

3. У беременных с высоким риском развития ИВО отмечалось изменение качественной активности обоих типов иммунокомпетентных клеток: все клетки классифицировались как клетки высокой степени активности («В»).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Белокриницкая Т.Е., Витковский Ю.А. Состояние защитных систем и их коррекция при эндометри-тах после родов и кесарева сечениях – Чита: «Поиск», 2009. – 103 с.
2. Краснопольский В.И., Буянова С.Н., Щукина Н.А. Гнойная гинекология. – Москва: МЕДпресс, 2001. – 288 с.
3. Минякина Г.Н., Верович И.В. Клинико-гематологическое значение системы микро-макрофагов при острой нейтропении у беременных. – М.: Аэрограф-медиа, 2001. – 182 с.
4. Нарциссов Р. П. Применение п-нитротетразолия фиолетового для количественной цитохимии дегидрогеназ человека // Арх. Анат. 1969. – № 5. – С. 55-91.
5. Орджоникидзе Н.Н., Базиладзе Е.Н. Современные направления в диагностике, профилактике и лечении послеродовой инфекции. // Ж. Российского общества акушеров-гинекологов – 2005. – № 4. – С. 18-20
6. Панкратов С.Б., Селихова М.С., Пайль А.В. Пути сохранения репродуктивного здоровья женщин. // Сборник научно-практических работ Южного окружного медицинского центра, выпуск 2, Ростов-на-Дону, 2006. – С. 116-118.
7. Фрейдлин И.С., Тотолян А.А. Клетки иммунной системы (Т.3; Т.4; Т.5). – СПб.: Наука, 2001. – 390 с.
8. Хейхоу Ф.Г. Дж., Кваглино Д. Гематологическая цитохимия – М., 1983. – 319 с.
9. Чуприненко Л.М., Славинский А.А. Активность миелопероксидазы в нейтрофилах крови у больных железодифицитной анемией // Сборник трудов юбилейной научной конференции КГМУ и сессии центра РАМН, посвященной 70-летию КГМУ, Том 1, Курск, 2005. – С. 149-150.

Кадыков Александр Михайлович, ассистент кафедры акушерства и гинекологии с курсом последипломного образования ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, Россия, 414000, Астрахань, ул. Бакинская, 121, тел. (8512) 52-41-43, e-mail: agma@astranet.ru

Галимзянов Халил Мингалиевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, Россия, 414000, Астрахань, ул. Бакинская, 121, тел. (8512) 52-41-43, e-mail: agma@astranet.ru

Аношкина Надежда Ивановна, врач акушер-гинеколог, заведующая I наблюдательным родильным отделением МУЗ «Клинический родильный дом», Россия, 414024, г. Астрахань, ул. Ахшарумова, 82.

УДК 613.632:616.71-007.234-057:66[577.12:611.018.4]-092.9

© Ф.Х. Камилов, Т.И. Ганеев, Е.Р. Фаршатова, Н.С. Стрелков, 2011

Ф.Х. Камилов¹, Т.И. Ганеев¹, Е.Р. Фаршатова¹, Н.С. Стрелков²

ВЛИЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОГО ВИТАМИННОГО ПРЕПАРАТА И НАНОДИСПЕРСНОЙ КАЛЬЦИЕВОЙ СОЛИ ГЛЮКОНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ОБМЕН КОСТНОЙ ТКАНИ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ У КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ДИХЛОРЕТАНОМ

¹ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет»
Минздравсоцразвития России, г. Уфа

²ГБОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская академия»
Минздравсоцразвития России, г. Ижевск

Двухмесячная ежедневная интоксикация дихлорэтаном в низких концентрациях (суммарная доза 0,1 ЛД₅₀) 96 половозрелых белых крыс приводит к интенсификации катаболизма в костной ткани, усилению процессов резорбции, нарушению фосфорно-кальциевого обмена, обусловленных развитием окислительного стресса. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности терапии антиоксидантным витаминным препаратом и его комбинации с нанодисперсной аморфной формой кальция глюконата.

Ключевые слова: костная ткань, метаболизм, дихлорэтан, триовит.

THE INFLUENCE OF ANTIOXIDANT VITAMIN PREPARATION AND NANODISPERSIVE CALCIUM SALT OF GLUCONE ACID FOR EXCHANGE OF BONY TISSUE OF LOWER JAW IN RATS WITH CHRONIC INTOXICATION BY DICHLORETHANE

Two-month daily intoxication by dichlorethane in low concentration (total dose 0,1 LD50) 96 sexually mature white rats may lead to intensification of catabolism in bony tissue, process resorbtion intensification, phosphorus calcium disturbance, abnormalities exchange bone tissue to be conditioned by progress of oxidation stress with accumulation of products lipoperoxidation, reduction antioxidant enzymes activity. The obtained results may indicate the effectiveness of therapy by antioxidant vitamins preparation and its combination with nanodispersed amorphous forms of calcium gluconate.

Key words: *bony tissue, metabolism, dichlorethane, tryovit.*

Длительный производственный контакт с хлорпроизводными низкомолекулярных алифатических углеводородов (хлорвинил, хлорпропан, хлорпропен, дихлорэтан, дихлорпропан, эпихлоргидрин и др.) вызывает у работников химического предприятия нарушения фосфорно-кальциевого обмена и снижение минеральной плотности костной ткани [3]. Остеопения и остеопороз у этой группы рабочих выявляется в 1,5-2раза чаще во всех возрастных группах, чем у работников других профессий этого же предприятия. Среди факторов риска развития остеопороза особое внимание привлекает низкое потребление населением России продуктов, содержащих кальций. Недостаточное поступление кальция в организм отмечается у 50-70% населения [9]. Одним из основных способов профилактики данной патологии является адекватное обеспечение организма кальцием и повышение его биодоступности [6, 7]. С целью повышения биодоступности кальция разработана нанодисперсная аморфная форма кальция глюконата (кальций-МАГ), показавшая хорошую биохимическую совместимость, терапевтическую эффективность при лечении заболеваний, связанных с нарушением обмена кальция [4].

У пациентов с остеопорозом в более чем 40% случаев выявляется пародонтит, в то время как у лиц с физиологической плотностью костной ткани – лишь в 12,5% [1]. У пациентов с заболеваниями пародонта, приводящими к выпадению зубов, выявляются низкие показатели минеральной плотности костной ткани (МПКТ), и по мере снижения МПКТ нарастает тяжесть поражения пародонта [10].

Цель работы: оценить эффективность совместного применения витаминного антиоксидантного препарата и кальций-МАГа на обмен костной ткани нижней челюсти у крыс при хронической интоксикации дихлорэтаном в малых дозах.

Материал и методы Хроническую интоксикацию 96 половозрелых белых крыс, находившихся в условиях виварного питания с достаточным поступлением минеральных веществ и белка, осуществляли ежедневным введением дихлорэтана (ДХЭ) в оливковом масле внутривентриально в течение двух месяцев в конечной суммарной дозе 50 мг/кг (0,1 ЛД₅₀). Животные были разделены на 5 групп. Первую группу составили контрольные, крысы 2-й, 3-й, 4-й и 5-й групп были подвергнуты интоксикации ДХЭ. Кроме того, животные третьей группы получали внутривентриально в течение последнего месяца эксперимента кальций-МАГ, четвертой – витаминный препарат «Триовит», пятой группы – триовит и кальций-МАГ одновременно. Кальций-МАГ вводили в виде суспензии в оливковом масле из расчета 253 мг/кг массы, триовит также в виде суспензии в 2% растворе крахмала в дозе 50мг/кг. В гомогенате костной ткани нижней челюсти исследовали содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (реагенты «ТБК-Агат» ООО «АГАТ-МЕД», Россия), содержание белковосвязанного (БСО) и свободного (СО) оксипролина по [8], активность супероксиддисмутазы (реагенты «RANSOD» фирмы Randox Ltd.), глутатионпероксидазы (реагенты «RAN-GPO» фирмы Randox Ltd.) и каталазы по [5]. В плазме крови определяли содержание кальция и фосфора (наборы ЗАО «Вектор-Бест»), ионизированного кальция (Ca²⁺) (Frensenius Ionometr – 2, Германия), С-концевых телопептидов коллагена I типа («Serum β-Cross Laps ELISA», Дания), активность костной щелочной фосфатазы («Metra BAF EIA Kit» фирмы «Quidel Corporation»), содержание тестостерона («RIA Testosterone direct», Франция), эстрадиола («RIA Estradiol», Франция), паратгормона (RIA PTH, Франция) и кортизола (IMMUNOTECH CORTISOL RIA Kit, Чехия). Статистическую обработку осуществляли, используя пакет программ Statistica 6,0 Stat Soft (США), с определением медианы (Me) и процентелей [25%, 75%], достоверность групповых различий средних величин – по U критерию Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение. У животных, получавших в течение в двух месяцев ДХЭ, наблюдается значимое снижение содержания общего и ионизированного кальция и фосфора в плазме крови (табл. 1). Дефицит Са и Р в крови способствует усилению резорбции костной ткани, подавлению функции остеобластов и ограничению костной минерализации [8]. У животных, подвергнутых воздействию ДХЭ, более двух раз повышается уровень С-телопептидов коллагена, свидетельствующего об интенсификации процессов резорбции в костной ткани, в то время как активность костной изоформы щелочной фосфатазы, характеризующей течение остеопороза, повышается менее выражено. Хроническая интоксикация ДХЭ вызывает у животных в кости нижней челюсти увеличение содержания продукта деградации коллагена – СО и снижение БСО, свидетельствуя об уменьшении основного белка органического матрикса костной ткани.

Влияние Кальций-Маг, триовита и их комбинации на содержание кальция и фосфора, уровень маркеров костного ремоделирования в плазме крови крыс при хронической интоксикации дихлорэтаном, Me [25%, 75%]

Показатели	Группа животных				
	Контроль, n=16	ДХЭ 0,1 ЛД ₅₀ , n=16	ДХЭ+Кальций-МАГ, n=16	ДХЭ+триовит, n=16	ДХЭ+Кальций-МАГ+триовит, n=16
Са общий, ммоль/л	2,2 [1,9; 2,3]	1,9 [1,8; 2,2] P=0,0206	2,0 [2,0; 2,2] P=0,0348	2,0 [1,7; 2,1] P=0,0479	2,2 [2,0; 2,4] P=0,3489; P ₁ =0,0342
Ca ²⁺ , ммоль/л	1,03 [0,89; 1,1]	0,84 [0,80; 0,90] P=0,0372	0,90 [0,82; 0,91] P=0,0864; P ₁ =0,0302	0,90 [0,85; 0,99] P=0,0775; P ₁ =0,0363	1,05 [0,93; 1,12] P=0,7451; P ₁ =0,0296
P, ммоль/л	1,25 [1,19; 1,35]	0,79 [0,54; 2,11] P=0,0441	1,19 [1,08; 1,30] P=0,3559; P ₁ =0,0034	1,08 [1,02; 1,19] P=0,6630; P ₁ =0,0416	1,19 [1,03; 1,19] P=0,5416; P ₁ =0,0028
β-Cross Laps, нг/мл	1,6 [1,1; 2,1]	3,6 [3,0; 5,3] P=0,00006	2,4 [1,2; 4,0] P=0,2647; P ₁ =0,0082	2,3 [2,0; 2,6] P=0,0531; P ₁ =0,0058	2,0 [1,3; 3,1] P=0,2405; P ₁ =0,0008
КЩФ, МЕ/л	45 [37,5; 50,0]	59,7 [55,0; 80,5] P=0,0487	67,5 [44,5; 80,5] P=0,0066; P ₁ =0,0373	49,5 [39,3; 56,8] P=0,7919; P ₁ =0,0011	68,1 [60,0; 76,3] P=0,0051; P ₁ =0,0394
СО, мкмоль/г костной ткани	0,98 [0,86; 1,18]	1,49 [1,46; 1,80] P=0,0007	1,26 [1,24; 1,40] P=0,0207; P ₁ =0,0406	1,26 [1,12; 1,44] P=0,0357; P ₁ =0,0473	0,90 [0,76; 1,14] P=0,1368; P ₁ =0,0005
БСО, мкмоль/г костной ткани	0,20 [0,19; 0,20]	0,13 [0,09; 0,15] P=0,0133	0,16 [0,15; 0,18] P=0,0497	0,18 [0,17; 0,20] P=0,4642; P ₁ =0,0384	0,18 [0,16; 0,21] P=0,5741; P ₁ =0,0315

Примечание: КЩФ – костная щелочная фосфатаза, СО - свободный оксипролин, БСО – белковосвязанный оксипролин, P – различия с группой контроля, P₁ – с группой, получавшей ДХЭ.

Лечение животных, экспонированных ДХЭ, нанодисперсной аморфной солью кальция глюконовой кислоты, триовитом и их комбинацией приводит к повышению содержания в плазме крови уровня Са и P, снижению содержания С-телопептидов, и свободного оксипролина, свидетельствуя об ограничении резорбтивных и катаболических процессов в костной ткани и оптимизации фосфорно-кальциевого обмена. При этом наиболее выраженный терапевтический эффект обнаруживается при совместном применении кальций-МАГ и антиоксидантного витаминного комплекса, содержащего витамины E, C, β-каротин, дрожжи и селен.

С целью характеристики состояния оксидативного баланса в гомогенате кости нижней челюсти определяли содержание ТБК-реагирующих продуктов и активность основных антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГП) и каталазы (табл. 2).

Таблица 2

Содержание продуктов липопероксидации и активность антиоксидантных энзимов в костной ткани нижней челюсти крыс при интоксикации ДХЭ и терапии кальций-МАГ и триовитом, Me [25%, 75%]

Показатели	Группа животных				
	Контроль, n=16	ДХЭ 0,1 ЛД ₅₀ , n=16	ДХЭ+Кальций-МАГ, n=16	ДХЭ+триовит, n=16	ДХЭ+триовит+Кальций-МАГ, n=16
ТБК-активные продукты, нмоль/г ткани	2,71 [2,56; 2,77]	4,21 [4,10; 4,26] P=0,0007	4,05 [3,85; 4,15] P=0,0013; P ₁ =0,1745	3,25 [3,15; 3,28] P=0,0118; P ₁ =0,0232	3,10 [2,90; 3,26] P=0,0243; P ₁ =0,0016
СОД, Е/мг белка	69,5 [68,0; 71,1]	40,0 [38,0; 51,0] P=0,0007	42,6 [39,4; 45,5] P=0,0009; P ₁ =0,4305	54,8 [54,0; 60,2] P=0,0011; P ₁ =0,0084	59,3 [58,2; 62,4] P=0,1938; P ₁ =0,0016
ГП, Е/мг белка	461 [454; 467]	231 [184,0; 264,0] P=0,0006	263 [320,0; 405,0] P=0,0123; P ₁ =0,2023	392 [362,0; 404,0] P=0,0382; P ₁ =0,0025	442 [420,0; 447,0] P=0,4288; P ₁ =0,0009
Каталаза, мкмоль/мг белка	7,42 [7,27; 7,85]	4,11 [4,07; 4,40] P=0,0005	5,06 [5,02; 5,38] P=0,0027; P ₁ =0,0342	6,68 [6,10; 6,90] P=0,0176; P ₁ =0,0043	6,74 [6,57; 7,52] P=0,0647; P ₁ =0,0015

Примечание: СОД – супероксиддисмутазы, ГП – глутатионпероксидаза, P – различия с группой контроля, P₁ – с группой, получавших ДХЭ.

У подопытных животных при хронической интоксикации резко увеличивается в костной ткани уровень продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Активность СОД, ГП и каталазы при этом существенно снижается. Межтрабекулярное пространство губчатой кости содержит значительное количество клеток моноцитарно-макрофагальной системы, чувствительно реагирующей на воздействие химических соединений и принимающей активнейшее участие в процессах их детоксикации. При интоксикации ДХЭ происходит усиленное образование активных форм кислорода с интенсификацией свободно-радикальных процессов. Ряд активных форм кислорода легко преодолевает биомембраны и воздействует на окружающую костную ткань, обладающей низкой антиоксидантной защитой и являющейся высокочувствительной к действию окислительного стресса [2].

Введение крысам кальций-МАГ не оказывает заметного влияния на интенсивность ПОЛ, хотя и позитивно сказывается на активности каталазы. Применение триовита и комплекса триовита с кальций-МАГ статистически значимо подавляет процессы липопероксидации и повышает активность антиоксидантных ферментов.

Заключение. Хроническая интоксикация дихлорэтаном в низких дозах приводит в костной ткани нижней челюсти экспериментальных животных к интенсификации катаболизма с усилением процессов резорбции и нарушением фосфорно-кальциевого обмена. Ведущим механизмом дезинтеграции метаболизма костной ткани является активация процессов ПОЛ на фоне недостаточности антиокислительной защиты. Данный факт подтверждается эффективностью терапии путем введения антиоксидантного витаминного препарата и его комбинации с нанодисперсной аморфной формой кальция глюконата. Полученные результаты являются экспериментальной базой для использования антиоксидантных витаминных комплексов в сочетании с препаратами кальция для профилактики и лечения остеопенического синдрома и парадонтитов у работников химических предприятий, имеющих производственный контакт с хлорорганическими поллютантами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Арутюнов С.Д., Верткин А.Л., Плескановская Н.В. [и др.]. Особенности парадонтального статуса пациентов с потерей минеральной плотности костной ткани периферического скелета // *Стоматология*. – 2008, – № 2. – С. 61-65.
2. Казимирко В.К., Коваленко В.Н., Мальцев В.И. Остеопороз: патогенез, клиника, профилактика и лечение. – Киев : Марион, 2006. – 160 с.
3. Камиллов Ф.Х., Меньшикова И.А., Нурлыгаянов Р.З., Рамазанова Л.М. Состояние минеральной плотности костной ткани у рабочих химического производства // *Мед. вестник Башкортостана*. – 2007. – № 1. – С. 78-82.
4. Коныгин Г.Н., Стрелков Н.С., Рыбин Д.С. [и др.]. Механоактивированные аморфные и аморфно-кристаллические кальциевые соли глюконовой кислоты, композиции, способы получения, фармацевтические препараты и способ лечения на их основе: пат. 2373185 Рос. Федерации. № 2007127937104; заявл. 20.07.07; опублик. 22.11.09 – 20 с.
5. Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения каталазы // *Лаб. дело*. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
6. Ригз Б.Л., Мельтон Ш Л.Дж. Остеопороз. Этиология, диагностика, лечение. Пер. с англ. – М. – Спб : ЗАО «Издательство БИНОМ», «Невский диалект», 2000, – 323 с.
7. Рожинская Л.Я., Белая Ж.Е. Достижения и перспективы в лечении остеопороза // *Профилактическая медицина*. – 2009. – Т. 12, № 6. – С. 21-26.
8. Шараев П.Н., Пишков В.Н., Зубарев Д.Н. [и др.]. Биохимические методы анализа показателей обмена биополимеров соединительной ткани. – Ижевск, 1990. – С. 3-10.
9. Шилин Д.Е., Шилин А.Д., Адамян Л.В. Существует ли у населения России связь между риском переломов по шкале FRAX (ВОЗ, 2008) и потребление кальция? // *Остеопроз и остеопатии*. – 2010. – № 1 (приложение). – С. 53.
10. Horner K., Devein Y., Alsop S.W. [et al.]. Mandibular bone mineral density as a predictor of skeletal osteoporosis // *Brit. J. Radiol.* – 1996. – Vol. 69. – P. 1019-1025.

Камиллов Феликс Хусаинович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой биологической и биоорганической химии ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России, Россия, 450043, г. Уфа, ул. Ленина, 3, тел. (3472) 73-85-71, e-mail: bro-raops@yandex.ru

Ганеев Тимур Ирекович, аспирант кафедры биологической и биоорганической химии ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России, Россия, 450043, г. Уфа, ул. Ленина, 3, тел. (3472) 73-85-71

Фаршатова Екатерина Рафаелевна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры патологической физиологии ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России, Россия, 450043, г. Уфа, ул. Ленина, 3, тел. 8-917-34-35-350, e-mail: kotenochekkl1@rambler.ru

Стрелков Николай Сергеевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой детской хирургии ГБОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, Россия, 426034 г. Ижевск, ул. Коммунаров, 281.