УДК 611.71.08:616-056.25-02:665.127.22
DOI: 10.34215/1609-1175-2020-1-36-40

Возрастные особенности ультраструктуры биоминерала тазовой кости у белых крыс при избыточном содержании в рационе пальмового масла и введении экстракта гарцинии камбоджийской

А.В. Лящук, В.И. Лузин

Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки, Луганск, ЛНР

Цель: анализ ультраструктуры биоминералов тазовых костей (ТК) у белых крыс при алиментарном ожирении, вызванном избыточным употреблением рафинированного пальмового масла (ПМ), а также разработка способа коррекции выявленных изменений с использованием экстракта гарцинии камбоджийской (ЭГК). **Материал и методы.** В эксперименте участвовало 216 крыс-самцов (ювенильных, половозрелых и сенильных). ПМ животные получали в дозе 30 г/кг в сутки, ЭГК через 6 недель от начала приема ПМ – 0,25 г/кг в сутки. Ультраструктуру биоминерала ТК изучали методом рентгеноструктурного анализа. **Результаты.** При приеме ПМ у ювенильных крыс к 60-м суткам размеры кристаллитов были больше контроля на 4,35 %, а коэффициент микротекстурирования – меньше на 4,72 %. Для половозрелых крыс эти отклонения составили 6,14 и 5,05 %, а для сенильных – 5,68 и 7,43 %, соответственно. При введении ЭГК у ювенильных крыс к 60-м суткам размеры кристаллитов были меньше значений группы без коррекции на 3,82 %, а коэффициент микротекстурирования – больше на 4,67 %. У половозрелых крыс эти отклонения составили 5,52 и 8,03 %, а у сенильных 4,34 и 5,56 %, соответственно. **Заключение.** Употребление ПМ в дозе 30 г/кг в сутки у белых крыс сопровождается дестабилизацией биоминерала ТК. Введение ЭГК в дозе 0,25 г/кг в сутки сглаживает влияние ПМ на ультраструктуру биоминерала ТК с 30-х по 60-е сутки у ювенильных и половозрелых и с 60-х суток – у сенильных крыс.

Ключевые слова: *ожирение, костный биоминерал, рентгеноструктурный анализ, Garcinia gummi-gutta*

Поступила в редакцию 28.05.2019 г. Принята к печати 16.01.2020 г.

Для цитирования: Лящук А.В., Лузин В.И. Возрастные особенности ультраструктуры биоминерала тазовой кости у белых крыс при избыточном содержании в рационе пальмового масла и введении экстракта гарцинии камбоджийской. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2020;1:36–40. doi: 10.34215/1609-1175-2020-1-36-40

Для корреспонденции: Лузин Владислав Игоревич – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой анатомии человека, оперативной хирургии и топографической анатомии ЛГМУ (91045, ЛНР, г. Луганск, кв. 50 лет Обороны Луганска, 1г), ORCID: 0000-0001-8983-2257; e-mail: vladyslav_luzin@mail.ru

Age features of ultrastructure of biomineral of hip bone in white rats after excessive palm oil intake and administration of Garcinia cambogia extract

A.V. Lyashchuk, V.I. Luzin

Saint Luka Lugansk State Medical University, Lugansk, LPR

Objective: Analysis of ultrastructure of a biomineral of hip bones (HB) in white rats in alimentary obesity caused by excessive refined palm oil (PO) intake as well as developing a method for correction of detected changes using Garcinia cambogia extract (GCE). **Methods:** 216 male rats (juvenile, pubertal, and senile) were used. Animals received PO at a dose of 30 g/kg a day and GCE at a dose of 0.25 g/kg a day 6 weeks later after the start of PO intake. The ultrastructure of PO biomineral was analyzed by X-ray scattering technique. **Results:** When juvenile rats took PO, the sizes of crystallites were 4.35 % larger than control figures by the 60th day, and coefficient of micro-texturing was 4.72 % lower. In pubertal rats, these deviations were 6.14 and 5.05 %; in senile rats, they were 5.68 and 7.43 %, respectively. When administrating GCE, in juvenile rats, the sizes of crystallites were 3.82 % lower than values of group without correction by the 60th day, and coefficient of micro-texturing was 4.67 % higher. In pubertal rats, these deviations accounted for 5.52 and 8.03 %; and in senile rats, they were 4.34 and 5.56 %, respectively. **Conclusion:** Consumption of PO at a dose of 30 g/kg a day is accompanied by destabilization of HP biomineral in white rats. Administration of GCE at a dose of 0.25 g/kg a day reduces the effect of PO on the ultrastructure of HB biomineral from 30 to 60 days in juvenile and pubertal rats, in senile rats – from the 60th day.

Keywords: *obesity, bone biomineral, X-ray scattering technique, Garcinia gummi-gutta*

Received: 25 May 2019; Accepted: 16 January 2020

For citation: Lyashchuk AV, Luzin VI. Age features of ultrastrucuture of biomineral of hipbone in rats after excessive palm oil intake and administration of Garcinia cambogia extract. *Pacific Medical Journal.* 2020;1:36–40. doi: 10.34215/1609-1175-2020-1-36-40

Corresponding author: Vladyslav I. Luzin, MD, PhD, professor, head of the Department of Human Anatomy, Operative Surgery and Topographic Anatomy, Saint Luka Lugansk State Medical University (1g, 50-letiya Oborony Luganska St., Lugansk, 91045, LPR); ORCID: 0000-0001-8983-2257; e-mail: vladyslav_luzin@mail.ru

© Лящук А.В., Лузин В.И., 2020

Заболеваемость остеопорозом и риск переломов костей у людей с ожирением более высоки, чем у людей с нормальным весом [1]. Диета с избыточным содержанием жиров, приводящая к увеличению общей массы тела, сопровождается снижением минеральной плотности костей [2]. Показано, что фактор некроза опухоли-α, интерлейкин-6, гормон роста, лептины, активность которых при ожирении изменяется, угнетают функциональную активность остеобластов и остеоцитов, а также усиливают функциональную активность остеокластов [3]. Эти эффекты снижают интенсивность костеобразования и повышают остеорезорбцию и таким образом увеличивают риск развития остеопороза.

Следует учитывать, что основным источником жиров в пищевой промышленности в последнее время стали растительные масла и в первую очередь рафинированное пальмовое масло, основной компонент которого – пальмитиновая кислота. Установлено, что обогащенная этой насыщенной жирной кислотой диета индуцирует более высокую продукцию маркеров воспаления по сравнению с другими адипогенными агентами [4]. Диета, богатая пальмитиновой кислотой, приводит к ускоренному приросту веса и накоплению липидов в печени у мышей линии C57BL/6J, чем другие адипогенные диеты [2]. Чрезмерное содержание пальмитиновой кислоты в рационе вызывает изменения и в компонентах микробиоты кишечника, что в дальнейшем определяет накопление липидов в тканях [5]. Доказано, что пальмитиновая кислота усиливает опосредованную лигандом рецептора-активатора ядерного транскрипционного фактора κB (receptor activator of NF-κB, RANK) дифференцировку остеокластов путем активации фактора некроза опухоли-α и RANK [6], что в итоге может приводить к усилению остеокластической резорбции.

Имеются отдельные сведения о том, что диета с избыточным содержанием рафинированного пальмового масла сопровождается угнетением морфофункциональной активности мыщелковых хрящей нижней челюсти и дентинсекретирующих структур нижнего резца, а также снижением прочности нижней челюсти у крыс [7, 8]. Однако, целостного представления о морфогенезе различных костей скелета у биологических объектов различного возраста при алиментарном ожирении, вызванном избыточным употреблением пальмового масла, до сих пор не представлено. Также не разработаны и пути профилактики и коррекции изменений в костной системе, возникающих в данной ситуации. В этом отношении перспективным считается использование гарцинии камбоджийской, в кожуре плодов которой содержится гидроксилимонная кислота в количестве 60–65 % [9]. Эта кислота уменьшает образование жирных кислот и холестерина, усиливает окисление жира и регулирует аппетит [10], что потенциально может уменьшить вероятность неблагоприятных изменений со стороны костной системы. Поэтому целью настоящего исследования стал анализ ультраструктуры биоминералов тазовых костей у белых крыс при алиментарном ожирении, вызванном избыточным употреблением рафинированного пальмового масла, а также разработка способа коррекции выявленных изменений с использованием экстракта гарцинии камбоджийской.

Материал и методы

Эксперимент был проведен на 216 белых лабораторных крысах-самцах трех возрастных групп (по 72 животных в каждой): ювенильных – исходная масса 50–55 г, возраст 40–45 дней, половозрелых – масса 180–190 г, возраст 12–13 месяцев и старческого возраста – масса 300–320 г, возраст 25–26 месяцев). Животные содержались в виварии Луганского государственного медицинского университета им. Святителя Луки.

Дизайн исследования планировался в соответствии с требованиями «Правил лабораторной практики в Российской Федерации» (приказ МЗ РФ № 708-н от 23.08.2010 г.) и директивы Европейского союза по защите животных, используемых в научных целях (2010/63/EU). При содержании крыс и выведении их из эксперимента руководствовались законом «О защите животных от жестокого обращения» (гл. V, ст. 104679-ГД от 01.12.1999 г.) и Хельсинкской декларацией 1975 г. (пересмотр 2000 г.). Протокол исследования утвержден на заседании комиссии по вопросам биоэтики ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки» (протокол № 1 от 25.03.2019 г.).

Расчет дозы используемых препаратов проводили на основе рекомендаций Рыболовлевых [11]. Животные контрольной (1-й) группы содержались в условиях вивария на стандартном рационе. Во 2-й и 3-й группах животные в дополнение к стандартному рациону получали пальмовое масло из расчета 30 г/кг в сутки (экспериментальная модель алиментарного висцерального ожирения) [12]. При этом в 3-й группе через 6 недель на фоне употребления пальмового масла крысы начинали внутрижелудочно получать водно-спиртовой экстракт гарцинии камбоджийской – 0,25 г/кг массы тела в сутки.

Через 6 недель от начала приема пальмового масла животных (по 6 голов) выводили из опыта на 1, 10, 30 и 60-е сутки. Крыс декапитировали под эфирным наркозом, выделяли тазовые кости, и исследовали кристаллографические характеристики биоминерала методом рентгеноструктурного анализа на аппарате ДРОН-2 с гониометрической приставкой ГУР-5. Использовали Kα излучение меди с длиной волны 0,1542 нМ, напряжение и сила анодного тока составляли, соответственно, 30 кВ и 20 А. Дифрагированные рентгеновские лучи регистрировали в угловом диапазоне от 2 до 37 градусов со скоростью записи один

градус в минуту. На полученных дифрактограммах исследовали наиболее выраженные дифракционные пики биоминерала кости, по угловому положению которых рассчитывали размеры блоков когерентного рассеивания (кристаллитов) по уравнению Селякова–Шерера, элементарных ячеек минерала дентина и коэффициент микротекстурирования – по методу соотношения рефлексов [13].

Статистическая обработка полученных данных проводилась с применением методов вариационной статистики с вычислением средних величин (M), оценкой вероятности расхождений (m), оценкой достоверности изменений с использованием t-критерия Стьюдента. Полученные результаты оценивались при обязательном сравнении с показателями одновозрастного контроля; все приведенные в тексте статьи цифровые показатели статистически значимо отличаются от соответствующей группы сравнения ($p \leq 0,05$).

Результаты исследования

Избыточное употребление пальмового масла подопытными животными сопровождалось дестабилизацией кристаллической решетки биоминерала тазовых костей. У ювенильных крыс размеры элементарных ячеек костного биоминерала вдоль осей ***a*** и ***c*** с 1-х по 60-е сутки наблюдения были больше аналогичных значений 1-й группы на 0,12, 0,13, 0,14, 0,15 % и на 0,13, 0,15, 0,14, 0,16 %, соответственно. При этом размеры кристаллитов костного биоминерала были больше значений 1-й группы на 30-е и 60-е сутки на 4,37 и 4,35 %, а коэффициент микротекстурирования – меньше: на 4,33 и 4,72 % (рис. 1).

У половозрелых животных размеры элементарных ячеек вдоль оси ***a*** с 10-х по 60-е сутки оказались больше аналогичных значений контроля на 0,13, 0,17 и 0,18 %, а размеры элементарных ячеек вдоль оси ***c*** на 1-е, 30-е и 60-е сутки – на 0,11, 0,16 и 0,18 %. Вместе с этим размеры кристаллитов были больше значений 1-й группы с 1-х по 60-е сутки на 3,62, 3,93, 5,33 и 6,14 %,

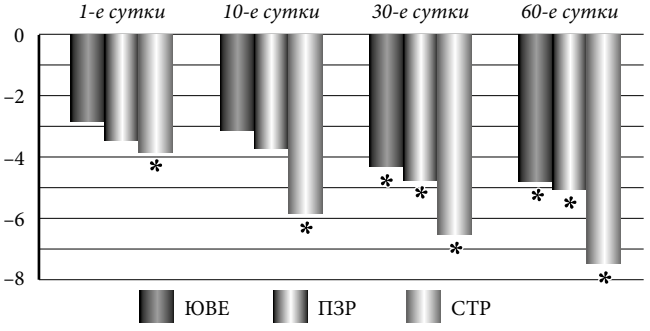

Рис. 1. Влияние избыточного содержания в рационе рафинированного пальмового масла на изменение коэффициента микротекстурирования биоминерала тазовых костей (в % по отношению к 1-й группе):

*ЮВЕ – ювенильные крысы, ПЗР – половозрелые крысы, СТР – крысы старческого возраста; *достоверное отличие от показателей 1-й группы ($p \leq 0,05$).*

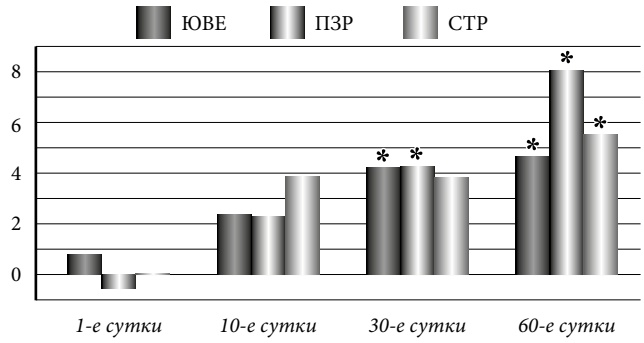

Рис. 2. Влияние экстракта гарцинии камбоджийской на изменение коэффициента микротекстурирования биоминерала тазовых костей у животных, находившихся на диете, с избыточным содержанием рафинированного пальмового масла (в % по отношению ко 2-й группе):

*ЮВЕ – ювенильные крысы, ПЗР – половозрелые крысы, СТР – крысы старческого возраста; *достоверное отличие от показателей 2-й группы ($p \leq 0,05$).*

а коэффициент микротекстурирования к 30-м и 60-м суткам – меньше на 4,74 и 5,05 %.

В период старческих изменений размеры элементарных ячеек вдоль осей ***a*** и ***c*** с 10-х по 60-е сутки были больше аналогичных значений 1-й группы на 0,10, 0,16 и 0,18 % и на 0,16, 0,19 и 0,24 %, соответственно. При этом размеры кристаллитов костного биоминерала были больше значений контроля во все установленные сроки на 5,21, 5,68, 6,15 и 5,68 %, а коэффициент микротекстурирования – меньше на 3,82, 5,80, 6,53 и 7,43 %, соответственно.

Введение экстракта гарцинии камбоджийской при продолжающемся приеме рафинированного пальмового масла сглаживало негативное влияние условий эксперимента на ультраструктуру кристаллической решетки биоминерала тазовой кости. Так, у ювенильных крыс размеры ее элементарных ячеек вдоль оси ***c*** становились меньше значений 2-й группы к 10-м и 60-м суткам наблюдения на 0,12 и 0,14 %, размеры элементарных ячеек вдоль оси ***a*** к 30-м и 60-м суткам – на 0,12 и 0,14 %, а размеры кристаллитов к 60-м суткам – на 3,82 %. Также коэффициент микротекстурирования костного биоминерала к 30-м и 60-м суткам был больше значений 2-й группы на 4,19 и 4,67 % (рис. 2).

У половозрелых крыс размер элементарных ячеек биоминерала вдоль оси ***a*** был меньше значений 2-й группы к 30-м и 60-м суткам эксперимента на 0,12 и 0,16 %, а размер элементарных ячеек вдоль оси ***c*** к 60-м суткам – на 0,19 %. Размеры кристаллитов стали меньше контрольных показателей к 30-м и 60-м суткам на 4,6 и 5,52 %, а коэффициент микротекстурирования превысил контрольный на 4,31 и 8,03 %. В период старческих изменений размеры элементарных ячеек костного биоминерала вдоль оси ***c*** и размеры кристаллитов были меньше значений 2-й группы к 60-м суткам на 0,2 и 4,34 %, а коэффициент микротекстурирования становился больше контрольного на 5,56 %.

Обсуждение полученных данных

Результаты рентгеноструктурного анализа свидетельствуют о том, что употребление пальмового масла в дозе 30 г/кг в сутки подопытными животными в течение 6 недель сопровождается дестабилизацией кристаллической решетки костного биоминерала тазовой кости. Эта дестабилизация проявляется в первую очередь в увеличении размеров элементарных ячеек биоминерала, что свидетельствует об их разрушении и разладе процессов нуклеации, отражая усиление активности резорбтивных процессов. Также отмечается увеличение размеров кристаллитов и уменьшение коэффициента микротекстурирования, свидетельствующие о снижении площади обменной поверхности костного биоминерала и нарушении ориентации кристаллитов в кристаллической решетке [14].

Выраженность выявленных изменений зависела от возраста подопытных животных: по мере продления избыточного употребления пальмового масла у ювенильных белых крыс они сохранялись на одном уровне, а у крыс старческого возраста нарастали в ходе всего периода наблюдения, в большей степени, чем у половозрелых животных.

В предшествующих исследованиях нами было доказано, что избыточное употребление рафинированного пальмового масла подопытными животными сопровождалось увеличением массы тела и интраабдоминальной жировой ткани, которая нарастала по мере увеличения длительности приема (то есть развивалось висцеральное ожирение) [12]. Висцеральное ожирение сопровождается неспецифическим воспалением, которое характеризуется экспрессией лептина, адипонектина, интерлейкинов 6 и 10, фактора некроза опухоли-α, соматотропного и паратиреоидного гормонов и других биологически активных веществ, которые реализуют свое влияние через модулирование сигнальных путей в костях [3]. Мессенджеры, активирующиеся в результате ожирения, снижают функциональную активность остеобластов и остеоцитов, а также усиливают активность остеокластов.

Вызванная ожирением дифференцировка адипоцитов и накопление липидов в организме снижает уровень дифференцировки остеобластов, поскольку адипоциты и остеобласты происходят от одних и тех же предшественников – мезенхимальных стволовых клеток, что в свою очередь приводит к снижению интенсивности костеообразования [1]. Угнетение активности остеобластов при ожирении также связано с повышением концентрации периферического серотонина и понижением уровня этого биогенного амина в мозге, что снижает интенсивность остеогенеза через серотонин-зависимые механизмы [15]. Наконец, ожирение сопровождается повышенной продукцией лиганда RANK остеобластами, а также увеличением отношения «лиганд RANK/остеопротегерин», где последний – антагонист активации этого лиганда [6]. Лиганд RANK ингибирует апоптоз остеокластов посредством активации и экспрессии антиапоптотического фермента протеинкиназы B [3], в результате чего возрастает и активность резорбтивных процессов в костной системе.

Угнетение костеобразования и активизация остеокластической резорбции приводят к дестабилизации и разрушению элементарных ячеек кости, то есть к нарушению процессов нуклеации. В дальнейшем это отражается на стабильности кристаллической решетки костного биоминерала, ведет к нарушению ориентации в ней кристаллитов и уменьшению общей обменной поверхности. Наибольшая выраженность дестабилизации кристаллической решетки у животных старческого возраста объясняется тем, что негативное влияние избыточного содержания рафинированного пальмового масла в рационе комплексируется с проявлениями первичного (сенильного) остеопороза [8].

Гидроксилимонная кислота, в значительных количествах содержащаяся в плодах гарцинии камбоджийской, ингибирует аденозинтрифосфатцитратлиазу, которая расщепляет цитрат до ацетилкофермента А и оксалоацетат в цикле лимонной кислоты в печени. Поэтому продукция ацетилкофермента А, который требуется для синтеза жирных кислот и липогенеза, уменьшается [10]. Снижение синтеза жирных кислот и липогенез могут подавлять потребление пищи и приводить к потере веса у людей. Кроме того, ацетилкофермент А – предшественник малонилкофермента А, который ингибирует карнитин-пальмитоилтрансферазу I, фермент, ответственный за окисление липидов. При ограниченном производстве малонилкофермента А интенсивность ингибирования пальмитоилтрансферазы I понижается, а окисление липидов активируется [9]. В итоге снижается уровень неспецифического воспаления, развивающегося при ожирении, что в нашем случае приводило к восстановлению процессов нуклеации элементарных ячеек биоминерала тазовых костей и формированию стабильной кристаллической решетки. Гидроксилимонная кислота также способствует снижению интенсивности обратного захвата серотонина в тканях головного мозга на 20 % [10]. В результате, повышение доступности серотонина помимо подавления аппетита и последующей потери веса сопровождается и нормализацией функциональной активности остеобластов и остеокластов. В конце концов равновесие между процессами костеобразования и резорбции восстанавливается.

Заключение

Употребление рафинированного пальмового масла в течение шести недель в дозе 30 г/кг в сутки сопровождается в дальнейшем у белых крыс дестабилизацией кристаллической решетки биоминерала тазовых костей, которая прогрессирует по мере увеличения длительности приема пальмового масла. Внутрижелудочное введение экстракта гарцинии камбоджийской

в дозе 0,25 г/кг в сутки нивелирует негативное влияние условий эксперимента на ультраструктуру кристаллической решетки биоминерала тазовой кости с 30-х по 60-е сутки наблюдения у ювенильных и половозрелых животных и с 60-х суток – у крыс старческого возраста.

Конфликт интересов: *авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.*

Источник финансирования: *авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств.*

Литература / References

1. Cao JJ. Effects of obesity on bone metabolism. *J Orthop Surg Res.* 2011;6:30. doi: 10.1186/1749-799X-6-30
2. De Wit N, Derrien M, Bosch-Vermeulen H. Saturated fat stimulates obesity and hepatic steatosis and affects gut microbiota composition by an enhanced overflow of dietary fat to the distal intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2012;303:G589–99.
3. Ng A, Duque G. Osteoporosis as a lipotoxic disease. IBMS BoneKEy. 2010;7:108–23.
4. Laugerette F, Furet JP, Debard C, Daira P, Loizon E, Géloën A, et al. Oil composition of high-fat diet affects metabolic inflammation differently in connection with endotoxin receptors in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2012;302:E374–86.
5. Musa CV, Mancini A, Alfieri A, Labruna G, Valerio G, Franzese A, et al. Four novel UCP3 gene variants associated with childhood obesity: Effect on fatty acid oxidation and on prevention of triglyceride storage. Int J Obes. 2012;36:207–17.
6. Drosatos-Tampakaki Z, Drosatos K, Siegelin Y, Gong Sh, Khan S, Van Dyke Th, et al. Palmitic acid and DGAT1 deficiency enhance osteoclastogenesis, while oleic acid-induced triglyceride formation prevents it. *J Bone Mine Res.* 2014;29(5):1183–95.
7. Исмаилова К.Р. Оценка силы влияния избыточного содержания пальмового масла в рационе на показатели гистоморфометрии и ультраструктуры реактивных отделов нижней челюсти у белых крыс различного возраста. *Морфологический альманах имени В.Г. Ковешникова.* 2018;16(1):81–9. [Ismailova KR. Estimation of the effect of excessive palm oil in the diet on the histomorphometry and ultrastructure of the reactive parts of the lower jaw in white rats of various ages. *V.G. Koveshnikov Morphological Almanac.* 2018;16(1):81–9 (In Russ).]
8. Luzin VI, Ismailova K, Prykhodchenko I, Gryshchuk M. Ultrastructure of biomineral of the mandibular ramus in rats of various ages after excessive palm oil intake. *Osteoporos Int.* 2016;27(Suppl. 3):S743–4.
9. Ohia SE, Opere CA, LeDay AM, Bagchi M, Bagchi D, Stohs SJ. Safety and mechanism of appetite suppression by a novel hydroxycitric acid (HCA-SX). *Mol Cell Biochem.* 2002;238:89–103.
10. Semwal RB, Semwal DK, Vermaak I, Viljoen A. A comprehensive scientific overview of Garcinia cambogia. *Fitoterapia.* 2015;102:134–48.
11. Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности. *Доклады АН СССР.* 1979;247(6):1513–6. [Rybolovlev YuR, Rybolovlev RS. Dosing of substances for mammals according to the constant of biological activity. *Doklady AN SSSR.* 1979;247(6):1513–6 (In Russ).]
12. Исмаилова К.Р., Лящук А.В., Гайворонская Ю.В. Динамика массы тела и интраабдоминальной жировой ткани у крыс-самцов различного возраста, получавших рацион с избыточным содержанием пальмового масла и возможности ее коррекции экстрактом Гарцинии камбоджийской. *Украинский морфологический альманах им. проф. В.Г. Ковешникова.* 2017;15(3):56–62. [Ismailova KR, Lyashchuk AV, Gayvoronskaya YuV. Dynamics of body weight and intra-abdominal adipose tissue in male rats of various ages which received a diet with an excessive palm oil content and the possibility of its correction with Garcinia Cambodia extract. *Professor V.G. Koveshnikov Ukrainian Morphological Almanac.* 2017;15(3):56–62 (In Russ).]
13. Миркин Л.И. *Рентгеноструктурный анализ. Индицирование рентгенограмм: справочное руководство.* М.: Наука, 1981. 496 с. [Mirkin LI. *X-ray analysis. Indexing radiographs: Guide.* Moscow: Nauka; 1981. 496 p. (In Russ).]
14. Boskey AL. Mineralization of bones and teeth. *Elements.* 2007;3(6):385–91.
15. Crane JD, Palanivel R, Mottillo EP, Bujak AL, Wang H, Ford RJ. Inhibiting peripheral serotonin synthesis reduces obesity and metabolic dysfunction by promoting brown adipose tissue thermogenesis. *Nat Med.* 2015;21(2):166–72.