

## ІМУНОМОДУЛЮЮЧА ДІЯ ВІТАМІНУ D<sub>3</sub> ТА БІСФОСФОНАТІВ ПРИ АЛІМЕНТАРНОМУ ОСТЕОПОРОЗІ В ЩУРІВ

© В. М. РЯСНИЙ, Л. І. АПУХОВСЬКА, М. М. ВЕЛИКИЙ,  
І. О. ШИМАНСЬКИЙ, Д. О. ЛАБУДЗИНСЬКИЙ, С. В. КОМІСАРЕНКО

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;  
e-mail: Riasniy@ukr.net

Метою дослідження було з'ясувати ефективність роздільного та комплексного введення вітаміну D<sub>3</sub>, а також різних форм бісфосфонатів (дигідрату динатрієвої солі метиленбісфосфонові кислоти і алендронату) на функціональну активність імунокомпетентних клітин крові щурів за аліментарного остеопорозу. Результати проведених досліджень свідчать, що утримання щурів на D-гіповітамінозній дієті призводить до зниження рівня 25ОНD<sub>3</sub> (який є біомаркером забезпеченості організму вітаміном D<sub>3</sub>), до порушення метаболічних процесів у кістковій тканині і розвитку аліментарної форми остеопорозу. Імунологічні порушення за цієї патології характеризуються зниженням фагоцитарної активності гранулоцитів, їхньої здатності продукувати бактерицидні біооксиданти (активні форми кисню), а також супроводжуються пригніченням В-клітинної ланки імунітету. Продемонстровано найбільш виражені ефекти вітаміну D<sub>3</sub> на фагоцитарні, а бісфосфонатів – на гуморальні ланки імунного захисту.

*Ключові слова:* аліментарний остеопороз, вітамін D<sub>3</sub>, бісфосфонати, фагоцитоз, імуноглобуліни.

Остеопороз – системне захворювання скелету, що характеризується порушенням метаболізму кісткової тканини, пошкодженнями її мікроархітекtonіки та дефіцитом кісткової маси з наступним збільшенням крихкості і вірогідності переломів кісток [1]. Причинами розвитку остеопорозу можуть бути довготривалий прийом глюкокортикоїдів та тиреоїдних гормонів, ревматоїдний артрит, гіпокінезія, стреси, низька якість життя, зловживання алкоголем, куріння тощо [2].

В основі патогенезу різних форм остеопорозу лежить гіперактивність остеокластів кісткової тканини та зниження функціональної активності остеобластів, що порушує процес ремоделювання і призводить до зниження кісткової маси [3]. Молекулярні механізми порушення нормального взаємозв'язку між основними функціональними системами кісткової тканини полягають у зниженні утворення ростових факторів (IGF, TGF) та простагландинів, що стимулюють остеобласти, а також у підвищенні активності цитокінів, що регулюють функції остеокластів (TGFα, TNF, IL-1, IL-6, IL-11, IL-17) [4].

За остеопорозу суттєве значення має порушення гормональної регуляції метаболізму кальцію, що пов'язано зі змінами

у функціонуванні системи паратгормон–кальцитонін–вітамін D<sub>3</sub>. Зокрема, дефіцит вітаміну D<sub>3</sub> та/або порушення утворення його гормональноактивних форм знижує абсорбцію іонізованого кальцію в тонкому кишечнику, підвищує рівень паратгормону та через зниження рівня кальцитоніну призводить до посилення резорбції кісток та остеопорозу. Гормональноактивна форма вітаміну D<sub>3</sub> (1,25(ОН)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) на функціональну активність остеобластів діє безпосередньо та через регулювання процесів моделювання–ремоделювання структури кісткової тканини. Крім того, 1,25(ОН)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> у разі взаємодії зі специфічними рецепторами імунокомпетентних клітин виявляє імуномодулюючі властивості. В основі дії 1,25(ОН)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> на імунну систему лежить вплив цього гормону на клітини лімфоїдного та мієлоїдного ряду, що призводить до зменшення активності В- і Т-лімфоцитів та моноцитів. [5, 6].

У зв'язку з тим, що остеопороз на сьогодні є досить поширеним захворюванням, постійно ведеться пошук недорогих та ефективних препаратів для його лікування. В останнє десятиліття з цією метою широко використовують бісфосфонати (БФ) – синтетичні аналоги природного неорганічного пірофосфату, які мають високу спорідненість

до кісткової тканини завдяки їхньої здатності зв'язуватись із кристалами гідроксіапатиту. Механізм дії БФ, хоча і визначається значною мірою особливостями їхньої структури, в цілому полягає у пригніченні активності остеокластів. Це реалізується через утворення нездатних до гідролізу аналогів АТР, що веде до інгібування АТР-залежних процесів в остеокластах та їх апоптозу. Крім того, нітроген-вмісні бісфосфонати здатні гальмувати процес пренілювання (приєднання фарнезил – або геранілгеранільного бічного ланцюга) – посттрансляційної модифікації протеїнів. Зокрема, пренілювання невеликих GTP-зв'язувальних протеїнів, таких як Rab, Rac, Rho, відіграє центральну роль у регулюванні ключових процесів клітинної активності остеокластів та в індукції їх апоптозу [7, 8]. При цьому швидкість апоптозу остеобластів та остеоцитів знижувалася [9]. Поряд з цим БФ здатні регулювати функціональний стан імунотетентних клітин. Ще на початку 70-х років було показано, що БФ – динадрієва сіль метиленбісфосфонової кислоти, гальмує імунні реакції [10]. Вважають, що імунотетентні ефекти спричиняє інгібування фарнезилпірофосфатсинтази, ензиму мевалонатного шляху, що сприяє накопиченню субстрату та активації  $\gamma\delta$ Т-клітин [11, 12]. Останні здатні індукувати цитоліз остеокластів та деяких пухлинних клітин. Також показано, що БФ стимулюють продукцію цитокінів макрофагами та іншими імунотетентними клітинами, внаслідок чого зменшувалася кількість циркулюючих лімфоцитів, особливо натуральних кілерів та Т-лімфоцитів CD<sub>4</sub> та CD<sub>8</sub> [4].

Виходячи із зазначеного, метою нашої роботи було дослідити імунотетентні ефекти вітаміну D<sub>3</sub> та різних форм БФ при їх роздільному та сумісному введенні за аліментарного остеопорозу в щурів.

### Матеріали і методи

Дослідження проводили на щурах-самцях лінії Wistar з масою тіла  $100 \pm 5$  г. Аліментарну модель остеопорозу спричинювали утриманням щурів на D-гіповітамінозній дієті згідно з ГОСТом 11222-65 протягом 30 діб. Дослідним тваринам через 30 діб утримання на експериментальній дієті вводили препарати впродовж місяця. Контрольних тварин утримували на повноцінному раціоні віварію. У період адаптації (тиждень) та під час експерименту тварини знаходилися у віварії при температурі 18–22 °С, вологості 50–60%, при-

родному світловому режимі «день–ніч» у стандартних пластикових клітках. Підбір тварин та формування груп проводили методом «випадкових чисел» [13].

Вітамін D<sub>3</sub> вводили *per os* у вигляді масляної суспензії (400 МО/кг маси тіла). Досліджувані БФ – алендрієва кислота у формі комерційного препарату «Алендрієв-стома» та розроблена в Інституті біохімії ім. О. В. Палладіна динадрієва сіль метиленбісфосфонової кислоти (МБФК) – вводили *per os* із розрахунку 1,7 мг/кг маси тіла у вигляді водної суспензії.

Забезпеченість організму вітаміном D<sub>3</sub> оцінювали за рівнем 25ОНD<sub>3</sub>, який визначали радіоконкурентним методом [14]. Рівень кальцію в сироватці крові та активність загальної лужної фосфатази встановлювали за допомогою біотест-наборів (Лахема, Чехія). Активність ізоензимів лужної фосфатази з використанням інгібіторів визначали описаним в літературі методом [15]. Вміст неорганічного фосфору в сироватці крові (після осадження протеїнів 12%-м розчином ТХО) вимірювали методом Дусе [16].

Висновок про вплив досліджуваних речовин на стан імунної системи робили на підставі рівня фагоцитарної активності моноцитів та гранулоцитів, яку визначали методом протокової цитофлуориметрії (COULTER EPICS XL-MCL) з використанням тест-набору PHAGOTEST (Біолайн, Росія). Також визначали процент імунотетентних клітин, які фагоцитують флуоресцеїн-мічені бактерії *E. coli*, та їхню активність (кількість поглинутих бактерій на клітину). Крім того, розраховували індекс активації нейтрофілів із застосуванням цитохімічного тесту відновлення нітросинього тетразолію, а також імунотетентним методом визначали рівень імунотетентнів класів G і А у сироватці крові щурів.

Одержані показники статистично обробляли за допомогою програми «Microsoft Excel». Усі маніпуляції із тваринами проводили під легким ефірним наркозом.

### Результати та обговорення

Розвиток остеопорозу підтверджували біохімічними, остеометричними та гістоморфологічними дослідженнями. Результати біохімічних досліджень свідчать (таблиця), що в умовах аліментарного остеопорозу в щурів відбувається істотне, майже в 3 рази, зниження рівня 25ОНD<sub>3</sub>, який є біомаркером забезпеченості організму вітаміном D<sub>3</sub>. Це, в свою чергу, призводить до зростання

Показники мінерального і D-вітамінного обміну, активність лужної фосфатази та її ізоензимів у сироватці крові щурів при аліментарному остеопорозі ( $M \pm m$ ,  $n = 10$ )

Досліджувані показники	Контроль	Аліментарний остеопороз
Загальний кальцій, ммоль·л <sup>-1</sup>	2,24 ± 0,04	1,58 ± 0,01*
Фосфор неорганічний, ммоль·л <sup>-1</sup>	1,95 ± 0,01	1,46 ± 0,02*
Загальна лужна фосфатаза, О·л <sup>-1</sup>	230,2 ± 2,7	386,0 ± 4,0*
Кишковий ізоензим лужної фосфатази, О·л <sup>-1</sup>	48,9 ± 2,2	73,0 ± 1,7*
Кістковий ізоензим лужної фосфатази, О·л <sup>-1</sup>	190,9 ± 4,3	320,2 ± 3,9*
25ОНD <sub>3</sub> , нг·мл <sup>-1</sup> (нмоль·л <sup>-1</sup> )	39,6 ± 0,9 (97,50 ± 2,25)	13,6 ± 1,5* (34,0 ± 3,7)*

\* Різниця порівняно з контролем вірогідна ( $P < 0,05$ )

активності загальної лужної фосфатази в 1,6 раза порівняно з активністю цього ензиму в контрольних тварин. Збільшення активності загальної лужної фосфатази відбувається, головним чином, за рахунок зміни активності її кісткового ізоензиму. Так, в умовах остеопорозу його активність зростає майже в 1,7 раза, що свідчить про розвиток патології кісткової тканини. Необхідно відзначити, що при остеопорозі у сироватці крові значно підвищується активність кишкового ізоензиму, під впливом якого відбувається гідроліз моноєфірів фосфорної кислоти, що забезпечує механізм транспортування фосфору. У разі аліментарного остеопорозу внаслідок D-гіповітамінозу синтез цього ізоензиму – лужної фосфатази – знижується, що корелює з падінням вмісту фосфору в сироватці крові, однак його активність у сироватці крові при остеопорозі зростає в 1,5 раза, що є наслідком підвищеного його виходу з еритроцитів у кров через порушення структури мембран цих клітин.

Також слід відзначити, що утримання щурів на D-гіповітамінозній дієті призводить до досить значного падіння рівня кальцію сироватки, вміст якого в організмі є константною величиною, що є необхідною умовою для нормального функціонування нервової системи, м'язів, процесів зсідання крові, підтримки структури і проникності клітинних мембран, секреції та дії гормонів тощо.

У наших попередніх дослідках результатами остеометрії та гістоморфології було продемонстровано зниження довжини та товщини дистального епіметафізу стегнової та великогомілкової кісток у тварин, які знаходились на D-гіповітамінозній дієті. Також відмічалось зниження маси і зольності великогомілкової кістки, що супроводжува-

лося зменшенням вмісту кальцію і фосфору в ній. Одержані результати узгоджувалися з гістоморфологічними дослідженнями, що свідчили про гіпертрофію хрящових клітин, потоншення компактної кісткової тканини, порушення формування остеонів, вставних пластинок та внутрішніх оточуючих пластинок [17].

Таким чином, результати біохімічних та гістометричних досліджень свідчать про розвиток аліментарної форми остеопорозу в щурів, що доводить ефективність експериментальної моделі та можливість її використання в дослідках.

Відомо, що недостатнє забезпечення організму вітаміном D<sub>3</sub> супроводжується послабленням імунної відповіді [18]. Тому головним завданням нашого дослідження було визначення стану клітинної та гуморальної ланок імунітету за остеопорозу. Клітинний імунітет характеризували за фагоцитарною активністю гранулоцитів (нейтрофілів) та моноцитів, а також за здатністю нейтрофілів продукувати активні радикали кисню. Гуморальний імунітет характеризували за рівнем імуноглобулінів класів G та A.

Фагоцитоз у широкому розумінні є складним процесом, який включає декілька послідовних стадій: хемотаксис та хемотаксис, адгезію, поглинання, утворення фаголізосом, кілінгу та переварювання об'єкта. Ключовим етапом фагоцитозу є поглинання антигену. Дані поглинаючої здатності фагоцитуючих клітин крові (моноцитів та гранулоцитів), одержані на протоковому цитофлуориметрі, демонструють зміни в активності цих клітин у разі патології та у разі введення вітаміну D<sub>3</sub>, БФ та їх комбінації (рис. 1). Рис. 2 та 3 демонструють кількісні зміни активності імунокомпетентних клітин на основі даних

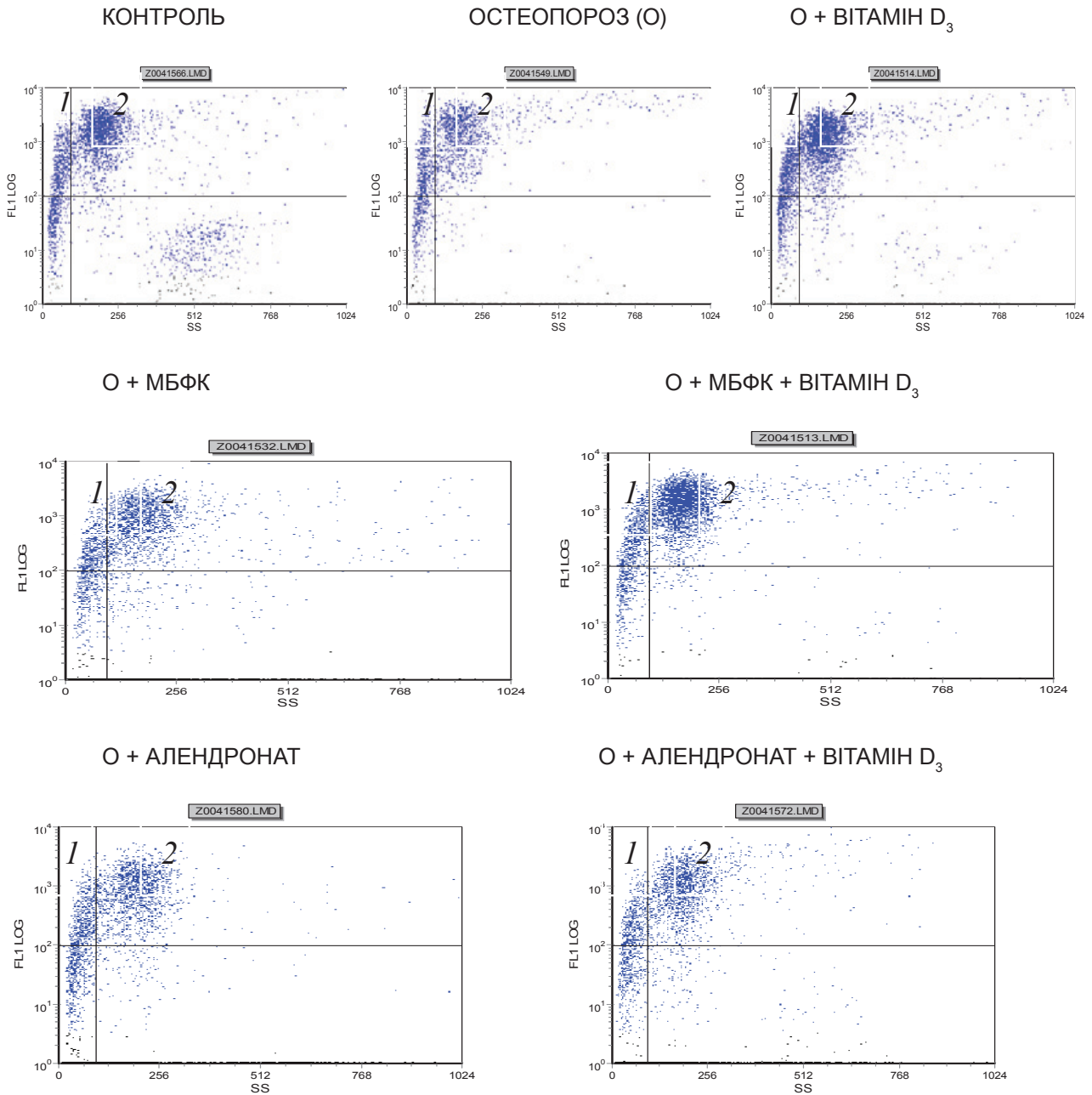


Рис. 1. Цитофлуорограми поглинання FITC-мічених *E. coli* фагоцитуючими клітинами периферичної крові. SS – гранулярність клітин; FL1 LOG – інтенсивність флуоресценції FITC-мічених *E. coli*, поглинутих фагоцитами. На всіх цитофлуорограмах: 1 – активні моноцити; 2 – активні гранулоцити

цитофлуорограм. Так, в умовах остеопорозу кількість активних гранулоцитів зменшується в 1,5 раза (рис. 2). Введення вітаміну D<sub>3</sub> приводить до збільшення цього показника в 1,6 раза. Фагоцитарна активність гранулоцитів майже не змінюється у тварин, яким окремо вводили МБФК та алендронат. Рівень активних гранулоцитів, яким спільно вводили холекальциферол та МБФК, нормалізується. У тварин, які разом із вітаміном D<sub>3</sub> одержували ален-

дронат, нормалізації не спостерігалось. Тобто, цілком очевидно, що саме вітамін D<sub>3</sub> приводить до збільшення та нормалізації фагоцитарної активності гранулоцитів як самостійно, так і у разі введення спільно з МБФК.

Зміни фагоцитарної активності моноцитів при аліментарному остеопорозі та за введення досліджуваних речовин мали свої особливості (рис. 3). Так, в умовах досліджуваної патології рівень активних моноцитів несуттєво, але

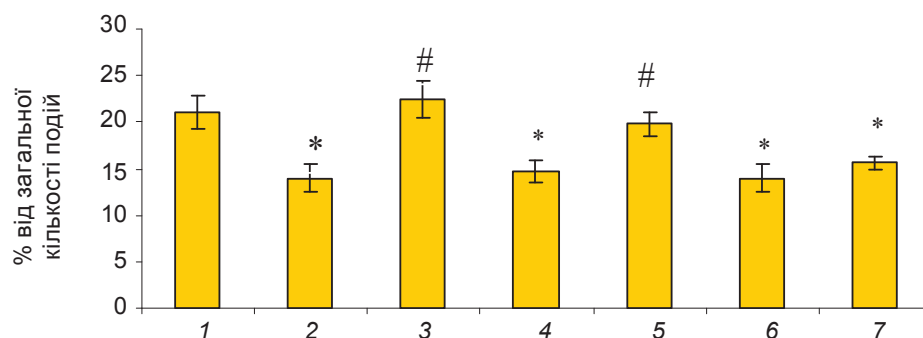


Рис. 2. Фагоцитарна активність гранулоцитів: 1 – контроль, 2 – остеопороз (О), 3 – О + D<sub>3</sub>, 4 – О + МБФК, 5 – О + D<sub>3</sub> + МБФК, 6 – О + алендронат (АЛ), 7 – О + D<sub>3</sub> + АЛ. \* P < 0,05 порівняно з контролем; # P < 0,05 порівняно з остеопорозом

достовірно знижувався, введення вітаміну D<sub>3</sub> збільшує цей показник до рівня контролю. У групах, які одержували БФ – МБФК та алендронат – фагоцитарна активність знижується в 1,3 раза, що підтверджується даними літератури про здатність БФ інгібувати не тільки проліферацію макрофагів як попередників остеокластів та моноцитів, а також зумовлювати апоптоз останніх [9]. Додаткове введення вітаміну D<sub>3</sub> разом із БФ не впливає на рівень фагоцитарної активності моноцитів.

Ще одним із важливих методів, що характеризують функціональну активність нейтрофільних гранулоцитів є тест із нітросинім тетразолієм (НСТ). Цей метод базується на здатності практично безбарвного НСТ відновлюватися кисневими радикалами в темно-синій диформазан (ДФ). Найпоширенішим є цитохімічний варіант НСТ-тесту, що ґрунтується на підрахунку за допомогою світлової мікроскопії відсотку нейтрофілів, які містять у собі гранули ДФ. За даними НСТ-тесту обчислювали індекс

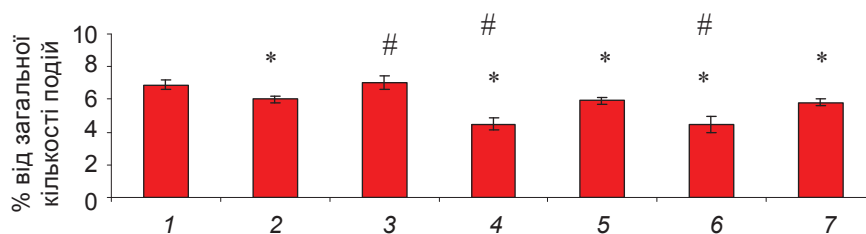


Рис. 3. Фагоцитарна активність моноцитів: 1 – контроль, 2 – остеопороз (О), 3 – О + D<sub>3</sub>, 4 – О + МБФК, 5 – О + D<sub>3</sub> + МБФК, 6 – О + алендронат (АЛ), 7 – О + D<sub>3</sub> + АЛ. \* P < 0,05 порівняно з контролем; # P < 0,05 порівняно з остеопорозом

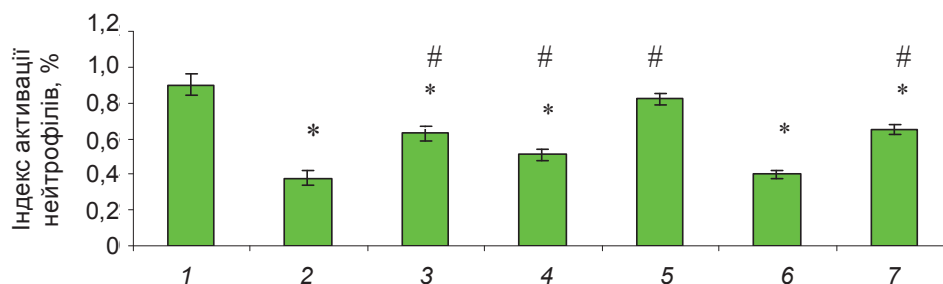


Рис. 4. Індекс активації нейтрофілів периферичної крові щурів (M ± m, n = 4): 1 – контроль, 2 – остеопороз (О), 3 – О + D<sub>3</sub>, 4 – О + МБФК, 5 – О + D<sub>3</sub> + МБФК, 6 – О + алендронат (АЛ), 7 – О + D<sub>3</sub> + АЛ. \* P < 0,05 порівняно з контролем; # P < 0,05 порівняно з остеопорозом

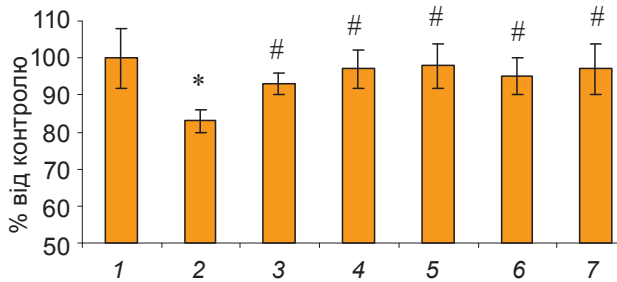


Рис. 5. Рівень IgG у сироватці крові ( $M \pm m$ ,  $n = 4$ ): 1 – контроль, 2 – остеопороз (O), 3 – O + D<sub>3</sub>, 4 – O + МБФК, 5 – O + D<sub>3</sub> + МБФК, 6 – O + алендронат (АЛ), 7 – O + D<sub>3</sub> + АЛ. \*  $P < 0,05$  порівняно з контролем; #  $P < 0,05$  порівняно з остеопорозом

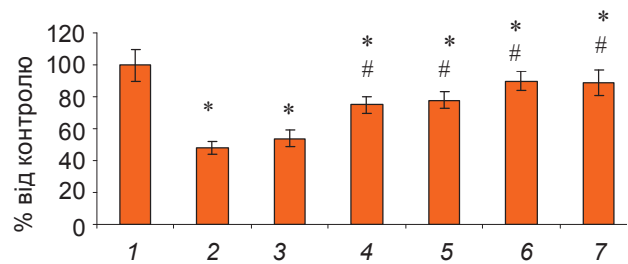


Рис. 6. Рівень IgA в сироватці крові ( $M \pm m$ ,  $n = 4$ ): 1 – контроль, 2 – остеопороз (O), 3 – O + D<sub>3</sub>, 4 – O + МБФК, 5 – O + D<sub>3</sub> + МБФК, 6 – O + алендронат (АЛ), 7 – O + D<sub>3</sub> + АЛ. \*  $P < 0,05$  порівняно з контролем; #  $P < 0,05$  порівняно з остеопорозом

активації нейтрофілів (ІАН), або інтегральний фагоцитарний індекс, що характеризує киснезалежну систему фагоцитозу нейтрофілів.

Одержані дані свідчать, що в умовах аліментарного остеопорозу індекс активації нейтрофілів, який комплексно відображає інтенсивність вільнорадикальних процесів та поглинаючу здатність фагоцитуючих клітин, знижується більше ніж у 2 рази (рис. 4). Введення вітаміну D<sub>3</sub> зумовлює його підвищення в 1,6 рази відносно патології. У групі шурів, яким вводили МБФК спостерігається збільшення ІАН в 1,4 рази порівняно з остеопорозом, у той час як введення алендронату не спричинює вірогідних змін. Найістотніші зміни спостерігаються в групах шурів, яким разом із БФ вводили вітамін D<sub>3</sub>. У групі тварин, які одержували МБФК та холекальциферол, ІАН досягає рівня контролю і цей ефект є більш вираженим, ніж за дії кожної з речовин окремо. Менш ефективним виявився вплив комплексного введення алендронату та вітаміну D<sub>3</sub> (збільшення ІАН в 1,7 рази), що не перевищує власний ефект вітаміну D<sub>3</sub>, але значно переважає дію самого алендронату.

Таким чином, одержані результати свідчать про пригнічення ефекторної ланки імунітету в реалізації антимікробного захисту при аліментарному остеопорозі. При цьому очевидно, що однією з головних причин виявлених порушень функціонального стану клітин фагоцитарної системи за цієї патології є недостатність вітаміну D<sub>3</sub> в організмі тварин. Експериментально підтверджено ефективність застосування вітаміну D<sub>3</sub> у терапевтичній дозі, а також його комбінації з МБФК для корекції виявлених імунологічних порушень.

З огляду на тісний функціональний зв'язок клітинної та гуморальної ланок

імунітету доцільно було визначити вплив досліджуваних сполук на вміст деяких класів імуноглобулінів при аліментарному остеопорозі. Встановлено, що в умовах цієї патології відбувається незначне, але вірогідне зниження рівня імуноглобуліну G (рис. 5). Відомо, що імуноглобуліни класу G відіграють ключову роль у забезпеченні довготривалого гуморального імунітету при інфекційних захворюваннях. Основною функцією IgG є утворення комплексу «антиген–антитіло». Вони сприяють нейтралізації бактеріальних екзотоксинів, активують систему комплементу та посилюють фагоцитоз. Виявлене зниження рівня IgG сироватки, що корелює зі зниженням фагоцитарної здатності гранулоцитів, може свідчити про послаблення опірності організму до інфекцій. Введення вітаміну D<sub>3</sub> та різних форм БФ корегують вміст IgG до рівня контролю. Слід відмітити, що спільне введення вітаміну D<sub>3</sub> та БФ на рівень досліджуваного імуноглобуліну не виявляє істотної дії.

Дослідження IgA сироватки, основна функція якого полягає в нейтралізації вірусів та захисті дихальних, сечостатевої шляхів та шлунково-кишкового тракту від інфекцій, показало суттєве, більш ніж удвічі зниження рівня цього імуноглобуліну при аліментарному остеопорозі (рис. 6). Введення вітаміну D<sub>3</sub> до істотних змін рівня IgA не призводить. У той самий час спостерігається його збільшення в 1,5 та в 1,9 рази в групах тварин, які відповідно одержували МБФК та алендронат порівняно з остеопорозом. Спільне введення вітаміну D<sub>3</sub> та різних форм БФ кардинально не змінює рівень досліджуваного імуноглобуліну.

Отже, в умовах аліментарного остеопорозу відбувається пригнічення В-клітинної ланки гуморального імунітету, що може свідчити

про інтенсифікацію перебігу запальних та інфекційних процесів в організмі та бути ознакою виснаження імунної системи. Введення вітаміну D<sub>3</sub> та БФ як самотійно, так і комплексно певною мірою сприяє підвищенню рівня IgG у сироватці крові. Вітамін D<sub>3</sub> майже не впливає на рівень сироваткового IgA та не посилює ефекти БФ, які вираженіше підвищували рівень досліджуваного імуноглобуліну, ніж сам вітамін D<sub>3</sub>.

Таким чином, показано, що алиментарний остеопороз супроводжується порушеннями обмінних процесів у кістковій тканині, що обумовлено зниженням забезпеченості організму вітаміном D<sub>3</sub>. D<sub>3</sub>-дефіцитний стан характеризується зменшенням рівня кальцію та неорганічного фосфору сироватки, а також підвищенням активності загальної лужної фосфатази, її кісткового та кишкового ізоензимів. Встановлено зниження фагоцитарної активності гранулоцитів та їхньої здатності продукувати бактерицидні біооксиданти (пероксид водню, супероксидний аніон-радикал, гідроксильний радикал) при алиментарному остеопорозі. Продемонстровано нормалізацію цих процесів при введенні вітаміну D<sub>3</sub>, що вказує на важливу роль холекальциферолу у забезпеченні функціонального стану фагоцитуючих клітин крові. Виявлено зниження рівня IgG та IgA сироватки крові при цій патології. Встановлено позитивний вплив досліджуваних БФ на гуморальну ланку імунітету щурів.

### **ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ВИТАМИНА D<sub>3</sub> И БИСФОСФОНАТОВ ПРИ АЛИМЕНТАРНОМ ОСТЕОПОРОЗЕ У КРЫС**

*В. М. Рясний, Л. И. Апуховская,  
Н. Н. Великий, И. О. Шиманский,  
Д. О. Лабудзинский, С. В. Комисаренко*

Институт биохимии им. А. В. Палладина  
НАН Украины, Киев;  
e-mail: Riasniy@ukr.net

Целью данного исследования было выяснить эффективность отдельного и комплексного введения витамина D<sub>3</sub>, а также разных форм бисфосфонатов (дигидрата динатриевой соли метиленисфосфонової кислоти и алендроната) на функциональную активность иммунокомпетентных клеток крови крыс при алиментарном остеопорозе. Результаты проведенных исследований показали, что содержа-

ние крыс на D<sub>3</sub>-гиповитаминозной диете приводит к снижению уровня 25ОНD<sub>3</sub>, который является биомаркером обеспеченности организма витамином D<sub>3</sub>, к нарушениям метаболических процессов в костной ткани и развитию алиментарной формы остеопороза. Иммунологические нарушения при данной патологии характеризуются снижением фагоцитарной активности гранулоцитов, их способности продуцировать бактерицидные биооксиданты, а также сопровождаются угнетением иммунитета В-клеточного звена. Продемонстрированы более выраженные иммуномодуляторные эффекты витамина D<sub>3</sub> на фагоцитарные, а бисфосфонатов – на гуморальные звенья иммунной защиты.

**Ключевые слова:** алиментарный остеопороз, витамин D<sub>3</sub>, бисфосфонаты, фагоцитоз, иммуноглобулины.

### **IMMUNOMODULATORY EFFECTS OF VITAMIN D<sub>3</sub> AND BISPHTHONATES<sub>3</sub> IN NUTRITIONAL OSTEOPOROSIS IN RATS**

*V. M. Riasniy, L. I. Apukhovska,  
N. N. Veliky, I. O. Shymanskyy,  
D. O. Labudzynskyi, S. V. Komisarenko*

Palladin Institute of Biochemistry, National  
Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;  
e-mail: Riasniy@ukr.net

#### **S u m m a r y**

The aim of this study was to determine the effectiveness of separate and combined administration of vitamin D<sub>3</sub> and different forms of bisphosphonate (disodium salt of methylenbisphosphonic acid dihydrate and alendronate) on the function of immune cells in rats with nutritional osteoporosis. It was shown that D-hypovitaminosis leads to reduced 25ОНD<sub>3</sub>, which is a biomarker for vitamin D<sub>3</sub> and disturbances of metabolic processes in bone tissue that correlated with osteoporosis manifestation. Immunologic disorders related to nutritional osteoporosis were accompanied by the decrease in phagocytic activity of granulocytes and impaired ability to produce bactericidal oxidants. Inhibition of В-cell immunity also occurred in pathology. Thus, the present study revealed more pronounced immunomodulatory effects of vitamin D<sub>3</sub> on phagocytic immunity, whereas bisphosphonates were effective in improving the humoral immune protection.

Key words: nutritional osteoporosis, vitamin D<sub>3</sub>, bisphosphonates, phagocytosis, immunoglobulins.

1. Поворознюк В. В., Григорьева Н. В. Менопауза и остеопороз. – К.: ВПЦ Экспрес, 2002. – 356 с.
2. Bab I., Yirmiya R. // Curr. Osteoporos. Rep. – 2010. – 8, N 4. – P. 185–191.
3. Sandhu S. K., Hampson G. // J. Clinic. Pathol. – 2011. – 64, N 12. – P. 1042–1050.
4. Bartl R., Frisch B., von Tresckow E. et al. Bisphosphonates in Medical Practice. – Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2007. – 266 p.
5. De Luca H. F., Cantorna M. T. // Faseb J. – 2001. – 15, N 14. – P. 2579–2585.
6. Stoffels K., Overbergh L., Bouillon R. et al. // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. – 2007. – 103, N 3–5. – P. – 567–571.
7. Russell R. G. // Pediatrics. – 2007. – 119, N S2. – P. S150–S162.
8. Kavanagh K. L., Guo K., Dunford J. E. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2006. – 103, N 20. – P. 7829–7834.
9. Seeman E. // Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr. – 2009. – 19, N 3. – P. 219–233.
10. Гульїй М. Ф., Комиссаренко С. В., Журавський Н. И. и др. Торможение иммунного ответа метилендифосфоновою кислотою / Сб. «Иммунология». – К.: Здоров'я, 1974. – № 7. – С. 23–26.
11. Russell R. G., Xia Z., Dunford J. E. et al. // Ann. N Y Acad. Sci. – 2007. – 1117. – P. 209–257.
12. Bukowski J. F., Dascher C. C., Das H. // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2005. – 328, N 3. – P. 746–750.
13. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в биологических исследованиях с использованием Excel. – К.: Морион, 2000. – 320 с.
14. Великий М. М., Ануховська Л. І., Василевська В. М. та ін. // Укр. біохім. журн. – 2010. – 82, № 2. – С. 67–74.
15. Вагнер В. К., Путилин В. М., Харабуга Г. Г. // Вопр. мед. химии. – 1981. – 27, № 6. – С. 752–754.
16. Dyce B., Bessan S. // Arch. Environ. Health. – 1973. – 27, N 2. – P. 112–115
17. Комісаренко С. В., Ануховська Л. І., Рясний В. М. та ін. // Біотехнологія. – 2011. – 4, № 1. – С. 74–81.
18. Бауман В. К. Биохимия и физиология витамина D. – Рига: Зинатне, 1989. – 480 с.

Получено 09.12.2011