



УДК 616.36-008.811.6-06:616-008.92:546.41]-092.9-08

Ю. А. Калініченко, Н. В. Амеліна, Мохамад Арєф, О. А. Макаренко

## ПОРУШЕННЯ ОБМІНУ КАЛЬЦІЮ У ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГЕПАТОХОЛЕЦИСТИТІ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЯ

Одеський державний медичний університет

Враховуючи, що самим багатим джерелом кальцію є молоко та молочні продукти, раціон середньостатистичної людини може повністю забезпечити добову норму цього елемента (1000–1500 мг) [1–5]. У той же час проблема захворювань скелета, пов'язаних із дефіцитом кальцію, не розв'язана, а кількість хворих рахітом дітей, дорослих із остеопенією й остеопорозом не зменшується [6–8]. Цей факт можна пояснити недостатнім засвоєнням кальцію, що потрапляє до організму. Відомо, що для його нормально-го всмоктування та повноцінного використання потрібні вітаміни D, C, B2, B6 і K, лимонна кислота, середньооланцюгові тригліцериди, деякі амінокислоти [1; 4; 9]. До аліментарних факторів, що погіршують засвоєння кальцію, належить надлишкове утримування в їжі фітинової кислоти, фосфатів, жирів, щавлевої кислоти, а також захворювання шлунково-кишкового тракту, гормональні порушення, антибіотики різко пригнічують усмоктування цього елемента [9–11]. У такому разі для корекції кісткового метаболізму необхідно не збільшувати споживання кальцію, а вирішувати питання щодо його повноцінного засвоєння.

**Метою** даного дослідження стало експериментальне ви-

вчення порушень обміну кальцію в організмі щурів при моделюванні гепатохолециститу та його корекції різними препаратами. Як регулятори засвоєння кальцію обрали вітамін D3 [1; 2; 8], цитрат кальцію (кальцит) [3–5; 8], лецитин [11; 12] і комбінацію (лецитин, вітамін D3, кальцит).

### Матеріали та методи дослідження

Порушення обміну кальцію моделювали за допомогою переведення 1-місячних щурів на раціон м'якої консистенції та неприродний за своїм складом для гризунів (сухе молоко, цукор, суха яловича печінка) [13]. На фоні цього на 2-й і 3-й тиждень тваринам відтворювали гепатохолецистит за допомогою перорального щоденного введення комплексу туберкулостатиків (ізоніазид по 50 мг/кг, рифампіцин по 500 мг/кг і піразинамід по 1500 мг/кг). Як вказано у методичних рекомендаціях, у результаті застосування туберкулостатиків відбувається гепатоцитоліз, холестаза, зниження жовчоутворення, індукція СРО та ПОЛ [14]. Таким чином, у тварин на фоні споживання ними неприродного раціону відтворювали субхронічне ушкодження печінки та жовчного міхура (гепатохолецистит). Профілактику препаратами по-

чинили з 1-го дня експерименту, тобто за один тиждень до введення туберкулостатиків. Щури були поділені на групи по 10 у кожній: 1-ша група — інтактний контроль на дієті віварію; 2-га група — модель гепатохолециститу без профілактики; 3-тя група — гепатохолецистит + вітамін D3 36 МО/кг; 4-та група — гепатохолецистит + кальцит 500 мг/кг; 5-та група — гепатохолецистит + лецитин 500 мг/кг; 6-та група — гепатохолецистит + лецитин D3 500 мг/кг.

Препарати вводили перорально натще щодня, за винятком вихідних днів. Через 60 днів щурів 1, 2, 3-ї груп пересаджували до метаболічних кліток для збирання добового калу та сечі. У сечі щодня протягом трьох діб визначали вміст кальцію, глікозаміногліканів (ГАГ), оксипроліну (ОП) та креатиніну [15–17]. У кормі та калі проводили визначення загального кальцію. Отримані результати усереднювали за три доби. Після цього тварин усіх груп виводили з експерименту шляхом кровопускання з серця під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг). Виділяли стегнові кістки для біохімічного аналізу. Визначали вміст кальцію — за реакцією з орто-крезолфталеїнкомплексом [15], вміст неорганічного фосфору — за відновленням фосфорно-молібденової кис-



лоти [18]. Статистичну обробку отриманих результатів проводили із використанням t-критерію Стьюдента [19].

### Результати дослідження та їх обговорення

Відтворення гепатохолециститу у щурів на фоні дефектного харчування призводить до різкого пониження концентрації кальцію у кістковій тканині:  $P < 0,002$  після 30 днів і  $P < 0,001$  після 60 днів (табл. 1). Це є підтвердженням того, що не завжди розвиток патології кісткової тканини пов'язаний із дефіцитом кальцію у раціоні, оскільки з неприродним раціоном щури отримували кальцію у 1,5 рази більше, ніж щури 1-ї групи, які знаходилися на стандартному раціоні віварію. Профілактичне застосування вітаміну D3, кальциту чи лецитину істотно не вплинуло на вміст кальцію в кістковій тканині щурів, який був на вірогідно низькому рівні порівняно з інтактними тваринами на двох етапах дослідження. Незважаючи на низькі значення досліджуваного показника у 6-й групі щурів після 60 днів вживання лецитину D3, вміст кальцію все

ж був більш високим, ніж після застосування інших досліджуваних препаратів.

Моделювання патології істотно не вплинуло на вміст неорганічних фосфатів у кістковій тканині. Виявилася деяка тенденція до зниження цього показника у 2-й групі на обох термінах дослідження, але це не підтверджено статистичною обробкою. Введення вітаміну D3 через 60 днів призвело до вірогідного зниження рівня фосфатів у кістковій тканині ( $P < 0,02$ ). Кальцит чудово створив такий самий ефект, який проявився після 30 днів і зберігся після 60 днів спостереження. Застосування лецитину чи лецитину D3 сприяло більш вираженому падінню рівня фосфатів у кістковій тканині щурів із патологією, тому що показники, що вивчаються, були вірогідно нижчими від значень не тільки в інтактних щурів, але порівняно з тваринами 2-ї групи, яким моделювали патологію (див. табл. 1).

Абсолютні значення рівня кальцію та неорганічних фосфатів у кістковій тканині не завжди відображають якість гідроксіапатиту. Більш чітко характе-

ризує цю властивість основного мінералу кісткової тканини коефіцієнт співвідношення концентрації кальцію до фосфатів (Ca/P). Як бачимо із наведених даних у табл. 1, цей коефіцієнт у інтактних щурів дорівнює 1,41 та 1,43 після 30 і 60 днів відповідно. Відтворення патології істотно знижує це співвідношення до 1,01 та 0,93, що свідчить про зменшення частки кальцію у кристалах гідроксіапатиту й є негативним фактором, оскільки знижується резистентність кристалів гідроксіапатиту та кісткової тканини у цілому до несприятливих впливів. Таке значне зниження співвідношення Ca/P свідчить також про наявність патології кісткової тканини.

Введення тваринам вітаміну D3 або додаткового кальцію у складі кальциту не вплинуло на коефіцієнт Ca/P ані після 30, ані після 60 днів. Профілактика лецитином у 4-й групі сприяла деякому збільшенню співвідношення Ca/P після 30 днів і практично оптимізувала його після 60 днів. Більш рання нормалізація Ca/P встановлена у кістковій тканині щурів після 30-денного введення їм леци-

Таблиця 1

#### Концентрація кальцію та фосфору в гомогенатах стегнової кістки щурів із гепатохолециститом і його корекція лецитином D3

№	Група тварин	Вміст кальцію, ммоль/кг		Вміст фосфору, моль/кг		Ca/P	
		30 днів	60 днів	30 днів	60 днів	30 днів	60 днів
1	Інтактна	5,18±0,43	5,85±0,22	3,67±0,31	4,09±0,52	1,41	1,43
2	Гепатохолецистит	3,21±0,41 $P < 0,002$	2,93±0,35 $P < 0,001$	3,18±0,28	3,15±0,27	1,01	0,93
3	Гепатохолецистит + вітамін D3	2,64±0,23 $P < 0,001$	2,68±0,45 $P < 0,001$	3,32±0,13	2,45±0,42 $P < 0,02$	0,80	1,09
4	Гепатохолецистит + лецитин	2,38±0,56 $P < 0,001$	3,09±0,39 $P < 0,001$	2,04±0,32 $P < 0,002$ $P_1 < 0,02$	2,20±0,37 $P < 0,01$ $P_1 < 0,05$	1,17	1,40
5	Гепатохолецистит + кальцит	2,70±0,54 $P < 0,002$	2,65±0,33 $P < 0,001$	2,54±0,27 $P < 0,02$	2,42±0,28 $P < 0,01$ $0,05 < P_1 < 0,1$	1,06	1,10
6	Гепатохолецистит + лецитин D3	2,41±0,21 $P < 0,001$	3,23±0,38 $P < 0,01$	1,70±0,21 $P < 0,001$ $P_1 < 0,001$	2,08±0,29 $P < 0,002$ $P_1 < 0,01$	1,42	1,55

Примітка. У табл. 1 і 2: P — вірогідність відмінностей від показника в інтактній групі,  $P_1$  — вірогідність відмінностей від показника в групі з моделюванням патології.



**Вміст глікозаміногліканів, оксипроліну та креатиніну  
в добовій сечі щурів із гепатохолециститом  
і його корекція лецитином D3**

№	Група тварин	Глікозаміноглікани, ОД/мг креатиніну	Оксипролін, мг/мг креатиніну
1	Інтактна, n=9	289,1±21,3	3,72±0,40
2	Гепатохолецистит, n=9	142,2±10,2 P<0,001	1,76±0,08 P<0,001
6	Гепатохолецистит + лецитин D3, n=9	214,3±18,5 P<0,02 P <sub>1</sub> <0,002	2,87±0,09 P<0,05 P <sub>1</sub> <0,001

тину D3. Після 60 днів дослідження значення коефіцієнта Ca/P у кістковій тканині щурів, які отримували лецитин D3, були навіть вищі, ніж у інтактних тварин. Необхідно наголосити, що збереження коефіцієнта Ca/P на високому рівні під впливом лецитинових препаратів відбулося на фоні низьких значень кальцію та ще більш низьких — фосфатів. А оскільки визначення цих мінеральних компонентів проводили у висушених кістках, то можна припустити, що профілактичне введення препаратів на фоні патології стимулювало синтез органічної основи кістки. Тому при розрахунку вмісту кальцію та фосфатів на грам кісткової тканини їх абсолютні значення були низькими за рахунок маси органіки, яка збільшилася. У даному дослідженні показовим виявився лише коефіцієнт Ca/P, який свідчить про якість гідроксіапатиту кістки, знижений при патології та збережений у нормі при профілактиці лецитиновими препаратами.

Підтвердженням порушення білкового обміну кістки при патології печінки у поєднанні з нераціональним харчуванням є дослідження ГАГ й ОП у добовій сечі щурів у перерахунку на креатинін (табл. 2). У нашому дослідженні виявлено, що гепатохолецистит у щурів спричинює зниження виділення з сечею ГАГ у 2,0 рази й ОП у 2,1 разу (P<0,001), що свідчить про патологічні зміни у кістковій тканині, а саме про зниження біосинтезу цих полімерів.

У тварин 6-ї групи, яким на фоні патології проводили профілактику лецитином D3, відмічено вірогідне збільшення досліджуваних показників у добовій сечі щурів. Незважаючи на те, що рівень ГАГ й ОП у сечі щурів 6-ї групи не досяг значень, які спостерігаються у здорових тварин, можна говорити про виражену остеопротекторну дію лецитину D3 при неприродному харчуванні та патології печінки, індукованій прийомом

туберкулостатиків (див. табл. 2).

Результати дослідження балансу кальцію в організмі щурів узагальнені у табл. 3. Вміст кальцію у сироватці крові та добовому калі тварин не зазнає значних змін як при відтворенні патології, так і при введенні лецитину D3. Спостерігається тенденція до зниження кальциурії у щурів, які отримували лецитин D3. Розрахунок добової абсорбції кальцію в організмі щурів на 100 г маси показав стабільність його показника у тварин із патологією та вірогідне збільшення у щурів, яким вводили лецитин D3 (P<0,05). Оскільки основним депо кальцію в організмі є кісткова тканина, можна припустити, що збільшення абсорбції даного елемента під впливом лецитину D3 здійснилося саме у кістках тварин. Ці дані разом із збільшенням співвідношення Ca/P підтверджують поліпшен-

ня якості кісткової тканини щурів, які отримували лецитин D3.

Таким чином, аналіз результатів дослідження основних мінеральних компонентів кісткової тканини, показників синтезу колагену кісток і балансу кальцію в організмі тварин свідчить про серйозні порушення обмінних процесів у кістковій тканині, зумовлених неприродним харчуванням у поєднанні з патологією печінки та жовчного міхура. Та, незважаючи на те, що у неприродному для щурів раціоні вміст кальцію у 1,5 рази перевищував його рівень у стандартному раціоні, такий неприродний раціон, а також додаткове введення кальцію у складі кальциту не привели до нагромадження цього елемента у кістковій тканині. Регулятор кальцієвого обміну вітамін D3 також не вплинув на фіксацію кальцію в кістках, що може бути пов'язано з особливостями відтвореної патології. Лише ле-

Таблиця 3

**Вміст кальцію у сироватці крові, його виділення  
з сечею та калом у щурів із гепатохолециститом  
і його корекція лецитином D3**

№	Група тварин	Сироватка моль/л	Сеча мг/добу	Кал мг/добу	Добова абсорбція в організмі, мг/100 г маси
1	Інтактна, n=9	2,65±0,16	1,76±0,49	9,81±1,14	24,44±1,25
2	Гепатохолецистит, n=9	2,62±0,19	1,81±0,36	9,68±0,98	26,23±2,31
6	Гепатохолецистит + лецитин D3, n=9	2,33±0,08	1,25±0,28	10,55±1,02	32,84±3,82 P<0,05

Примітка. P — вірогідність відмінностей від показника в інтактній групі.



цитин, а особливо лецитин D3 оптимізував співвідношення Са/Р у кістковій тканині щурів, сприяв підвищенню абсорбції кальцію в організмі тварин і стимулював синтез матриксних біополімерів.

Механізм регулюючої дії лецитину може здійснюватися завдяки гепатопротекторним властивостям препарату, його здатності поліпшувати фізико-хімічні характеристики жовчі та, тим самим, усмоктування вітаміну D, а також внаслідок стимуляції мінерального обміну в кістковій тканині. На підставі проведеного дослідження для профілактики порушень обміну в кістковій тканині, що пов'язана із патологією печінки та жовчного міхура, тривалим прийманням антибіотиків або нераціональним харчуванням, можна рекомендувати лецитинові препарати, бажано у комбінації з вітаміном D.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Спиричев В. Б. Вітаміни, вітаміноподібні і мінеральні речовини: Справочник. — М.: МЦФЕР, 2004. — 240 с.
2. Спиричев В. Б. Вітаміни і мінеральні речовини в комплексній

профілактиці і ліченні остеопороза // Вопросы питания. — 2003. — № 1 (Т. 72). — С. 34-42.

3. Бессмертный А. А. Роль препаратов кальция в костном метаболизме (обзор литературы) // Укр. стомат. альманах. — 2002. — № 4. — С. 59-61.

4. Левицкий А. П. Проблемы питания и стоматологическая заболеваемость. Ч. I. Кальций // Вісник стоматології. — 2001. — № 1. — С. 68.

5. Чекман И., Казак Л. Препараты кальция: фармакодинамическая активность // Вісн. фармакології та фармації. — 2004. — № 3. — С. 26-28.

6. Поворознюк В. В., Мазур И. П. Костная система и заболевания пародонта. — К., 2003. — 444 с.

7. Беневоленская Л. И. Проблема остеопороза в современной медицине // Вестн. Рос. акад. мед. наук. — 2003. — № 7. — С. 15-18.

8. Квашина Л. В. Кальций и его значение для растущего организма // Doctor. Журнал для практикующих врачей. — 2003. — № 2. — С. 68-70.

9. Франке Ю., Рунге Г. Остеопороз: Пер. с нем. — М.: Медицина, 1995. — 304 с.

10. Эффективность препаратов кальция при гипостроении / О. А. Макаренко, А. П. Левицкий, И. В. Ходаков, Э. Ф. Корчмарь // Вопросы экспериментальной и клинической стоматологии. — Харьков. — 2005. — Вып. 9. — С. 22-25.

11. Левицкий А. П., Макаренко О. А. БАДы в профилактике остеопороза // Достижения та перспективи розвитку

фармацевтичної галузі України: Матер. VI Нац. з'їзду фармацевтів України, 28-30 вересня, 2005 р., Харків. — Х.: Вид-во НФаУ, 2005. — С. 400-401.

12. Левицкий А. П. Проблемы питания и стоматологическая заболеваемость. Ч. II. Фосфор // Вісник стоматології. — 2001. — № 2. — С. 63-64.

13. Экспериментальне вивчення токсичної дії та специфічної ефективності засобів для догляду за порожниною рота: Метод. рекомендації / Т. П. Терешина, К. Н. Косенко, А. П. Левицкий та ін. — К.: ДФЦ МОЗ України, 2003. — С. 21-23.

14. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації / За ред. чл-кор. АМН України О. В. Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — С. 344-345.

15. Методические рекомендации исследования болезней обмена / Под ред. Н. И. Кузьмичевой. — М., 1984. — С. 20.

16. Осадчук М. А. Оксипролин крови и мочи // Тер. архив. — 1978. — № 3. — С. 72-74.

17. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В. В. Меньшикова. — М.: Медицина, 1987. — 368 с.

18. Горячковский А. М. Клиническая биохимия: Справочное пособие. — Изд. 2-е, испр. и доп. — Одесса: Астропринт, 1998. — 608 с.

19. Сернов Л. Н., Гацура В. В. Элементы экспериментальной фармакологии. — М., 2000. — С. 117-119.

УДК 678.048+577.152:616.314.17-002.4

А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, Ю. В. Зеленіна

## АНТИОКСИДАНТНА І ПРОТИЗАПАЛЬНА ДІЯ ІНГІБІТОРА ЕЛАСТАЗИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПАРОДОНТИТІ

Інститут стоматології АМН України, Одеса

У патогенезі захворювань пародонта велика увага приділяється ролі протеолітичних ферментів, які становлять потенціальну небезпеку для більшості білкових структур. Протеази продукуються поліморфноядерними лейкоцитами, патогенними мікроорганізмами, слининими залозами, ушкоджують сполучнотканинну основу ясен

шляхом деструкції колагенових фібрил. Внаслідок їхньої дії утворюються вазоактивні пептиди, які порушують проникність епітеліальної мембрани в ланці зубосясного з'єднання, а також сприяють ушкодженню судинної системи пародонта [1-3].

До найважливіших фізіологічних регуляторів протеолізу

належать специфічні інгібітори, які зв'язують протеолітичні ферменти, позбавляючи їх повністю або частково гідролітичної активності [4; 5]. Як препарат, здатний гальмувати активність деструктивних ферментів еластази і катепсинів, нами запропоновано інгібітор Баумана — Бірк (ІББ) із бобів сої. Розроблена лабораторна технологія

