

ВЛИЯНИЕ СОВМЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ АТОРВАСТАТИНА И АЛЬФА-КАЛЬЦИДОЛА НА СОДЕРЖАНИЕ 1,25 ДИГИДРОКСИХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛА И БЕЛКА PCSK9 В КРОВИ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС

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

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

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №6. – С. 23-29.

THE INFLUENCE OF ATORVASTATIN AND ALPHA-CALCIDOL JOINT APPLICATION ON THE CONTENT OF 1.25 DIHYDROXYCHOLECALCIFEROL AND PROTEIN PSSK9 IN THE LABORATORY RATS BLOOD

OSOCHUK S.S., YAKOVLEVA O.S., MARTSINKEVICH A.F.

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

Vestnik VGMU. 2019;18(6):23-29.

Резюме.

Ранее нами установлено, что совместное применение аторвастатина и α -кальцидола в течение 90 дней увеличивает содержание холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП) и обладает более высокой минерализующей активностью по сравнению с монотерапией аторвастатином. Известно, что одним из механизмов увеличения содержания ХС ЛПНП под влиянием статинов является их способность стимулировать продукцию пропротеин конвертазы субтилизин/кексин 9 (PCSK9), элиминирующей рецепторы к липопротеинам низкой плотности с поверхности клеток. В связи с вышеуказанной целью настоящей работы было установить возможность связи роста содержания ХС ЛПНП с увеличением содержания PCSK9, а также потенцирования минерализующей активности α -кальцидола возможностью его стерического взаимодействия с активным центром CYP2R1 (25-гидроксилазы). Для достижения цели проведено исследование на 120 неимбредных лабораторных крысах-самцах, разделенных на 4 группы: интактные, плацебо (внутрижелудочное введение 1% крахмала), внутрижелудочное введение аторвастатина (10 мг/кг) на 1% крахмале и совместное введение аторвастатина и α -кальцидола (0,1 мкг/кг). В крови иммуноферментным методом определяли содержание PCSK9 и 1,25(OH)₂D₃. Особенности стерических взаимодействий α -кальцидола и активного центра CYP2R1 изучали в программах AutoDock VINA и LigandScout.

Установлено, что рост содержания холестерина липопротеинов низкой плотности обусловлен увеличением содержания PCSK9, а α -кальцидол способен выступать в качестве стерического ингибитора CYP2R1. Сделано предположение о невозможности связи потенцирующей кальцификацию костной ткани активности α -кальцидола с его преобразованием в 1,25(OH)₂D₃. Возможно, минерализующая активность связана со способностью α -кальцидола преобразовываться в 1,20(OH)₂D₃, обладающий аналогичной 1,25(OH)₂D₃ активностью.

Ключевые слова: витамин D, белок PCSK9, аторвастатин.

Abstract.

Previously, we have found that the combined use of atorvastatin and α -calcidol during 90 days increases the cholesterol content of low density lipoproteins (LDL-C) and has a higher mineralizing activity compared to atorvastatin monotherapy. It is known that one of the mechanisms for increasing LDL cholesterol under the influence of statins is their ability to stimulate the production of proprotein convertase subtilisin / kexin 9 (PCSK9), which eliminates low-density lipoprotein receptors from the cell surface. In connection with the above the goal of the present work was to establish the possibility of a connection between the increase in LDL cholesterol and the increase in PCSK9 as well as the potentiation of the mineralizing activity of α -calcidol by the possibility of its steric interaction with the active center of CYP2R1

(25-hydroxylase).

To achieve this goal, a study was conducted on 120 non-inbred laboratory male rats, divided into 4 groups: intact, placebo (intra-gastric administration of 1% starch), intra-gastric administration of atorvastatin (10 mg/kg) on 1% starch, and the combined administration of atorvastatin and α -calcitriol (0.1 mcg/kg). In their blood, the content of PCSK9 and $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ was determined by enzyme immunoassay. The peculiarities of steric interactions of α -calcitriol and the active center of CYP2R1 (25-hydroxylase) were studied in AutoDock VINA and LigandScout programs.

It has been found that the increase in the low-density lipoprotein cholesterol is due to an increase in PCSK9, and α -calcitriol is able to act as a steric inhibitor of CYP2R1. The assumption has been made about the impossibility of linking the activity of α -calcitriol potentiating bone tissue calcification with its conversion to $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Perhaps the mineralizing activity is associated with the ability of α -calcitriol to convert to $1,20(\text{OH})_2\text{D}_3$, which has the activity similar to $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

Key words: rats, vitamin D, PCSK9 protein, atorvastatin, α -calcitriol.

Проблема остеопороза является одной из наиболее важных в современной медицине, поскольку по распространенности он занимает 4 место после сердечно-сосудистых, онкологических заболеваний и сахарного диабета. Согласно статистическим данным 85% остеопорозов приходится на постменопаузальный период [1]. Именно этот возраст является и возрастом проявления проатерогенных изменений клинико-лабораторных показателей, которые являются критериями для назначения гиполипидемической терапии ингибиторами ключевого фермента синтеза холестерина – ОМГ-редуктазы (статины) и в частности одним из наиболее широко используемых в клинической практике – аторвастатином (АТВ). Вместе с тем, поскольку статины способны оказывать влияние на содержание гормонов [2], участвующих в регуляции образования активной формы витамина D ($1,25$ дигидроксихолекальциферола), нами ранее были проведены исследования совместного применения аторвастатина и 1 -гидроксихолекальциферола (α -кальцитриола) на минерализацию костной ткани [3]. В ходе проведенных исследований также было показано [4], что совместное применение аторвастатина (АТВ) и α -кальцитриола (1α -холекальциферола) увеличивает содержание холестерина нативных (полученных методом ультрацентрифугирования) липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП) и потенцирует минерализующую активность АТВ [3]. Однако такой же рост содержания ХС ЛПНП был отмечен и в контрольных группах плацебо и животных, которым вводился только АТВ. Вместе с тем, механизмы выявленного эффекта могут значительно различаться. Поскольку при стрессе активируется сывороточная липопротеинлипаза (ЛПЛ) [5], рост содержания ХС ЛПНП в группе плацебо вероятнее всего был обусловлен стрессиндуцированным увеличением

её активности [4]. В группах с введением АТВ и его совместным введением с α -кальцитриолом возможны либо стрессиндуцированный рост содержания ХС ЛПНП, либо увеличение содержания пропротеин конвертазы субтилизин/кексин 9 (PCSK9), элиминирующей рецепторы к ЛПНП с поверхности клеток [6]. В литературе описана способность статинов увеличивать количество промежуточной формы витамина D – 25 -гидроксихолекальциферола ($25(\text{OH})\text{D}_3$) [7], количество которого при мультицентровых исследованиях обратно коррелировало с активностью гена, кодирующего PCSK9 [8], а также стимулировать продукцию тестостерона [9], ответственного за активность 1α -гидроксилазы [10], преобразующей $25(\text{OH})\text{D}_3$ в активную форму витамина D – $1,25$ -дигидроксихолекальциферола ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) [11]. Вместе с тем, ранее нами были получены результаты, свидетельствующие о способности статинов снижать содержание тестостерона в эксперименте [2]. По этой причине рост активности минерализации костной ткани под влиянием АТВ может быть не связан с увеличением продукции $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Более того, стерические взаимодействия α -кальцитриола с активным центром 25 -гидроксилазы могут не позволить ей преобразовать α -кальцитриол (1 -гидроксихолекальциферол) в $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Таким образом, целью настоящей работы было определение количества PCSK9 и $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, а также трехмерное моделирование стерических взаимоотношений α -кальцитриола и активного центра 25 -гидроксилазы.

Материал и методы

Эксперимент проводился в течение 3-х месяцев на 120 неимбредных лабораторных крысах-самцах, разделенных на 4 группы: 1 группа – интактные животные; 2 группа – животные плацебо

(внутрижелудочное введение 1% крахмала); 3 группа – внутрижелудочное введение ATV в дозе 10 мг/кг массы тела; 4 группа – введение ATV в дозе 10 мг/кг массы тела совместно с α -кальцидолом в дозе 0,1 мкг/кг. Животные содержались в условиях вивария Витебского медицинского университета на сбалансированном зерновом корме. Выведение животных из эксперимента осуществлялось декапитацией под эфирным наркозом в утренние часы, через сутки после последнего введения лекарственных средств. Кровь собирали из шейных сосудов в сухие стеклянные пробирки и до образования сгустка выдерживали в холодильнике при температуре +4° С. Сыворотку получали центрифугированием в рефрижераторной центрифуге РС-6 при 3000 оборотах в минуту, расфасовывали в пластиковые пробирки и до обработки хранили в морозильной камере Forma 705 (США) при -60°С.

Определение количества PCSK9 проводилось с использованием иммуноферментных наборов Wuhan Fine Biotech Co., Ltd, China, Catalogue No:ER0134 и Elabscience Biotechnology Inc, Catalog. No. E-EL-0016 на фотометре Ф300 ТП Витязь (РБ) при $\lambda=450$ нм. Для выяснения возможности стерических взаимодействий 25-гидроксилазы CYP2R1 (EC 1.14.99.38) и 1 α -гидроксилютеалькальциферола (α -кальцидола 1(OH)D₃) использована программная консольная утилита AutoDock VINA [12], а также программа для построения фармакофоров LigandScout [13]. Для анализа в банке данных белков была выбрана модель 3CZH как обладающая наибольшим разрешением (2.3 Å) и наибольшим количеством аминокислотных остатков (962) [14].

Так как 25-гидроксилаза представляет собой гомодимер, для исследования была использо-

вана А-цепь с 38 по 502 аминокислотных остатка (В-цепь была удалена).

В качестве лигандов были использованы следующие молекулы: холестерол, витамин D₃, витамин D₂, витамин 1 α -ОН D₂, витамин 1 α -ОН D₃, стеран (в качестве внутреннего стандарта).

Статистическую обработку проводили с использованием пакета статистических программ STATISTICA 10RUS, лиц. № sta999K34156W, принадлежит УО «ВГМУ» и R 3.5.2 [15]. Полученные данные проверялись на нормальность распределения с помощью критериев Колмогорова-Смирнова и Хи-квадрат Пирсона. В связи с неправильным распределением и неравенством дисперсий исследуемых показателей был применен непараметрический критерий Мана-Уитни для независимых выборок [16].

Результаты и обсуждение

Как видно из результатов, представленных в таблице 1, совместное введение ATV и α -кальцидола статистически значимо увеличило содержание PCSK9 ($p=0,018$), что позволяет сделать вывод о том, что выявленное нами ранее увеличение содержания ХС ЛПНП [2] при совместном введении ATV и α -кальцидола обусловлено увеличением количества PCSK9. Вероятно, совместное использование ATV и α -кальцидола нецелесообразно в виду их совместного проатерогенного действия. Однако для уточнения данного предположения необходимо продолжить исследования с целью определения количества окисленных ЛПНП, являющихся непосредственными участниками формирования атеросклеротической бляшки.

Выявленный же ранее рост содержания ХС ЛПНП под влиянием ATV, вероятнее всего, об-

Таблица 1 – Влияние ATV и α -кальцидола на исследуемые показатели

	1,25OHD ₃ пг/мл	PCSK9 пг/мл
	Me Q ₁ ;Q ₃	
Контроль	57,42 39,18;87,53	110,29 82,6; 120,24
Плацебо	59,46 39,38; 70,80	109,81 100,06; 145,81
Аторвастатин	72,07 49,21;96,77	126,03 101,99; 152,26
Аторвастатин+ α -кальцидол	71,11 49,92; 88,68	159,3 112,69; 177,76 P _к =0,018

условлен стрессорным ростом активности ЛПЛ [3] как ответ на длительное (90 дней) внутрижелудочное введение зонда.

Обращает на себя внимание факт отсутствия статистически значимых изменений содержания $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, который в группе с введением ATV может обуславливаться его способностью снижать содержание тестостерона в крови [2] как активатора 1α -гидроксилазы, вне зависимости от описанной в литературе способности $25(\text{OH})\text{D}_3$ стимулировать его продукцию [9]. Таким образом, описанная в литературе способность статинов стимулировать минерализацию костной ткани [7], а также описанная нами ранее способность ATV увеличивать рентгенологическую плотность зубов [3] не связаны с ростом продукции активной формы витамина D – $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Потенцирующее действие α -кальцидола на ранее описанную минерализующую активность ATV также не связана с ростом содержания $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Вероятно, отсутствие роста содержания $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ обусловлено стерическими особенностями взаимодействия α -кальцидола с 25-гидроксилазой, а минерализующая активность связана с описанной в литературе способностью α -кальцидола преобразовываться в $1,20(\text{OH})_2\text{D}_3$, обладающий аналогичной $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ активностью [17].

В ходе проведения молекулярного докинга были получены нижеследующие энергии связывания исследуемых субстратов с активным центром 25-гидроксилазы (рис. 1).

Как видно на рисунке 1 и таблице 2, наименьшей энергией связывания с активным центром 25-гидроксилазы имеет $1\alpha(\text{OH})\text{D}_2$, которая статистически значимо ниже энергии связывания эргокальциферола (vit D2) ($p < 0,001$). При этом энергия связывания $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ (α -кальцидола) не отличается от витамина D₂ ($p = 0,43$) и выше, чем у $1\alpha(\text{OH})\text{D}_2$ ($p < 0,001$). Сравнение $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ и основного субстрата 25-гидроксилазы (витамин D) показало, что преимуществом при связывании с активным центром фермента будет пользоваться $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ как имеющий статистически значимо более низкую энергию связывания с активным центром фермента ($p = 0,0112$).

Таким образом, исходя из вышеизложенного можно заключить, что α -кальцидол способен вытеснять витамин D из активного центра фермента и является его конкурентом при синтезе $25(\text{OH})\text{D}_3$.

Построение фармакофоров показало (рис. 2), что участок гидроксирования $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ ориентируется относительно активного центра фермента неоптимальным образом, поскольку вторичный атом углерода оказывается экранирован от гема метильными группами и, таким образом, может выступать в качестве ингибитора 25-гидроксилазы.

Исходя из вышеизложенного можно заключить, что $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ (α -кальцидол) способен выступать в качестве ингибитора 25-гидроксилазы, снижая, таким образом, активность синтеза $25(\text{OH})\text{D}_3$, и приводить к нарушению взаимодей-

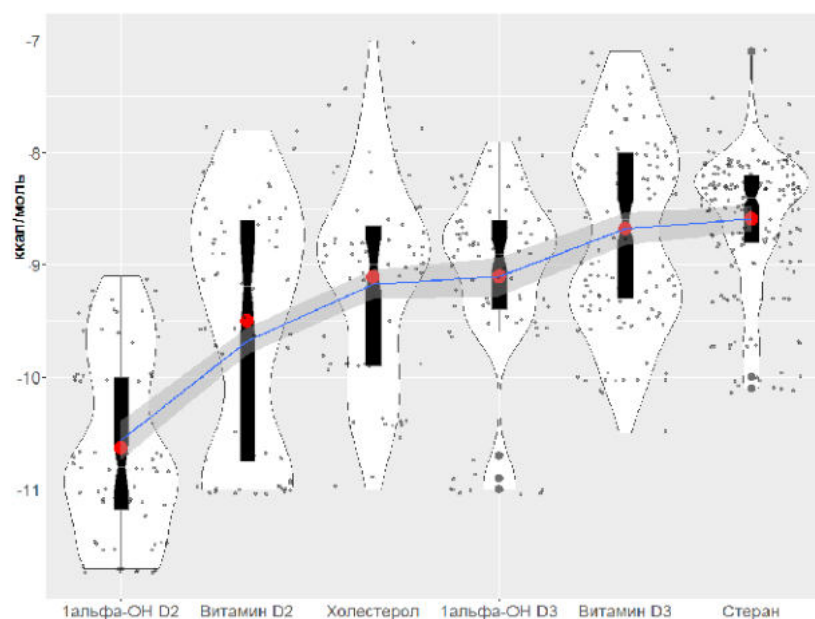


Рисунок 1 – Энергия связывания субстратов с CYP2R1.

Таблица 2 – Результаты попарного сравнения энергии связывания исследуемых субстратов с CYP2R1

Субстраты	Z-значение	p-значение
1альфа-ОН D2 - 1альфа-ОН D3	-7,414122	< 0,001
1альфа-ОН D2 - Витамин D2	-5,364944	< 0,001
1альфа-ОН D3 - Витамин D2	1,6205074	0,436
1альфа-ОН D2 - Витамин D3	-10,958	< 0,001
1альфа-ОН D3 - Витамин D3	-3,054977	0,0112
Витамин D2 - Витамин D3	-4,557518	< 0,001
1альфа-ОН D2 - Стеран	-12,88235	< 0,001
1альфа-ОН D3 - Стеран	-4,446422	< 0,001
Витамин D2 - Стеран	-5,908879	< 0,001
Витамин D3 - Стеран	-1,28389	0,7081
1альфа-ОН D2 - Холестерол	-6,955622	< 0,001
1альфа-ОН D3 - Холестерол	0,0754254	1,0000
Витамин D2 - Холестерол	-1,47144	0,5405
Витамин D3 - Холестерол	2,9414956	0,0148
Стеран - Холестерол	4,2071055	< 0,001

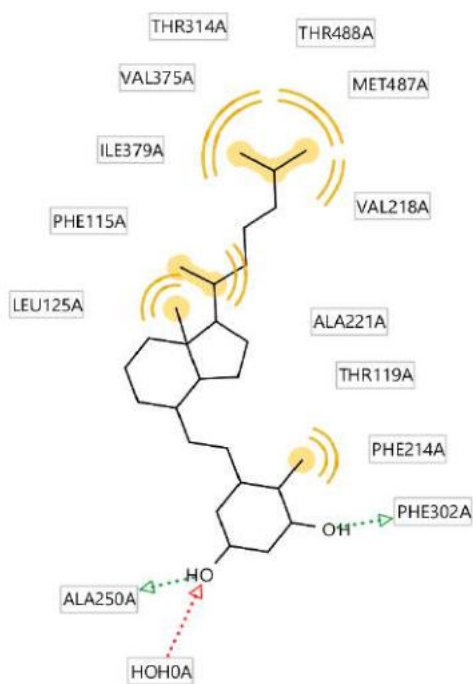


Рисунок 2 – Стерические взаимодействия 1α-(ОН)D₃ с аминокислотами активного центра 25-гидроксилазы.

ствия последнего с геном PCSK9. Следствием таких событий может быть увеличение продукции PCSK9 и рост содержания ХС ЛПНП, что согласуется с полученными нами фактическими данными. Полученные результаты могут быть противопоказанием к совместному использованию аторвастатина и α-кальцидола.

Вместе с тем, данные выводы требуют дальнейшего изучения.

Заключение

1. Совместное введение α-кальцидола и ATV в течение 3-х месяцев увеличивает количество PCSK9.
2. Минерализующая активность ATV и α-кальцидола не связана с ростом активной формы витамина D.
3. Трехмерное моделирование взаимодействия α-кальцидола и активного центра 25-гидроксилазы свидетельствует о способности α-кальцидола выступать в качестве ингибитора данного фермента.

Работа выполнена в рамках Государственной программы научных исследований «Фундаментальные и прикладные науки – медицине», №ГР 20190142 от 26.02.2019.

The research was conducted within the frames of Scientific Investigations State Programme «Fundamental and Applied Sciences to Medicine».

Литература

1. Якушевская, О. В. Активные метаболиты витамина D в лечении постменопаузального остеопороза / О. В. Якушевская // Мед. совет. – 2017. – № 2. – С. 100–104.
2. Буянова, С. В. Влияние статинов на гормональный спектр

- крови и содержание холестерина в надпочечниках белых лабораторных крыс / С. В. Буянова, С. С. Осочук // Вестн. ВГМУ. – 2014. – Т. 13, № 1. – С. 31–37.
3. Осочук, С. С. Влияние аторвастатина и α -кальцидола на минеральный состав костной ткани зуба в эксперименте / С. С. Осочук, О. С. Яковлева // Лаборатор. диагностика. Восточ. Европа. – 2018. – Т. 7, № 2. – С. 250–257.
 4. Осочук, С. С. Влияние длительного приёма аторвастатина и 1-холекальциферола на состав нативных липопротеиновых комплексов крыс / С. С. Осочук, О. С. Яковлева // Лаборатор. диагностика. Восточ. Европа. – 2017. – Т. 6, № 4. – С. 465–470.
 5. Retroperitoneal white adipose tissue lipoprotein lipase activity is rapidly down-regulated in response to acute stress / A. Casanovas [et al.] // J. Lipid. Res. – 2007 Apr. – Vol. 48, N 4. – P. 863–868.
 6. Новые возможности гиполипидемической терапии / К. С. Бенимецкая [и др.] // Сибир. мед. обозрение. – 2017. – № 4. – С. 65–81.
 7. Atorvastatin-induced osteoclast inhibition reduces orthodontic relapse / G. S. Dolci [et al.] // Am. J. Orthod. Dentofacial. Orthop. – 2017 Mar. – Vol. 151, N 3. – P. 528–538.
 8. Serum lipoprotein composition and vitamin D metabolite levels in clinically isolated syndromes: Results from a multi-center study / R. W. Browne [et al.] // J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. – 2014 Sep. – Vol. 143. – P. 424–433.
 9. Association between plasma 25-OH vitamin D and testosterone levels in men / K. Nimptsch [et al.] // Clin. Endocrinol. (Oxf.). – 2012 Jul. – Vol. 77, N 1. – P. 106–112.
 10. Hagenfeldt, Y. Stimulatory effect of testosterone on renal 25-hydroxyvitamin D3-1 α -hydroxylase in guinea pig / Y. Hagenfeldt, H. Eriksson, I. Björkhem // Biochim. Biophys. Acta. – 1989 Mar. – Vol. 1002, N 1. – P. 84–88.
 11. Holick, M. F. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets / M. F. Holick // J. Clin. Invest. – 2006 Aug. – Vol. 116, N 8. – P. 2062–2072.
 12. AutoDock Vina – molecular docking [Electronic resource]. – Mode of access: <http://vina.scripps.edu/>. – Date of access: 28.11.2019.
 13. Ligand Scout – User friendly advanced molecular design [Electronic resource]. – Mode of access: <http://www.inteligand.com/ligandscout/>. – Date of access: 28.11.2019.
 14. RCSB Protein Data Bank [Electronic resource]. – Mode of access: <http://www.rcsb.org>. – Date of access: 28.11.2019.
 15. The R Project for Statistical Computing [Electronic resource]. – Mode of access: <http://www.r-project.org>. – Date of access: 28.11.2019.
 16. Боровиков, В. П. STATISTICA. Искусство анализа данных на компьютере / В. П. Боровиков. – 2-е изд. – Санкт-Петербург: Питер, 2003. – 688 с.
 17. Metabolism of 1 α -hydroxyvitamin D3 by cytochrome P450scc to biologically active 1 α ,20-dihydroxyvitamin D3 / R. C. Tuckey [et al.] // J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. – 2008 Dec. – Vol. 112, N 4/5. – P. 213–219.

Поступила 12.09.2019 г.

Принята в печать 27.11.2019 г.

References

1. Yakushevskaya OV. Active vitamin D metabolites in the treatment of postmenopausal osteoporosis. Med Sovet. 2017;(2):100-4. (In Russ.)
2. Buyanova SV, Osochuk SS. The effect of statins on the hormonal spectrum of blood and cholesterol in the adrenal glands of white laboratory rats. Vestn VGMU. 2014;13(1):31-7. (In Russ.)
3. Osochuk SS, Yakovleva OS. The effect of atorvastatin and α -calcidol on the mineral composition of tooth bone tissue in the experiment. Laborator Diagnostika Vostoch Evropa. 2018;7(2):250-7. (In Russ.)
4. Osochuk SS, Yakovleva OS. The effect of long-term administration of atorvastatin and 1-cholecalciferol on the composition of native rat lipoprotein complexes. Laborator Diagnostika Vostoch Evropa. 2017;6(4):465-70. (In Russ.)
5. Casanovas A, Parramon N, de la Cruz F, Andrés O, Terencio J, López-Tejero MD, et al. Retroperitoneal white adipose tissue lipoprotein lipase activity is rapidly down-regulated in response to acute stress. J Lipid Res. 2007 Apr;48(4):863-8. doi: 10.1194/jlr.M600487-JLR200
6. Benimetskaya KS, Atyukov PA, Astrakov SV, Ragino YuI. New possibilities of lipid-lowering therapy. Sibir Med Obozrenie. 2017;(4):65-81. (In Russ.)
7. Dolci GS, Portela LV, Onofre de Souza D, Medeiros Fossati AC. Atorvastatin-induced osteoclast inhibition reduces orthodontic relapse. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2017 Mar;151(3):528-538. doi: 10.1016/j.ajodo.2016.08.026
8. Browne RW, Weinstock-Guttman B, Zivadinov R, Horakova D, Bodziak ML, Tamaño-Blanco M5, et al. Serum lipoprotein composition and vitamin D metabolite levels in clinically isolated syndromes: Results from a multi-center study. J Steroid Biochem Mol Biol. 2014 Sep;143:424-33. doi: 10.1016/j.jsbmb.2014.06.007
9. Nimptsch K, Platz EA, Willett WC, Giovannucci E. Association between plasma 25-OH vitamin D and testosterone levels in men. Clin Endocrinol (Oxf). 2012 Jul;77(1):106-12. doi: 10.1111/j.1365-2265.2012.04332.x
10. Hagenfeldt Y, Eriksson H, Björkhem I. Stimulatory effect of testosterone on renal 25-hydroxyvitamin D3-1 α -hydroxylase in guinea pig. Biochim Biophys Acta. 1989 Mar;1002(1):84-8. doi: 10.1016/0005-2760(89)90068-4
11. Holick MF. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. J Clin Invest. 2006 Aug;116(8):2062-72. doi: 10.1172/JCI29449
12. AutoDock Vina – molecular docking. Available from: <http://vina.scripps.edu/> [Accessed 28th Nov 2019].
13. Ligand Scout – User friendly advanced molecular design. Available from: <http://www.inteligand.com/ligandscout/>.
14. RCSB Protein Data Bank. Available from: <http://www.rcsb.org> [Accessed 28th Nov 2019].
15. The R Project for Statistical Computing. Available from: <http://www.r-project.org> [Accessed 28th Nov 2019].
16. Borovikov VP. STATISTICA. The art of computer data analysis. 2-e izd. Saint Petersburg, RF: Piter; 2003. 688 p. (In Russ.)
17. Tuckey RC, Janjetovic Z, Li W, Nguyen MN, Zmijewski MA, Zjawiony J, et al. Metabolism of 1 α -hydroxyvitamin D3 by cytochrome P450scc to biologically active 1 α ,20-dihydroxyvitamin D3. J Steroid Biochem Mol Biol. 2008 Dec;112(4-5):213-9. doi: 10.1016/j.jsbmb.2008.10.005

Submitted 12.09.2019

Accepted 27.11.2019

Сведения об авторах:

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

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

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

Information about authors:

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

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

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

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27/3, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, научно-исследовательская лаборатория. E-mail: OSS62@mail.ru – Осочук Сергей Стефанович.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27/3 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Scientific-Research Laboratory. E-mail: oss62@mail.ru – Sergey S. Osochuk.