 0.23 and 0.17% ($p < 0.05$). In the first group, the proportion of calcite in the biomineral of the regenerating tibias was significantly less than in the third group on the 3rd day by 12.16% ($p < 0.05$) and more from the 15th to 45th day by 17.88, 13.00, 6.77% ($p < 0.05$). On the 10th day, the change in this parameter only tended to increase (by 1.49%). The proportion of whitlockite significantly increased on the 3rd day by 14.03% ($p < 0.05$), then decreased insignificantly on the 10th and 15th days by 3.03 and 0.08% ($p > 0.05$), and again, significantly increased on the 24th and 45th days by 4.44 and 6.01% ($p < 0.05$).

In the second group, the change in the size of unit cells along the **a** axis was significant from the 15th to the 45th day by 0.28, 0.15, 0.13% ($p < 0.05$)

Таблица 3. Параметры спонгиозитов пучковой зоны надпочечников крыс в зависимости от сроков наблюдения
Table 3. Parameters of the spongiocytes of the adrenal zona fasciculata of rats depending on the time point

Номер группы Group Number	3-и сутки 3rd day	10-е сутки 10th day	15-е сутки 15th day	24-е сутки 24th day	45-е сутки 45th day
<i>Количество ядер спонгиозитов на единицу площади, шт. Number of spongiocyte nuclei per unit area, pcs.</i>					
1	14.11 ± 0.08 [•]	13.54 ± 0.08 [•]	13.47 ± 0.08 [•]	13.35 ± 0.08 [•]	13.22 ± 0.09 [•]
2	13.72 ± 0.09 [•]	13.42 ± 0.08 [•]	13.29 ± 0.07 [•]	13.24 ± 0.08 [•]	13.02 ± 0.06 [•]
3	14.53 ± 0.09*	14.00 ± 0.09*	13.77 ± 0.08*	13.79 ± 0.08*	13.55 ± 0.09*
4	12.60 ± 0.09	12.66 ± 0.07	12.65 ± 0.09	12.83 ± 0.09	13.11 ± 0.08
<i>Средний диаметр ядер спонгиозитов, мкм Average diameter of spongiocyte nuclei, μm</i>					
1	6.34 ± 0.06 [•]	6.31 ± 0.06 [•]	6.29 ± 0.05	6.26 ± 0.05	6.18 ± 0.05
2	6.28 ± 0.05 [•]	6.21 ± 0.05 [•]	6.15 ± 0.06 [•]	6.08 ± 0.05 [•]	6.06 ± 0.05 [•]
3	6.64 ± 0.05*	6.54 ± 0.05*	6.45 ± 0.05*	6.30 ± 0.05	6.28 ± 0.05
4	6.13 ± 0.05	6.17 ± 0.06	6.11 ± 0.05	6.18 ± 0.06	6.22 ± 0.05
<i>Индекс функциональной активности спонгиозитов, усл. ед. Index of functional activity of spongiocytes, arbitrary units</i>					
1	4.48 ± 0.07 [•]	4.27 ± 0.06 [•]	4.24 ± 0.06 [•]	4.18 ± 0.06	4.08 ± 0.06
2	4.31 ± 0.06 [•]	4.17 ± 0.06 [•]	4.09 ± 0.06 [•]	4.02 ± 0.06 [•]	3.95 ± 0.05 [•]
3	4.82 ± 0.06*	4.58 ± 0.07*	4.44 ± 0.06*	4.32 ± 0.06*	4.26 ± 0.06
4	3.86 ± 0.06	3.91 ± 0.06	3.86 ± 0.06	3.97 ± 0.06	4.08 ± 0.06

* Достоверное отличие показателей третьей группы от показателей четвертой группы при $p < 0.05$.

Significant difference between the indicators of the third and fourth groups at $p < 0.05$.

• Достоверное отличие показателей первой и второй групп от показателей третьей группы при $p < 0.05$.

Significant difference between the indicators of the first and second groups from the indicators of the third group at $p < 0.05$.

чимо меньше таковых в третьей группе на 3-и и 10-е сутки на 4.47 и 3.57 % ($p < 0.05$), а второго показателя – с 3-х по 15-е сутки на 7.20, 6.7, 4.54 % ($p < 0.05$). Во второй группе средний диаметр ядер спонгиозитов и индекс их функциональной активности значимо уменьшались во все сроки наблюдения соответственно на 5.47, 5.09, 4.63, 3.52, 3.45 % ($p < 0.05$) и 10.73, 9.07, 7.96, 7.38, 7.23 % ($p < 0.05$) (табл. 3). Данные изменения указывают на уменьшение реактивности спонгиозитов пучковой зоны в ответ на травму костей из-за предшествующего длительного воздействия на них химического фактора – бензоата натрия. Учитывая амплитуду изменений морфометрических параметров в первой и второй группах, можно заключить, что они связаны с дозой вводимого бензоата натрия.

Исследование микроструктуры биоминерала регенерата большеберцовых костей и его фазового состава у животных первой группы показало, что изменение размера элементарных ячеек вдоль оси *a* имело лишь характер тенденции к увеличению с 3-х по 45-е сутки (на 0.01, 0.05, 0.24, 0.10, 0.07 %), а размера элементарных ячеек вдоль оси *c* – на 3-и, 10, 45-е сутки (на 0.07, 0.12, 0.06 %). В

and only tended to increase on the 3rd and 10th days (by 0.04 and 0.09%). The change in the size of unit cells along the *c* axis was significant from the 10th to 45th day by 0.18, 0.23, 0.21, 0.12% ($p < 0.05$) and only tended to increase on the 3rd day (by 0.11%). The proportion of calcite in the biomineral of the regenerating tibias of rats of the second group was significantly less on the 3rd day – by 13.22%, and higher on the rest days by 3.44, 19.38, 15.28, 10.86% ($p < 0.05$). In this group, the proportion of whitlockite increased significantly on days 3, 15, 24, 45 by 16.24, 2.13, 6.38, 9.26% ($p < 0.05$), and its change only tended to decrease on the 10th day (by 1.55%). Based on the results obtained, we can conclude that a 60-day exposure to sodium benzoate before simulating the tibial injury influences on the structural organization of the crystal lattice of the biomineral in the bone injury area and changes the balance of phases' ratio, which, during reparative osteogenesis, leads to a slowdown in their recovery to control values, which occurs in the group with the previous saline administration on the 24th and 45th days of the experiment.

To find the relationship between changes in the morphometric parameters of C-cells, main para-

этой группе значение второго параметра значимо увеличивалось на 15 и 24-е сутки на 0.23 и 0.17 % ($p < 0.05$). В первой группе доля кальцита в биоминерале регенерата большеберцовых костей значимо была меньше, чем значение аналогичного параметра в третьей группе, на 3-и сутки на 12.16 % ($p < 0.05$) и больше с 15-х по 45-е сутки на 17.88, 13.00, 6.77 % ($p < 0.05$). На 10-е сутки изменение данного параметра имело лишь характер тенденции к увеличению (на 1.49 %). Доля витлокита значимо увеличивалась на 3-и сутки на 14.03 % ($p < 0.05$), затем не значимо уменьшалась на 10 и 15-е сутки на 3.03 и 0.08 % ($p > 0.05$) и снова значимо увеличивалась на 24 и 45-е сутки на 4.44 и 6.01 % ($p < 0.05$).

Во второй группе изменение размера элементарных ячеек вдоль оси **a** было значимым с 15-х по 45-е сутки на 0.28, 0.15, 0.13 % ($p < 0.05$) и имело лишь характер тенденции к увеличению на 3-и и 10-е сутки (на 0.04 и 0.09 %). Изменение размера элементарных ячеек вдоль оси **c** было значимым с 10-х по 45-е сутки на 0.18, 0.23, 0.21, 0.12 % ($p < 0.05$) и имело лишь характер тенденции к увеличению на 3-и сутки (на 0.11 %). Доля кальцита в биоминерале регенерата большеберцовых костей крыс второй группы значимо была меньше на 3-и сутки на 13.22 % и больше в остальные сроки на 3.44, 19.38, 15.28, 10.86 % ($p < 0.05$). В этой группе доля витлокита значимо увеличивалась на 3-и, 15, 24, 45-е сутки на 16.24, 2.13, 6.38, 9.26 % ($p < 0.05$) и ее изменение имело лишь характер тенденции к уменьшению на 10-е сутки (на 1.55 %). Исходя из полученных результатов можно заключить, что 60-дневное воздействие бензоата натрия до момента моделирования перелома большеберцовых костей оказывает влияние на структурную организацию кристаллической решетки биоминерала области травмирования кости и изменяет соотношении фаз, что в периоде репаративного остеогенеза приводит к замедлению их восстановления до контрольных значений, что и происходит в группе с предшествующим введением физиологического раствора к 24 и 45-м суткам наблюдения.

Для установления факта наличия связей между изменениями морфометрических параметров С-клеток, главных паратироцитов, спонгиозитов пучковой зоны и параметров микроструктуры и фазового состава биоминерала регенерата большеберцовых костей в группах, в которых животные подвергались 60-дневному воздействию бензоата натрия в дозах 500 и 1000 мг/кг и механической травматизации костей,

thyroid cells, spongiocytes of the zona fasciculata and the parameters of the microstructure and phase composition of the biomineral of the regenerating tibias in groups of animals with a 60-day exposure to sodium benzoate at doses of 500 and 1000 mg/kg and mechanical trauma to bones, a correlation analysis was carried out. Among the morphometric parameters of the endocrine glands – items of correlation pairs, the choice was made on the parameters characterizing the proliferative potential of the parathyroid glands and zona fasciculata of the adrenal cortex – the number of nuclei of the main parathyroid cells and spongiocytes per area unit, and in the thyroid gland – on the ratio of the areas of euchromatin and heterochromatin in the nuclei of C-cells (an indicator reflecting an increase in the transcriptional activity of a nucleus). In contrast to the choice of cytometric parameters for the endocrine glands, all parameters characterizing both the microstructure and phase composition of the biomineral – the size of unit cells along the **a** and **c** axes, the percentage of calcite and whitlockite – became the items of the correlation pairs.

In the first and second experimental groups, a significant positive correlation was found between the number of nuclei of the main parathyroid cells and the size of the unit cells along the **a** axis of the biomineral of the regenerating tibias on the 3rd, 10th, 15th, 24th, 45th days (Spearman's correlation coefficient ρ amounted to 0.943, 0.886, 0.543, 0.557, 0.643 and 0.943, 0.886, 0.814, 0.486, 0.900, respectively); the size of unit cells along the **c** axis ($\rho = 0.843, 0.943, 0.829, 0.886, 0.543$ and 0.600, 0.771, 0.714, 0.486, 0.886, respectively) (Fig. 1); the percentage of calcite ($\rho = 0.943, 0.929, 0.814, 0.557, 0.714$ and 0.986, 0.543, 0.886, 0.543, 0.586, respectively) and the percentage of whitlockite ($\rho = 0.886, 0.557, 0.600, 0.829, 0.800$ and 0.471, 0.943, 0.771, 0.886, 0.257, respectively).

A relationship similar in direction was revealed in the first and second groups between such a morphometric parameter of the adrenal glands as the number of spongiocyte nuclei per area unit in the zona fasciculata, and the microstructure parameters of the biomineral of the regenerating tibias. Thus, on days 3, 10, 15, 24, 45, a positive correlation was revealed between the first abovementioned parameter and the size of unit cells along the **a** axis ($\rho = 0.829, 0.943, 0.771, 0.643, 0.757$ and 0.886, 0.829, 0.471, 0.600, 0.843, respectively) (Fig. 2); the size of unit cells along the **c** axis ($\rho = 0.929, 0.943, 0.886, 0.829, 0.714$ and 0.543, 0.600, 0.314, 0.771, 0.943, respectively); the percentage of calcite ($\rho = 0.943, 0.986,$

был проведен корреляционный анализ. Среди морфометрических параметров эндокринных желез – участников корреляционных пар выбор остановился на параметрах, характеризующих пролиферативный потенциал околощитовидных желез и пучковой зоны коркового вещества надпочечников – количество ядер главных паратироцитов и спонгиоцитов на единицу площади, а в щитовидной железе – соотношение площадей эухроматина и гетерохроматина в ядрах С-клеток (показатель, отражающий увеличение транскрипционной активности ядра). В отличие от выбора цитоморфометрических параметров для желез внутренней секреции, участниками корреляционных пар стали все изучаемые параметры, характеризующие как микроструктуру, так и фазовый состав биоминерала регенерата – размер элементарных ячеек вдоль оси *a* и *c*, процентное содержание кальцита и витлокита.

В первой и второй экспериментальных группах установлена достоверная положительная связь между количеством ядер главных паратироцитов и размером элементарных ячеек вдоль оси *a* биоминерала регенерата большеберцовых костей на 3-и, 10, 15, 24, 45-е сутки наблюдения (значение коэффициента корреляции Спирмена (ρ) составило 0.943, 0.886, 0.543, 0.557, 0.643 и 0.943, 0.886, 0.814, 0.486, 0.900 соответственно); размером элементарных ячеек вдоль оси *c* (ρ = 0.843, 0.943, 0.829, 0.886, 0.543 и 0.600, 0.771, 0.714, 0.486, 0.886 соответственно) (рис. 1);

0.557, 0.643, 0.771 and 0.900, 0.629, 0.971, 0.600, 0.643) and the percentage of whitlockite (ρ = 0.829, 0.671, 0.657, 0.943, 0.629 and 0.757, 0.886, 0.486, 0.971, 0.714, respectively).

In the first and second experimental groups, a positive correlation was found on the 3rd day of the experiment between the cytomorphometric parameter of C-cell nuclei – the ratio of the areas of euchromatin and heterochromatin and the size of unit cells along the *a* axis (ρ = 0.771 and 0.486), the size of unit cells along the *c* axis (ρ = 0.700 and 0.314), percentage of whitlockite (ρ = 0.771 and 0.243). By the 24th day, the direction of the relationship between the abovementioned parameters changed from positive to negative and the values of the Spearman's correlation coefficient were -0.957 and -0.886 ; -0.886 and -0.829 ; -0.943 and -0.914 , respectively. In both groups, the relationship between such indicators as the ratio of the areas of euchromatin and heterochromatin in the nuclei of C-cells and the percentage of calcite was negative both on the 3rd (ρ = -0.771 and -0.557) and on the 24th day (ρ = -0.900 and -0.943).

DISCUSSION

According to the literature, the systemic sodium benzoate ingestion causes an imbalance in the functioning of the oxidant-antioxidant system of cells. This is due to the ability of sodium benzoate to induce oxidative stress [15], lipid peroxidation of cell membranes, and also to reduce the activity of antioxidant enzymes (in particular glutathione peroxidase) [16].

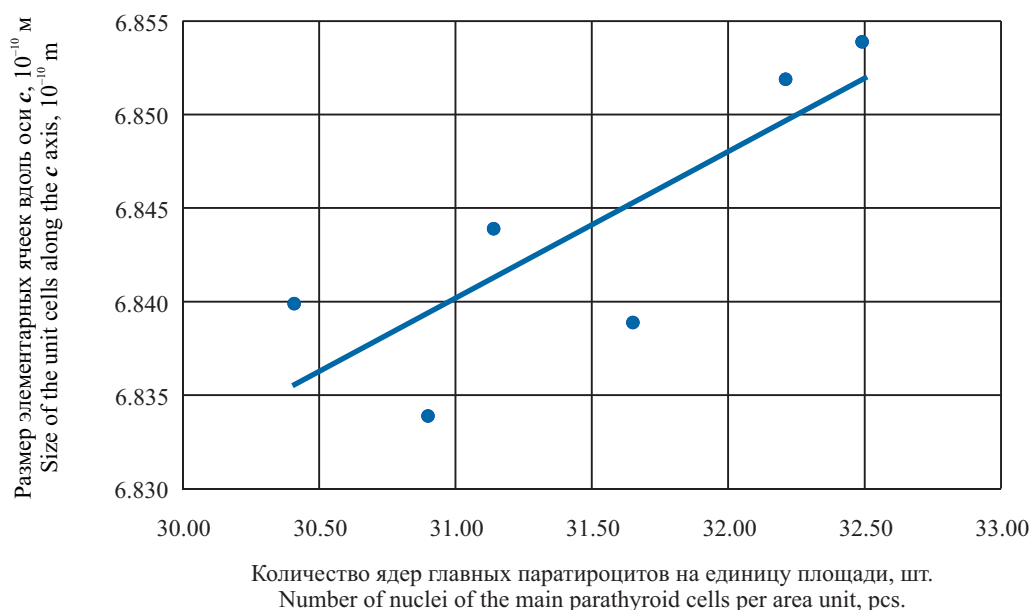


Рис. 1. Диаграмма рассеивания (вторая группа, 15-е сутки наблюдения)
Fig. 1. The scatter diagram (second group, 15th day of the experiment)

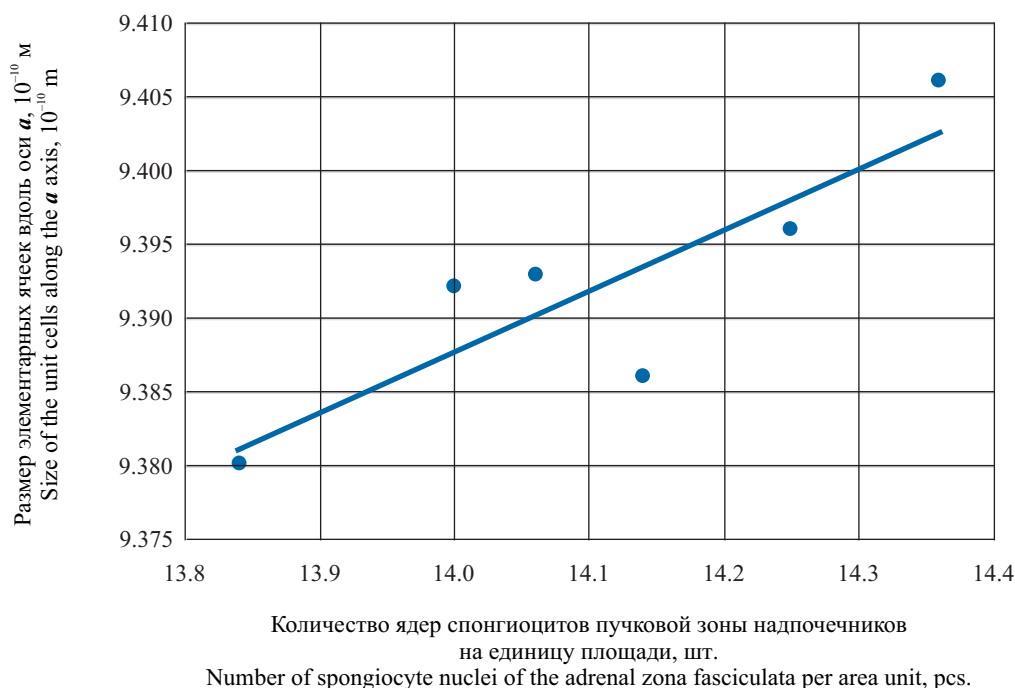


Рис. 2. Диаграмма рассеивания (первая группа, 3-и сутки наблюдения)
Fig. 2. The scatter diagram (first group, 3rd day of the experiment)

процентным содержанием кальция ($r = 0.943, 0.929, 0.814, 0.557, 0.714$ и $0.986, 0.543, 0.886, 0.543, 0.586$) и процентным содержанием витло-кита ($r = 0.886, 0.557, 0.600, 0.829, 0.800$ и $0.471, 0.943, 0.771, 0.886, 0.257$).

Аналогичная по направленности связь уста-новлена в первой и второй группах между таким морфометрическим параметром надпочечников, как количество ядер спонгиозитов на единицу площади в пучковой зоне, и параметрами микро-структуры биоминерала регенерата большебер-цовых костей. Так, на 3-и, 10, 15, 24, 45-е сутки выявлена положительная связь между первым вышеуказанным параметром и размером эле-ментарных ячеек вдоль оси **a** ($r = 0.829, 0.943, 0.771, 0.643, 0.757$ и $0.886, 0.829, 0.471, 0.600, 0.843$ соответственно) (рис. 2); размером элемен-тарных ячеек вдоль оси **c** ($r = 0.929, 0.943, 0.886, 0.829, 0.714$ и $0.543, 0.600, 0.314, 0.771, 0.943$); процентным содержанием кальция ($r = 0.943, 0.986, 0.557, 0.643, 0.771$ и $0.900, 0.629, 0.971, 0.600, 0.643$) и процентным содержанием витло-кита ($r = 0.829, 0.671, 0.657, 0.943, 0.629$ и $0.757, 0.886, 0.486, 0.971, 0.714$).

В первой и второй экспериментальных груп-пах положительная связь установлена на 3-и сутки наблюдения между цитоморфометриче-ским параметром ядер С-клеток – соотношением площадей эухроматина и гетерохроматина и раз-

The ability of this food additive has also been estab-lished to induce cell apoptosis, inflammation pro-cesses (activation of the $TNF-\alpha$, $IFN-\gamma$, $IL-1\beta$, $IL-6$ production) [17], damage of DNA of cell nuclei [18] and disrupt the process of mitosis [19]. This can explain the fact that in the first and second experi-mental groups, the thyroid C-cells, the main para-thyroid cells and the spongiocytes of the adrenal zona fasciculata are in a depressed morphofunc-tional state at the time of the mechanical tibial injury simulation, and are not able to provide appropriate hormonal regulation of compensatory-adaptive pro-cesses, as occurs in the group without exposure to sodium benzoate. This is evidenced by a decrease in the area of active euchromatin in the nuclei of C-cells, the diameter of secretory granules and the average area of mitochondria, a decrease in the number of nuclei of the main parathyroid cells and spongio-cytes of the zona fasciculata per area unit, their aver-age nuclear diameter and the index of functional activity. In our previous work [20], we described morphological changes in the epithelium of the fol-licles and functional indicators of the thyroid gland, indicating a decrease in the functional state of thyro-cytes. As is known, thyrocytes and C-cells of this organ are functionally interrelated due to their para-crine influence on each other, and changes in the morphofunctional state of the former lead to unidi-rectional changes in the latter [21]. A functional

мером элементарных ячеек вдоль оси **a** ($\rho = 0.771$ и 0.486), размером элементарных ячеек вдоль оси **c** ($\rho = 0.700$ и 0.314), процентным содержанием витлокита ($\rho = 0.771$ и 0.243). К 24-м суткам направленность связи между указанными выше параметрами изменялась с положительной на отрицательную, и значения коэффициента корреляции Спирмена составили соответственно -0.957 и -0.886 ; -0.886 и -0.829 ; -0.943 и -0.914 . В обеих группах связь между такими показателями, как соотношение площадей эухроматина и гетерохроматина в ядрах С-клеток и процентное содержание кальцита, была отрицательной как на 3-и ($\rho = -0.771$ и -0.557), так и на 24-е сутки наблюдения ($\rho = -0.900$ и -0.943).

ОБСУЖДЕНИЕ

По данным литературы систематическое поступление бензоата натрия в организм вызывает нарушение баланса функционирования оксидантно-антиоксидантной системы клеток. Это связано со способностью бензоата натрия инициировать окислительный стресс [15], перекисное окисление липидов клеточных мембран, а также снижать активность ферментов антиоксидантной защиты (в частности глутатионпероксидазы) [16]. Также установлена способность данной пищевой добавки индуцировать апоптоз клеток, процессы воспаления (активация продукции TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-6) [17], повреждать ДНК ядер клеток [18] и нарушать процесс митоза [19]. Этим можно объяснить то, что в первой и второй экспериментальных группах С-клетки щитовидной железы, главные паратироциты околощитовидных желез и спонгиозиты пучковой зоны надпочечников к моменту моделирования механической травмы большеберцовых костей подходят в угнетенном морфофункциональном состоянии и не способны обеспечить адекватную гормональную регуляцию компенсаторно-приспособительных процессов, как это происходит в группе без предшествующего введения бензоата натрия. Об этом свидетельствует уменьшение площади активного эухроматина в ядрах С-клеток, диаметра секреторных гранул и средней площади митохондрий, снижение количества ядер главных паратироцитов и спонгиозитов пучковой зоны на единицу площади, их среднего диаметра ядер и индекса функциональной активности. В предыдущей собственной работе [20] мы описали морфологические изменения эпителия фолликулов и функциональных показателей щитовидной железы, свидетельствующие о снижении функционального состоя-

interrelation in the hormonal regulation of calcium and phosphorus metabolism in bone tissue has been revealed in the thyroid C-cells and the main parathyroid cells [22].

A decrease in the degree of stability of the unit cells of the crystal lattice of the biomineral of the regenerating tibias and an increase in the degree of its amorphism in the first and second experimental groups, revealed by X-ray diffraction analysis, is apparently due to the genotoxic effect of the food preservative on the DNA structure of the nuclei of osteoblasts and osteocytes and the induction of oxidative stress in them because of increased production of reactive oxygen species. Alteration in the genetic material arrangement in the abovementioned cells, damage by reactive oxygen species to phospholipids of the plasmalemma and organelles is accompanied expectedly by alteration of the processes of growth of unit cells, their arrangement into crystals and mineralization.

The correlation analysis showed that between changes in the morphometric parameters of C-cells, main parathyroid cells, spongocytes of the zona fasciculata and changes in the microstructure and phase composition of the biomineral of the regenerating tibias in the first and second groups, there is a relationship of varying strength and direction. This indicates the continuity of the processes of hormonal support for the formation of bone regeneration after long-term exposure to the chemical factor – sodium benzoate.

CONCLUSION

The study allows us to draw the following conclusions:

1. A sixty-day administration of sodium benzoate before simulating mechanical injury in the tibias causes inhibition of the morphofunctional state of C-cells, main parathyroid cells and spongocytes of zona fasciculata, the degree of which depends on the dose of the additive. As a result, compensatory and adaptive processes associated with the restoration of bone integrity amid the altered state of the abovementioned cells occur less intensely than in the group without the administration of sodium benzoate.

2. Under similar experimental conditions, destabilization of the crystal lattice of the forming tibial regenerate and an increase in the percentage of amorphous components – calcite and whitlockite are observed. The same changes take place in the group with an isolated simulation of the tibial injury, however, in this case, by the late stages of reparative osteogenesis – 24th, 45th days they reverse, which is

ния тироцитов. Как известно, тироциты и С-клетки данного органа функционально взаимосвязаны из-за паракринного влияния друг на друга, и изменение морфофункционального состояния первых приводит к однонаправленным изменениям вторых [21]. Функциональная взаимосвязь в гормональной регуляции метаболизма кальция и фосфора в костной ткани установлена у С-клеток щитовидной железы и главных паратироцитов околощитовидных желез [22].

Выявленное методом рентгеноструктурного анализа уменьшение степени стабильности элементарных ячеек кристаллической решетки биоминерала регенерата большеберцовых костей и повышение степени его аморфности в первой и второй экспериментальных группах, по-видимому, обусловлено генотоксическим действием пищевого консерванта на структуру ДНК ядер остеобластов и остеоцитов и индуцированием развития в них окислительного стресса из-за усиления продукции активных форм кислорода. Нарушение организации генетического материала в вышеуказанных клетках, повреждение активными формами кислорода фосфолипидов плазмолеммы и органелл закономерно сопровождается нарушением процессов роста элементарных ячеек, их организации в кристаллы и минерализации.

Проведенный корреляционный анализ показал, что между изменениями морфометрических параметров С-клеток, главных паратироцитов, спонгиозитов пучковой зоны и изменениями показателей микроструктуры и фазового состава биоминерала регенерата большеберцовых костей в первой и второй группах существует разной силы и направленности взаимосвязь. Это указывает на неразрывность процессов гормонального обеспечения процессов формирования регенерата костей в периоде после длительного воздействия химического фактора – бензоата натрия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволяет сделать следующие выводы:

1. Шестидесятисуточное введение бензоата натрия до моделирования механической травмы в большеберцовых костях вызывает угнетение морфофункционального состояния С-клеток, главных паратироцитов и спонгиозитов пучковой зоны, степень которого зависит от дозы вводимой пищевой добавки. Как следствие, компенсаторно-приспособительные про-

cesses, связанные с восстановлением целостности костей в условиях измененного состояния вышеуказанных клеток, протекают менее интенсивно, чем в группе без введения бензоата натрия.

3. Между цитоморфометрическими параметрами С-клеток, главных паратироцитов, спонгиозитов пучковой зоны и параметрами микроструктуры и фазового состава биоминерала регенерата большеберцовых костей выявлена различная по силе и направленности взаимосвязь. Наибольшие значения коэффициента корреляции Спирмена зарегистрированы на 3-и, 10-е сутки наблюдения – в период воспаления и дифференцировки клеток, формирования тканеспецифических структур репаративного остеогенеза. Степень связи между параметрами эндокринных желез и биоминерала регенерата была выше в группе с введением бензоата натрия в дозе 500 мг/кг массы тела.

цессы, связанные с восстановлением целостности костей в условиях измененного состояния вышеуказанных клеток, протекают менее интенсивно, чем в группе без введения бензоата натрия.

2. В аналогичных условиях эксперимента наблюдается дестабилизация кристаллической решетки формирующегося регенерата большеберцовых костей и увеличение в нем процентного содержания аморфных составляющих – кальцита и витлокита. Такие же изменения имеют место в группе с изолированным моделированием травмы большеберцовых костей, однако в этом случае к поздним срокам репаративного остеогенеза – 24, 45-м суткам происходит их обратное развитие, что не наблюдается в группах с введением бензоата натрия.

3. Между цитоморфометрическими параметрами С-клеток, главных паратироцитов, спонгиозитов пучковой зоны и параметрами микроструктуры и фазового состава биоминерала формирующегося регенерата большеберцовых костей выявлена различная по силе и направленности взаимосвязь. Наибольшие значения коэффициента корреляции Спирмена зарегистрированы на 3-и, 10-е сутки наблюдения – в период воспаления и дифференцировки клеток, формирования тканеспецифических структур репаративного остеогенеза. Степень связи между параметрами эндокринных желез и биоминерала регенерата была выше в группе с введением бензоата натрия в дозе 500 мг/кг массы тела.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Миронов С.П., Еськин Н.А., Андреева Т.М. и др. Динамика травматизма среди взрослого населения Российской Федерации // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. 2019;3:5-13. DOI: 10.17116/vto20190315.
2. Gibson S.C., Hartman D.A., Schenck J.M. The endocrine response to critical illness: update and implications for emergency medicine // Emerg. Med. Clin. N. Am. 2005;23(3):909-929. DOI: 10.1016/j.emc.2005.03.015.
3. Wu L., Zhang C., Long Y. et al. Food additives: From functions to analytical methods // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2022;62(30):8497-8517. DOI: 10.1080/10408398.2021.1929823.
4. Kaur A., Gill P.P.S., Jawandha S.K. Effect of sodium benzoate application on quality and enzymatic changes of pear fruits during low temperature // J. Food Sci. Technol. 2019;56(7):3391-3398. DOI: 10.1007/s13197-019-03823-5.
5. Pongsavee M. Effect of sodium benzoate preservative on micronucleus induction, chromosome break, and Ala40Thr superoxide dismutase gene mutation in lymphocytes // Biomed. Res. Int. 2015;2015:103512. DOI: 10.1155/2015/103512.
6. Khodaei F., Kholghipour H., Hosseinzadeh M., Rashe-dinia M. Effect of sodium benzoate on liver and kidney lipid peroxidation and antioxidant enzymes in mice // J. Rep. Pharm. Sci. 2019;8(2):217-223. DOI: 10.4103/jrptps.JRPTPS_68_18.
7. Шурыгина Е.И., Полякова В.С., Миханов В.А. Морфофункциональные изменения в щитовидной и паращитовидных железах в ходе репаративного остеогенеза // Журнал анатомии и гистопатологии. 2018;7(2):90-94. DOI: 10.18499/2225-7357-2018-7-2-90-94.
8. Лузин В.И., Прочан В.Н., Глущенко Р.Н. Ультра-структура костного минерала, формирующегося при нанесении сквозного дырчатого дефекта больше-берцовой кости у белых крыс различного возраста // Галицкий лікарський вісник. 2010;2(2):70-73.
9. Лузин В.И., Ивченко Д.В., Панкратьев А.А. Мето-дика моделирования костного дефекта у лабора-торных животных // Український медичний альма-нах. 2005;8(2):162.
10. Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С. Дозирова-ние веществ для млекопитающих по константам биологической активности // Доклады АН СССР. 1979;6:1513-1516.
11. Directive 2010/63/ EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protec-tion of animals used for scientific purposes // Official Journal of the European Union. 2010;53(L276):33-79. URL: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32010L0063> (дата обращения: 04.01.2024).
12. Морфологическая диагностика. Подготовка мате-риала для гистологического исследования и элек-тронной микроскопии: руководство / Д.Э. Коржев-ский, Е.Г. Гилерович, О.В. Кирик и др.; под ред. Д.Э. Коржевского. СПб.: СпецЛит, 2013. 127 с.
13. Волков В.П. Функциональная морфология паращи-товидных желёз человека в возрастном аспекте //

REFERENCES

1. Mironov S.P., Es'kin N.A., Andreeva T.M. et al. Dynam-ics of traumatism in adult population of the Rus-sian Federation. *N.N. Priorov Journal of Traumatology and Orthopedics*. 2019;3:5-13. DOI: 10.17116/vto20190315. (In Russ.)
2. Gibson S.C., Hartman D.A., Schenck J.M. The endo-crine response to critical illness: update and impli-cations for emergency medicine. *Emerg. Med. Clin. N. Am.* 2005;23(3):909-929. DOI:10.1016/j.emc.2005.03.015.
3. Wu L., Zhang C., Long Y. et al. Food additives: From functions to analytical methods // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2022;62(30):8497-8517. DOI: 10.1080/10408398.2021.1929823.
4. Kaur A., Gill P.P.S., Jawandha S.K. Effect of sodium benzoate application on quality and enzymatic changes of pear fruits during low temperature. *J. Food Sci. Technol.* 2019;56(7):3391-3398. DOI: 10.1007/s13197-019-03823-5.
5. Pongsavee M. Effect of sodium benzoate preservative on micronucleus induction, chromosome break, and Ala40Thr superoxide dismutase gene mutation in lym-phocytes. *Biomed. Res. Int.* 2015;2015:103512. DOI: 10.1155/2015/103512.
6. Khodaei F., Kholghipour H., Hosseinzadeh M., Rashe-dinia M. Effect of sodium benzoate on liver and kidney lipid peroxidation and antioxidant enzymes in mice. *J. Rep. Pharm. Sci.* 2019;8(2):217-223. DOI: 10.4103/jrptps.JRPTPS_68_18.
7. Shurygina E.I., Polyakova V.S., Mikhonov V.A. Mor-phological changes in thyroid and parathyroid glands during the reparative osteogenesis. *Journal of Anat-omy and Histopathology*. 2018;7(2):90-94. DOI: 10.18499/2225-7357-2018-7-2-90-94. (In Russ.)
8. Luzin V.I., Prochan V.N., Glushchenko R.N. Ultrastruc-ture of bone mineral formed during the simulation of a perforated defect of the tibia in albino rats of different ages. *Galician Medical Journal*. 2010;2(2):70-73.
9. Luzin V.I., Ivchenko D.V., Pankratev A.A. Method for modeling a bone defect in laboratory animals. *Ukra-nian Medical Journal*. 2005;8(2):162.
10. Rybolovlev Yu.R., Rybolovlev R.S. Dosing of sub-stances for mammals according to biological activity constants. *Reports of the USSR Academy of Sciences*. 1979;6:1513-1516. (In Russ.)
11. 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 Jour-nal of the European Union. 2010;53(L276):33-79. URL: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32010L0063> (accessed 04.01.2024).
12. Korzhevskiy D.E., Gilerovich E.G., Kirik O.V. et al. (2013). *Morphological Diagnosis. Preparation of Material for Histological Examination and Electron Microscopy: Manual*. Saint Petersburg.: SpecLit. 127 p. (In Russ.)
13. Volkov V.P. The functional morphology of the human parathyroid glands in age aspect. *Modern Medicine: Current Issues*. 2014;32:6-16. (In Russ.)
14. Mirkin L.I. (1981). *X-ray Diffraction Analysis. Index-ing Radiographs: A Reference Guide*. Moscow: Nauka. 496 p. (In Russ.)

- Современная медицина: актуальные вопросы. 2014;32:6-16.
14. Миркин Л.И. Рентгеноструктурный анализ. Индексирование рентгенограмм: справочное руководство. М.: Наука, 1981. 496 с.
 15. Yassien E.E., Mohamed A.M.S., Mahmoud M.E., Zaki A.M. Sodium benzoate induced toxicities in albino male rats: mitigating effects of Ficus carica and Cymbopogon citratus leave extract // *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2022;29(60):90567-90579. DOI: 10.1007/s11356-022-22020-0.
 16. Khoshnoud M.J., Siavashpour A., Bakhshizadeh M., Rashedinia M. Effects of sodium benzoate, a commonly used food preservative, on learning, memory, and oxidative stress in brain of mice // *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2018;32(2). DOI: 10.1002/jbt.22022.
 17. Khan I.S., Dar K.B., Ganie S.A., Ali M.N. Toxicological impact of sodium benzoate on inflammatory cytokines, oxidative stress and biochemical markers in male Wistar rats // *Drug Chem. Toxicol.* 2022;45(3):1345-1354. DOI: 10.1080/01480545.2020.1825472.
 18. Mohiuddin M., Rokeya B., Al-Shoeb M.A., Kabir Y. Sodium benzoate in locally available soft drinks and its effect on DNA damage and liver function in rats // *Dhaka Univ. J. Biol. Sci.* 2022;30(3CSI):371-383. DOI: 10.3329/dujbs.v30i3.59030.
 19. 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.
 20. Морозов В.Н., Лузин В.И. Морфологические изменения фолликулов щитовидной железы крыс после 60-ти суточного воздействия бензоата натрия и моделирования перелома большеберцовых костей // *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины.* 2023;13(3):35-43. DOI: 10.29039/2224-6444-2023-13-3-35-43.
 21. Zabel M., Dietel M., Gebarowska E., Michael R. Effect of follicular cells on calcitonin gene expression in thyroid parafollicular cells in cell culture // *Histochem. J.* 1999;31(3):175-180. DOI: 10.1023/a:1003597416140.
 22. Pereira S.S., Lobato C.B., Monteiro M.P. Cell signaling within endocrine glands: thyroid, parathyroids and adrenal glands // *Tissue-Specific Cell Signaling*; eds. by J. Silva, M. Freitas, M. Fardilha. Springer Cham, 2020. P. 63–91.
 15. Yassien E.E., Mohamed A.M.S., Mahmoud M.E., Zaki A.M. Sodium benzoate induced toxicities in albino male rats: mitigating effects of Ficus carica and Cymbopogon citratus leave extract. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2022;29(60):90567-90579. DOI: 10.1007/s11356-022-22020-0.
 16. Khoshnoud M.J., Siavashpour A., Bakhshizadeh M., Rashedinia M. Effects of sodium benzoate, a commonly used food preservative, on learning, memory, and oxidative stress in brain of mice. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2018;32(2). DOI: 10.1002/jbt.22022.
 17. Khan I.S., Dar K.B., Ganie S.A., Ali M.N. Toxicological impact of sodium benzoate on inflammatory cytokines, oxidative stress and biochemical markers in male Wistar rats. *Drug Chem. Toxicol.* 2022;45(3):1345-1354. DOI: 10.1080/01480545.2020.1825472.
 18. Mohiuddin M., Rokeya B., Al-Shoeb M.A., Kabir Y. Sodium benzoate in locally available soft drinks and its effect on DNA damage and liver function in rats. *Dhaka Univ. J. Biol. Sci.* 2022;30(3CSI):371-383. DOI: 10.3329/dujbs.v30i3.59030.
 19. 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.
 20. Morozov V.N., Luzin V.I. Morphological changes in rat thyroid follicles in rats after a 60-day of exposure to sodium benzoate and modeling of tibiae fracture. *Crimean Journal of Experimental and Clinical Medicine.* 2023;13(3):35-43. DOI: 10.29039/2224-6444-2023-13-3-35-43. (In Russ.)
 21. Zabel M., Dietel M., Gebarowska E., Michael R. Effect of follicular cells on calcitonin gene expression in thyroid parafollicular cells in cell culture. *Histochem. J.* 1999;31(3):175-180. DOI: 10.1023/a:1003597416140.
 22. Pereira S.S., Lobato C.B., Monteiro M.P. (2020). Cell signaling within endocrine glands: thyroid, parathyroids and adrenal glands. In J. Silva, M. Freitas, M. Fardilha (eds.). *Tissue-Specific Cell Signaling*. Springer Cham. P. 63–91.

ABOUT THE AUTHOR

Vitaliy N. Morozov – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Human Anatomy and Histology, Belgorod National Research University, Belgorod, Russia. ORCID: 0000-0002-1169-4285.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ

Морозов Виталий Николаевич – канд. мед. наук, доцент кафедры анатомии и гистологии человека ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Министерства науки и высшего образования России, Белгород, Россия. ORCID: 0000-0002-1169-4285.