



Влияние трехмесячного приема аторвастатина и α -кальцидола на некоторые морфометрические показатели костной ткани

С.С. Осочук, О.С. Яковлева, А.Ф. Марцинкевич, Е.А. Карпенко

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

Реферат

Актуальность. Остеопороз занимает четвертое место по распространенности после сердечно-сосудистых, онкологических заболеваний и сахарного диабета. Все эти заболевания имеют общие патогенетические механизмы, связанные с нарушением обмена холестерина. Последние десятилетия большое распространение получило применение ингибиторов ключевого фермента синтеза холестерина — статинов, способных стимулировать остеогенез. Однако статины оказывают влияние на продукцию активной формы витамина D посредством снижения продукции тестостерона и, таким образом, снижения активности 1α -гидроксилазы. Представляется перспективным совместное использование статинов и α -кальцидола (α -К) для профилактики остеопороза. **Цель исследования** — оценить влияние длительного введения аторвастатина (АТВ) и α -К на морфометрические показатели роста и васкуляризацию костной ткани в эксперименте. **Материал и методы.** Эксперимент проводился в течение трех месяцев на 120 лабораторных крысах-самцах, которым ежедневно внутривенно вводили АТВ и α -К. Через 90 дней эксперимента животных декапитировали под эфирным наркозом. Для исследования у животных отбирали правую бедренную и нижнечелюстную кости. Участки костей крыс импрегнировали серебром, декальцинировали, изготовленные гистосрезы окрашивали по Ван Гизону. Распределение исследуемых признаков оценивали по критерию Шапиро–Уилка. Отличия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. **Результаты.** Установлено, что АТВ, как отдельно, так и вместе с α -К, увеличивал размер вновь образованной кости в эндоостальной и периостальной зонах бедренной кости на 64,8; 40,4 и 15,8; 29,1% соответственно. Совместное применение АТВ и α -К положительно влияло на прирост сосудов в бедренной кости (+23,4%). АТВ увеличил размер вновь образованной кости с периодонтальной и вестибулярной поверхностей нижней челюсти на 18,3 и 29,5% соответственно. α -К потенцировал влияние АТВ на размер вновь образованной костной ткани в периодонтальной и вестибулярной зонах роста нижнечелюстной кости 10,1 и 15,0% соответственно. Что касается количества сосудов в костной ткани челюсти, благодаря АТВ оно увеличилось на 17,2%, α -К эффекта не оказывал. **Заключение.** АТВ увеличивает толщину слоя вновь образованной костной ткани в зонах роста бедренной кости и нижней челюсти и увеличивает количество сосудов в челюсти. α -кальцерол увеличивает количество сосудов в костной ткани бедра и потенцирует действие АТВ на зоны роста костной ткани челюсти. При совместном применении АТВ и α -К они позитивно дополняют друг друга.

Ключевые слова: остеопороз, остеогенез, α -кальцидол, аторвастатин, витамин D, статины.

Источник финансирования: работа выполнена в рамках задания Государственной программы научных исследований «Фундаментальные и прикладные науки — медицине» (№ ГР 20190142 от 26.02.2019).

Осочук С.С., Яковлева О.С., Марцинкевич А.Ф., Карпенко Е.А. Влияние трехмесячного приема аторвастатина и α -кальцидола на некоторые морфометрические показатели костной ткани. *Травматология и ортопедия России*. 2021;27(2):65-74. <https://doi.org/10.21823/2311-2905-2021-27-2-65-74>.

Cite as: Asachuk S.S., Yakovleva O.S., Martsinkevich A.F., Karpenka E.A. [The Effect of Three-Month Atorvastatin and α -Calcitol Administration on Some Bone Tissue Morphometric Parameters]. *Travmatologiya i ortopediya Rossii* [Traumatology and Orthopedics of Russia]. 2021;27(2):65-74. (In Russian). <https://doi.org/10.21823/2311-2905-2021-27-2-65-74>.

✉ Яковлева Ольга Святославна / Olga S. Yakovleva; e-mail: olga.lobkova88@gmail.com

Рукопись поступила/Received: 23.10.2020. Принята в печать/Accepted for publication: 03.02.2021.

© Осочук С.С., Яковлева О.С., Марцинкевич А.Ф., Карпенко Е.А., 2021

The Effect of Three-Month Atorvastatin and α -Calcitol Administration on Some Bone Tissue Morphometric Parameters

Sergey S. Asachuk, Olga S. Yakovleva, Aliaksandr F. Martsinkevich, Alena A. Karpenka

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

Abstract

Background. Osteoporosis is the fourth most common disease after cardiovascular diseases, cancer, and diabetes. All these diseases have common pathogenetic mechanisms associated with impaired cholesterol metabolism. In recent decades, the use of the key enzyme of cholesterol synthesis inhibitors — statins, which can stimulate osteogenesis, has become widespread. However, statins affect the production of the vitamin D active form by reducing the production of testosterone and thus reducing the activity of 1α -hydroxylase. The combined use of statins and α -calcitol (α -C) for the osteoporosis prevention seems promising. **The aim of the study** was to evaluate the effect of long-term atorvastatin (ATV) and α -C administration on morphometric growth parameters and bone vascularization in the experiment. **Materials and Methods.** The experiment was conducted for three months on 120 laboratory male rats, which were injected daily intragastrically with ATV and α -C. After 90 days of the experiment, the animals were decapitated under ether anesthesia. For the study, the right femur and jawbone were taken from the animals. The rat bone sections were impregnated with silver, decalcified, and the histosections were stained according to van Gieson. The distribution of the studied features was evaluated according to the Shapiro-Wilk test. The differences were considered statistically significant at $p < 0.05$. **Results.** It was found that ATV, both separately and together with α -C, increased the size of the newly formed bone in the endosteal and periosteal zones of the femur by 64.8; 40.4 and 15.8; 29.1%, respectively. The combined use of ATV and α -C had a positive effect on the growth of blood vessels in the femur (+23.4%). ATV increased the size of the newly formed bone from the periodontal and vestibular surfaces of the lower jaw by 18.3 and 29.5%, respectively. α -C potentiated the effect of ATV on the size of the newly formed bone tissue in the periodontal and vestibular growth zones of the mandibular bone by 10.1 and 15.0%, respectively. As for the number of vessels in the jawbone tissue, thanks to ATV, it increased by 17.2%, α -C had no effect. **Conclusion.** ATV increases the thickness of the newly formed bone layer in the growth areas of the femur and jawbone and increases the number of vessels in the jawbone. α -calcitol increases the number of vessels in the bone tissue of the femur and potentiates the effect of ATV on the jawbone growth zones. The combined use of ATV and α -C shows that they positively complement each other.

Keywords: osteoporosis, osteogenesis, α -calcitol, atorvastatin, vitamin D, statins.

Funding: state budgetary funding.

Введение

Остеопороз занимает четвертое место по распространенности после сердечно-сосудистых, онкологических заболеваний и сахарного диабета [1].

Проблеме остеопороза посвящено много исследований, но его патогенетические механизмы пока не определены в полной мере. Более того, взаимосвязь сердечно-сосудистых заболеваний и остеопороза получает дополнительные подтверждения [2]. Для профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний наиболее часто используются статины — ингибиторы ключевого фермента синтеза холестерина ОМГ-редуктазы. Статины способны снижать активность продукции тестостерона, увеличивающего активность 1α -гидроксилазы — ключевого фермента в продукции активной формы витамина D (1,25-дигидроксиголекальциферола) [3, 4]. Теоретически применение статинов способно снизить продукцию активной формы витамина D и, таким образом, негативно повлиять на метаболизм

костной ткани. Если данный механизм действительно существует, возможно, будет оправданным применение предшественника активной формы витамина D, гидроксированного в первом положении — 1α -гидроксиголекальциферола (α -кальцидола). Однако и статины способны увеличивать кальцификацию костной ткани посредством ингибирования остеокластов и активации остеобластов и таким образом снижать риск развития переломов. Вместе с тем некоторые исследования не подтверждают такую способность [5]. Вероятно, расхождения результатов обусловлены тем, что кальцификацию обеспечивают иные механизмы, не связанные с витамином D.

Мы предполагаем, что совместное применение статинов и витамина D может быть перспективным направлением лечения и профилактики остеопороза. Ранее нами была показана способность α -К потенцировать минерализующую активность ATV [6]. Однако рост минерализации костной ткани может быть обусловлен как акти-

вацией остеогенеза, так и снижением активности резорбции костной ткани.

Целью исследования была оценка влияния ATV и α -К на размер зон роста и васкуляризацию костной ткани в эксперименте на неимбранных лабораторных крысах.

Материал и методы

Дизайн исследования

Эксперимент проводился в течение трех месяцев на 120 неимбранных лабораторных крысах-самцах, разделенных на четыре группы: 1-я группа — интактные животные (контроль); 2-я группа — введение 1% раствора крахмала внутрижелудочно (плацебо); 3-я группа — внутрижелудочное введение ATV в дозе 10 мг/кг массы тела; 4-я группа — введение ATV в дозе 10 мг/кг массы тела и α -К в дозе 0,1 мкг/кг (ATV + α -К). Группа «плацебо» введена в исследование в связи со способностью стресса внутрижелудочного введения зонда оказывать влияние на метаболический профиль экспериментальных животных [7].

Животные содержались в условиях вивария Витебского медицинского университета, получали сбалансированный зерновой корм. Эвтаназия животных осуществлялась декапитацией под эфирным наркозом в утренние часы, через сутки после последнего введения лекарственных средств. Сразу после вскрытия правую бедренную и нижнечелюстную кости извлекали и очищали от мягких тканей. Кусочки бедренной кости размером 0,5 см выпиливали в области проксимального метафиза, а кусочки нижнечелюстной кости — в области диафиза.

Морфологическое исследование

Фиксацию костей грызунов проводили в 10% растворе нейтрального формалина в течение 48 ч. Для выявления различий между исходной и вновь образовавшейся минерализованной пластинчатой костными тканями кусочки костей импрегнировали серебром по Лилли [8]. Для декальцинации костного материала использовали 10% раствор этилендиаминтетрауксусной кислоты (pH = 7,0) [9]. Дальнейшее обезвоживание костной ткани проводили по общепринятым методикам в автоматическом процессоре Microm STP-120, а уплотнение — путем заливки в парафин при помощи аппарата EC-350 [10]. Срезы образцов ткани толщиной 4–5 мкм изготавливали на роторном микротоме Leica RM 2125 и доокрашивали в аппарате Microm HMS-170 по Ван Гизону [8]. Исследование гистосрезов костей проводили на микроскопе Olympus BX-40 (окуляр $\times 10$, объективы $\times 10$, $\times 20$, $\times 60$), оснащенном цифровой камерой. Размер вновь образованной костной тка-

ни, окрашенной солями серебра в черный цвет, измеряли с помощью программы ImageScope-M в гистосрезе бедренной кости грызунов со стороны пери- и эндоостальной поверхностей, а в срезах нижней челюсти — со стороны вестибулярной и периодонтальной поверхностей ($\times 200$). Подсчет количества кровеносных сосудов проводили в 10 полях зрения ($\times 600$).

Статистический анализ

Предварительная обработка и статистический анализ данных выполнены при помощи пакета прикладных программ R 3.6.3. Распределение исследуемых признаков оценивали согласно критерию Шапиро–Уилка при наличии гауссовского распределения. Для сравнения использовались методы параметрической статистики, в обратном случае — непараметрические методы.

Множественное сравнение выполняли при помощи дисперсионного анализа (ANalysis Of VAriance, ANOVA) или Н-критерия Краскела — Уоллиса. Поскольку измерение исследуемых показателей проводилось в 30 полях зрения, в целях снижения индивидуальных различий обследованных животных для попарного сравнения использовали метод линейных моделей со смешанными эффектами [11], где зависимой переменной служила толщина костной манжетки или количество сосудов в поле зрения, независимой переменной (фиксированным эффектом) — группа животных, а случайным эффектом — идентификатор измерения. Построение контрастов выполняли с учетом поправки Бенджамини–Хохберга [12]. Отличия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Статистическая обработка результатов измерения вновь образованной костной ткани в эндоостальной зоне проксимального метафиза бедренной кости с использованием ANOVA показала, что экспериментальные группы статистически значимо ($p = 0,0111$) отличаются между собой (рис. 1, 2; табл. 1).

Парное сравнение с использованием метода линейных моделей со смешанными эффектами показало, что статистически значимое увеличение размера вновь образованной костной ткани в эндоостальной зоне имело место во всех сравниваемых группах ($p < 0,001$), за исключением животных, получавших α -К и α -К + ATV (табл. 2).

Оценка размера вновь образовавшейся костной ткани со стороны периостальной поверхности бедренной кости крыс с использованием ANOVA показала, что данный показатель статистически значимо ($p = 0,0177$) отличался у экспериментальных животных (табл. 3).

Парное сравнение с использованием метода линейных моделей со смешанными эффектами показало, что статистически значимое увеличение размера вновь образованной костной ткани

в периостальной зоне имело место во всех экспериментальных группах ($p < 0,001$) за исключением животных, получавших ATV и α -К + ATV (табл. 4).

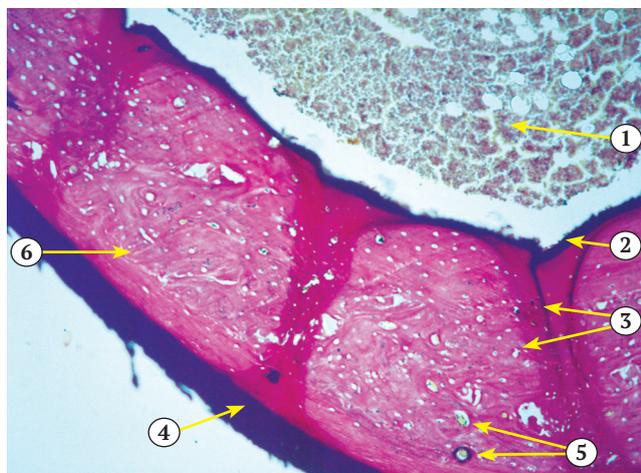


Рис. 1. Гистосрез бедренной кости крысы контрольной группы:
1 — костномозговая полость с костным мозгом; 2 — вновь образованная костная ткань со стороны эндооста; 3 — остециты; 4 — вновь образованная костная ткань со стороны периоста; 5 — гаверсовы каналы с кровеносными сосудами; 6 — компактное вещество кости. Окраска по Ван-Гизону. Ув. $\times 100$

Figure 1. Section of the control group rat femur:
1 — bone marrow cavity with bone marrow;
2 — newly endosteal formed bone tissue;
3 — osteocytes;
4 — newly formed bone tissue from the periosteum;
5 — Havers' canals with blood vessels;
6 — compact bone substance.
Van Gieson staining. Mag. $\times 100$

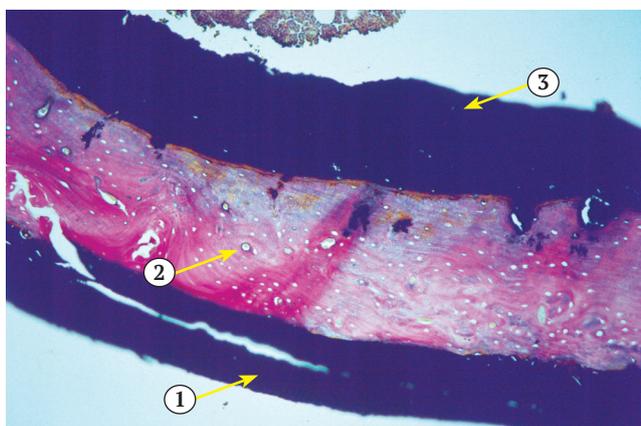


Рис. 2. Увеличение объема вновь образованной костной ткани в бедренной кости крысы, получавшей ATV совместно с α -К:
1 — периостальная зона; 2 — гаверсовы каналы с кровеносными сосудами; 3 — эндоостальная зона. Окраска по Ван-Гизону. Ув. $\times 100$

Figure 2. Increase in the volume of newly formed bone tissue in the femur of a rat treated with ATV and α -C:
1 — periosteal zone;
2 — Havers' canals with blood vessels;
3 — endosteal zone.
Van Gieson staining. Mag. $\times 100$

Таблица 1

Размер вновь образованной костной ткани со стороны эндоостальной поверхности бедренной кости крыс, мкм (Me Q1;Q3)

Контроль	Плацебо	ATV	ATV + α -К
19,51 (17,30; 23,07)	21,52 (20,19; 26,16)	35,47 (24,02; 7,62)	30,23 (26,31; 38,41)

Таблица 2

Результаты исследований размера вновь образованной костной ткани со стороны эндоостальной поверхности бедренной кости методом линейных моделей со смешанными эффектами

Контраст	Оценка	Ошибка	Df	t	p
Контроль — плацебо	-3,5417	0,8698	927,0000	-4,0717	<0,001
Контроль — ATV	-13,1286	0,8698	927,0000	-15,0932	<0,001
Контроль — ATV + α -К	-13,1604	0,8698	927,0000	-15,1298	<0,001
Плацебо — ATV	-9,5869	0,8698	927,0000	-11,0215	<0,001
Плацебо — ATV + α -К	-9,6188	0,8698	927,0000	-11,0581	<0,001
ATV + α -К — ATV	-0,0318	0,8698	927,0000	-0,0366	0,9708

Таблица 3

Размер вновь образованной костной ткани со стороны периостальной поверхности бедренной кости крыс, мкм (Me Q1;Q3)

Контроль	Плацебо	ATV	ATV + α-К
20,72 (19,02; 26,17)	26,91 (23,92; 32,04)	31,17 (26,21; 40,07)	34,75 (26,38; 38,75)

Таблица 4

Результаты исследований размера вновь образованной костной ткани со стороны периостальной поверхности бедренной кости методом линейных моделей со смешанными эффектами

Контраст	Оценка	Ошибка	Df	t	p
Контроль — плацебо	-5,2188	0,7544	927,0000	-6,9180	<0,001
Контроль — ATV	-10,0813	0,7544	927,0000	-13,3637	<0,001
Контроль — ATV + α-К	-11,2838	0,7544	927,0000	-14,9577	<0,001
Плацебо — ATV	-4,8625	0,7544	927,0000	-6,4457	<0,001
Плацебо — ATV + α-К	-6,0650	0,7544	927,0000	-8,0397	<0,001
ATV — ATV + α-К	-1,2025	0,7544	927,0000	-1,5940	0,1113

Подсчет количества сосудов в 10 полях зрения микроскопа в гистосрезках бедренной кости выявил статистически значимые отличия изучаемого показателя ($p = 0,0163$) в группах экспериментальных крыс (табл. 5).

Парное сравнение с использованием метода линейных моделей со смешанными эффектами показало, что все экспериментальные группы, за исключением «плацебо — ATV», статистически значимо отличались между собой ($p < 0,001$) (табл. 6).

Изучение размера вновь образованной костной ткани нижней челюсти со стороны периодонтальной поверхности в области диастемы показало, что исследуемые группы животных статистически значимо отличались ($p = 0,032$) (табл. 7).

Парное сравнение с использованием метода линейных моделей со смешанными эффектами показало, что все экспериментальные группы, за исключением пары «контроль — плацебо», статистически значимо отличались между собой ($p < 0,001$) (табл. 8, рис. 3, 4).

Таблица 5

Среднее число сосудов в срезе бедренной кости крыс (Me Q1;Q3)

Контроль	Плацебо	ATV	ATV + α-К
5,70 (4,20; 6,82)	6,40 (5,97; 6,95)	6,60 (6,12; 7,73)	7,90 (7,35; 8,40)

Таблица 6

Результаты исследований среднего числа сосудов в срезе бедренной кости крыс методом линейных моделей со смешанными эффектами

Контраст	Оценка	Ошибка	Df	t	p
Контроль — плацебо	-1,0750	0,2553	307,0000	-4,2115	<0,001
Контроль — ATV	-1,2625	0,2553	307,0000	-4,9461	<0,001
Контроль — ATV + α-К	-2,2500	0,2553	307,0000	-8,8148	<0,001
Плацебо — ATV	-0,1875	0,2553	307,0000	-0,7346	0,4632
Плацебо — ATV + α-К	-1,1750	0,2553	307,0000	-4,6033	<0,001
ATV — ATV + α-К	-0,9875	0,2553	307,0000	-3,8687	<0,001

Таблица 7

Размер вновь образованной костной ткани со стороны периодонтальной поверхности нижнечелюстной кости крыс, мкм (Me Q1;Q3)

Контроль	Плацебо	ATV	ATV + α -К
22,70 (19,14; 28,06)	22,59 (21,49; 24,14)	26,86 (23,59; 30,00)	29,58 (27,55; 32,15)

Таблица 8

Результаты попарного сравнения размера вновь образованной костной ткани со стороны периодонтальной поверхности нижнечелюстной кости

Контраст	Оценка	Ошибка	Df	t	p
Контроль — плацебо	1,0696	0,5755	987,0000	1,8586	0,0634
Контроль — ATV	-2,8587	0,5755	987,0000	-4,9677	<0,001
Контроль — ATV + α -К	-5,7487	0,5755	987,0000	-9,9898	<0,001
Плацебо — ATV	-3,9283	0,6066	987,0000	-6,4761	<0,001
Плацебо — ATV + α -К	-6,8183	0,6066	987,0000	-11,2404	<0,001
ATV — ATV + α -К	-2,8900	0,6066	987,0000	-4,7643	<0,001

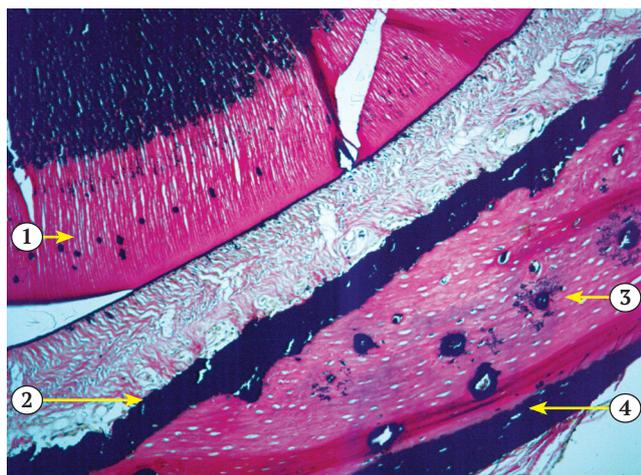


Рис. 3. Гистосрез нижнечелюстной кости крысы группы «плацебо»: 1 — корень зуба; 2 — периодонтальная поверхность; 3 — остециты; 4 — вестибулярная поверхность. Окраска по Ван-Гизону. Ув. $\times 100$

Figure 3. Section of the placebo rat jawbone: 1 — tooth root; 2 — periodontal surface; 3 — osteocytes; 4 — vestibular surface. Van Gieson staining. Mag. $\times 100$

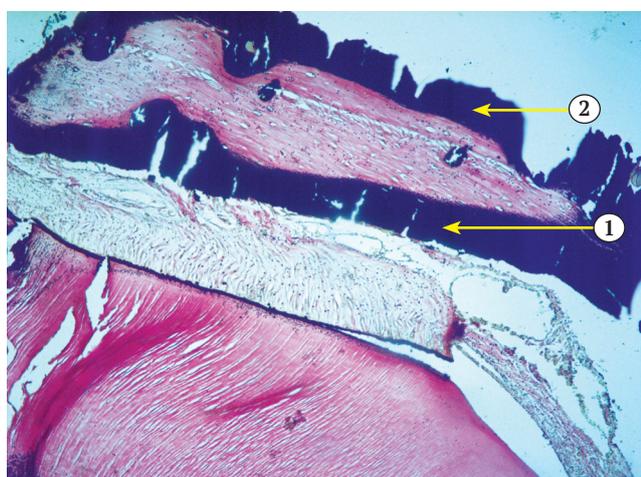


Рис. 4. Увеличение объема вновь образованной костной ткани в нижней челюсти крысы группы «ATV+ α -К»: 1 — периодонтальная поверхность; 2 — вестибулярная поверхность. Окраска по Ван-Гизону. Ув. $\times 100$

Figure 4. Increase in the volume of newly formed bone tissue in the jawbone of the «ATV+ α -C» rat: 1 — periodontal surface; 2 — vestibular surface. Van Gieson staining. Mag. $\times 100$

Исследование размера вновь образованной костной ткани с вестибулярной поверхности нижнечелюстной кости крыс в экспериментальных группах продемонстрировало наличие статистически значимых отличий ($p = 0,004$) (табл. 9).

Попарное сравнение выявило, что все экспериментальные группы, за исключением «контроль – плацебо» статистически значимо отличались между собой ($p < 0,001$) (табл. 10). При исследовании влияния изучаемых лекарственных

средств на васкуляризацию в костной ткани нижней челюсти у экспериментальных животных отмечались статистически значимые отличия ($p = 0,0154$) (табл. 11).

Попарное сравнение показало, что группа «контроль» статистически значимо отличалась от группы «плацебо» с ошибкой 0,036%, остальные группы также статистически значимо отличались между собой с ошибкой менее 0,01%, за исключением групп животных получавших ATV и ATV + α -К ($p = 0,79$) (табл. 12).

Таблица 9

Размер вновь образованной костной ткани со стороны вестибулярной поверхности нижнечелюстной кости крыс, мкм (Me Q1;Q3)

Контроль	Плацебо	ATV	ATV + α -К
29,31 (22,06; 34,08)	29,32 (25,82; 31,27)	37,98 (34,68; 41,71)	43,70 (41,85; 49,73)

Таблица 10

Результаты попарного сравнения размера вновь образованной костной ткани стороны вестибулярной поверхности нижнечелюстной кости крыс

Контраст	Оценка	Ошибка	Df	t	p
Контроль – плацебо	-1,1342	0,8628	987,0000	-1,3145	0,1890
Контроль – ATV	-9,0496	0,8628	987,0000	-10,4883	<0,001
Контроль – ATV + α -К	-14,4654	0,8628	987,0000	-16,7651	<0,001
Плацебо – ATV	-7,9154	0,9095	987,0000	-8,7030	<0,001
Плацебо – ATV + α -К	-13,3312	0,9095	987,0000	-14,6577	<0,001
ATV – ATV + α -К	-5,4158	0,9095	987,0000	-5,9547	<0,001

Таблица 11

Количество сосудов в поле зрения кости челюсти крыс

Контроль	Плацебо	ATV	ATV + α -К
3,65 (3,20; 4,20)	4,35 (3,70; 5,30)	5,10 (4,70; 5,73)	5,30 (4,92; 5,73)

Таблица 12

Результаты попарного сравнения количество сосудов в поле зрения кости челюсти

Контраст	Оценка	Ошибка	Df	t	p
Контроль – плацебо	-0,5375	0,1800	327,0000	-2,9868	0,0036
Контроль – ATV	-1,2625	0,1800	327,0000	-7,0155	<0,001
Контроль – ATV + α -К	-1,3125	0,1800	327,0000	-7,2934	<0,001
Плацебо – ATV	-0,7250	0,1897	327,0000	-3,8220	<0,001
Плацебо – ATV + α -К	-0,7750	0,1897	327,0000	-4,0856	<0,001
ATV – ATV + α -К	-0,0500	0,1897	327,0000	-0,2636	0,7923

Обсуждение

Известно, что костная ткань является мишенью для стрессорных гормонов, в частности для кортизола, способствующего снижению ее минеральной плотности [13]. Внутрижелудочное введение зонда является стрессом [7], и выявленное в группе «плацебо» увеличение зон роста является реакцией на хронический стресс у животных.

Серебро связывается не только с фосфатом кальция, но и с коллагеном, при этом окрашивая коллаген III в черный цвет [14]. Выявленный эффект говорит об увеличении количества костной ткани, в том числе коллагена III. Поскольку коллаген III типа обеспечивает прочность на растяжение [15], можно предположить, что хроническое стрессирование увеличивает прочность костной ткани за счет роста его содержания.

Выявленное увеличение количества сосудов в бедренной кости у животных в группе «плацебо» по сравнению с контрольной группой свидетельствует о способности стресса позитивно влиять на этот показатель, возможно, посредством характерного роста продукции супероксидного радикала и ангиотензина II и эндотелина 1 [16], способных стимулировать рост сосудистой ткани [17]. Однако механизмы выявленного эффекта необходимо изучать дополнительно.

Таким образом, исходя из представленных результатов, можно заключить, что хронический стресс в ходе внутрижелудочного введения зонда на протяжении 3 мес. вызывает позитивные изменения в костной ткани бедра: увеличиваются зоны роста и количество сосудов.

Между группами «плацебо» и группами животных, получавших ЛС (см. табл. 2, 4, $p < 0,0001$), выявлены статистически значимые отличия. На основании этого можно заключить, что увеличение зон роста бедренной кости обусловлено не только стрессорным эффектом внутрижелудочного введения зонда, но и самими ЛС. Поскольку изменение размера вновь образованной костной ткани имело место в обеих группах животных, получавших ЛС, и между группами не было статистически значимых отличий, скорее всего, выявленный эффект обусловлен действием ATV, его введение вместе с α -К не оказало влияния на исследуемые показатели. Коллаген III обладает значительной прочностью [15], поэтому можно заключить, что ATV способствовал росту прочности бедренной кости за счет увеличения его содержания.

Выявленный рост количества сосудов бедренной кости обусловлен введением α -К, поскольку имели место значимые отличия между животными, получавшими отдельно ATV и ATV + α -К, а количество сосудов у животных, получавших ATV, не отличалось от такового в группе плацебо. Исходя

из сказанного выше, можно сделать заключение о целесообразности совместного использования ATV и α -К.

Отсутствие влияния хронического стресса на величину зон роста челюсти может быть обусловлено либо ее недостаточно высокой адаптационной активностью, либо недостаточно значительным стрессовым воздействием. Однако причины отсутствия реакции требуют дальнейшего изучения.

Выявленное увеличение зон роста челюстной кости было обусловлено как введением ATV, так и дополнительным введением α -К, потенцирующего действие ATV, поскольку исследуемый показатель имел статистически значимые отличия в группах ATV- контроль и группах ATV-ATV+ α -К. Таким образом, можно заключить, что ЛС оказали позитивное влияние на величину зон роста костной ткани челюсти, при этом α -К потенцировал действие ATV.

Описанное выше увеличение количества сосудов челюсти в поле зрения под влиянием стресса при внутрижелудочном введении зонда аналогично таковому в костной ткани бедра и может быть обусловлено, как и в предыдущем случае, ростом продукции супероксидного радикала, ангиотензина II и эндотелина 1 [16].

Введение ЛС увеличивало количество сосудов челюсти по сравнению как с интактными животными, так и с животными в группе «плацебо». Поскольку количество сосудов челюсти в группе животных, получавших ATV, статистически значимо отличалось от такового в группе «плацебо», можно заключить, что ATV позитивно влияет на этот показатель. Отсутствие отличий между группами животных, получавших ATV и ATV + α -К, позволяет утверждать, что рост количества сосудов в данной группе обусловлен ATV, а не α -К. Данный факт согласуется со способностью статинов стимулировать дозозависимый эффект ангиогенеза [18].

Заключение

ATV увеличивает толщину слоя вновь образованной костной ткани в зонах роста бедренной кости и нижней челюсти и увеличивает количество сосудов в челюсти; α -К увеличивает количество сосудов в костной ткани бедра и потенцирует действие ATV на зоны роста костной ткани челюсти. Совместное применение ATV и α -К показывает, что они позитивно дополняют друг друга.

Этическая экспертиза

Перед началом эксперимента было получено разрешение локального этического комитета на его проведение. При выполнении экспериментов соблюдали принципы гуманного отношения к живот-

ным в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей и директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 г. по охране животных, используемых в научных целях.

Литература [References]

1. Пасиешвили Л.М. Остеопороз — безмолвный костный «вор». *Восточноевропейский журнал внутренней и семейной медицины*. 2015;(1):16-24.
Pasieshvili L.M. [Osteoporosis is silent bone "Thief"]. *Vostochnoevropejskij zhurnal vnutrennej i semejnoj mediciny* [Eastern European Journal of Internal and Family Medicine]. 2015;1:16-24. (In Russian).
2. Царенок С.Ю. Структурно-функциональные изменения миокарда у женщин с остеопорозом в сочетании с ишемической болезнью сердца. *Клиницист*. 2017;11(3-4):50-58. doi: 10.17650/1818-8338-2017-11-3-4-50-58.
Tsarenok S.Yu. [Structural and Functional Changes in the Myocardium in Women with Osteoporosis in Combination with Ischemic Heart Disease]. *Klinicist* [The Clinician]. 2017;11(3-4):50-58. (In Russian). doi: 10.17650/1818-8338-2017-11-3-4-50-58.
3. Буянова С.В., Осочук С.С. Влияние статинов на гормональный спектр крови и содержание холестерина в надпочечниках белых лабораторных крыс. *Вестник ВГМУ*. 2014;(1):31-37.
Bujanova S.V., Osouchuk S.S. [Effect of statins on the hormonal spectrum of blood and cholesterol content in the adrenal glands of white laboratory rats]. *Vestnik VGMU* [Vestnik of Vitebsk State Medical University]. 2014;(1):31-37. (In Russian).
4. Калинин С.Ю., Тюзиков И.А., Гусакова Д.А., Ворсло Л.О., Тишова Ю.А., Греков Е.А., Фомин А.М. Витамин D как новый стероидный гормон и его значение для мужского здоровья. *Эффективная фармакотерапия*. 2015;(27):38-47.
Kalinchenko S.Yu., Tuuzikov I.A., Gusakova D.A., Vorslov L.O., Tishova Yu.A., Grekov Ye.A., Fomin A.M. [Vitamin D as a Novel Steroid Hormone and Its Role for Men's Health]. *Jeftektivnaja farmakoterapija* [Effective pharmacotherapy]. 2015;(27):38-47. (In Russian).
5. Карпова И.С., Дубень С.А. Статины при остеопорозе: клинический обзор. *Лечебное дело*. 2014;(35):14-17.
Karpova I.S., Duben' S.A. [Statins in osteoporosis: a clinical review]. *Lechebnoe delo* [General medicine]. 2014;(35):14-17. (In Russian).
6. Осочук С.С., Яковлева О.С. Влияние аторвастатина и α -кальцидола на минеральный состав костной ткани зуба в эксперименте. *Лабораторная диагностика. Восточная Европа*. 2018;7(2):250-257.
Osouchuk S.S., Jakovleva O.S. [The influence of atorvastatin and α -calcitol on the mineral composition of the bone tissue of the tooth in the experiment]. *Laboratornaya diagnostika. Vostochnaya Evropa* [Laboratory diagnostics. Eastern Europe]. 2018;7(2):250-257. (In Russian).
7. Walker M.K., Boberg J.R., Walsh M.T., Wolf V., Trujillo A., Duke M.S. et al. A less stressful alternative to oral gavage for pharmacological and toxicological studies in mice. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2012;260(1):65-69. doi: 10.1016/j.taap.2012.01.025.
8. Коржевский Д.Э., Колос Е.А., Сухорукова Е.Г., Григорьев И.П., Карпенко М.Н. Гистохимическое определение металлов. Санкт-Петербург: СпецЛит; 2016. 63 с.
Korzhevskij D.Je., Kolos E.A., Suhorukova E.G., Grigor'ev I.P., Karpenko M.N. [Histochemical determination of metals]. Sankt-Peterburg: SpecLit; 2016. 63 p. (In Russian).
9. Callis G., Sterchi D. Decalcification of Bone: Literature Review and Practical Study of Various Decalcifying Agents. Methods, and Their Effects on Bone Histology. *J Histotech*. 1988;21(1):49-58. doi: 10.1179/his.1998.21.1.49.
10. Коржевский Д.Э. Морфологическая диагностика. Подготовка материала для гистологического исследования и электронной микроскопии: руководство. Санкт-Петербург: СпецЛит, 2016. 160 с.
Korzhevskij D.Je. [Morphological diagnostics. Preparation of material for histological examination and electron microscopy: a guide]. Sankt-Peterburg: SpecLit, 2016. 160 p. (In Russian).
11. Gajek A., Burzykowski T. Linear Mixed-Effects Models Using R: A Step-by-Step Approach. New York: Springer-Verlag; 2013. 542 p.
12. Benjamini Y., Hochberg Y. Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *J Roy Stat Soc*. 1995;57(1):289-300. doi: 10.2307/2346101.
13. Furlan P.M., Have T.T., Cary M., Zemel B., Wehrli F., Katz I.R. et al. The role of stress-induced cortisol in the relationship between depression and decreased bone mineral density. *Biological Psychiatry*. 2005;57(8):911-917. doi: 10.1016/j.biopsych.2004.12.033.
14. Сельская Б.Н., Мусина Л.А., Камиллов Ф.Х. Влияние коллагенсодержащего препарата на морфологию кожи в эксперименте. *Казанский медицинский журнал*. 2017;98(6):962-967.
Sel'skaya B.N., Musina L.A., Kamilov F.Kh. [Experimental effect of collagen-containing medication on skin morphology]. *Kazanskij medicinskij zhurnal* [Kazan Medical Journal]. 2017;98(6):962-967. (In Russian). doi: 10.17750/kmj2017-962.
15. Kuivaniemi H., Tromp G. Type III collagen (COL3A1): Gene and protein structure, tissue distribution and associated diseases. *Gene*. 2019;707:151-171. doi: 10.1016/j.gene.2019.05.003.
16. Chung I.-M., Kim Y.-M., Yoo M.-H., Shin M.-K., Kim C.-K., Suh S.H. Immobilization stress induces endothelial dysfunction by oxidative stress via the activation of the angiotensin II/its type I receptor pathway. *Atherosclerosis*. 2010;213(1):109-114. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2010.08.052.
17. Miao-Miao Xu, Hao-Yuan Deng, Hui-Hua Li. MicroRNA-27a regulates angiotensin II-induced vascular smooth muscle cell proliferation and migration by targeting α -smooth muscle-actin in vitro. *Bioch Biophys Res Com*. 2019;509(4):973-977. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.01.047.
18. Skaletz-Rorowski A., Walsh K. Statin therapy and angiogenesis. *Curr Opin Lipidol*. 2003;14(6):599-603. doi: 10.1097/00041433-200312000-00008.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Осочук Сергей Стефанович — д-р мед. наук, профессор, заведующий научно-исследовательской лабораторией, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», г. Витебск, Республика Беларусь
oss62@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2074-3832>

Яковлева Ольга Святославна — старший преподаватель кафедры стоматологии детского возраста и ортодонтии с курсом ФПК и ПК, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», г. Витебск, Республика Беларусь
olga.lobkova88@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-6833-5005>

Марцинкевич Александр Францевич — канд. биол. наук, доцент кафедры общей и клинической биохимии с курсом ФПК и ПК, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», г. Витебск, Республика Беларусь
argentum32@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-3655-4489>

Карпенко Елена Александровна — канд. вет. наук, старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», г. Витебск, Республика Беларусь
lenko.karpenko@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-4099-8405>

AUTHORS' INFORMATION:

Sergey S. Asachuk — Dr. Sci. (Med.), Professor, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus
oss62@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2074-3832>

Olga S. Yakovleva — Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus
olga.lobkova88@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-6833-5005>

Aliaksandr F. Martsinkevich — Cand. Sci. (Biol.), Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus
argentum32@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-3655-4489>

Alena A. Karpenka — Cand. Sci. (Vet.), Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus
lenko.karpenko@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-4099-8405>

Заявленный вклад авторов

Осочук С.С. — концепция и дизайн исследования.

Яковлева О.С. — сбор и обработка материала.

Марцинкевич А.Ф. — статистическая обработка полученных результатов.

Карпенко Е.А. — сбор и обработка материала.

Все авторы прочли и одобрили финальную версию рукописи статьи. Все авторы согласны нести ответственность за все аспекты работы, чтобы обеспечить надлежащее рассмотрение и решение всех возможных вопросов, связанных с корректностью и надежностью любой части работы.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.