

© О.В. Сквирський, В.Й. Мамчур, 2011

УДК: 161.71-003.84+577.1

О.В. СКВИРСЬКИЙ, В.Й. МАМЧУР

Дніпропетровська державна медична академія, кафедра фармакології, клінічної фармакології та фармакоекономіки, Дніпропетровськ

ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ CaD_3 І АТЕНОЛОЛУ НА МІНЕРАЛЬНУ ЩІЛЬНІСТЬ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ У ЩУРІВ ІЗ РІЗНИМИ ФОРМАМИ ОСТЕОПОРОЗУ

У роботі приведені власні дані порівняльних досліджень впливу препарату CaD_3 разом з антигіпертензивною терапією (атенолол) на щурів з різними формами остеопорозу – природний сенильний остеопороз та постменопаузальний остеопороз. Постменопаузальний остеопороз відтворювали шляхом оварієктомії (OVX) у щурів. Природний сенильний остеопороз за нашими даними виникав не у всіх щурів старого віку. Введення препарату CaD_3 збільшує загальну мінеральну щільність кісткової тканини (МЩКТ) на 4,83%, проте сумісне введення CaD_3 з атенололом впродовж 30 діб старим щурам (сенильний остеопороз) зменшує МЩКТ на 4,75%. Під впливом CaD_3 у OVX щурів (постменопаузальний остеопороз) загальна МЩКТ збільшується на 6,71%, препарат CaD_3 сумісно з атенололом дає менший приріст МЩКТ – лише на 0,38%.

Ключові слова: експериментальний остеопороз, препарат CaD_3 , атенолол

Вступ. Згідно з літературними даними, остеопороз було виявлено у жінок віком від 20 до 89 років у наступному процентному співвідношенні за віковими групами: в 13 % жінок — у віці 50–59 років, у 25 % — в групі 60–69 років, у 50 % — в групі 70–79 років та в 53 % — у групі 80–89 років. Загальна кількість жінок України, які страждають на остеопороз, дорівнює 3005 тис., або 11,8 % від усього жіночого населення [7]. В основному, це жінки віком після 50 років, у яких, окрім остеопорозу, можуть бути і захворювання серцево-судинної системи. Отже, важливим напрямком у сучасній науковій медицині є вивчення патогенетичних механізмів, які обумовлюють паралельний розвиток кардіальної патології та остеопорозу в період менопаузи. Кожна 50-річна жінка має 46% ризику розвитку ішемічної хвороби серця (ІХС) та 36% ризику смерті від неї. У пацієнтів із гіпертонічною хворобою (ГХ) та супутньою ІХС остеопоротичні зміни виявляються частіше, ніж у пацієнтів із ГХ без ішемічної хвороби серця [1, 7]. Згідно з останніми рекомендаціями по лікуванню артеріальної гіпертензії ESC/ESH (2007) основний успіх антигіпертензивного лікування пов'язаний зі зниженням артеріального тиску. Так, препаратами першого вибору є тiazидні діуретики та β -блокатори [13]. Однак сьогодні недостатньо відомостей про вплив β -блокаторів на кісткову тканину, водночас існуючі в літературі дані вказують на неоднозначний характер впливу цих препаратів на мінеральний обмін. Існують докази того, що застосування β -блокаторів має анаболічний ефект на метаболізм кісткової тканини та може бути потенційним терапевтичним вибором у пацієнтів, які страждають на серцево-судинні захворювання на тлі негативних змін мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ) [7].

β_2 -адренорецептори знайдені на людських остеобластах і остеокластах, у зв'язку з чим

виникло питання про адренергічну регуляцію кісткового метаболізму. Досліджено ефект від лікування β -адреноблокаторами на кісткову перебудову, МЩКТ і ризик перелому [14]. Проведено дослідження Danish Osteoporosis Prevention Study (DOPS) 2016 жінок періоду постменопаузи, яке показало, що лікування β -блокаторами супроводжувалося триразовим збільшенням ризику переломів. При аналізі тривалості лікування виявилось, що прийом більше 8 років асоціювався з більшим ризиком переломів, ніж у тих, хто отримував лікування менше цього терміну. Рівень остеокальцину в сироватці крові у жінок, що одержували β -блокатори, був нижчий на 20%, ніж у жінок, які ці препарати не приймали. Проте МЩКТ в хребті та шийці стегна не відрізнялися між групами [14]. В інших дослідженнях прийом β -блокаторів характеризувався нижчим ризиком переломів і більш високою кістковою щільністю [12]. Цей факт підтверджується даними de Vries F., 2007 р. – β -блокатори знижували ризик переломів стегна, проте це зниження ніяк не корелювало з дозою медикаментів, ліпофільністю або селективністю. Протективний ефект β -блокаторів був наявним тільки в групі пацієнтів, які приймали й інші антигіпертензивні препарати, а у пацієнтів, яких лікували виключно β -блокаторами такий ефект був відсутній [9]. Таким чином, потрібен час для з'ясування цих питань.

Збільшення кісткової маси у мишей під впливом β -блокаторів підтверджує роль β -адренорецепторів остеобластів в регуляції обмінних процесів кісткової тканини. Проте в результаті дослідження не було виявлено зв'язків між β -блокаторами і кістковою щільністю та зниженням ризику переломів [10]. Тому вивчення аспектів сумісного використання препаратів кальцію (як базової терапії остеопорозу) разом з антигіпертензивною терапією на моделі

остеопорозу в щурів є актуальним завданням для науковця. В нашій роботі ми досліджували вплив атенололу на МЦКТ у щурів з остеопорозом на фоні застосування препарату кальцій Д₃.

Мета дослідження. Експериментально-теоретично обґрунтувати доцільність використання препарату СаД₃ разом з антигіпертензивною терапією (атенолол), застосовуючи для цього різні моделі остеопорозу в щурів – природний сенильний остеопороз та постменопаузальний остеопороз (оварієктомія).

Матеріали та методи. У наших дослідженнях використано 36 білих нелінійних щурів-самиць, із них 12 – масою 160-180 г віком 6 місяців; 12 – масою 180-200 г віком 12 місяців; 12 – масою 250-300 г віком 18 місяців. Догляд і утримання лабораторних тварин здійснювали відповідно вимогам [2, 5] у стандартних умовах віварію ДДМА при вільному доступі до води та їжі, щури одержані з розплідника ІФТ АМН України. В експериментальних дослідженнях *in vivo* ми відтворили відомі із літератури види остеопорозу [8]. Природний сенильний остеопороз виникає у старих щурів. Відомо, що не лише у людини, але і у тварин з віком виникають остеопоротичні зміни, що обумовлено зниженням формування і збільшенням резорбції кісткової тканини. Вважається, що інволюційні трофічні розлади в кістковій тканині розвиваються у щурів після першого року життя [8]. Тому в наших дослідженнях ми обрали для цієї форми остеопорозу щурів віком 18 місяців. Молодим і старим щурам внутрішньошлунково вводили атенолол (20 мг/кг) та СаД₃ (70 мг/кг) впродовж 30 днів. Постменопаузальний остеопороз ми створили шляхом видалення яєчників у щурів-самиць зрілого віку (12 місяців). Вважають, що через 60 днів після оварієктомії (OVX) відбуваються ранні зміни кісткового метаболізму у щурів [8]. Цій групі щурів вводили лікарські засоби через 60 днів після OVX впродовж 30 днів. Рентгенденситометричне дослідження виконано на апараті DEXA “Prodygy” з визначенням мінеральної щільності кісткової тканини (МЦКТ) всього тіла, хребта, стегнової кістки, кісток передпліччя, кисті та жирової й знежиреної маси [11]. Всі експериментальні дослідження здійснювали відповідно до Методичних рекомендацій ДФЦ МОЗ України [2], вимог Європейської конвенції із захисту лабораторних тварин (Страсбург, 1986), «Положення про використання тварин в біомедичних дослідженнях» [3]. Дані експериментів обробляли методом варіаційної статистики (t-тест) за допомогою програми StatPlus, OriginPro 8.0 (OriginLab Corporatuon, США) [4].

Результати досліджень та їх обговорення. Показники мінеральної щільності кісткової тканини (BMD) у щурів з різними формами остеопорозу представлені в таблиці 1. Загальна

BMD Total у старих тварин (сенильний остеопороз) була на 15,87% вище, ніж у молодих щурів. Найбільші відмінності спостерігалися у верхніх кінцівках – збільшення BMD arms на 29,15%, найменші – в кістках тазу – збільшення BMD Pelvis на 4,16%.

У групі OVX (постменопаузальний остеопороз) показники мінеральної щільності досліджувалися у вихідному стані та через 60 днів після оварієктомії. Через два місяці після операції загальна BMD Total зменшилася на 9,01% у порівнянні з вихідними показниками. Найбільші зміни спостерігалися у верхніх кінцівках, BMD arms збільшилася на 19,19%, найменші зміни в області хребта – BMD Spine збільшилася на 4,57%. Отже, операція по видаленню яєчників привела до формування остеопорозу постменопаузи. Проте OVX щури, через 2 місяці після операції мали загальну BMD Total на 4,18% вище, ніж у молодих тварин. Цей факт підкріплюється даними літератури про те, що піку кісткова маса щура досягає до першого року життя. У групі старих щурів та у групі однорічних щурів загальна BMD Total була практично однаковою, що може свідчити про те, що не у всіх тварин в сенильній групі спостерігалися явища остеопорозу. Таким чином, за нашими результатами моделювання різних форм остеопорозу можна зробити наступні висновки: група OVX тварин – мінеральна щільність знизилася в порівнянні з показниками до операції, що свідчить про сформовану модель первинного остеопорозу постменопаузи. Група старих тварин – середня загальна BMD Total близька за значенням до показників однорічних тварин, що свідчить про те, що не у всіх тварин виникають явища остеопорозу. Якщо екстраполювати ці дані на людей, 18-місячні щури відповідають віку людини 50 – 60 років, в популяції людей теж частота остеопорозу в цьому віці складає 50 – 60%. Показники кісткової щільності молодих тварин відповідають значенням на етапі формування кісток.

Метою наступного фрагменту нашого дослідження було визначення змін МЦКТ щурів після 30-денного введення комплексу СаД₃ в дозі 70 мг/кг. Результати представлені в таблиці 2. Найбільша загальна BMD Total простежувалася в групі старих тварин – $0,1236 \pm 0,010$ г/см², що на 16,60% більше, ніж в групі молодих щурів. У групі OVX тварин дані загальної BMD Total були на 6,71% більше, ніж у молодих тварин. Найвища BMD спостерігалася в хребті старих тварин – BMD Spine $0,2069 \pm 0,021$ г/см², а найнижча – у верхніх кінцівках OVX тварин – BMD arms $0,0706 \pm 0,0043$ г/см². Таким чином, показники кісткової щільності щурів під впливом препарату СаД₃ розподілилися по групах так: в порядку збільшення: молоді щури – OVX щури – старі щури. При цьому в усіх групах зберігалася однакова тенденція до розподілу кісткової

щільності: верхні кінцівки > таз > нижні кінцівки. Під впливом CaD₃ загальна BMD Total збільшувалася на 4,83% відносно старих щурів

(сенильний остеопороз), і на 6,71% – відносно OVX тварин (постменопаузальний остеопороз) (рис.1, 2).

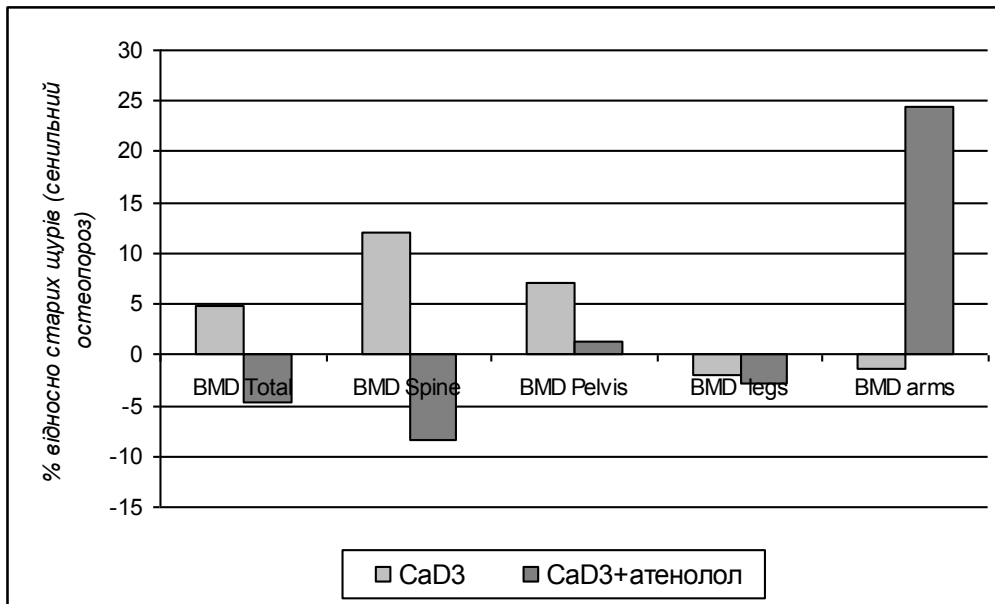


Рис. 1. Зміни МЦКТ під впливом препаратів у старих щурів (сенильний остеопороз)

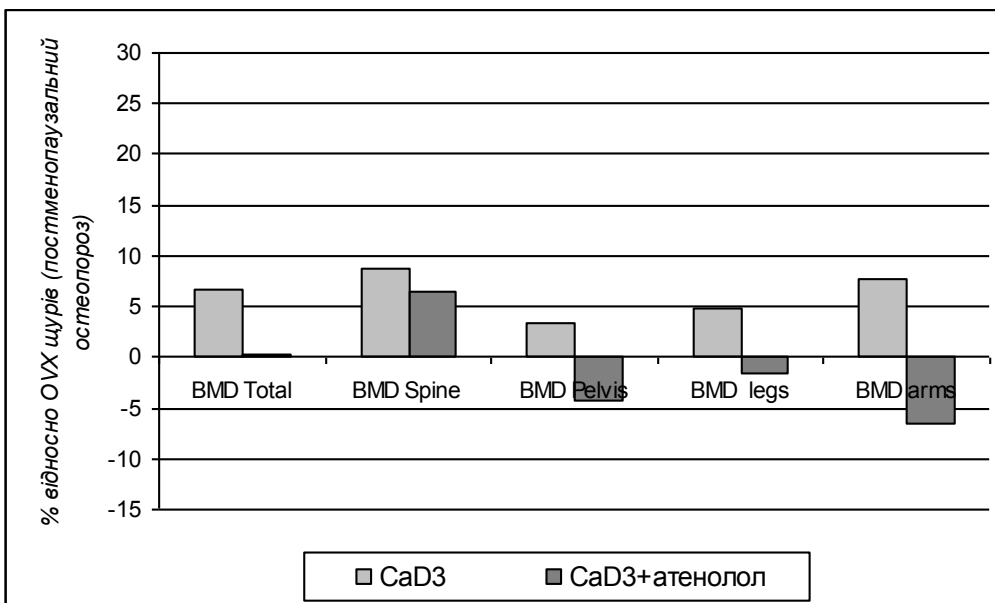


Рис. 2. Зміни МЦКТ під впливом препаратів у OVX щурів (постменопаузальний остеопороз)

Результати наступного фрагменту дослідження по 30-добовому введенню препарату CaD₃ (70 мг/кг) сумісно з атенололом (20 мг/кг) шурам з різними формами остеопорозу представлені в таблиці 3. Найбільша загальна BMD Total відмічена в групі старих тварин – 0,1123±0,007 г/см², що на 1,99% більше, ніж у групі молодих щурів. У групі OVX тварин дані загальної BMD Total були на 3,37% менше, ніж у молодих тварин. Найвища BMD спостерігалася в хребті старих тварин: BMD Spine 0,1692±0,017 г/см², а найнижча – у верхніх кінцівках OVX

тварин: BMD arms 0,0612±0,0024 г/см². Таким чином, показники кісткової щільності розподілилися по групах в порядку збільшення: OVX шури – молоді шури – старі шури. При цьому, в усіх групах зберігалася однакова тенденція до розподілу кісткової щільності: хребет > таз > нижні кінцівки > верхні кінцівки. Під впливом CaD₃ сумісно з атенололом загальна BMD Total зменшувалася на 4,75% відносно старих щурів (сенильний остеопороз), і збільшувалася на 0,38% – відносно OVX тварин (постменопаузальний остеопороз) (рис.1, 2).

Таблиця 1

Зміни мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ, BMD) при формуванні експериментальних еквівалентів остеопорозу

Групи тварин (N=12)	BMD Total (г/см ²)	BMD Spine (г/см ²)	BMD Pelvis (г/см ²)	BMD legs (г/см ²)	BMD arms (г/см ²)	
Молоді	0,1018±0,0014	0,1610±0,0037	0,1166±0,0026	0,0815±0,0014	0,0582±0,0021	
Старі (сенільний остеопороз)	0,1179±0,0011*	0,1847±0,0031*	0,1214±0,0015	0,0958±0,0010*	0,0752±0,0019*	
Молоді/старі %	15,87	14,72	4,16	17,55	29,15	
OVX (постменопаузальний остеопороз)	До операції	0,1165±0,0016	0,1735±0,0029	0,1303±0,0021	0,0988±0,0022	0,0810±0,0145
	Через 60 дів після операції (OVX)	0,1060±0,0017 [#]	0,1656±0,0043 [#]	0,1211±0,0021 [#]	0,0923±0,0009 [#]	0,0655±0,0010
До операції/ OVX %	-9,01	-4,57	-7,04	-6,61	-19,19	
Молоді/ OVX %	4,18	2,87	3,89	13,25	12,43	

Примітка: * – достовірно відносно молодих, p<0,05
– достовірно відносно вихідного фону (до операції), p<0,05
OVX – щури з видаленими яєчниками

Таблиця 2

Зміни мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ, BMD) через 30 дів введення препарату CaD₃ (70 мг/кг)

Групи тварин (N=6)	BMD Total (г/см ²)	BMD Spine (г/см ²)	BMD Pelvis (г/см ²)	BMD legs (г/см ²)	BMD arms (г/см ²)
Молоді	0,1060±0,004	0,158±0,015	0,117±0,009	0,091±0,004	0,075±0,009
Старі (сенільний остеопороз)	0,1236±0,010*	0,2069±0,021*	0,1299±0,014	0,0939±0,002*	0,0741±0,012
Молоді / старі %	16,60	30,95	11,03	3,19	-1,20
OVX (постменопаузальний остеопороз)	0,1131±0,0032*	0,1801±0,0082*	0,1252±0,0041	0,0967±0,0028*	0,0706±0,0043
Молоді / OVX %	6,71	13,99	7,03	6,23	-5,93

Примітка: * – достовірно відносно молодих, p<0,05; OVX – щури з видаленими яєчниками

Таблиця 3

Зміни мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ, BMD) через 30 дів введення атенололу (20 мг/кг) і препарату CaD₃ (70 мг/кг)

Групи тварин (N=6)	BMD Total (г/см ²)	BMD Spine (г/см ²)	BMD Pelvis (г/см ²)	BMD legs (г/см ²)	BMD arms (г/см ²)
Молоді	0,1101±0,009	0,1683±0,015	0,1199±0,007	0,0830±0,003	0,0727±0,017
Старі (сенільний остеопороз)	0,1123±0,007	0,1692±0,017	0,1230±0,009	0,0930±0,008*	0,0935±0,074
Молоді / старі %	1,99	0,51	2,59	12,05	28,67
OVX (постменопаузальний остеопороз)	0,1064±0,0037	0,1763±0,0068	0,1158±0,0038	0,0909±0,0007*	0,0612±0,0024
Молоді / OVX %	-3,37	4,73	-3,41	9,52	-15,78

Примітка: * – достовірно відносно молодих, p<0,05; OVX – щури з видаленими яєчниками

Висновки. 1. Постменопаузальний остеопороз відтворюється у щурів шляхом оваріектомії. Природний сенільний остеопороз виникає не у всіх щурів старого віку.

2. Введення препарату CaD₃ в дозі 70 мг/кг збільшує BMD Total на 4,83%, проте сумісне введення CaD₃ з атенололом (20 мг/кг) впродовж 30 дів старим щурам (сенільний остеопороз)

зменшує BMD Total на 4,75%.

3. Під впливом CaD₃ у OVX щурів (постменопаузальний остеопороз) BMD Total збільшується на 6,71%, препарат CaD₃ сумісно з атенололом дає менший приріст BMD Total – лише на 0,38%.

Перспективи подальших розробок. У плани наших досліджень входить також

визначення доцільності використання препарату CaD₃ разом з іншими кардіологічними препаратами – аторвастатином, гідрохлортiazидом, застосовуючи для цього різні моделі остеопорозу в щурів – природний сенильний остеопороз та постменопаузальний остеопороз (оваріектомія).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Горбась І.М. Популяційні аспекти серцево-судинних захворювань у дорослого населення України / І.М. Горбась, І.П. Смирнова // Український кардіологічний журнал. — 2006. — Спец. випуск. — С.44-47.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів: [методичні рекомендації] / О.В. Стефанов. — К.: Авіцена, 2002. — 527 с.
3. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідках // Експерим. та клін. фізіологія і біохімія. — 2003. — №2 (22). — с. 108-109.
4. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL. / Лапач С.Н. — К.: Морион, 2001. — 408 с.
5. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та робот і з ними / [Кожем'якін Ю.М., Хромов О.С., Філоненко М.А., Сайретдінова Г.А.] — К., 2002.—155 с.
6. Поворознюк В.В. Остеопороз — проблема XXI сторіччя / В.В. Поворознюк // Мистецтво лікування. — 2005. — №10. — С.37—40.
7. Поворознюк В.В. Остеопороз та серцево-судинна патологія в постменопаузальному періоді: існує зв'язок чи ні? / В.В. Поворознюк, О.І. Нішкумай // Проблеми остеології. — 2009. — Т.12, №4. — С. 16—37.
8. Фролькис В.В. Экспериментальный остеопороз / В.В. Фролькис, В.В. Поворознюк, О.А. Евтушенко // Медична газета "Здоров'я України". — №86. — 2004. — С. 8.
9. de Vries F. Use of beta-blockers and the risk of hip/femur fracture in the United Kingdom and The Netherlands / F. de Vries, P.C. Souverein, C. Cooper // Calcif. Tissue Int.. — 2007. — №80 (2). — P. 69—75.
10. Ian R. Reid Beta-blocker use, BMD, and fractures in the study of osteoporotic fractures / Ian R. Reid, Gregory D. Gamble, Andrew B. Grey // Journal of bone and mineral research. — 2005. — Vol.20, №4. — P. 613—618.
11. Nagy T.R. Validation of peripheral DXA for the measurement of bone mineral in intact and excised long bones of rats / T.R. Nagy, C.W. Prince, J. Li // J. Bone Mineral Res.. — 2001. — Vol.16. — P. 1682—1687.
12. Pasco J.A. Beta-adrenergic blockers reduce the risk of fracture partly by increasing bone mineral density: Geelong Osteoporosis Study / J.A. Pasco, M.J. Henry, K.M. Sanders // J. Bone Miner. Res.. — 2004. — №19 (1). — P. 19—24.
13. Reappraisal of European guidelines on hypertension management: a European Society of Hypertension Task Force document // J. Hypertension, 2009. — №27. — P. 2121—2158.
14. Rejnmark L. Fracture risk in perimenopausal women treated with beta-blockers / L. Rejnmark, P. Vestergaard, M. Kassem // Calcif. Tiss. Int. — 2004. — №75. — P. 365—372.

A.V. SKVIRSKY, V.I. MAMCHUR

Dnipropetrovsk State Medical Academy, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Pharmacoeconomic, Dnipropetrovsk

INFLUENCE OF PREPARATION CaD₃ AND ATENOLOL ON THE BONE MINERAL DENSITY FOR RATS WITH THE DIFFERENT FORMS OF OSTEOPOROSIS

Own data over a comparative researches influence of preparation CaD₃ are in-process brought jointly with antihypertensive therapy (atenolol) on the rats with different forms of osteoporosis – is a natural senile osteoporosis and postmenopause osteoporosis. The postmenopause osteoporosis was designed for rats by ovariectomy. A natural senile osteoporosis from our data arose up not for all rats of old age. Introduction of preparation of CaD₃ increases a bone mineral density (BMD) on 4,83%, however joint introduction of CaD₃ with atenolol during a 30 days BMD diminishes old rats (senile osteoporosis) on 4,75%. Under act of CaD₃ at OVX of rats (postmenopause osteoporosis) general BMD increases on 6,71%, preparation of CaD₃ jointly with atenolol gives the less increase of BMD – only on 0,38%.

Key words: experimental osteoporosis, preparation of CaD₃, atenolol

Стаття надійшла до редакції: 11.07.2011 р.