

Элбахнасави А.С.¹, Валеева Э. Р.¹, Элсайед И. М.²УДК616.71-007.234-07
DOI 10.25694/URMJ.2019.15.28

Защитное влияние диетовых масел, содержащих жирные кислоты омега-3, на глюкокортикоидный индуцированный остеопороз

1 - Институт фундаментальной медицины и биологии, Казанский федеральный университет, г. Казань;
2- Департамент по вопросам питания и пищевых наук, Национальный исследовательский центр Египет, Докки, Гиза

Elbahnasawy A. S., Valeeva E. R., El-Sayed E. M.

The protective effect of dietary oils containing omega-3 fatty acids against glucocorticoid-induced osteoporosis

Резюме

Цель: Глюкокортикоиды (ГК) считаются одной из основных причин вторичного остеопороза. Полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) играют жизненно важную роль в метаболизме костей. Настоящее исследование было предпринято для определения того, могут ли добавки с пищевыми маслами, содержащими омега-3 ПНЖК, такие как рыбий жир, льняное масло или соевое масло, играть положительную роль в снижении развития остеопороза, вызванного глюкокортикоидами. Методы: самцов крыс подразделяли на 5 групп: нормальная контрольная группа; контрольная группа преднизолона; группа соевого масла; группа льняного масла; группа рыбьего жира. Результаты: Текущие данные показали значительное снижение минеральной плотности кости (МПК) и массы бедренной кости при контроле преднизолоном по сравнению с нормальным контролем, что сопровождалось заметным снижением уровня кальция в плазме и 1,25-(ОН) 2-витамина D3, и повышенные уровни С-терминального телопептида (СТХ). Добавки с рыбьим жиром, соевым маслом или льняным маслом помогли улучшить уровень кальция в плазме. Кроме того, резорбция кости была подавлена, что отражалось в снижении уровня СТХ. Выводы: Это исследование показало, что добавки с пищевыми маслами, которые содержат омега-3 ПНЖК, такими как рыбий жир, соевое масло или льняное масло, играют роль в предотвращении потери костной массы и регуляции метаболизма костей, особенно рыбьего жира, который оказывает более эффективное воздействие на защита от остеопороза, вызванного глюкокортикоидами.

Ключевые слова: остеопороз, вызванный глюкокортикоидами, рыбий жир, соевое масло, льняное масло, воспаление.

Summary

Objective: Glucocorticoids (GCs) are considered as one of the main reasons of the secondary osteoporosis. Polyunsaturated fatty acids (PUFAs) have a vital role in bone metabolism. The present study was undertaken to determine whether supplementation with dietary oils which have omega-3 PUFAs such as fish oil, flaxseed oil or soybean oil could play a positive role in reducing development of glucocorticoid-induced osteoporosis. Methods: male rats were subdivided into 5 groups: normal control group; prednisolone control group; soybean oil group; and fish oil group. Findings: The current data exhibited significant depletion in bone mineral density (BMD) and mass of femur in prednisolone control compared to normal control, accompanied with marked decrease in levels of plasma calcium and 1,25-(OH)₂-vitamin D₃, and elevated levels of C-terminal telopeptide (CTX). Supplementation with fish oil, soybean oil or flaxseed oil helped to improve calcium levels in plasma. Additionally, bone resorption was suppressed as reflected from the decreased levels of CTX. Conclusions: This study demonstrated that supplementation with dietary oils which contain omega-3 PUFAs such as fish oil, soybean oil or flaxseed oil play a role in the prevention of bone loss and regulation of bone metabolism, especially in fish oil which has more impact in protection against glucocorticoid-induced osteoporosis.

Key words: glucocorticoid-induced osteoporosis, fish oil, soybean oil, flaxseed oil.

Введение

Остеопороз распознается по уменьшению плотности кости и ухудшению структуры кости, что вызывает снижение прочности кости и увеличение хрупкости кости и проблем с переломами [1]. Приблизительно, 200 миллионов человек во всем мире имеют проблемы, связанные с остеопорозом, и ежегодно регистрируется более 9 миллионов переломов. Около 20% мужчин и 33% женщин старше 50 лет подвержены высокому риску переломов вследствие остеопороза [2].

Глюкокортикоиды (ГК) на протяжении десятилетий используются для лечения многих заболеваний, чтобы подавить воспаление тканей и иммунологические реакции [3]. ГК подавляют формирование костей, увеличивают резорбцию кости и вызывают отрицательный баланс кальция, а также вызывают высокий риск переломов и приводят к остеопорозу, вызванному глюкокортикоидами [4].

Сообщалось, что омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты (ω -3 ПНЖК) оказывают ценный эффект в регуляции метаболизма кости и положительно коррелируют с минеральной плотностью кости [5]. Морская рыба является основным источником омега-3 жирных кислот, Hutchins-Wiese et al. [6] обнаружили, что рыбий жир может уменьшить резорбцию кости и ингибирует остеокластогенез, тем самым уменьшая резорбцию кости. Некоторые растительные масла, такие как льняное семя и соя, являются богатыми источниками ПНЖК. Незаменимая жирная кислота, альфа-линоленовая кислота (АЛК), обычно потребляется из различных пищевых источников, включая орехи и семена (грецкие орехи и семена чиа) и растительные масла (льняное масло, масло канолы и соевое масло) [5].

Отсутствие эффективных методов лечения риска развития остеопороза у лиц, получавших глюкокортикоиды, приводит к тому, что особое внимание уделяется стратегиям профилактики, таким как использование диеты для защиты потери костной массы в качестве побочного эффекта для пациентов, которых лечат преднизолоном. Поэтому основной целью настоящего исследования была оценка роли соевого масла, льняного масла и рыбьего жира в предотвращении потери костной ткани и остеопороза у крыс, получавших глюкокортикоиды.

Материалы и методы

Экспериментальные животные

Самцов крыс Sprague Dawley в возрасте двенадцати недель (135 ± 15 г) покупали в доме лабораторных животных, в национальном исследовательском центре, Каир, Египет. Причина, по которой мы избегали самок крыс в этом эксперименте, состоит в том, что из-за флуктуации их гормонов во время менструального цикла эта флуктуация гормонов может влиять на наш эксперимент и результаты. У самцов крыс такой проблемы нет, поэтому в этом исследовании крысам-самцам отдается предпочтение перед самками. Экспериментальные животные содержались индивидуально в вентилируемых клетках и содержались в 12-часовом цикле освещения / 12-часовой темноты при $23-25$ ° C со свободным доступом к пище и

деионизированной воде. Это исследование было одобрено этическим комитетом национального исследовательского центра Египта.

Экспериментальный дизайн и диета

Формирование рациона было основано на очищенной сбалансированной диете AIN-93GM, которая была составлена для содержания взрослых крыс согласно Reeves et al., [7] после двух недель акклиматизации, животные были разделены на 5 групп (8 крыс на группу) как следует: I - (нормальный контроль), которому давали сбалансированную диету с подсолнечным маслом; II - (контроль за преднизолоном), которому давали сбалансированное питание и вводили преднизолон (10 мг / кг в день) [8]; III - соевое масло (S), преднизолон (10 мг / кг в день) + соевое масло (7% мас. / Мас.); IV - льняное масло (X), преднизолон (10 мг / кг в день) + льняное масло (7% мас. / Мас.); и V - рыбий жир (F), преднизолон (10 мг / кг в день) + рыбий жир (7% мас. / мас.). Экспериментальный период составил 3 недели.

Анализ крови

После экспериментального периода животных голодали в течение 12 часов, умерщвляли смещением шейки матки, и образцы крови собирали в гепаринизированные пробирки, центрифугировали при 2500 об / мин при охлаждении и отделенную плазму замораживали при -80 ° C для будущих биохимических анализов. Кальций (Ca), фосфор (P) и магний (Mg). Значения оценивали с использованием колориметрических аналитических наборов (BioSystems S.A., Коста Брава, Барселона, Испания). 1,25-(OH) 2-витамин D3 количественно измеряли в плазме с использованием набора для ELISA (IBL International GmbH, Гамбург, Германия). С-концевой телопептид (CTX) определяли с использованием одностадийного ELISA для плазменных перекрестных кругов (Osteometer BioTech, Herlev, Denmark). Гормон паращитовидной железы (ПТГ) определяли с использованием набора для ELISA (MyBiosource, Inc., Сан-Диего, США).

Исследование костей

Правое бедро каждой крысы было анатомировано, все ткани, которые покрывают кость, были удалены и промыты в физиологическом растворе. Массу бедренной кости регистрировали с помощью электронных весов, длину измеряли с помощью электронного штангенциркуля. Минеральная плотность кости бедер была определена с помощью двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии (DEXA) (Norland XR-600, Swissray International, Inc., Эдисон, Нью-Джерси, США).

Статистический анализ

Данные были статистически проанализированы с использованием статистической программы CoStat Version 6.451 (CoHort Software, США). Различия в средних значениях среди всех групп оценивали одним способом полностью рандомизированного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим специальным тестом честно значимых различий (HSD) Тьюки для сравнения различий в значениях и уточнения значимости на уровне значимости ($p < 0,05$). Результаты представлены как среднее значение \pm стандартная ошибка (SE).

Результаты и обсуждение

Минеральная плотность кости, масса и длина бедренной кости

Минеральная плотность, масса и длина бедренной кости также показаны в таблице 1. Введение преднизолона в группе положительного контроля вызывало значительное уменьшение массы бедра и минеральной плотности кости по сравнению с отрицательной нормальной группой, и уменьшение массы бедренной кости незначительно улучшалось при лечении с маслами во всех обработанных группах. Кроме того, обработка рыбьим

жиром привела к значительному увеличению МПК по сравнению с контрольной группой преднизолона. С другой стороны, не было значительного изменения длины бедренной кости во всех группах.

Кальций, фосфор и магний в крови

Плазменные минералы также были оценены (Таблица 2). Контрольная группа преднизолона продемонстрировала значительное снижение уровней кальция и фосфора в плазме по сравнению с нормальной группой, и это снижение было значительно улучшено добавлением соевого масла, льняного масла и рыбьего жира в обработан-

Таблица 1. Минеральная плотность кости, масса и длина бедренной кости у экспериментальных животных

Группы	МПК (г/см ²)	Масса бедренной кости (г/кг массы тела)	Длина бедренной кости (мм)
Нормальный контроль	0.1534 ±0.0075 ^a	3.5 ±0.19 ^a	31 ±0.3 ^a
Преднизолон контроль	0.0950 ±0.0078 ^b	2.6 ±0.23 ^b	30 ±0.5 ^a
S	0.1157 ±0.0084 ^b	3.0 ±0.22 ^{ab}	31 ±0.5 ^a
X	0.1016 ±0.0061 ^b	3.0 ±0.18 ^{ab}	31 ±0.4 ^a
F	0.1487 ±0.0072 ^a	3.2 ±0.16 ^{ab}	31 ±0.4 ^a

Примечание: Данные выражены как среднее значение ± стандартная ошибка (SE)

Различные надстрочные буквы в одном и том же столбце значительно отличаются друг от друга при $p < 0,05$ МПК (минеральная плотность кости); S (соевое масло); X (льняное масло); F (рыбий жир)

Таблица 2. Изменения в некоторых минералах плазмы нормального контроля, преднизолона контроля и обработанных групп

Группы	Кальций (мг/дл)	Фосфор (мг/дл)	Магний (мг/дл)
Нормальный контроль	9.31 ±0.10 ^a	4.43 ±0.10 ^a	1.91 ±0.07 ^a
Преднизолон контроль	8.01 ±0.11 ^a	3.21 ±0.10 ^a	1.89 ±0.07 ^a
S	8.76 ±0.11 ^b	3.68 ±0.10 ^a	1.95 ±0.09 ^a
X	8.43 ±0.10 ^a	3.87 ±0.09 ^{bc}	1.83 ±0.08 ^a
F	9.03 ±0.11 ^{ab}	4.08 ±0.05 ^b	1.79 ±0.08 ^a

Примечание: Данные выражены как среднее значение ± стандартная ошибка (SE) (n = 8)

Различные надстрочные буквы в одном и том же столбце значительно отличаются друг от друга при $p < 0,05$ S (соевое масло); X (льняное масло); F (рыбий жир)

Таблица 3. Уровни 1,25- (ОН) 2-витамина D3, ПТГ и СТХ в плазме.

Группы	1,25- (ОН) 2-витамина D3 (пг/мл)	ПТГ (пг/мл)	СТХ (пг/мл)
Нормальный контроль	59.7 ±0.8 ^a	51.5 ±0.8 ^a	346 ±6 ^d
Преднизолон контроль	49.9 ±1.3 ^b	55.6 ±0.9 ^{ab}	487 ±5 ^a
S	52.1 ±0.9 ^b	56.8 ±0.9 ^a	411 ±7 ^b
X	48.5 ±1.5 ^b	53.1 ±0.8 ^{bc}	425 ±6 ^b
F	61.3 ±1.7 ^a	52.7 ±1.0 ^a	373 ±9 ^c

Приложение: Данные выражены как среднее значение ± стандартная ошибка (SE) (n = 8)

Различные надстрочные буквы в одном и том же столбце значительно отличаются друг от друга при $p < 0,05$ ПТГ (гормон паращитовидной железы); СТХ (С-концевой телопептид); S (соевое масло); X (льняное масло); F (рыбий жир)

ных группах. Группа рыбьего жира имела самое высокое значение кальция среди других обработок и не показала значительных изменений по сравнению с нормальным контролем, в то время как уровни магния в плазме во всех группах не показали каких-либо существенных различий.

Биомаркеры, связанные с метаболизмом кости

Таблица 3 иллюстрирует изменения в 1,25- (ОН) 2-витамина D₃, ПТГ и СТХ. Добавки с рыбьим жиром продемонстрировали наибольшую ценность витамина D₃ без существенных различий с нормальным контролем, в то время как добавки с льняным маслом показали самую низкую ценность. Введение преднизолона в контрольной группе значительно увеличивало ПТГ и СТХ по сравнению с нормальным контролем, уровень ПТГ снижался после лечения льняным маслом и рыбьим жиром. Кроме того, уровни СТХ во всех обработанных группах были значительно улучшены по сравнению с контрольной группой преднизолона.

ГК поглощаются через клеточную мембрану специальными рецепторами и влияют на метаболизм липидов, белков и углеводов. Воздействие GCs на кость может быть связано с дисбалансом между резорбцией кости и ремоделированием кости, окклюзией сосудов и активацией пути апоптотической передачи сигнала некоторыми GCs [9]. Тон и соавт. [10] предположили, что даже прием низких доз преднизолона значительно снижает образование костей и может ингибировать ремоделирование костей и может оказывать различное влияние на прочность костей. Существует несколько опубликованных рекомендаций по профилактике остеопороза, вызванного глюкокортикоидами.

В нескольких исследованиях сообщалось, что ПНЖК и их метаболиты играют важную роль в контроле костного метаболизма. Связь между ПНЖК и метаболизмом костей может быть связана с некоторыми предполагаемыми механизмами, такими как регуляция активности и дифференцировки остеокластов и остеобластов, а также изменение состава жирных кислот в мембранах костных клеток [11].

В настоящей работе снижение массы бедренной кости и минеральной плотности кости произошло у крыс, у которых остеопороз был вызван преднизолоном. Качмарчик-Седлак и соавт. [16, 8] обнаружили, что введение преднизолона в дозе 10 мг / кг в день в течение трех недель приводило к значительному снижению массы бедра на (11,2%). У крыс с остеопорозом, вызванным преднизолоном, отношение массы бедра к массе тела было ниже, чем у крыс из нормальной контрольной группы. Наблюдаемое уменьшение массы бедренной кости при остеопорозе может быть связано с потерей костной массы и резорбцией кости. Негативное влияние ГК на костную ткань включает как уменьшение минеральной плотности кости, так и увеличение количества переломов кости [12]. Исследование, которое проводится Pennisi et al. [13] у крыс, получавших преднизолон (5 мг / кг) в течение 4 недель, отмечалось снижение роста и низкая минеральная плотность позвонков, бедра и бедра. В нашем исследовании, кормление крыс

различными источниками PUFA увеличивало костную массу во всех обработанных группах, эти результаты были в одной линии с Lukas et al. [14] В текущем исследовании только крысы, получавшие рыбий жир, имели значительное улучшение МПК по сравнению с другими группами, получавшими лечение. Sun et al. [15] сообщили, что у крыс, которых кормили рыбьим жиром, были более высокие МПК и более крепкие кости, чем у крыс, которых кормили соевым маслом.

Наша оценка минералов плазмы показала, что введение преднизолона значительно вызывало снижение кальция и фосфора в плазме по сравнению с нормальной группой, некоторые механизмы приводят к глюкокортикоидной индуцированной потере костной ткани через воздействие на кости, вызывая увеличение экскреции кальция почками и снижение абсорбции кальция. через кишечный тракт [16]. ГК оказывают много косвенных негативных воздействий на кости, включая нарушение гомеостаза кальция и фосфора в организме через блокирование всасывания кальция и фосфора в кишечнике и увеличение выведения кальция с мочой, снижение уровня гормона роста и воздействие на ПТГ [17]. Следовательно, немедикаментозное лечение, такое как подходящее питание для предотвращения резорбции кости, необходимо для всех взрослых, которые принимают преднизолон. Наши данные показали значительное улучшение уровня кальция и фосфора в плазме после добавления соевого масла, льняного масла и рыбьего жира. Благоприятные взаимодействия между кальцием и рыбьим жиром наблюдались на крысиной модели остеопороза. Эти данные свидетельствуют о том, что регулирование всасывания и выведения кальция после добавления омега-3 ПНЖК влияют на здоровье костей, улучшая баланс кальция и обмен костной ткани [15].

В текущем исследовании группа крыс, получавших рыбий жир, имела самые высокие уровни витамина D₃ среди всех групп. Рыбий жир считается хорошим источником витамина D₃ и признан одним из основных источников витамина D₃ в рационе человека [18]. Витамин D гидроксигируется до 25 (ОН) D в печени с последующим превращением в его наиболее мощный биологический метаболит (1,25 (ОН) 2D) ферментом 1 α -гидроксилазой в почечных проксимальных и дистальных извитых канальцах. И др. [19] продемонстрировали, что ω -3 ПНЖК повышают уровень 1,25-дигидроксивитамина D у пациентов на диализе. Одна из гипотез заключается в том, что повышение концентрации 1,25 (ОН) 2D было вызвано активацией фермента 1 α -гидроксилазы жирными кислотами омега-3 [20].

В дополнение к усилению формирования кости у обработанных групп наблюдалось снижение маркеров потери костной массы, что отразилось в снижении уровней СТХ в плазме по сравнению с контролем преднизолона. Донг и соавт. [21] исследовали уровни СТХ у 164 женщин в постменопаузе, и исследование продемонстрировало значительное снижение уровня СТХ в группе вмешательства после приема жирных кислот ω -3 по сравнению с контрольной группой. Высокие уровни ПТГ

играют роль в развитии потери костной массы путем перемещения костного кальция в кровь для восстановления нормального уровня кальция в крови. Следовательно, повышенные уровни ПТГ связаны с увеличением скорости резорбции кости, как видно из наших результатов после введения преднизолона. Варела-Лопес и соавт. [22] также предположили, что ПТГ высвобождается, когда уровень кальция в крови низок, чтобы восстановить кальций из кости в кровь, что приводит к процессу резорбции кости. С другой стороны, рыбий жир значительно снижает уровень ПТГ. Сообщалось, что защитный эффект ω -3 ПНЖК против потери костной массы был обусловлен модуляцией системных кальцитрофических гормонов, включая ПТГ [23].

Заключение

Лечение остеопороза остается серьезной проблемой. Поэтому предотвращение потери костной массы является важной потребностью в настоящее время. Настоящие данные указывают на то, что кормление диетическими маслами, содержащими омега-3 ПНЖК, такими как рыбий жир, соевое масло или льняное масло, может снизить потенциальный эффект преднизолона

в индукции развития остеопороза у крыс. Это может происходить через некоторые внутриклеточные пути, включая улучшение абсорбции кальция, регуляцию метаболизма костей. Таким образом, эти масла, в частности рыбий жир, могут быть использованы в качестве естественного подхода для предотвращения потери костной массы, связанной с терапией глюкокортикоидами, и это представляет интересную перспективу для будущих исследований. ■

Элбахнарави Амр Самир, Аспирант, Институт фундаментальной медицины и биологии, Казанский федеральный университет, Россия, 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 18. Валеева Эмилия Рамзиевна, Д-р мед. Наук, Профессор, Институт фундаментальной медицины и биологии, Казанский федеральный университет, Россия, 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 18. Элсайед Иман Мустафа, Д-р, Био. Наук, Профессор, Департамент по вопросам питания и пищевых наук, Национальный исследовательский центр, 12622, Египет, Докки, Гиза. Автор, ответственный за переписку: Элбахнарави Амр Самир, amr.elbakhnasavi@bk.ru

Литература:

1. Jeremiah MP, Unwin BK, Greenawald MH, et al. Diagnosis and management of osteoporosis. *Am Fam Physician*. 2015;92(4):261–268.
2. Akarimak U., Osteoporosis: A major problem – worldwide. *Arch Sports Med* 2018; 2(1):106–108.
3. Silverman S, Curtis J, Saag K, Flahive J, Adachi J, Anderson F, Chapurlat R, Cooper C, Diez-Perez A, Greenspan S, Hooven F. International management of bone health in glucocorticoid-exposed individuals in the observational GLOW study. *Osteoporosis international*. 2015; 26(1):419–420.
4. Wang T, Yu X, He C. Pro-inflammatory cytokines: cellular and molecular drug targets for glucocorticoid-induced-osteoporosis via osteocyte. *Current drug targets*. 2019; 20(1):1–5.
5. Lavado-García J, Roncero-Martin R, Moran JM, Pedrera-Canal M, Aliaga I, Leal-Hernandez O, et al. Long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acid dietary intake is positively associated with bone mineral density in normal and osteopenic Spanish women. *PloS one*. 2018; 13(1):e0190539.
6. Hutchins-Wiese HL, Picho K, Watkins BA, Li Y, Tannenbaum S, Claffey K, et al. High-dose eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid supplementation reduces bone resorption in postmenopausal breast cancer survivors on aromatase inhibitors: a pilot study. *Nutr Cancer*. 2014; 66: 68–76.
7. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr*. 1993; 123(11):1939–51.
8. Kaczmarczyk-Sedlak I, Zych M, Rotko K, Sedlak L. Effects of thalidomide on the development of bone damage caused by prednisolone in rats. *Pharmacol Rep*. 2012; 64(2):386–395.
9. Le HT, Phi LT, Dao TT, Phan NK, Van Pham P, Vu NB. A mouse model of osteonecrotic femoral head induced by methylprednisolone and lipopolysaccharide. *Biomedical Research and Therapy*. 2016; 3(03):548–556.
10. Ton FN, Gunawardene SC, Lee H, Neer RM. Effects of low-dose prednisone on bone metabolism. *J Bone Miner Res*. 2005; 20(3):464–470.
11. Kaczmarczyk-Sedlak I, Cegiela U, Nowińska B, Folwarczna J. Effects of catecholamines on the intramedullary pressure in the femur in rats with prednisolone induced osteoporosis. *Pharmacol Rep*. 2006; 58: 540–550.
12. Calder PC. Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance. *Biochim Biophys Acta*. 2015; 1851(4):469–484.
13. Pennisi P, D'Alcamo MA, Leonetti C, Clementi A, Cutuli VM, Riccobene S, et al. Supplementation of L-arginine prevents glucocorticoid-induced reduction of bone growth and bone turnover abnormalities in a growing rat model. *J Bone Miner Metab*, 2005; 23; 134–139.
14. Lukas R, Gigliotti JC, Smith BJ, Altman S, Tou JC. Consumption of different sources of omega-3 polyunsaturated fatty acids by growing female rats affects long bone mass and microarchitecture. *Bone*. 2011; 49(3):455–462.
15. Sun L, Tamaki H, Ishimaru T, Teruya T, Ohta Y, Katsuyama N, Chinen I. Inhibition of osteoporosis due to restricted food intake by the fish oils DHA and EPA and perilla oil in the rat. *Bioscience, Biotechnology,*

- and *Biochemistry*. 2004; 68(12):2613-2615.
16. Mazziotti G, Formenti AM, Adler RA, Bilezikian JP, Grossman A, Sbardella E, et al. Glucocorticoid-induced osteoporosis: pathophysiological role of GH/IGF-I and ПТГ/VITAMIN D axes, treatment options and guidelines. *Endocrine*. 2016; 54(3):603–611.
 17. Suarez-Bregua P, Guerreiro PM, Rotllant J. Stress, glucocorticoids and bone: a review from mammals and fish. *Frontiers in endocrinology*. 2018;9.
 18. Jafarnejad F, Mazlom SR, Hami M. Comparison of the effect of fish oil and vitamin E on duration of cyclic mastalgia. *J Evid Based Care*. 2013; 3:69–76.
 19. An WS, Lee SM, Son YK, Kim SE, Kim KH, Han JY, Bae HR, Rha SH, Park Y. Omega-3 fatty acid supplementation increases 1, 25-dihydroxyvitamin D and fetuin-A levels in dialysis patients. *Nutrition Research*. 2012; 32(7):495-502.
 20. Lee S, Son Y, Kim S, An W. The effects of omega-3 fatty acid on vitamin D activation in hemodialysis patients: A pilot study. *Marine drugs*. 2015; 13(2):741-755.
 21. Dong H, Hutchins-Wiese H, Kleppinger A. Effects of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on bone turnover in older women. *Int J Vitam Nutr Res* 2014; 84:124–132.
 22. Varela-López A, Ochoa JJ, Llamas-Elvira JM, López-Frías M, Planells E, Speranza L, Battino M, Quiles JL. Loss of bone mineral density associated with age in male rats fed on sunflower oil is avoided by virgin olive oil intake or coenzyme Q supplementation. *International journal of molecular sciences*. 2017; 18(7):1397.
 23. Chen AB, Minami K, Raposo JF, Matsuura N, Koizumi M, Yokota H, Ferreira HG. Transient modulation of calcium and parathyroid hormone stimulates bone formation. *Endocrine*. 2016; 54:232–240.