

УДК: 616.71-007.234: 577.161.2

## ЕФЕКТИВНІСТЬ КОМПЛЕКСНИХ ПРЕПАРАТІВ ВІТАМІНУ D<sub>3</sub> ПРИ ОСТЕОПОРОЗІ

**Л. І. Апуховська<sup>1</sup>****В. М. Василевська<sup>1</sup>** <sup>1</sup> Інститут біохімії ім. О.В.Палладіна НАН України, Київ**А. І. Безусяк<sup>1</sup>****С. О. Романова<sup>1</sup>****А. В. Калашніков<sup>2</sup>** <sup>2</sup> Інститут травматології та ортопедії АМН України, Київ**О. В. Калашніков<sup>2</sup>***E-mail: penchuk-yuri@yandex.ru*

В експерименті на щурах лінії Wistar вивчали ефект різних комплексних препаратів вітаміну D<sub>3</sub> при дисфункціональному остеопорозі. Встановлено, що препарат з низьким вмістом кальцію є найбільш ефективним у нормалізації мінерального й ліпідного обміну, структури і функції кісткової тканини та епіфізарного хряща. Відсутність побічних ефектів дає можливість застосовувати комплексний D-вітамінний препарат «Кальмівід» при дисфункціональному остеопорозі.

**Ключові слова:** дисфункціональний остеопороз, мінеральний обмін, ліпідний обмін, кісткова тканина, комплексний препарат вітаміну D<sub>3</sub>.

Згідно з рекомендаціями експертів ВООЗ остеопороз розглядають як системне захворювання скелета, яке характеризується низькою масою кісток та порушенням мікроархітектоніки кісткової тканини, що призводить до підвищення крихкості кісток і ризику виникнення переломів [1]. У найбільш розвинених країнах Європи, США, Японії сукупна кількість людей, які хворіють на остеопороз, досягає 75 млн. Тільки в США остеопороз визначають у 30% жінок [2]. Відомо, що з остеопорозом пов'язано 70% усіх травм у людей, у тому числі переломи кісток та шийки стегна. Згідно зі світовою статистикою ризик переломів шийки стегна у жінок внаслідок остеопорозу досягає 15%, що близько до рівня захворюваності на рак молочної залози [3]. Слід зазначити, що в останні роки у країнах СНД спостерігається тривожна тенденція: у клінічно здорових молодих людей віком 18–25 років, тобто у період, коли закінчується формування піка кісткової маси, відзначається порушення мінеральної щільності кісткової тканини, імовірно внаслідок змін якості життя, рівня та якості харчування [4].

Економічні витрати, пов'язані з лікуванням та реабілітацією травм на ґрунті остеопорозу, надто великі. У США вартість тако-

го лікування й реабілітації сягає 7–10 млрд. доларів на рік. У Європі ці витрати становлять близько 5 млрд. євро на рік [5, 6]. При цьому до 85% усіх витрат, пов'язаних з остеопорозом, припадають на лікування переломів шийки стегна [7].

Оскільки остеопенічний синдром має поліетіологічну природу, фактори ризику розвитку цього захворювання різні [8]. Однією з найпоширеніших форм остеопорозу є дисфункціональна форма. Група дисфункціонального остеопорозу об'єднує інволюційний, іммобілізаційний та остеопороз внаслідок гіподинамії. До інволюційного остеопорозу відносять постменопаузний, пресенільний та сенільний остеопороз, які слід розглядати як фази, що мають характерні для стану резорбційних процесів ті чи інші особливості в певні періоди інволюції, старіння організму. В основі дисфункціонального остеопорозу лежить поступове згасання функції опорно-рухового апарату, яке значною мірою пов'язано із розладами функції інших органів та систем організму, передусім регуляторної і корегуляторної функцій нервової та гуморальної систем. Порушення трофіки кісткової тканини пов'язані також із циркуляторними розладами внаслідок зменшення проявів гідродинамічних ефектів пружних

деформацій. Також у людей, старших за 50 років, відзначається високий ризик D-гіповітамінозу внаслідок зниження у них інтенсивності синтезу вітаміну D<sub>3</sub> у шкірі та активності вітамін-D<sub>3</sub>-гідроксилазних ферментів [9–11]. Згодом до цих механізмів виникнення остеопорозу приєднується вплив інших чинників, що прискорює його прогресування [12].

Остеопороз є результатом порушення рівноваги між активністю остеобластів і остеокластів у процесі ремоделювання кісткової тканини у бік зниження остеобластичної активності, яка контролює процес утворення нової кісткової тканини та її мінералізацію. Розвиток остеопорозу пов'язаний із негативним балансом кальцію в організмі, насамперед у зв'язку зі зниженням його biodоступності внаслідок меншого надходження або порушення обміну вітаміну D<sub>3</sub> в організмі.

Дефіцит кальцію, який є причиною розвитку значної кількості захворювань кісткової тканини, може мати як екзогенне, так і ендогенне походження. Недостатнє надходження кальцію з їжею призводить до порушень росту і формування піка кісткової маси у дітей, виникнення остеопорозу та його ускладнень у дорослих [13, 14]. Окрім недостатності у харчовому раціоні, з віком у 40% людей значно знижується рівень засвоюваності вжитого кальцію внаслідок хвороб кишково-шлункового тракту [15]. Тому для профілактики та лікування остеопорозу, як правило, препарати кальцію призначають разом з вітаміном D<sub>3</sub> [16, 17].

Незважаючи на те, що вже понад 50 років тривають експериментальні та клінічні дослідження з обґрунтування застосування кальцію для профілактики й лікування порушень структурно-функціонального стану кісткової тканини, це питання й дотепер лишається невирішеним.

На сьогодні з метою профілактики та лікування захворювань опорно-рухового апарату застосовують препарати з різним вмістом кальцію та вітаміну D<sub>3</sub> [18, 19]. Утім, серед фахівців нема єдиної думки щодо достатньої для щоденного вживання кількості кальцію.

За даними одних авторів, із цією метою доцільно вживати до 1 500 мг кальцію на добу [20, 21]. Однак в інших дослідженнях було показано, що інтенсивність всмоктування кальцію підвищується у разі зниження його вмісту в раціоні, і це пов'язано зі зростанням активності ферменту вітамін D<sub>3</sub>-1 $\alpha$ -гідроксилази. За цих умов зростає активне

транспортування кальцію внаслідок збільшення синтезу кальційзв'язувального білка [22]. Активність цього ферменту знижується з підвищенням рівня кальцію у раціоні [23, 24].

Використання великих доз кальцію також призводить до порушення мінерального обміну та структурно-функціональної активності кісткової тканини [25]. Ці результати свідчать про необхідність встановлення оптимального співвідношення кальцій-вітамін D<sub>3</sub> у препаратах для лікування остеопорозу. Препарати, які містять лише кальцій та вітамін D<sub>3</sub>, — це препарати другого покоління. До складу препаратів третього покоління додатково включають мінеральні компоненти, які позитивно впливають на структурно-функціональну активність кісткової тканини, що розширює можливість використання їх у старших вікових групах. Враховуючи вищезазначене було розроблено препарат з комерційною назвою «Кальмівід», до складу якого крім вітаміну D<sub>3</sub> та кальцію введено ще такі мінеральні компоненти: фосфор — важливий елемент структури біологічно активних макромолекул та регулятор обміну речовин, у тому числі мінерального компонента кісткової тканини; цинк — забезпечує активність багатьох ферментів, зокрема лужної фосфатази; мідь — бере участь у синтезі колагену і еластину, перешкоджає демінералізації кісткової тканини; марганець — нормалізує синтез глікозаміногліканів, необхідних для формування кісткової та хрящової тканини (Пат. 48909А/ІВХ, UA, 7А 6/к 31/593; Опубл. 17.05.2004, Бюл. №5).

Метою даної роботи було вивчення порівняльної ефективності розробленого та комерційного препаратів для лікування дисфункціонального остеопорозу.

## Матеріали і методи

Завданням, що його покладено в основу винаходу, є створення вітамінно-мінерального препарату для лікування остеопорозу вищої ефективності та більшої тривалості зберігання, який водночас не дає негативних побічних явищ у разі довготривалого використання.

Створюючи препарат керувались такими принципами:

- вплив умов зберігання компонентів препарату, а саме: відсутність їх хімічної взаємодії та окиснення, що може значно знизити ефективність препарату;
- виключення негативної дії доз складників препарату на обмін речовин в організмі;

- висока біодоступність компонентів препарату;
- синергізм взаємодії інгредієнтів препарату.

Враховуючи ці положення, використовували вітамін D<sub>3</sub>, невеликі дози кальцію, також до складу препарату вводили фосфор, оскільки засвоєність кальцію залежить від його співвідношення з фосфором. Окрім того остеопороз супроводжується D-гіповітамінозом. За цих умов інгібується синтез кишкового ізоферменту лужної фосфатази, який регулює відщеплення фосфору від органічних сполук, наслідком чого при цьому захворюванні є гіпофосфатемія, що може призвести до порушення багатьох видів обміну речовин в організмі. Введення до складу препарату вітаміну D<sub>3</sub> у вигляді білкового комплексу з казеїном значно підвищує строк зберігання вітаміну D<sub>3</sub> без використання стабілізаторів та запобігає утворенню продуктів його окиснення, які є токсичними для організму. Застосування вітаміну D<sub>3</sub> у комплексі з казеїном істотно знижує вплив детергентів шлунково-кишкового тракту на вітамін, внаслідок чого значно підвищується його всмоктуваність у кров.

Раціональний вибір взаємопов'язаних мінеральних компонентів та їх дозування у межах, що відповідають оптимальному фізіологічному впливу на організм людини, створює умови для підсилення лікувальної дії препарату. До складу препарату також входять цинк, мідь і марганець, які регулюють диференціацію та активність остеобластів, синтез ферментів і процеси осифікації кісткової тканини. Недостатність цих елементів сприяє розвитку остеопорозу та остеоартрозу.

Діючі мінеральні компоненти, що їх уведено до складу препарату, — це фармацевтично допустимі солі або окисні сполуки, які придатні для призначення людині й не мають небажаних побічних ефектів.

Разова форма випуску для перорального приймання може бути у вигляді капсули, таблетки або сипкого порошку. Для захисту інгредієнтів препарату від впливу вологи, кисню, світла та для маскування небажаного смаку тверда разова форма може мати покриття, а також може бути покрита полірувальними речовинами. Спосіб отримання препарату «Кальмівід» запатентовано (патент України № 48909). Разова доза препарату містить: вітамін D<sub>3</sub> — 1 000 МО; кальцій — 100 мг; фосфор — 40 мг; цинк — 5 мг; мідь — 1,1 мг; марганець — 0,6 мг.

Як препарат порівняння використовували «Кальцемін адванс» виробництва США,

який містить такі діючі речовини (одна таблетка): вітамін D<sub>3</sub> — 200 МО; кальцій — 500 мг; магній — 40 мг; цинк — 7,5 мг; марганець — 1,8 мг; бор — 250 мкг.

Дослідження проводили на щурах лінії Wistar масою 300±5г. Дисфункціональну модель остеопорозу відтворювали, утримуючи щурів у тисних відсіках клітки з малою площею та об'ємом, що супроводжувалось обмеженням рухливості тварин протягом 2,5 місяців. У період акліматизації (тиждень) та під час експерименту тварини перебували у віварії при температурі 18–22 °С, вологості 50–60%, природному світловому режимі «день–ніч» у стандартних пластикових клітках на стандартному харчовому раціоні [26]. Підбір тварин та формування груп проводили за методом «випадкових чисел» [27, 28]. Дослідні препарати вводили один раз на добу внутрішньошлунково за допомогою зонду у вигляді водної суспензії таблетованої маси у дозах 20,0 мг/на 1 особину для препарату «Кальмівід» (виходячи з максимальних добових доз) та 20,0 мг/кг і 60,0 мг/на 1 особину для препарату порівняння, до складу яких входять вітамін D<sub>3</sub> та мінеральні компоненти. Ці препарати близькі за складом діючих компонентів, але відрізняються за їх кількісним вмістом. Об'єм дози препаратів, становив 0,1 мл. Препарати вводили упродовж 30 днів.

Рівень кальцію у сироватці крові визначали за допомогою біотест-наборів (Lachema, Чехія). Вміст фосфору у золі кісткової тканини та сироватці крові після осадження білків 12%-м розчином ТХО встановлювали методом Дусе [29]. Активність загальної лужної фосфатази визначали за допомогою біотест-наборів виробництва Lachema (Чехія), активність її ізоферментів — з використанням інгібіторів згідно з методом [30, 31].

Рівень загальних ліпідів у сироватці крові визначали, застосовуючи біотест-набори (Lachema, Чехія), загального, вільного та етерифікованого холестеролу — відповідно [32, 33], загальних фосfolіпідів — [34]. Вміст 250HD<sub>3</sub> встановлювали методом радіоконкурентного зв'язування відповідно до описаного [35]. Морфологічні дослідження кісткової тканини проводили згідно з наведеним [36].

Вміст глюкози, сечовини визначали за допомогою біотест-наборів (Lachema, Чехія). Час згортання крові — методом Морвіца, кількість гемоглобіну — методом Салі згідно [37].

Усі маніпуляції з тваринами виконували під легким ефірним наркозом.

Статистичний аналіз здійснювали з використанням t-критерію Стьюдента.

### Результати та обговорення

Як видно з наведених у табл. 1 даних, у групі експериментальних тварин порівняно з контрольною групою змінюється товщина дистального епіметафізу та довжина стегнової й великогомілкової кісток, а також маса, зольність і вміст мінеральних компонентів у великогомілковій кістці. Це свідчить про порушення структури кісткової тканини та мінерального обміну в ній за досліджуваної моделі остеопорозу.

**Таблиця 1. Остеометричні дослідження та мінеральний стан кісткової тканини при дисфункціональній формі остеопорозу ( $M \pm m, n = 10$ )**

Досліджувані показники	Контрольна група	Дослідна група
<b>Стегнова кістка:</b>		
Довжина, мм	39,8±0,3	38,3±0,2*
Товщина ДЕМ	7,70±0,04	7,40±0,03*
<b>Великогомілкова кістка:</b>		
Довжина, мм	42,0±0,5	40,0±0,2*
Товщина ДЕМ, мм	7,90±0,04	7,30±0,03*
Маса, г	672,0±5,0	649,0±6,0*
Зольність, %	52,0±0,5	48,0±0,4*
Вміст кальцію, %	26,7±0,1	25,1±0,2*
Вміст фосфору, %	14,2±0,1	12,3±0,1*

*Примітка.* ДЕМ — дистальний епіметафіз; \* — вірогідність порівняно з контрольною групою,  $p < 0,05$ .

Результати остеометричних досліджень підтверджують дані гістоморфологічних досліджень (рис. 1). Встановлено, що товщина компактної кісткової тканини зменшується, водночас збільшується кількість розширених центральних судинних каналів переважно у глибокому шарі (з боку кісткового мозкового каналу) компактної кісткової тканини. Спостерігається також потоншення та ділянками зникнення внутрішніх оточуючих пластин, що є результатом розвитку остеопорозу.

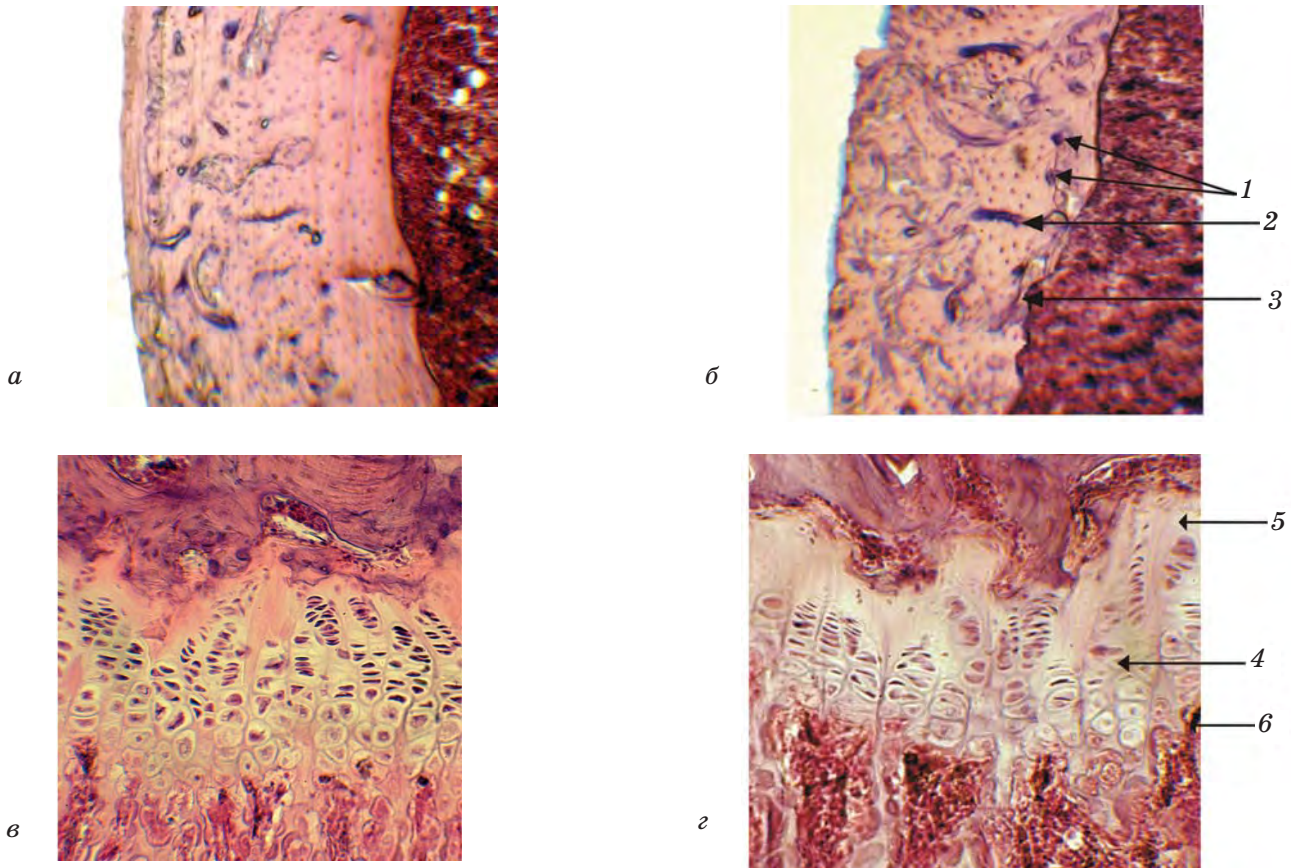
Таким чином, результати біохімічних, гістоморфологічних та остеометричних досліджень свідчать про розвиток остеопорозу за цієї експериментальної (дисфункціональної) моделі, що обґрунтовує її використання з метою визначення ефективності запропонованого препарату для лікування остеопорозу.

Дані щодо впливу препаратів на остеометричні показники та мінеральний стан кісткової тканини наведено у табл. 2.

Як випливає з одержаних результатів, за умов експериментальної моделі дисфункціонального остеопорозу на 9,3% і на 10% зменшуються довжина й товщина дистального епіметафізу (ДЕМ) стегнової та великогомілкової кісток відповідно. При цьому знижуються маса, зольність кісток та вміст кальцію і фосфору в золі. З уведенням «Кальмівіду» довжина й товщина ДЕМ практично досягають контрольних величин. Маса кісток, зольність і вміст мінеральних компонентів наближаються до показників у контрольних тварин, однак повної нормалізації не відзначається ( $p < 0,05$ ). Слід ураховувати, що вітамін D<sub>3</sub> має пролонгуючий ефект упродовж трьох місяців після закінчення введення препарату, що може супроводжуватись більш повною нормалізацією структури кісткової тканини. У разі застосування препарату порівняння також спостерігається підвищення досліджуваних показників, але вони менш виражені, ніж у випадку введення «Кальмівіду». Довжина стегнової та великогомілкової кісток збільшується на 6 та 7% відповідно, і різниця між цією групою і контролем вірогідна ( $p < 0,01$ ). Маса великогомілкової кістки з уведенням препарату «Кальмівід» та препарату порівняння досягає відповідно 120 та 92% відносно маси кісток контрольних тварин. Зольність дорівнює 107,5 та 100% відповідно. У разі введення препарату «Кальмівід» та препарату порівняння вміст кальцію у золі становить 96,2 та 94,9%, фосфору — 93,1 та 86,3% відповідно до аналогічних показників у контрольних тварин. Отже, одержані результати біохімічних та остеометричних досліджень дають змогу зробити висновок про те, що зазначені препарати справляють нормалізуючий ефект на стан кісткової тканини, який більш виражений у препарату «Кальмівід», ніж у препарату порівняння.

Дані остеометричних досліджень щодо нормалізуючої дії препарату «Кальмівід» підтверджено результатами гістологічних досліджень (рис. 2), які свідчать про те, що за цих умов нормалізуються товщина та структура компактної тканини великогомілкової кістки. Окрім того результати остеометричних та гістологічних досліджень підтверджують дані стосовно впливу зазначених препаратів на мінеральний обмін (табл. 3).





**Рис. 1.** Гістоморфологічні дослідження кортикального шару та епіфізарного хряща тварин при дисфункціональному остеопорозі. Поперечні гістологічні зрізи нижньої третини діяфіза стегнової кістки щурів контрольної групи (а) та групи з дисфункціональним остеопорозом (б).

Зменшення щільності компактної кісткової тканини у тварин групи з дисфункціональним остеопорозом унаслідок збільшення кількості центральних (1), пронизливих (2) судинних каналів та порушення системи внутрішніх оточуючих кісткових пластинок (3). Гематоксилін-еозин.  $\times 60$ . Ділянки проксимального епіфізарного хряща великогомілкової кістки щурів контрольної групи (в) та групи з дисфункціональним остеопорозом (г). Значне порушення зональної будови та потоншення епіфізарного хряща (4). Припинення хондро- (5) та ендохондріального остеогенезу (6). Гематоксилін-еозин.  $\times 120$

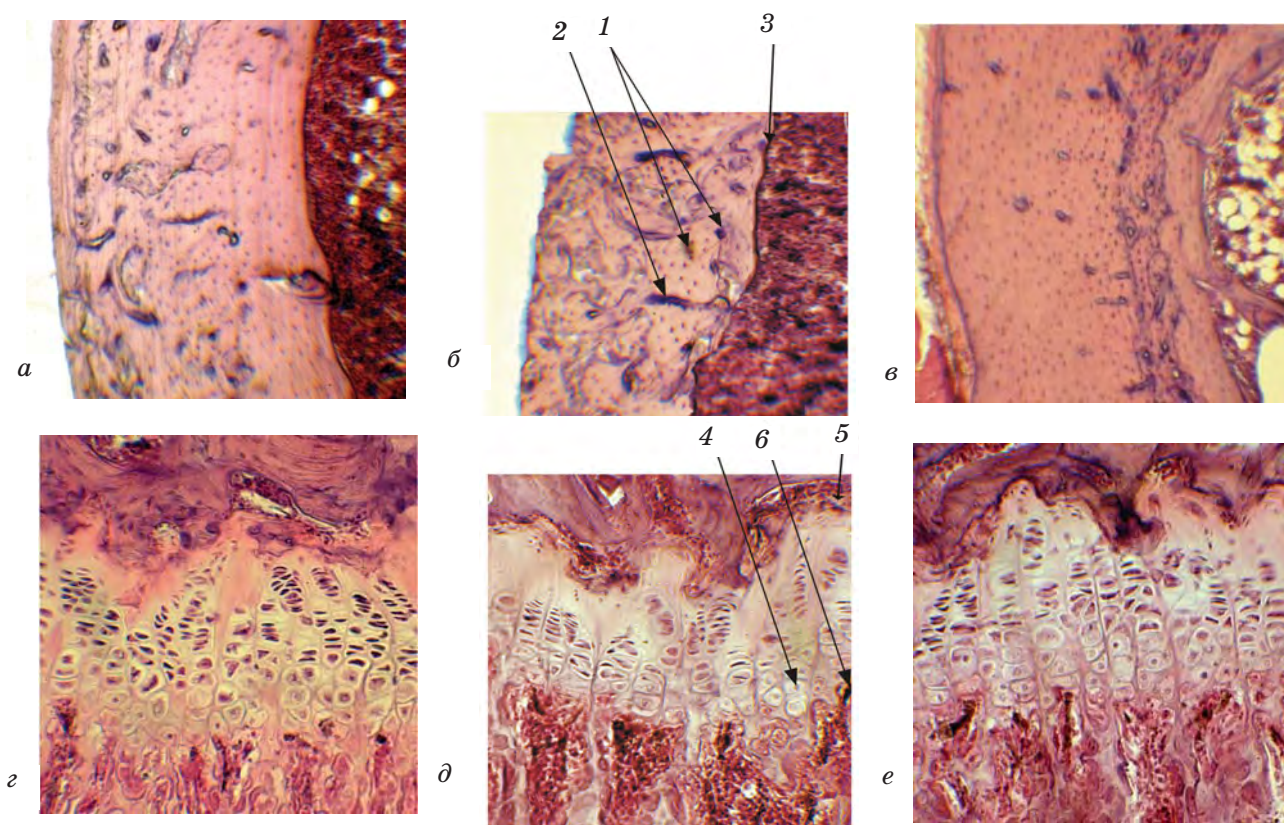
**Таблиця 2.** Вплив препаратів на остеометричні показники та мінеральний стан кісткової тканини ( $M \pm m, n = 10$ )

Досліджувані показники	Контроль	Дисфункціональний остеопороз		
		Остеопороз	+ «Кальмівід»	+ Препарат порівняння
Стегнова кістка:				
Довжина, мм	39,8 $\pm$ 0,3	36,4 $\pm$ 0,2	38,9 $\pm$ 0,2*	37,5 $\pm$ 0,1***
Товщина ДЕМ, мм	7,70 $\pm$ 0,04	7,00 $\pm$ 0,03	7,50 $\pm$ 0,03*	7,20 $\pm$ 0,01**
Великогомілкова кістка:				
Довжина, мм	42,0 $\pm$ 0,5	38,4 $\pm$ 0,2	41,0 $\pm$ 0,1*	39,0 $\pm$ 0,2***
Товщина ДЕМ, мм	7,90 $\pm$ 0,04	7,00 $\pm$ 0,03	7,70 $\pm$ 0,02*	7,30 $\pm$ 0,03***
Маса, г	0,98 $\pm$ 0,04	0,82 $\pm$ 0,03	1,20 $\pm$ 0,02*	0,90 $\pm$ 0,03***
Зольність, %	46,5 $\pm$ 0,5	42,0 $\pm$ 0,4	50,0 $\pm$ 0,3*	47,0 $\pm$ 0,2***
Вміст кальцію, %	28,9 $\pm$ 0,1	25,1 $\pm$ 0,2	27,8 $\pm$ 0,1*	26,9 $\pm$ 0,2***
Вміст фосфору, %	15,6 $\pm$ 0,1	12,0 $\pm$ 0,2	14,8 $\pm$ 0,1*	13,5 $\pm$ 0,1***

*Примітка.* ДЕМ — дистальний епіметафіз;

\* — вірогідність змін порівняно з групою із дисфункціональним остеопорозом;

\*\* — вірогідність змін порівняно з групою, яка отримувала «Кальмівід», у подальших таблицях аналогічно,  $p < 0,05$ .



**Рис. 2.** Гістоморфологічні дослідження кортикального шару та епіфізарного хряща тварин при дисфункціональному остеопорозі на фоні лікування препаратом «Кальмівід».

Поперечні гістологічні зрізи нижньої третини діяфіза стегнової кістки щурів контрольної групи (а), групи з дисфункціональним остеопорозом (б) та після місячної медикаментозної корекції препаратом «Кальмівід» (в). Зменшення щільності компактної кісткової тканини у тварин групи з дисфункціональним остеопорозом через збільшення кількості центральних (1), пронизливих (2) судинних каналів та порушення системи внутрішніх оточуючих кісткових пластинок (3). Відновлення структури компактної кісткової тканини на фоні введення препарату «Кальмівід». Гематоксилін-еозин. х 60. Ділянки проксимального епіфізарного хряща великогомілкової кістки щурів контрольної групи (г), групи з дисфункціональним остеопорозом (д) та після місячної медикаментозної корекції препаратом «Кальмівід» (е). Значне порушення зональної будови та потоншення епіфізарного хряща (4). Припинення хондро- (5) та ендохондріального (6) остеогенезу. Відновлення структури епіфізарного хряща на фоні введення препарату «Кальмівід». Гематоксилін-еозин. х120

**Таблиця 3.** Вплив препаратів на показники мінерального обміну в сироватці крові ( $M \pm m, n = 15$ )

Досліджувані показники	Контроль	Дисфункціональний остеопороз		
		Остеопороз	+ «Кальмівід»	+ Препарат порівняння
Кальцій, ммоль · л <sup>-1</sup>				
загальний	1,35±0,01	0,98±0,02	1,52±0,03*	1,20±0,02*,**
білокзв'язаний	0,18±0,01	0,16±0,03	0,17±0,02	0,18±0,01
ультрафільтрувальний	1,17±0,02	0,82±0,01	1,36±0,01*	1,02±0,02*,**
Фосфор неорг., ммоль · л <sup>-1</sup>	1,64±0,02	1,38±0,01	1,67±0,03*	1,45±0,02*,**
Лужна фосфатаза, О · л <sup>-1</sup>				
загальна	268±10	330±11	277±12*	300±10
кишковий ізофермент	81,2±2,1	112,0±1,8	81,9±1,0*	98,4±0,9*,**
кістковий ізофермент	220±5	280±4	240±3*	260±2*,**
25 ОНД <sub>3</sub> , нг · мл <sup>-1</sup> (нмоль · л <sup>-1</sup> )	19,8±0,4 (49,4)	14,5±0,2 (36,3)	22,8±0,4* (57,0)	17,0±0,3*,** (42,5)



Як видно з наведених у табл. 3 результатів, рівень загального кальцію та його фракцій значно вищий у разі введення препарату «Кальмівід». При цьому більший відсоток вмісту кальцію припадає на частку біологічно активної ультрафільтрувальної фракції, яка на 80–90% складається з іонізованого кальцію та на 10–20% — зі зв'язаного з фосфорною та вугільною кислотами. Враховуючи, що у щурів контрольної групи спостерігається порушення мінерального обміну порівняно з молодими тваринами, препарат «Кальмівід» дає більший нормалізуючий ефект, що має позитивне значення [38]. Препарат порівняння справляє менш виражений вплив на регуляцію мінерального обміну в організмі.

Дані щодо вмісту мінеральних компонентів підтверджуються показниками активності лужної фосфатази. Після введення препарату «Кальмівід» активність загальної лужної фосфатази та її ізоферментів зростає, практично досягаючи показників у контрольних тварин. Водночас у разі застосування препарату порівняння зазначені показники нижчі, ніж у тварин з дисфункціональною формою остеопорозу, але достовірно вищі за показники у контрольних щурів ( $p \leq 0,01$ ). Ці результати збігаються з даними стосовно вмісту  $25\text{ОНD}_3$  у сироватці крові. З уведенням препарату «Кальмівід» рівень цього метаболіту вітаміну  $\text{D}_3$  порівняно з таким рівнем у хворих на остеопороз підвищується в 1,6 раза і навіть на 15% перевищує відповідний показник у тварин контрольної групи (наближається до рівня у молодих тварин). Водночас унаслідок дії препарату порівняння вміст  $25\text{ОНD}_3$  підвищується в 1,24 раза порівняно з його рівнем у хворих, але на 8% нижче, ніж у контрольних тварин ( $p \leq 0,01$ ).

Таким чином, результати визначення показників мінерального обміну також підтверджують наведені раніше дані про вищу ефективність препарату «Кальмівід» проти препарату порівняння.

Оскільки, як зазначали вище, вітамін  $\text{D}_3$  є регулятором ліпідного обміну, порушення якого призводить до структурно-функціональних змін стану клітинних та субклітинних мембран, вивчали вплив препаратів на ліпідний склад сироватки крові при дисфункціональній формі остеопорозу.

Як впливає з наведених результатів (табл. 4), з уведенням досліджуваних препаратів відзначається їхня нормалізуюча дія на ліпідний стан сироватки крові, однак, як і стосовно інших показників, більш вираже-

ний ефект спостерігається у тварин, що одержували «Кальмівід». Слід зауважити, що характер порушень ліпідного складу сироватки крові при аліментарній та дисфункціональній формах остеопорозу різний, але в обох випадках вітамін  $\text{D}_3$  нормалізує порушення ліпідного обміну [38].

Враховуючи, що в разі дефіциту вітаміну  $\text{D}_3$  можуть порушуватись рівень гемоглобіну, вуглеводний обмін, функція нирок, вивчали вплив препарату на відповідні показники крові (табл. 5).

Одержані результати свідчать, що при дисфункціональній формі остеопорозу рівень гемоглобіну вірогідно знижується (на 36%) порівняно з його вмістом у контрольних тварин ( $p \leq 0,01$ ). Уведення препарату «Кальмівід» практично нормалізує його рівень ( $p \leq 0,01$ ). Препарат порівняння не впливає на цей показник. Слід зазначити, що у контрольних щурів похилого віку порівняно з молодими тваринами час згортання крові знижується практично на 28%, і це дає підставу стверджувати, що з віком ризик утворення тромбів зростає [38]. За умов остеопорозу час згортання крові практично не змінюється. Після введення препарату «Кальмівід» спостерігається збільшення часу згортання крові на 23% і наближення до відповідних показників у щурів молодого віку. Водночас у щурів, які одержували препарат порівняння, час згортання крові знижується порівняно з контрольною групою та групою з дисфункціональним остеопорозом. Це потребує обережності у використанні його при захворюваннях, які супроводжуються порушенням процесу згортання крові. Зазначені препарати нормалізують вуглеводний обмін та вміст сечовини. Ці ефекти більш виражені у препараті «Кальмівід».

Таким чином, проведені дослідження свідчать про ефективність препарату «Кальмівід» у нормалізації структури й мінерального обміну в кістковій тканині та в нормалізації мінерального, ліпідного, вуглеводного  $\text{D}$ -вітамінного обміну. Він підвищує рівень гемоглобіну, не впливає на час згортання крові. Нормалізуюча дія препарату «Кальмівід» вища за дію комерційного препарату порівняння.

Таблиця 4. Вплив препаратів на ліпідний склад сироватки крові ( $M \pm m, n = 10$ )

Досліджувані показники	Контроль	Дисфункціональний остеопороз		
		Остеопороз	+ «Кальмівід»	+ Препарат порівняння
Загальні ліпіди, г · л <sup>-1</sup>	2,92±0,03	1,65±0,08	2,26±0,03*	1,78±0,02*.,**
Сумарні фосфоліпіди, ммоль · л <sup>-1</sup>	1,13±0,02	1,14±0,03	1,33±0,01*	1,24±0,03*.,**
Холестерол, ммоль · л <sup>-1</sup>				
загальний	2,15±0,20	1,56±0,12	2,34±0,04*	1,53±0,10**
вільний	0,27±0,05	0,60±0,06	0,33±10,03*	0,48±0,02*.,**
етерифікований	1,88±0,06	0,96±0,05	2,01±0,06*	1,13±0,08*.,**
Етерифікований холестерол / загальний холестерол	0,87±0,01	0,61±0,01	0,86±0,02*	0,74±0,01*.,**

Таблиця 5. Вплив препаратів на деякі показники крові ( $M \pm m, n = 10$ )

Досліджувані показники	Контроль	Дисфункціональний остеопороз		
		Остеопороз	+ «Кальмівід»	+ Препарат порівняння
Гемоглобін, г%	14,8±0,4	8,9±0,1	15,3±0,2*	9,1±0,2**
Згортання крові, с	36,0±0,3	35,1±0,5	44,6±0,8*	31,2±0,4*.,**
Сечовина, ммоль · л <sup>-1</sup>	5,60±0,10	12,23±0,07	8,90±0,04*	10,30±0,03*.,**
Глюкоза, ммоль · л <sup>-1</sup>	6,50±0,02	7,90±0,03	6,90±0,04*	7,20±0,01*.,**

### ЛІТЕРАТУРА

1. Riis B. J. Biochemical markers of bone turnover. Diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis // *Am. J. Med.* — 1993. — V. 95, N. 5A. — P. 17–21.
2. Цейтлин О. Я. Эпидемиология остеопороза // *Вестн. РАМН.* — 2002. — №3. — С. 54–57.
3. Беневоленская Л. И. Остеопороз — актуальная проблема медицины // *Остеопороз и остеопатия.* — 1998. — №1. — С. 5–7.
4. Бакулин А. В., Оганов В. С., Новиков В. Е. Типичные значения минеральной плотности поясничных позвонков и проксимального отдела бедренной кости у различных возрастных групп населения московского региона // *Первый Российский симпозиум по остеопорозу.* — М., 1995. — С. 71.
5. Лесняк О. М., Кузьмина Л. И. Социально-экономические аспекты профилактики и лечения остеопороза: Обзор литературы // *Остеопороз и остеопатии.* — 2000. — №1. — С. 35–39.
6. Коструб О. О., Хохол М. І., Павлішен Ю. І. Динаміка інвалідності від травм і захворювань опорно-рухового апарату та заходи щодо її зниження // *Вісник ортопедії, травматології та протезування.* — 1999. — Т. 25, №1 — С. 10–11.
7. Ершова О. Б., Семенова О. В., Дегтярев А. А. Результаты проспективного изучения исходов переломов проксимального отдела бедра у лиц пожилого возраста // *Остеопороз и остеопатия.* — 2000. — №1. — С. 9–10.
8. Дедов И. И., Марова Е. И., Рожинская Л. Я. Остеопороз: патогенез, диагностика, принципы профилактики и лечения: Методическое пособие для врачей. — М., 1999. — 63 с.
9. Institute of Medicine, Food and Nutrition Board. Dietary reference intakes: Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D and Fluoride. — Washington: National Academy Press, DC, 1999.
10. Holick M. F., Matsuoka L. Y., Wortsman J. Age, vitamin D and solar ultraviolet // *Lancet.* — 1989. — V. 2. — P. 1104–1105.
11. Need A. G., Morris H. A., Horowitz M., Nordin C. Effect of skin thickness, age, body fat and sunlight on serum 25-hydroxyvitamin D // *Am. J. Clin. Nutr.* — 1993. — V. 58. — P. 882–885.
12. Бруско А. Т., Рой І. В., Калашніков А. В., Гайко О. Г. Системна класифікація остеопорозу // *Травма.* — 2001. — Т. 2, № 2. — С. 201–203.
13. Рожинская Л. Я. Системный остеопороз. — М.: Медицина. — 1996. — 186 с.
14. Matkovic V., Fontana D., Tominc C. et al. Factors that influence peak bone mass formation: a study of calcium balance and the inheritance of bone mass in adolescent females // *Am. J. Clin. Nutr.* — 1990. — V. 52. — P. 878–888.
15. Recker R.R. Calcium absorption and achlorhydria // *N. Engl. J. Med.* — 1985. — V. 513. — P. 70–73.
16. Риггз Б. Л., Мелтон Л. Дж. Остеопороз: Этиология, диагностика и лечение. — М. — СПб: БИНОМ, Невский диалект, 2000. — 560 с.



17. *Peacock M.* Effect of calcium and vitamin D insufficiency on the skeleton // *Osteoporosis Int.* — 1998. — Suppl. — P. 45–51.
18. *Dawson-Hughes B., Harris S.S., Krall E., Dallae G.E.* Effect of calcium and vitamin D supplementation on bone density in men and women 65 years of age or older // *N. Engl. J. Med.* — 1997. — V. 337. — P. 670–676.
19. *Prince R.L.* Diet and the prevention of osteoporotic fractures // *N. Engl. J. Med.* — 1997. — V. 337. — P. 700–702.
20. *Рожинская Л. Я.* Остеопороз: диагностика нарушений метаболизма костной ткани и кальций-фосфорного обмена (лекция) // *Клиническая лабораторная диагностика.* — 1998. — № 5. — С. 25–32.
21. *Руденко Э. В.* Остеопороз: диагностика, лечение и профилактика. — Минск: Бел. наука, 2001. — 153 с.
22. *Kowarski S., Cowen L.A., Tarahaski M.T., Schachter D.* Tissue distribution and vitamin D dependence of IMCAL in the rat // *Am. J. Physiol.* — 1987. — V. 253, N3. — P. 411–419.
23. *Rummens K., van Herck E., van Bree R. et al.* Dietary calcium and phosphate restriction in guinea-pigs during pregnancy: fetal mineralization induces maternal hypocalcemia despite increased 1 alpha, 25-dihydroxycholecalciferol concentrations // *Br. S. Nutr.* — 2000. — V. 84, N4. — P. 495–504.
24. *Wolf R.L., Caunley J.A., Baker C.E.* Factors associated with calcium absorption efficiency in pre- and perimenopausal women // *Am. J. Clin. Nutr.* — 2000. — V. 72, N2. — P. 466–471.
25. *Калашников А. В., Бруско А. Т.* Вплив додаткових доз кальцію та вітаміну D<sub>3</sub> на структурно-функціональну організацію кісток // *Вісн. ортопед., травматол. та протез.* — 2002. — №1. — С. 42–45.
26. *Кожем'якін Ю. М., Хромов О. С., Філоненко М. А., Сайфетдінова Г. А.* Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та робота з ними. — К.: Авіценна, 2002. — 156 с.
27. *Урбах В. Ю.* Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. — М.: Медицина, 1975. — 295 с.
28. *Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н.* Статистические методы в биологических исследованиях с использованием Excel. — К.: Морион, 2000. — 320 с.
29. *Dyce B.J., Bessman S.P.* A rapid nonenzymatic assay for 2,3-DPG in multiple specimen of blood // *Arch. Environ. Health.* — 1973. — V. 27, N2. — P. 112–115.
30. *Вагнер В. К., Путилин В. М., Харабуга Г. Г.* Методы и результаты исследования изоферментов (кишечной и печеночной фракций) сывороточной щелочной фосфатазы при острых хирургических заболеваниях органов брюшной полости // *Вопр. мед. химии.* — 1981. — Т. 27, № 6. — С. 752–754.
31. *Плеханов Б., Цветкова Т., Пиперков Т., Чиговская М.* Щелочная фосфатаза: современное состояние вопроса // *Лаб. дело.* — 1989. — №11. — С. 4–7.
32. *Anderson J.T., Engelbrecht F., Mori F., Nishimoto S.* A stable reagent for cholesterol // *Feder. Proc.* — 1964. — V. 23, N1. — P. 555.
33. *Kamel G.* Blood lipid in infantile rickets // *J. Egypt. Med. Assoc.* — 1976. — V. 65, N2. — P. 98–101.
34. *Камышников В. С.* Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. — Минск: Беларусь, 2000. — Т. 2. — С. 134–138.
35. *Ануховская Л. И., Хрестовая Н. Л., Антоненко Л. В.* Метаболизм витамина D<sub>3</sub>, введенного в липосомах, в печени крыс // *Укр. биохим. журн.* — 1991. — Т. 63, №5. — С. 89–94.
36. *Гайко Г. В., Ануховська Л. І., Бруско А. Т. та ін.* Вплив вітаміну D<sub>3</sub> та різних доз вітаміну Е на мінеральний обмін, структурну організацію кісткової тканини та ріст довгих кісток // *Вісн. ортопед., травматол. та протез.* — 2005. — №1. — С. 5–13.
37. *Справочник по клиническим лабораторным методам исследования /* Под ред. Е. А. Кост. — М.: Медицина, 1975. — 383 с.
38. *Гайко Г. В., Ануховська Л. І., Бруско А. Т. та ін.* Вплив комплексного препарату вітаміну D<sub>3</sub> «Кальмівід» на метаболізм і структурну організацію кісткової тканини при аліментарному остеопорозі // *Укр. морфол. альманах.* — 2005. — Т. 3, №4. — С. 101–107.

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСНЫХ  
ПРЕПАРАТОВ ВИТАМИНА D<sub>3</sub>  
ПРИ ОСТЕОПОРОЗЕ**

*Л. И. Апуховская<sup>1</sup>  
В. Н. Василевская<sup>1</sup>  
А. И. Безусяк<sup>1</sup>  
С. А. Романова<sup>1</sup>  
А. В. Калашников<sup>2</sup>  
Ал. В. Калашников<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Институт биохимии им. А. В. Палладина  
НАН Украины, Киев

<sup>2</sup> Институт травматологии и ортопедии  
АМН Украины, Киев

*E-mail: penchuk-yuri@yandex.ru*

В эксперименте на крысах линии Wistar изучали эффект различных комплексных препаратов витамина D<sub>3</sub> при дисфункциональном остеопорозе. Установлено, что препарат с низким содержанием кальция наиболее эффективен в нормализации минерального и липидного обмена, структуры и функции костной ткани и эпифизарного хряща. Отсутствие побочных эффектов позволяет использовать комплексный D-витаминный препарат «Кальмивид» при дисфункциональном остеопорозе.

**Ключевые слова:** дисфункциональный остеопороз, минеральный обмен, липидный обмен, костная ткань, комплексный препарат витамина D<sub>3</sub>.

**EFFECTIVENESS OF VITAMIN D<sub>3</sub>  
COMPLEX PREPARATIONS UNDER  
CONDITIONS OF OSTEOPOROSIS**

*L. I. Apukhovska<sup>1</sup>  
V. M. Vasilevska<sup>1</sup>  
A. I. Bezysyak<sup>1</sup>  
S. O. Romanova<sup>1</sup>  
An. V. Kalashnikov<sup>2</sup>  
Ol. V. Kalashnikov<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Palladin Institute of Biochemistry  
of National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv  
Institute of Traumatology and Orthopedyc of  
Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv

*E-mail: penchuk-yuri@yandex.ru*

The effects of different vitamin D<sub>3</sub> complex preparations under conditions of dysfunctional osteoporosis in the experiment of Vistar rats were studied.

It was determined that preparations with small doses of calcium is most effective in normalization of mineral and lipid metabolism and of the bone tissue and epiphyseal cartilage structure and function. The absence of the side effects allows to use the vitamin D<sub>3</sub> complex preparations «Calmivid» under dysfunctional osteoporosis.

**Key words:** dysfunctional osteoporosis, mineral metabolism, lipid metabolism, bone tissue, vitamin D<sub>3</sub> complex preparation.