

---

© Калашников А.В., Апуховська Л.І., Кузів Е.Л., Вільцанюк О.О

УДК: 615.357.577.128:577.161.2

**Калашников А.В.<sup>1</sup>, Апуховська Л.І.<sup>2</sup>, Кузів Е.Л.<sup>3</sup>, Вільцанюк О.О.<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>ДУ "Інститут травматології та ортопедії АМН України" (вул. Воровського, 27, м. Київ, Україна, 04053), <sup>2</sup>Інститут біохімії імені О.В.Паладіна НАН України (вул. Леонтовича, 6, м. Київ, Україна, 01030), <sup>3</sup>Військово-медичний клінічний центр Центрального регіону (вул. Свердлова, 185, м. Вінниця, Україна, 21021), <sup>4</sup>Вінницький національний медичний університет імені М.І.Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

## **ВПЛИВ ПРЕДНІЗОЛОНУ НА МІНЕРАЛЬНИЙ ТА D-ВІТАМІННИЙ ОБМІН ПРИ ЙОГО КОРОТКОТРИВАЛОМУ ВВЕДЕННІ**

---

**Резюме.** В результаті експерименту на 34 щурах лінії Вістар проведено вивчення впливу преднізолону на мінеральний та D-вітамінний обмін при його призначенні курсом протягом 30 днів. Встановлено, що введення преднізолону щурам привело до порушення мінерального та D-вітамінного обміну, про що свідчило достовірне зменшення приросту маси тіла щурів, зменшення рівня кальцію, неорганічного фосфору, активності лужної фосфатази, активності ізоферментів лужної фосфатази та рівня вмісту  $25\text{OH}_3\text{D}_3$  у сироватці крові в порівнянні з тваринами контрольної групи, і свідчить про необхідність проведення медикаментозної корекції цих змін.

**Ключові слова:** остеопороз, преднізолон, обмін речовин, D-вітамінний обмін.

---

### **Вступ**

Лікування цілого ряду захворювань передбачає призначення гормонотерапії глюкокортикоїдами [Лесняк, 2009; Беловол, 2012]. За даними літератури глюкокортикоїди (преднізолон та ін..) при тривалому застосуванні

викликають цілий ряд побічних ефектів, дозозалежно впливають на метаболізм всього організму і безпосередньо на кісткову тканину [De Nijs, 2008]. Встановлено, що порушується метаболізм вуглеводів, жирів та

білків, пригнічуються імунні реакції. При цьому порушуються метаболічні процеси і в кістковій тканині, що призводить до розвитку остеопорозу [Hofbauer, 2009].

Разом з тим вплив преднізолону на мінеральний та D-вітамінний обмін при застосуванні короткочасних курсів (21-30 днів) лікування в літературі висвітлено недостатньо. Тому нами приведено вивчення цих змін в експерименті.

*Мета* дослідження - вивчити вплив преднізолону при його короткотривалому введенні на мінеральний та D-вітамінний обмін в експерименті.

### Матеріали та методи

Відповідно до мети та основних задач наукового дослідження для визначення впливу преднізолону на обмінні процеси кальцію в організмі нами проведено експериментальні дослідження на 34 щурах-самцях лінійної породи Вістар масою тіла  $100,0 \pm 5,0$  г. Для експерименту підбір тварин та формування дослідних груп проводили за методом "випадкових чисел", які знаходились у віварії Інституту біохімії ім. О.В Паладіна НАН України і утримувались відповідно до загальноприйнятих норм [Западнюк, 1983]. Перед проведенням дослідження відібрані для експерименту тварини знаходились два тижні на карантині. У період карантину і під час експерименту тварини знаходились у стандартних пластикових клітках при належних кліматичних умовах, при температурі у віварії 18-22 °С, вологості 50-60%, звичайному світовому режимі "день-ніч", на стандартному харчовому режимі віварію. Експериментальні дослідження проведені з дотриманням міжнародних законів про біоетику та законів України про проведення біомедичних експериментів.

Експериментальні тварини були розділені на дві серії дослідів по 17 тварин в кожній. Тваринам обох серій дослідів протягом місяця в шлунок за допомогою зонда з оливою вводили різні засоби. В першій серії дослідів, яка була контрольною, тваринам в шлунок вводили 0,5 мл води.

У другій серії дослідів для визначення впливу преднізолону на зміни мінерального та D-вітамінного обміну, тваринам вводили 0,5 мг преднізолону.

У всіх серіях дослідів спостерігали за тваринами протягом 30 діб і оцінювали їх стан за наступними інтегральними показниками: руховою активністю, поїданням кормів, станом хутряного покриву. Через 30 днів від початку експерименту, тварин зважували, проводили забір крові для біохімічних досліджень та виводили з дослідів шляхом передозування ефіру для наркозу.

Зольність і вміст мінеральних компонентів в кістковій тканині визначали після знежирення її гексаном методом сухої мінералізації при температурі 600-800 °С. Рівень мінеральних компонентів у золі визначали після її розчинення у 0,5 мл соляної кислоти з подальшим розведенням водою до 10 мл [Новиков, 1969; Брицке, 1982].

Рівень кальцію у сироватці крові визначали за допомогою біо-тест наборів (ЛАХЕМА, Чехія). Вміст неорганічного фосфору в сироватці крові визначали після осадження білків 12% розчином три хлор оцтової кислоти методом Дусе [Дусе, Версман, 1973]. Активність загальної лужної фосфатази в сироватці крові визначали за допомогою біо-тест наборів виробництва ЛАХЕМА (Чехія). Активність ізоферментів лужної фосфатази визначали з використанням їх інгібіторів згідно методу, запропонованого Б. Плехановим з співавт [2008]. Вміст активного метаболіту вітаміну D3 - 250 HD3 у сироватці крові визначали після екстракції 0,5 мл сироватки сумішшю хлороформ-метанол (2:1), послідовного хроматографічного розділення на колонках з окисом алюмінію та LH - 20 із наступним кількісним визначенням методом радіоконкурентного зв'язування [3 H] хлоркальціоферолу згідно [Ducland et al., 1981; Апуховская, 2009].

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням методів варіаційної статистики з визначенням середніх величин. Отримані результати порівнювали у різних групах експериментальних тварин. Для визначення достовірності їх відмінностей використовували t-критерій Стьюдента [Боровиков, 2003; Реброва, 2003]. Для проведення статистичних розрахунків було використано інтегральну систему STATISTICA® 5.5 (STAT+SOFT®) ліцензія за номером А ХХ 910А374605FA.

### Результати. Обговорення

Вивчення впливу преднізолону на загальний стан тварин показало, що на тлі введення препарату загальний стан експериментальних тварин значно відрізнявся від загального стану тварин контрольної серії дослідів, які не отримували преднізолон. Рухова активність тварин зменшувалась, хутро втрачало блиск, вони менш інтенсивно поїдали корм.

Враховуючи негативний вплив гормональної терапії нами проведено вивчення впливу преднізолону на приріст маси тіла щурів. Як показали проведені дослідження маса тіла експериментальних тварин перед проведенням експерименту склала  $105,0 \pm 1,0$  г в контрольній серії дослідів та  $105,0 \pm 1,7$  г в серії дослідів, де тваринам давали преднізолон. При зважуванні тварин через 30 діб від початку експерименту кінцева маса тварин в контрольній серії дослідів складала  $190,0 \pm 4,0$  г, тоді як в серії дослідів де тварини отримували преднізолон маса тіла експериментальних тварин склала  $160,0 \pm 3,6$  г, що було достовірно ( $p < 0,001$ ) менше ніж в контрольній серії дослідів.

Наведені дані свідчать про негативний вплив преднізолону на експериментальних тварин, при введенні препарату протягом 30 діб, приріст маси тіла у тварин контрольної групи складав  $80,9 \pm 1,2\%$ , а у тварин, що приймали преднізолон маса тіла збільшувалась тільки на  $55,0\%$ .

При вивченні впливу преднізолону на масу кісткової тканини на кінцевий термін спостереження маса великогомілкової кістки складала в контрольній серії дослідів  $254,6 \pm 4,0$  мг, тоді як у тварин, що отримували преднізолон маса кістки складала  $229,7 \pm 1,9$  мг, і була достовірно менша ( $p < 0,05$ ) ніж у тварин контрольної серії дослідів.

Однією з причин зміни маси великогомілкової кістки може бути зменшення мінеральної щільності кісткової тканини. Вивчення зольності кісткової тканини показали, що в контрольній серії дослідів зольність кістки складала  $59,5 \pm 1,2\%$ , тоді як в серії дослідів де тварини отримували преднізолон складала  $53,3 \pm 0,1\%$ , що було достовірно ( $p < 0,001$ ) меншим ніж в контрольній серії дослідів і свідчило, що зольність в контрольній серії дослідів була на  $12,0\%$  нижча ніж зольність в контрольній серії дослідів.

Отримані результати підтверджувалися даними визначення вмісту мінеральних компонентів у кістковій тканині. Так у золі великогомілкової кістки вміст кальцію складав  $39,0 \pm 0,2\%$  і  $19,4 \pm 0,3$  мг на  $100$  мг тканини і вміст фосфору у золі складав  $18,8\% \pm 0,3$  та  $10,8 \pm 0,2$  мг на  $100$  мг тканини у тварин контрольної серії дослідів, а у тварин, які отримували преднізолон кількість кальцію складала -  $26,0 \pm 0,3\%$  і  $15,7 \pm 0,4$  мг на  $100$  мг тканини. Така ж картина спостерігалась і при визначенні вмісту фосфору у золі -  $16,3 \pm 0,2\%$  і  $9,2 \pm 0,1$  мг на  $100$  мг тканини, що було достовірно ( $p < 0,05$ ) нижче ніж у тварин контрольної серії дослідів. Як видно з наведених даних, при введенні експериментальним тваринам преднізолону в золі великогомілкової кістки на  $26,0\%$  та  $13\%$  знижується вміст кальцію та фосфору в порівнянні з контролем на  $20,0$  та  $15,0\%$  знижується вміст цих компонентів у розрахунку на  $100$  мг обезжиреної кістки.

Вивчення впливу преднізолону на мінеральний та D-вітамінний обмін дозволило встановити, що при введенні преднізолону в організмі виникає порушення мінерального обміну внаслідок D-гіповітамінозу (табл. 1).

Отримані дані показали, що у тварин на фоні прийому преднізолону виникали в організмі в порівнянні з контрольними дослідями достовірні ( $p < 0,05$ ) порушення мінерального та D-вітамінного обміну. Отримані дані показали, що у тварин на фоні прийому преднізолону виникали в організмі в порівнянні з контрольними дослідями достовірні ( $p < 0,05$ ) порушення мінерального та D-вітамінного обміну.

Показники кальцію були на наступному рівні: загальний кальцій в сироватці крові складав  $1,91 \pm 0,2$  ммоль/л<sup>-1</sup> проти  $2,29 \pm 0,03$  ммоль/л<sup>-1</sup> в контролі білково-в'язаного кальцію  $0,22 \pm 0,01$  ммоль/л<sup>-1</sup> проти  $0,23 \pm 0,01$  ммоль/л<sup>-1</sup>, ультрафільтрованого  $1,69 \pm 0,02$  ммоль/л<sup>-1</sup> проти  $2,06 \pm 0,01$  ммоль/л<sup>-1</sup>. Рівень фосфору

**Таблиця 1.** Вплив преднізолону на мінеральний та D-вітамінний обмін ( $M \pm m$ ,  $n=10$ ).

№ п/п	Дослідні показники	Контроль	Преднізолон
1.	Кальцій, ммоль/л <sup>-1</sup> :		
2.	загальний	$2,29 \pm 0,03$	$1,91 \pm 0,02^*$
3.	білковозв'язаний	$0,23 \pm 0,01$	$0,22 \pm 0,01$
4.	ультрафільтрувальний	$2,06 \pm 0,01$	$1,69 \pm 0,02^*$
5.	Рн, ммоль/л <sup>-1</sup>	$2,20 \pm 0,03$	$1,82 \pm 0,02^*$
6.	Лужна фосфатаза, О·л <sup>-1</sup>		
7.	загальна	$235,0 \pm 0,5$	$347,0 \pm 0,5^*$
8.	кишковий ензим	$52,6 \pm 0,9$	$92,0 \pm 0,7^*$
9.	кістковий ензим	$200,0 \pm 3,0$	$320,0 \pm 1,0^*$
10.	25ОНD <sub>3</sub> , нг·мл <sup>-1</sup> (нмоль/л <sup>-1</sup> )	$38,1 \pm 1,2$ ( $92,3 \pm 3,0$ )	$7,9 \pm 0,2^*$ ( $19,85 \pm 0,5$ ) <sup>*</sup>

**Примітка.** \* - різниця достовірна ( $p < 0,05$ ) в порівнянні з контролем.

також був достовірно ( $p < 0,05$ ) нижчим ніж у контрольних тварин і складав  $1,82 \pm 0,02$  ммоль/л<sup>-1</sup> проти  $2,20 \pm 0,03$  ммоль/л<sup>-1</sup> у контрольних тварин. Крім того спостерігалось достовірне ( $p < 0,05$ ) підвищення рівня лужної фосфатази та її ізоферментів. Рівень загальної лужної фосфатази в сироватці крові складав  $347,0 \pm 0,5$  О·л<sup>-1</sup> тоді як у тварин контрольної групи її рівень складав  $235,0 \pm 0,5$  О·л<sup>-1</sup>, що було достовірно вище ( $p < 0,05$ ) ніж у контрольній серії дослідів. Кишковий ензим досягав  $92,0 \pm 0,7$  О·л<sup>-1</sup>, а у контрольних тварин він складав  $52,6 \pm 0,9$  О·л<sup>-1</sup>, що також було достовірно ( $p < 0,05$ ) вище ніж у контрольній групі. Найбільше підвищувався показник кісткового ензиму, кількість якого була на рівні  $320,0 \pm 1,0$  О·л<sup>-1</sup> проти  $200,0 \pm 3,0$  О·л<sup>-1</sup> у контрольних тварин і був достовірно вищими ( $p < 0,05$ ) від цього показника у тварин, які не отримували преднізолон.

Про порушення обміну вітаміну D також свідчив показник 25ОНD<sub>3</sub>, в сироватці крові, рівень якого в порівнянні з показниками тварин контрольної серії дослідів був достовірно ( $p < 0,05$ ) нижчим і складав  $7,9 \pm 0,2$  нг·мл<sup>-1</sup> проти  $38,1 \pm 1,2$  нг·мл<sup>-1</sup>.

### Висновки та перспективи подальших розробок

1. При введенні преднізолону коротким курсом відбувається порушення обміну речовин про, що свідчило достовірно ( $p < 0,05$ ) зменшення приросту маси тварин та достовірно зменшення показників мінерального обміну в порівнянні з аналогічними показниками у тварин контрольної групи які не отримували преднізолон.

2. Про порушення обміну вітаміну D також свідчив показник 25ОНD<sub>3</sub>, в сироватці крові, рівень якого в порівнянні з показниками тварин контрольної серії дослідів був достовірно ( $p < 0,05$ ) нижчим і складав  $7,9 \pm 0,2$  нг·мл<sup>-1</sup> проти  $38,1 \pm 1,2$  нг·мл<sup>-1</sup>.

Отримані дані свідчать, що введення преднізолону призводило до порушення мінерального та D-вітамінного обміну, що обумовлює продовження досліджен-

ня у напрямку вивчення морфологічних змін у хрящовій та кістковій тканині, які виникають при прийомі преднізолону.

### Список літератури

- Беловол А. Н. Глюкокортикоиндуцированный остеопороз / А. Н. Беловол, И. И. Князькова // Здоров'я України. - 2012. - № 5. - С. 72-75.
- Боровиков В. СТАТИСТИКА. Искусство анализа данных на компьютере: для профессионалов / Боровиков В. - [2-е изд.]. - СПб. : Питер, 2003. - 688 с.
- Брицке Э. М. Атомно-абсорбционный спектральный анализ / Брицке Э. М. - М. : Химия, 1982. - 244 с.
- Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захарина, Б. В. Западнюк; под. ред. И. П. Западнюка. - К. : Вища школа, 1983. - 381 с.
- Лесняк О. М. Остеопороз; под ред. О. М. Лесняк, Л. И. Боневолевской. - [2-е изд. перераб. и доп.]. - М.: Геотар-Медиа, 2009. - 272 с.
- Новиков Ю. В. Применение спектрографии для определения минерального состава костной ткани при гигиенических исследованиях / Ю. В. Новиков, А. В. Аксюк, А. М. Леточников // Гигиена и санитария. - 1969. - № 6. - С. 72-76.
- Реброва О. Ю. Статистический анализ данных. Применение пакета прикладных программ STATISTIKA: монография / Реброва О. Ю. - М. : Медиа Сфера, 2003. - 312 с.
- Роль вітаміну Е в регуляції гідроксилювання хлоркальціоферолу за D-гіповітамінозу та D-гіпервітамінозу / Л. І. Апуховська, М. М. Великий, О. Ю. Лотоцька, А. В. Хоменко // Укр. біохім. журн. - 2009. - Т. 81, № 5. - С. 50-57.
- Щелочная фосфатаза: современное состояние вопроса / Б. Плеханов, Т. Цветкова, Т. Пипернов, М. Чеговская // Лаб. дело. - 2008. - № 11. - С. 4-7.
- De Nijs R. N. Glucocorticoid-induced osteoporosis: a review on pathophysiology and treatment options / R. N. De Nijs // Minerva Med. - 2008. - Vol. 99, № 1. - P. 23-24.
- Dyce B. J. At rapid monensin assay for 2, 3 DPG in multiple specimen of blood / B. J. Dyce, S. P. Besman // Arch. Environ. Health. - 1973. - Vol. 27, № 2. - P. 112-115.
- Ducland S. Uptake and 25-hydroxylation of vitamin D3 isolated rat liver cells // S. Ducland, A. Holmberg, T. Bergs // J. Biol. Chem. - 1981. - Vol. 256, № 20. - P. 10430-10433.
- Hofbauer L. G. Live and let die: effects of glucocorticoids on bone cells / L. S. Hofbauer, M. Rauner // Mol. Endocrinol. - 2009. - Vol. 23. - P. 1525-1531.

**Калашников А.В., Апуховская Л.И., Кузів Е.Л., Вильцанюк О.А.**

### ВЛИЯНИЕ ПРЕДНИЗОЛОНА НА МИНЕРАЛЬНЫЙ И D-ВИТАМИННЫЙ ОБМЕН ПРИ ЕГО КРАТКОВРЕМЕННОМ НАЗНАЧЕНИИ

**Резюме.** В результате эксперимента на 34 крысах линии Вистар проведено изучение влияния преднизолон на минеральный и D-витаминный обмен при его назначении курсом в течение 30 суток. Установлено, что введение преднизолон на крысам приводило к нарушению минерального и D-витаминного обмена, о чем свидетельствовало достоверное уменьшение прироста массы тела крыс, снижение уровня кальция, неорганического фосфора, активности щелочной фосфатазы, активности изоферментов щелочной фосфатазы и уровня содержания 25OH<sub>3</sub> в сыворотке крови по сравнению с животными контрольной группы и свидетельствует о необходимости проведения медикаментозной коррекции этих изменений.

**Ключевые слова:** остеопороз, преднизолон, обмен веществ, D-витаминный обмен.

**Kalashnikov A.V., Apukhovska L.I., Kuziv E.L., Viltsanyuk O.O.**

### EFFECT OF PREDNISOLONE ON METABOLISM AND VITAMIN D-EXCHANGE IN ITS SHORT PROLONGED ADMINISTRATION

**Summary.** In experiment on 34 Wistar rats studied the impact of prednisolone metabolism and vitamin D-exchange at its intended rate within 30 days. The introduction of prednisolone resulted in a violation of mineral and D - vitamin metabolism through significant reduction of weight gain in rats, reducing levels of calcium, inorganic phosphorus, alkaline phosphatase, isoenzymes of alkaline phosphatase activity and levels of 25OH<sub>3</sub> serum compared to animals in the control group and indicates the need for medical correction of these changes.

**Key words:** osteoporosis, prednisolone, metabolism, vitamin D- exchange.

**Рецензент - д.мед.н., проф. Фіщенко В.О.**

Стаття надійшла до редакції 01.06.2015 р.

Калашніков Андрій Валерійович - д.мед.н., проф., завідувач науково-організаційним відділом ДУ "Інститут травматології та ортопедії НАМН України"; +38 044 486-31-97

Апуховська Лариса Іванівна - к.біол.н., ст.наук.співроб. лабораторії медичної біохімії Інституту біохімії ім. О.В. Паладіна НАН України; +38 044 234-63-14

Кузів Євген Любомирович - лікар ортопед-травматолог Військово-медичного клінічного центру Центрального регіону; +38 093 460-46-05

Вильцанюк Оксана Олександрівна - к.мед.н., доц. кафедри пропедевтики внутрішньої медицини Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова; +38 067 727-42-91