

О.В. Сквирський, В.Й. Мамчур

ЗМІНИ МІНЕРАЛЬНОЇ ЩІЛЬНОСТІ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ У ЩУРІВ З РІЗНИМИ ФОРМАМИ ОСТЕОПОРОЗУ ПІД ВПЛИВОМ ПРЕПАРАТУ CaD_3 І ГІДРОХЛОРТИАЗИДУ

Дніпропетровська державна медична академія

Ключові слова: експериментальний остеопороз, препарат CaD_3 , гідрохлортиазид.

Ключевые слова: экспериментальный остеопороз, препарат CaD_3 , гидрохлортиазид.

Key words: experimental osteoporosis, preparation of CaD_3 , hydrochlorothiazide.

Наведено дані порівняльних досліджень впливу препарату CaD_3 разом з антигіпертензивною терапією (гідрохлортиазид) на щурів з різними формами остеопорозу – природний сенільний і постменопаузальний. Постменопаузальний остеопороз відтворювали шляхом овариєктомії у щурів. Природний сенільний остеопороз, за нашими даними, виникав не у всіх старих щурів. Введення препарату CaD_3 протягом 30 днів старим щурам (сенільний остеопороз) збільшує загальну мінеральну щільність кісткової тканини на 4,83%, проте сумісне введення CaD_3 з гідрохлортиазидом не змінює цей показник. Під впливом CaD_3 з гідрохлортиазидом у OVX щурів (постменопаузальний остеопороз) загальна мінеральна щільність кісткової тканини збільшується на 12,15%, препарат CaD_3 дає її менший приріст (на 6,71%).

Приведены собственные данные сравнительных исследований влияния препарата CaD_3 совместно с антигипертензивной терапией (гидрохлортиазид) на крыс с разными формами остеопороза – естественный сенильный и постменопаузальный. Постменопаузальный остеопороз моделировали у крыс путем овариэктомии. Естественный сенильный остеопороз, по нашим данным, возникал не у всех старых крыс. Введение препарата CaD_3 в течение 30 суток старым крысам (сенильный остеопороз) увеличивает общую минеральную плотность костной ткани на 4,83%, однако совместное введение CaD_3 с гидрохлортиазидом не изменяет этот показатель. Под воздействием CaD_3 с гидрохлортиазидом у OVX крыс (постменопаузальный остеопороз) общая минеральная плотность костной ткани увеличивается на 12,15%, препарат CaD_3 дает ее меньший прирост (на 6,71%).

Own data received during comparative researches of influence of preparation CaD_3 in combination with antihypertensive therapy (hydrochlorothiazide) on the rats with different forms of osteoporosis – natural senile osteoporosis and postmenopause osteoporosis - were given. The postmenopause osteoporosis was designed for rats by ovariectomy. A natural senile osteoporosis from our data arose up not in all rats of old age. Introduction of preparation of CaD_3 for 30 days increases bone mineral density (BMD) in old rats (senile osteoporosis) on 4,83%, however combined introduction of CaD_3 with hydrochlorothiazide does not change this index. Under influence of CaD_3 with hydrochlorothiazide in OVX rats (postmenopausal osteoporosis) BMD total increases on 12,15%, preparation of CaD_3 gives the less increase of BMD total – only on 6,71%.

Останніми роками дослідники звертають увагу на вивчення ролі порушень кальцієвого гомеостазу в розвитку не лише остеопорозу, але й інших захворювань, характерних для літнього і старечого віку, таких як атеросклероз, ішемічна хвороба серця (ІХС), гіпертонічна хвороба, порушення мозкового кровообігу, дегенеративні захворювання хребта (остеохондроз і спондиліоз) і суглобів – остеоартроз [4]. Крім того, остеопороз, кальцифікація аорти і клапанів серця та атеросклеротичне ураження судин – взаємозв'язані патологічні процеси [6]. Остеопороз – часте ускладнення у пацієнтів із застійною серцевою недостатністю [4]. Тому для профілактики зниження мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ) важливо використовувати препарати для лікування серцево-судинних захворювань жінок у постменопаузі, що мають остеопротективний, або, принаймні, остеонейтральний ефект. Важливо також гарантувати, що кардіологічні препарати не порушать захисний і терапевтичний ефект препарату CaD_3 , що все частіше застосовується в постменопаузі у жінок з ризиком розвитку остеопорозу. Згідно останніх рекомендацій з лікування артеріальної гіпертензії (АГ) ESC/ESH (2007), основний успіх антигіпертензивного лікування пов'язаний зі зниженням артеріального тиску. Клінічні дослідження про вплив антигіпертензивної терапії на розвиток і наслідки остеопорозу нечисленні й сумарно включають невелику кількість

пацієнтів. Препаратами першого вибору є тiazидні діуретики [10]. Так, тривале (2 і більше років) їх застосування (наприклад, хлорталідон 12,5–50 мг/добу), разом з їх доведеною здатністю зменшувати серцево-судинну захворюваність і смертність при лікуванні АГ, в тому числі й у літніх людей, знижує виділення Са з сечею і супроводжується істотним зниженням швидкості резорбції променевої і плюсневої кісток або навіть невеликим підвищенням їх щільності. Але найголовніше, що на фоні застосування тiazидних діуретиків знижується частота переламів шийки стегна [13]. В інших дослідженнях показано, що індапамід (tiazидний діуретик) збільшував кісткову масу й зменшував резорбцію кістки у щурів зі спонтанною гіпертензією. Індапамід значно збільшував проліферацію остеобластів і зменшував кісткову резорбцію шляхом інгібування диференціації остеокластів [10]. У клінічних дослідженнях А. Giusti (2009) оцінено ефект алендронату та індапаміду окремо й у комбінації на кісткову щільність і добову екскрецію Са з сечею у жінок у менопаузі з гіперкальціурією і низькою кістковою щільністю. Комбінована терапія показала набагато кращі результати: зменшення екскреції Са і підвищення кісткової щільності, ніж застосування окремо алендронату. Це дослідження свідчить на користь нового підходу до комплексного застосування бісфосфонатів і тiazидних діуретиків для лікування жінок віку постменопаузи з



гіперкальціурією і низькою кістковою масою [9]. Тому вивчення аспектів сумісного використання препаратів кальцію (як базової терапії остеопорозу) разом з антигіпертензивною або гіполіпідемічною терапією на моделі остеопорозу у щурів є актуальним завданням для науковця. У поданій роботі досліджено вплив гідрохлортиазиду на МЩКТ у щурів з остеопорозом на фоні застосування препарату кальцій D_3 .

МЕТА РОБОТИ

Експериментально-теоретично обґрунтувати доцільність використання препарату СаД₃ разом з антигіпертензивною терапією (гідрохлортиазид), застосовуючи для цього різні моделі остеопорозу у щурів – природний сенільний і постменопаузальний (оварієктомія).

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дослідженнях використано 36 білих нелінійних щурів-самиць (12 вагою 160–180 г віком 6 місяців; 12 – 180–200 г, 12 місяців; 12 – 250–300 г, 18 місяців). Догляд і утримання лабораторних тварин здійснювався у стандартних умовах віварію ДДМА при вільному доступі до води та їжі; щури отримані з розплідника ІФТ АМН України [1,5]. В експериментальних дослідженнях *in vivo* відтворено описані в спеціальній літературі види остеопорозу [8]. Природний сенільний остеопороз виникає у старих щурів. Відомо, що не лише у людини, але й у тварин з віком виникають остеопоротичні зміни, зумовлені 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 для цієї форми остеопорозу обрано щурів віком 18 місяців. Постменопаузальний остеопороз відтворено шляхом видалення яєчників у щурів-самиць зрілого віку (12 місяців). Вважають, що через 60 діб після оварієктомії (OVX) відбуваються ранні зміни кісткового метаболізму у щурів [8]. Рентгенденситометричне дослідження виконано на апараті DEXA «Prodygu» з визначенням МЩКТ всього тіла (BMD Total), хребта (BMD Spine), тазу (BMD Pelvis), верхніх (BMD arms) і нижніх кінцівок (BMD legs) [11]. Усі експериментальні дослідження

здійснювали відповідно до Методичних рекомендацій ДФЦ МОЗ України [1], вимог Європейської конвенції із захисту лабораторних тварин (Страсбург, 1986), «Положення про використання тварин у біомедичних дослідженнях» [2]. Результати експериментів оброблено методом варіаційної статистики (t-тест) за допомогою програми StatPlus [3].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Показники мінеральної щільності кісткової тканини у щурів з різними формами остеопорозу представлено в *табл. 1*. Загальна BMD Total у старих тварин (сенільний остеопороз) була на 15,87% вище, ніж у молодих щурів. Найбільші відмінності відзначено 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 досліджували у вихідному стані та через 60 діб після оварієктомії. Через 2 місяці після операції загальна BMD Total зменшилась на 9,01%, у порівнянні з вихідними показниками. Найбільші зміни спостерігали у верхніх кінцівках, BMD arms збільшилась на 19,19%, найменші зміни – в області хребта (BMD Spine збільшилась на 4,57%). Отже, операція з видалення яєчників призвела до формування остеопорозу постменопаузи. Проте OVX-щури через 2 місяці після операції мали загальну BMD Total на 4,18% вище, ніж молоді тварини. Цей факт підтверджується даними медичної літератури про те, що кісткова маса щура досягає піку до першого року життя. У групах старих і однорічних щурів загальна BMD Total була майже однаковою, а отже не у всіх тварин у сенільній групі спостережено явища остеопорозу. Таким чином, за результатами моделювання різних форм остеопорозу, можна зробити наступні висновки: у групі OVX-тварин мінеральна щільність знизилась, порівняно з показниками до операції, що свідчить про сформовану модель первинного остеопорозу постменопаузи; у групі старих тварин середня загальна BMD Total близька за значенням до показників однорічних тварин, а отже не у всіх тварин виникають явища остеопорозу. Якщо екстраполювати ці дані на людей, 18-місячний вік щурів відповідає віку людини 50–60 років, а у людей

Таблиця 1

Зміни мінеральної щільності кісткової тканини 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 діб 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	

Примітки: * – 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 через 30 днів введення препарату CaD₃

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 через 30 днів введення гідрохлортиазиду і препарату CaD₃

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	0,1173±0,005	0,2064±0,014	0,1298±0,010	0,0891±0,003	0,0589±0,011
Старі (сенільний остеопороз)	0,1179±0,004*	0,1802±0,012*	0,1262±0,008	0,0915±0,003	0,0679±0,009*
Молоді / старі %	0,51	-12,69	-2,77	2,69	15,28
OVX (постменопаузальний остеопороз)	0,1188±0,0032	0,1896±0,0059*	0,1280±0,0038	0,0913±0,0019	0,0577±0,0019
Молоді / OVX %	1,34	-8,13	-1,39	2,55	-1,95

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

частота остеопорозу в цьому віці складає 50–60%. Показники кісткової щільності молодих тварин відповідають значенням на етапі формування кісток.

Мета наступного етапу дослідження полягала у визначенні змін МЩКТ щурів після 30-денного введення комплексу CaD₃. Результати представлено в табл. 2. Найбільшу загальну BMD Total відзначено в групі старих тварин – 0,1236±0,01 г/см², що на 16,6% більше, ніж у групі молодих щурів. У групі OVX-тварин дані загальної BMD Total були на 6,71% більше, ніж у молодих щурів. Найвищу BMD спостережено в хребті старих тварин (BMD Spine – 0,2069±0,021 г/см²), найнижчу – у верхніх кінцівках OVX-тварин (BMD arms 0,0706±0,0043 г/см²). Отже, за показниками кісткової щільності під впливом препарату CaD₃ у висхідному порядку щурів можна розмістити так: молоді тварини – OVX-щури – старі щури. При цьому, в усіх групах зберігалась однакова тенденція до розподілу кісткової щільності: верхні кінцівки > таз > нижні кінцівки. Під впливом CaD₃ загальна BMD Total збільшувалась на 4,83% відносно старих щурів (сенільний остеопороз) (рис. 1) і на 6,71% відносно OVX-тварин (постменопаузальний остеопороз) (рис. 2).

Результати дослідження з 30-добового введення препарату CaD₃ сумісно з гідрохлортиазидом щурам з різними формами остеопорозу представлено в табл. 3. Найбільшу загальну BMD Total відзначено в групі OVX-тварин – 0,1188±0,0032 г/см², що на 1,34% більше, ніж у групі молодих щурів. У групі старих тварин дані загальної BMD Total були на 0,51% більше, ніж у молодих тварин. Найвищу BMD спостережено в хребті молодих тварин: BMD Spine 0,2064±0,014 г/см², а найнижчу – у верхніх кінцівках OVX-тварин: BMD arms 0,0577±0,0019 г/см². Отже, за показниками кісткової щільності щури розміщені у такий ряд (у висхідному порядку): молоді тварини – старі – OVX-щури. При цьому, в усіх групах зберігалась однакова тенденція до розподілу кісткової

щільності: хребет > таз > нижні кінцівки > верхні кінцівки. Під впливом CaD₃ сумісно з гідрохлортиазидом загальна BMD Total не змінювалась відносно старих щурів (сенільний остеопороз) (рис. 1) і збільшувалась на 12,15% відносно OVX-тварин (постменопаузальний остеопороз) (рис. 2).

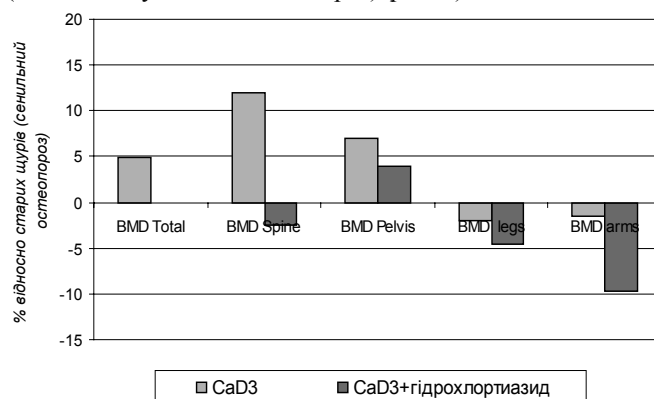


Рис. 1. Зміни МЩКТ під впливом препаратів у старих щурів (сенільний остеопороз).

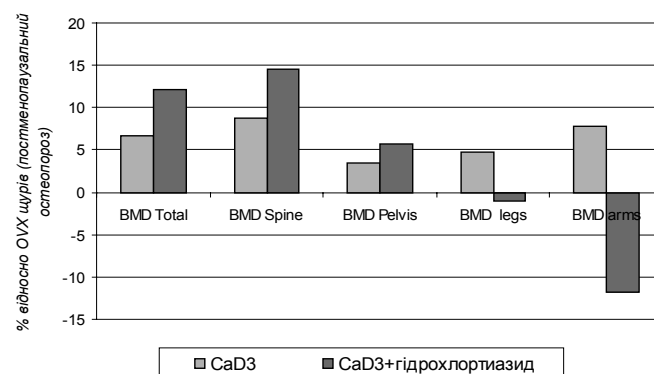


Рис. 2. Зміни МЩКТ під впливом препаратів у OVX щурів (постменопаузальний остеопороз).

**ВИСНОВКИ**

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

Введення препарату CaD₃ протягом 30 діб старим щурам (сенільний остеопороз) збільшує BMD Total на 4,83%, проте сумісне введення CaD₃ з гідрохлортіазидом не змінює цей показник.

Під впливом CaD₃ з гідрохлортіазидом у OVX-щурів (постменопаузальний остеопороз) BMD Total збільшується на 12,15%, препарат CaD₃ дає менший приріст BMD Total – лише на 6,71%.

ЛІТЕРАТУРА

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів: [методичні рекомендації] / О.В. Стефанов – К.: Авіцена, 2002. – 527 с.
2. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідках // Експерим. та клін. фізіологія і біохімія. – 2003. – №2 (22). – С. 108–109.
3. Ланач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL / Ланач С.Н. – К.: «Морион», 2001. – 408 с.
4. Насонов Е.Л. Остеопороз и заболевания сердечно-сосудистой системы / Насонов Е.Л. // Кардиология. – 2002. – №3. – С. 80–82.
5. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Кожем'якін Ю.М., Хромов О.С., Філоненко М.А., Сайретдінова Г.А. – К., 2002. – 155 с.
6. Остроумова О.Д. Особенности антигипертензивной терапии у женщин с постменопаузальным остеопорозом / Остроумова О.Д., Поликарпов В.А., Пауков С.В., Рубин М.П., Смолярчук Е.А., Шорикова Е.Г. // Справочник поликлинического врача. – 2006. – №8. – С. 14–18.
7. Поворознюк В.В. Менопауза і остеопороз / Поворознюк В.В., Григорьева Н.В. – К.: Здоров'я, 2004. – 356 с.
8. Фролькіс В.В. Экспериментальный остеопороз / Фролькіс В.В., Поворознюк В.В., Евтушенко О.А. // Медична газета «Здоров'я України». – 2004. – №86. – С. 8.
9. Giusti A. Alendronate and indapamide alone or in combination in the management of hypercalciuria associated with osteoporosis: a randomized controlled trial of two drugs and three treatments / Giusti A., Barone A., Pioli G. // Nephrol. Dial. Transplant. – 2009. – Vol. 24. – P. 1472–1477.
10. Lalonde A. Indapamide, a thiazide-like diuretic, decreases bone resorption in vitro / Lalonde A., Roux S., Denne M. // J. Bone Mineral Res. – 2001. – Vol. 16. – P. 361–370.
11. Nagy T.R. Validation of peripheral DXA for the measurement of bone mineral in intact and excised long bones of rats / Nagy T.R., Prince C.W., Li J. // J. Bone Mineral Res. – 2001. – Vol. 16. – P. 1682–1687.
12. Reappraisal of European guidelines on hypertension management: a European Society of Hypertension Task Force document // J. Hypertension. – 2009. – №27. – P. 2121–2158.
13. Reid I.R. Hydrochlorothiazide reduces loss of cortical bone in normal postmenopausal women: a randomized controlled trial / Reid I.R., Ames R.W., Orr-Walker B.J. // Am. J. Med. – 2000. – №1; 109 (5). – P. 362–370.

Відомості про авторів:

Сквирський О.В., здобувач каф. фармакології, клінічної фармакології та фармакоекономіки ДДМА, лікар-травматолог ОКЛ ім. Мечникова.

Мамчур В.Й., професор, зав. каф. фармакології, клінічної фармакології та фармакоекономіки ДДМА.

Адреса для листування:

Сквирський Олександр Володимирович. 49044, Дніпропетровськ, вул. Дзержинського, 9.

Тел.: (050) 909 92 39.

E-mail: ksens80@mail.ru