

DOI 10.35220/2078-8916-2020-38-4-9-16

УДК: 616.71:[616.003+616.71-003.85]

**И.В. Ходаков, О.А. Макаренко, д.биол.н.,
Л.Н. Хромагина, к.биол.н., Л.М. Мудрик**

Государственное учреждение «Институт
стоматологии и челюстно-лицевой хирургии
Национальной академии медицинских наук Украины»

**ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА
ЭССЕНЦИАЛЬНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ
«ЛИПОСАН-ФОРТЕ» НА ФОНЕ
ДЛИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ
ПРЕДНИЗОЛОНА БЕЛЫМ КРЫСАМ**

Цель исследования. Оценить остеопротекторные свойства препарата эссенциальных жирных кислот «Липосан-форте (витамин F)» на фоне длительного введения преднизолонa белым крысам.

Материалы и методы. Эксперимент проводили на самках белых крыс линии Вистар в возрасте 4 месяца в течение 35 суток. Экспериментальные группы: 1 – диета вивария (n=7), 2 – безжировая диета (БЖД, n=6), 3 – БЖД + преднизолон (n=6), 4 – БЖД + преднизолон + «Липосан-форте» (n=7). Преднизолон в ежедневной дозе 5 мг/кг вводили крысам в виде раствора через поилки. Использовали препарат «Липосан-форте» (1 % от массы корма) с соотношением ω -6 и ω -3 полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) 1,15. Определяли плотность бедренных костей, их дистальных эпифизов и поясничных позвонков, относительное содержание органического и минерального компонентов в костях. Изменения метаболизма костной ткани анализировали по активности эластазы, щелочной и кислой фосфатаз, содержанию кальция в альвеолярной кости.

Выводы. Преднизолон вызвал снижение плотности костей за счёт снижения содержания минерального компонента и повышения содержания органического компонента. Преднизолон преимущественно стимулировал резорбцию высокоминерализованной костной ткани и угнетал процесс кальцинирования новообразованной костной ткани. Данные результаты коррелировали с биохимическими маркерами костного метаболизма в альвеолярной кости. Применение препарата «Липосан-форте» на фоне введения преднизолонa способствовало нормализации показателей состояния костей. Остеопротекторный эффект «Липосан-форте» связывается с высоким содержанием в нём ω -3 ПНЖК и витамина D₂.

Ключевые слова: преднизолон, глюкокортикоиды, костная ткань, плотность кости, полиненасыщенные жирные кислоты, «Липосан-форте».

**И.В. Ходаков, О.А. Макаренко, Л.М. Хромагина,
Л.М. Мудрик**

Державна установа «Інститут стоматології
та щелепно-лицевої хірургії Національної академії
медичних наук України»

**ЗАСТОСУВАННЯ ПРЕПАРАТУ
ЕСЕНЦІАЛЬНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ
«ЛІПОСАН-ФОРТЕ» НА ТЛІ ТРИВАЛОГО
ВВЕДЕННЯ ПРЕДНИЗОЛОНА БІЛИМ
ЩУРАМ**

Мета дослідження. Оцінити остеопротекторні властивості препарату есенціальних жирних кислот «Ліпосан-форте (вітамін F)» на тлі тривалого введення преднізолону білим щурам.

Матеріали та методи. Експеримент проводили на самках білих щурів лінії Вістар у віці 4 місяці протягом 35 діб. Експериментальні групи: 1 - дієта віварію (n = 7), 2 - безжирова дієта (БЖД, n = 6), 3 - БЖД + преднізолон (n = 6), 4 - БЖД + преднізолон + «Ліпосан-форте» (n = 7). Преднізолон в щодобовій дозі 5 мг/кг вводили щурам у вигляді розчину через поїлки. Використовували препарат «Ліпосан-форте» (1% від маси корму) з співвідношенням ω -6 і ω -3 поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) 1,15. Визначали щільність стегнових кісток, їх дистальних епіфізів і поперекових хребців, відносний вміст органічного і мінерального компонентів в кістках. Зміни метаболізму кісткової тканини аналізували за активністю еластази, лужної та кислої фосфатаз, вмісту кальцію в альвеолярній кістці.

Висновки. Преднізолон викликав зниження щільності стегнових кісток і хребців за рахунок зниження вмісту мінерального компонента й підвищення вмісту органічного компонента. Преднізолон переважно стимулював резорбцію високомінералізованої кісткової тканини й пригнічував процес кальцинування новоствореної кісткової тканини. Дані результати корелювали з біохімічними маркерами кісткового метаболізму в альвеолярній кістці. Застосування препарату «Ліпосан-форте» на тлі введення преднізолону сприяло нормалізації показників стану кісток. Остеопротекторний ефект «Ліпосан-форте» пов'язується з високим вмістом в ньому ω -3 ПНЖК і вітаміну D₂.

Ключові слова: преднізолон, глюкокортикоїди, кісткова тканина, щільність кістки, поліненасичені жирні кислоти, «Ліпосан-форте».

**I.V. Khodakov, O.A. Makarenko,
L.N. Khromagina, L.M. Mudrik**

State Establishment «The Institute of Stomatology and
Maxillo-Facial Surgery National Academy of Medical
Science of Ukraine»

**APPLICATION OF THE ESSENTIAL FATTY
ACID'S PREPARATION «LIPOSAN-FORTE»
AGAINST THE BACKGROUND
OF LONG-TERM ADMINISTRATION
OF PREDISOLONE IN WHITE RATS**

The aim. To assess the osteoprotective properties of the essential fatty acid's preparation "Liposan-forte (vitamin F)" against the background of long-term administration of prednisolone to white rats.

Materials and methods. The experiment was carried out on female white Wistar rats at the age of 4 months for 35 days. Experimental groups: 1 – vivarium diet (n = 7), 2 – fat-free diet (FFD, n = 6), 3 – FFD + prednisolone (n = 6), 4 – FFD + prednisolone + «Liposan-forte» (n = 7). Prednisolone in a daily dose of 5 mg / kg was administered to rats as a solution through drinking bowls. The drug "Liposan-forte" was used (1 % of the mass of feed) with a ratio of ω -6 and ω -3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) 1.15. The density of the femurs, femur distal epiphyses and lumbar vertebrae, the relative contents of organic and mineral components in the bones were determined. Changes in bone metabolism were analyzed by the activity of elastase, alkaline and acid phosphatases, and calcium content in the alveolar bone.

Conclusion. Prednisolone caused a decrease of femurs and vertebrae densities by reducing the content of the mineral component and increasing the content of the organic component. Prednisolone predominantly stimulated the resorption of highly mineralized bone tissue and inhibited the process of calcification of the newly formed bone tissue. These results correlated with biochemical markers of bone metabolism in the alveolar bone. The use of the preparation "Liposan-forte" against the background of the administration of prednisolone contributed to the normalization of bone health indicators. The osteoprotective effect of «Liposan-forte» is associated with its high content of ω -3 PUFAs and vitamin D₂.

Key words: prednisone, glucocorticoids, bone tissue, bone density, polyunsaturated fatty acids, «Liposan-forte».

Актуальность. Одним из проявлений воздействия глюкокортикоидов (ГК) на организм людей и животных является уменьшение минеральной плотности костей [1]. ГК снижают эффективность поглощения кальция из пищи и усиливают его экскрецию из организма, что приводит к дефициту ионов Ca²⁺ в плазме крови. Это компенсируется активацией резорбции костной ткани за счёт усиления продукции паратиреоидного гормона (ПТГ) паращитовидными железами [2]. Под воздействием ПТГ зрелые остеобласты и остеоциты вырабатывают ряд цитокинов, в первую очередь интерлейкинов IL-1, IL-6, макрофагового колониестимулирующего фактора (M-CSF), лиганда (RANKL) рецептора активатора ядерного фактора NF-каппа-B, и снижают продукцию остеопротегерина (OPG) [3].

ГК непосредственно воздействуют на остеобласты и остеоциты через взаимодействие с рецепторами ГК, стимулируя остеоциты и остеобласты к выделению провоспалительных цитокинов и простагландина PGE₂, которые также ак-

тивируют синтез лиганда RANKL остеобластами и подавляют продукцию OPG [4].

Клетки костной системы обладают рецепторами к андрогенам (тестостерон, дигидротестостерон и др.) и женским половым гормонам (прогестерон, 17- β -эстрадиол, эстрон, эстриол и др.) [5, 6]. ГК вызывают снижение синтеза гонадотропных гормонов гипофизом, а также влияют непосредственно на мужские и женские гонады, подавляя продукцию половых гормонов, стимулируя выделение остеобластами медиаторов остеокластогенеза [7].

ГК снижают содержание в крови дигидрокальциферола 1,25(OH)₂-D, активной гормональной формы витамина D, регулирующего процесс поглощения кальция и фосфатов в кишечнике. Недостаток витамина D ещё более усиливает потерю кальция организмом [8].

Таким образом, ГК смещают баланс между продукцией RANKL и OPG остеобластами, который является базовым механизмом, определяющим приоритет синтеза или резорбции костной ткани, в сторону усиления синтеза лиганда RANKL, активирующего фактор NF-каппа-B в остеокластах, который запускает основной сигнальный путь к усилению экспрессии генов, отвечающих за пролиферацию, дифференцировку и активацию остеокластов [1].

Отсюда актуальным является исследование препаратов, проявляющих свойства сдерживать разрушение костной ткани при длительном лечении ГК.

Установлено, что введение в рацион жиров с повышенным содержанием ω -3 полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) при моделировании глюкокортикоидного остеопороза у лабораторных животных, усиливает абсорбцию кальция в кишечнике и снижает его экскрецию почками, что способствует снижению интенсивности резорбции костей [9, 10]. Предполагается, что определяющими факторами остеопротекторных свойств жиров, содержащих ω -3 ПНЖК, являются суточная доза потребляемого жира и соотношение в нём ω -6 и ω -3 ПНЖК.

Цель исследования. Оценить остеопротекторные свойства препарата эссенциальных жирных кислот «Липосан-форте (витамин F)» на фоне длительного введения преднизолона белым крысам.

Материалы и методы. Эксперимент проводили на самках белых крыс линии Вистар в возрасте 4 месяца массой 161,3 – 186,3 г. Экспериментальные группы: 1 – Диета вивария (n=7), 2 – Безжировая диета (БЖД, n=6), 3 – БЖД + преднизолон (n=6), 4 – БЖД + преднизолон + «Липосан-форте» (n=7). Длительность эксперимента: 35 суток.

БЖД использовали для исследования преимущественного влияния препарата «Липосан-форте». Состав диеты вивария: комбикорм – 70 %, пшеница – 10 %, овёс – 10 %, кукуруза – 5 %, подсолнечник – 5 %. Состав безжировой диеты [11]: крахмал – 66 %, шрот соевый – 15 %, овальбумин – 5 %, сахар – 9 %, витаминно-минеральная смесь – 5 %.

Преднизолон в ежесуточной дозе 5 мг/кг крысы получали в виде раствора через поилки. Использовали препарат «Липосан-форте» (1 % от массы корма) производства НПА «Одесская биотехнология» ТУ У 10.8-13903778-051:2019 (заключение МЗУ № 12.2-18-2/28351 от 21.12. 2019 г. [12]. Состав «Липосан-форте»: рыбий жир – 33,3 %, катомас – 66,7 %.

Животных выводили из эксперимента путём тотального кровопускания под тиопенталовым наркозом. Для исследования состояния костной ткани выделяли бедренную кость, дистальный

эпифиз бедренной кости и первый поясничный позвонок со стороны крестца. Кости очищали от мышц и сухожилий и сохраняли в 5 %-ном растворе формалина. Плотность влажных костей определяли по разнице показаний весов при взвешивании костей в воздухе и в дистиллированной воде по методу [13]. Относительное содержание минерального и органического компонентов костей (структурно-весовые показатели) определяли с использованием константных значений плотности этих компонентов по методу [14].

Для исследования биохимических показателей метаболизма костной ткани выделяли фрагмент альвеолярной кости нижней челюсти. Определяли содержание кальция, активность эластазы, кислой и щелочной фосфатаз по методам [15, 16]. Достоверность отличий между средними показателями в группах определяли при помощи t-критерия Стьюдента с помощью MS Excel 2010.

Таблица 1

Морфометрические и структурно-весовые показатели бедренной кости крыс

| Показатель | Группа № 1 Интактная | Группа № 2 Безжировая диета (БЖД) | Группа № 3 БЖД + преднизолон | Группа № 4 БЖД + преднизолон + липосан |
|---|---|---|---------------------------------|--|
| Количество животных в группе | 7 | 6 | 6 | 7 |
| Плотность влажной кости, мг/мм ³ | 1,544 ± 0,011 p ₂ < 0,01 | 1,629 ± 0,023 p ₃ < 0,05 p ₄ < 0,05 | 1,565 ± 0,017 | 1,559 ± 0,009 |
| Содержание МК, % (весовая доля) | 41,25 ± 0,89 p ₂ < 0,01 | 45,51 ± 0,86 p ₃ < 0,01 p ₄ < 0,01 | 39,32 ± 1,45 | 40,11 ± 0,91 |
| Содержание ОК, % (весовая доля) | 25,27 ± 0,71 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,01 | 26,65 ± 0,86 p ₃ < 0,01 p ₄ < 0,05 | 32,87 ± 1,57 | 30,08 ± 1,11 |

Примечание: p₂ – достоверность отличия от показателя второй группы, p₃ – достоверность отличия от показателя третьей группы, p₄ – достоверность отличия от показателя четвёртой группы, МК – минеральный компонент, ОК – органический компонент.

Результаты исследования. В табл. 1 приведены морфометрические и структурно-весовые показатели бедренных костей крыс. Группа крыс на безжировой диете отличалась наибольшей плотностью бедренных костей, которая была достоверно выше аналогичного показателя в группе на рационе вивария (p < 0,01), что может быть связано с более сбалансированным составом безжировой диеты по основным компонентам по сравнению с обычной диетой вивария. Плотность бедренных костей в группе с введением преднизолона на фоне БЖД была достоверно ниже, чем в группе 2 и практически не отличалась от показателя у крыс на диете вивария (табл. 2). Так, преднизолон снизил плотность бедренных костей, при этом добавка «Липосан-

форте» не оказала существенного влияния на их состояние.

Расчёт содержания минерального и органического компонентов показал, что более высокая плотность бедренной кости у крыс на БЖД обусловлена повышенной минерализацией костной ткани – доля минерального компонента составила 45,51 ± 0,86 % от массы кости и достоверно отличалась от показателя у крыс с введением преднизолона – 39,32 – 41,25 % (табл. 1). При этом показатели содержания органики у крыс на рационе вивария и БЖД значимо не отличались (25,27 – 26,65 %), что свидетельствует о стимуляции кальцинирования костной ткани крыс на БЖД.

Таблица 2

Морфометрические и структурно-весовые показатели дистального эпифиза бедренной кости крыс

| Показатель | Группа № 1 Интактная | Группа № 2 Безжировая диета (БЖД) | Группа № 3 БЖД + предни- золон | Группа № 4 БЖД + преднизолон + липосан |
|--|---|---|--------------------------------------|--|
| Количество животных в группе | 7 | 6 | 6 | 7 |
| Плотность влажного эпифиза, мг/мм ³ | 1,459 ± 0,019 p ₂ < 0,05 (2,55) p ₄ < 0,05 (2,48) | 1,511 ± 0,008 | 1,496 ± 0,030 | 1,535 ± 0,024 |
| Весовая доля эпифиза, %% | 18,84 ± 0,42 p ₂ < 0,05 (2,37) | 17,60 ± 0,31 p ₃ < 0,01 (3,58) | 19,36 ± 0,38 | 18,28 ± 0,79 |
| Содержание МК, % (весовая доля) | 36,10 ± 1,75 | 38,84 ± 0,59 | 35,99 ± 2,15 | 40,45 ± 1,93 |
| Содержание ОК, % (весовая доля) | 24,19 ± 0,71 p ₃ < 0,01 (3,17) | 26,15 ± 0,959 p ₃ < 0,05 (2,50) | 30,10 ± 1,255 | 25,62 ± 1,992 |

Примечание: как в таблице 1.

Введение преднизолона привело к достоверному снижению содержания минерального компонента бедренной кости в среднем на 5 % (p < 0,01) и к достоверному повышению содержания органики на 4-6 % (p < 0,05) по сравнению с группой на БЖД (табл. 1). Введение Липосан-форте на фоне преднизолона не вызвало достоверных изменений показателей состояния костной ткани, тем не менее наблюдалась тенденция к повышению содержания минерального компонента (на 1 %) и снижению содержания органики (на 2,8 %) (табл. 1).

Плотность дистального эпифиза бедренной кости была достоверно выше у крыс на БЖД по сравнению с крысами на рационе вивария (p < 0,05). Преднизолон снизил плотность эпифиза до

уровня показателя 1-ой группы. Применение Липосан-форте способствовало увеличению плотности эпифиза до величины, превышающей показатели в других группах и достоверно отличающейся от показателя у крыс на диете вивария (p < 0,05) (табл. 2).

Введение преднизолона привело к достоверному повышению содержания органического компонента в дистальном эпифизе на 4-6 % (p < 0,05-0,001) по сравнению с показателями у крыс 1-ой и 2-ой групп. Изменения содержания минерального компонента в опытных группах было статистически незначимым, но наблюдалась тенденция к снижению уровня органики и повышению уровня минерального компонента при применении Липосан-форте (табл. 2).

Таблица 3

Морфометрические и структурно-весовые показатели поясничных позвонков крыс

| Показатель | Группа № 1 Интактная | Группа № 2 Безжировая диета (БЖД) | Группа № 3 БЖД + предни- золон | Группа № 4 БЖД + преднизолон + липосан |
|---|---|---|--------------------------------------|--|
| Количество животных в группе | 7 | 6 | 6 | 7 |
| Плотность влажных позвонков, мг/мм ³ | 1,425 ± 0,010 p ₂ < 0,001 (4,96) p ₃ < 0,05 (2,928) p ₄ < 0,01 (3,48) | 1,505 ± 0,013 p ₃ < 0,05 (2,40) | 1,466 ± 0,010 | 1,499 ± 0,019 |
| Содержание МК, % (весовая доля) | 31,87 ± 0,705 p ₂ < 0,001 (6,13) p ₄ < 0,001 (2,56) | 37,55 ± 0,600 p ₃ < 0,01 (3,49) | 32,65 ± 1,267 | 35,23 ± 1,108 |
| Содержание ОК, % (весовая доля) | 28,68 ± 0,576 p ₃ < 0,05 (2,89) p ₄ < 0,05 (2,79) | 28,24 ± 0,724 p ₃ < 0,05 (3,04) p ₄ < 0,05 (2,96) | 33,74 ± 1,654 | 32,64 ± 1,294 |

Примечание: как в таблице 1.

Таблица 4

Влияние препарата «Липосан-форте» на показатели минерального обмена альвеолярной кости крыс

| Показатель | Группа № 1 Интактная | Группа № 2 Безжировая диета (БЖД) | Группа № 3 БЖД + предни- золон | Группа № 4 БЖД + преднизо- лон + липосан |
|---|---|---|---------------------------------------|---|
| Количество животных в группе | 7 | 6 | 6 | 7 |
| Содержание кальция, ммоль/г | 3,19 ± 0,19 p ₃ < 0,05 | 2,93 ± 0,20 | 2,71 ± 0,14 | 3,04 ± 0,20 |
| Активность эластазы, мккат/кг | 11,51 ± 0,92 p ₂ < 0,002 p ₃ < 0,01 | 15,67 ± 0,78 p ₄ < 0,01 | 15,08 ± 0,83 p ₄ < 0,02 | 11,91 ± 0,93 |
| Активность кислой фосфатазы, мккат/кг | 6,67±0,42) p ₃ < 0,002 | 6,39±0,36 p ₃ < 0,001 | 9,65±0,51 p ₄ < 0,001 | 6,67±0,48 |
| Активность щелочной фосфатазы, мккат/кг | 147,34±12,43 p ₃ < 0,02 | 150,29±8,31 p ₃ < 0,01 | 104,61±9,86 p ₄ < 0,05 | 137,63±11,12 |

Примечание: как в таблице 1.

Плотность поясничных позвонков была наименьшей в 1-ой группе ($p < 0,05-0,001$). Наибольшая плотность позвонков была отмечена у крыс 2-ой группы. Применение преднизолона вызвало достоверное снижение плотности позвонков ($p < 0,05$). Добавка «Липосан-форте» к корму способствовала сохранению величины плотности на уровне показателя в группе на БЖД (табл. 3). Наибольшая плотность позвонков сочеталась с наибольшим содержанием минерального компонента – $37,55 \pm 0,60$ %.

Преднизолон достоверно увеличил уровень органического компонента в позвонках на 4-5 % относительно показателей у крыс 1-ой и 2-ой групп и снизил содержание минерального компонента на 5 % относительно показателя у крыс на БЖД (табл. 3). Добавка «Липосан-форте» повысила уровень минерального компонента, приблизив его к показателю у крыс 2-ой группы.

Плотность костей крыс 1-ой группы была ниже, чем у крыс 2-ой группы за счёт пониженной минерализации костей при сходном содержании органики у крыс этих групп.

Исследование биохимических показателей в тканях нижних челюстей показало достоверное повышение активности эластазы у крыс на БЖД ($p < 0,002$) в сочетании с тенденцией к снижению содержания кальция, что рассматривается нами как формирование костной ткани со сниженной плотностью в результате питания мягким кормом БЖД в отличие от состояния бедренных костей с постоянной физической нагрузкой и, соответственно, с более высокой плотностью. Введение преднизолона достоверно снизило содержание кальция на 15 %, активность щелочной фосфатазы – на 29 %, повысило активность эла-

стазы на 31,1 % и кислой фосфатазы – на 44,7 %, что свидетельствует о задержке процессов минерализации и активации резорбции (табл. 4).

Введение «Липосан-форте» на фоне преднизолона способствовало достоверному снижению активности эластазы и кислой фосфатазы и повышению активности щелочной фосфатазы в сочетании с увеличением содержания кальция до уровня показателей интактной группы (табл. 4).

Обсуждение результатов исследования. Полученные результаты свидетельствуют о том, что введение преднизолона привело к уменьшению плотности всех исследуемых костей за счёт снижения уровня минерального компонента. Несмотря на то, что не все эти изменения имеют приемлемый уровень статистической достоверности, данная тенденция является общей. Снижение содержания минерального компонента сопровождалось достоверным ростом уровня органического компонента во всех костях. Можно предположить, что преднизолон преимущественно стимулирует резорбцию высокоминерализованной костной ткани и снижает интенсивность кальцинирования костной ткани, и не влияет на синтез органического матрикса. Эти изменения способствовали повышению содержания слабоминерализованной ткани, что в результате привело к снижению плотности костей. Изменения показателей состояния бедренных костей и позвонков хорошо дополняются биохимическими показателями альвеолярной кости, свидетельствующими об угнетении минерализации костной ткани при вводе преднизолона и активизации этого процесса при применении «Липосан-форте».

Отмечена общая для всех костей тенденция к

увеличению минерализации и снижению уровня органического компонента под влиянием «Липосан-форте», что позволяет сделать вывод об остеопротекторных свойствах препарата на фоне преднизолона. Наиболее выраженное действие «Липосан-форте» выявлено в дистальном эпифизе и поясничных позвонках.

Позитивные изменения показателей состояния костей при применении «Липосан-форте» на фоне преднизолона можно объяснить присутствием в препарате витамина D₂, а также с наличием входящих в состав триглицеридов ω-3 полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК): α-линоленовая (αЛЛК), эйкозапентаеновая (ЭПК) и докозагексаеновая (ДГК), содержание которых близко к уровню ω-6 ПНЖК – линолевой (ЛК) и арахидоновой (АК). Соотношение ω-6/ω-3 ПНЖК в «Липосан-форте» – 1,15.

Согласно современным данным, одной из причин влияния ω-3 ПНЖК является увеличение активности Ca²⁺-АТФазы, отвечающей за интенсивность транспорта кальция, в базолатеральных мембранах энтероцитов [17, 18]. Применение жиров с увеличением ω-3 ПНЖК изменяет жирнокислотный состав фосфолипидов и холестеридов цитоплазматических мембран, увеличивая долю ω-3 ЭПК и ДГК, что отражается на физико-химических свойствах мембран: текучести, полярности, микроструктуре. Изменение свойств мембран влияет на функциональность мембранно-связанных ферментов [19], в частности, Ca²⁺-АТФазы, которая ассоциирована с липидной областью мембран [20]. На животных показано, что активность Ca²⁺-АТФазы энтероцитов возрастает в присутствии ω-3 ПНЖК с преобладанием ДГК [21].

Позитивное влияние ω-3 ПНЖК связывают также с увеличением уровня 1,25-(ОН)₂-D в крови, усиливающего реабсорбцию кальция в почках и его абсорбцию в кишечнике [1]. Повышение уровня 1,25-(ОН)₂-D в присутствии ω-3 ПНЖК объясняют активизацией фермента 1α-гидролазы, участвующего в синтезе активной формы витамина D [22].

Таким образом, работы других авторов подтверждают, что ω-3 ПНЖК способствует поддержанию гомеостаза ионов Ca²⁺ крови, и, соответственно, снижению уровня ПТГ, что в конечном итоге снижает продукцию цитокинов, активирующих остеокластогенез, и замедляет резорбцию костной ткани при воздействии ГК.

Важно дополнить, что жирные кислоты являются регуляторами синтеза и резорбции костной ткани по следующей причине. Две основные эссенциальные кислоты, поступающие из растительных масел в организм человека (ω-6 ЛК и ω-3 αЛК) являются материалом для синтеза широ-

кого спектра эйкоза- и докозаноидов, влияющих на функциональную активность клеток, в том числе костной ткани. В частности, из них синтезируются простагландины и лейкотриены (провоспалительные медиаторы), влияющие на клетки костной системы прямо или опосредованно через синтез провоспалительных цитокинов (IL-1, -6 и TNF-α), активирующих остеокластогенез [23]. При этом выраженность провоспалительных свойств эйкозаноидов и их количественный синтез из ω-6 ПНЖК выше, чем из ω-3 ПНЖК [23, 24]. Так, PGE₂, синтезируемый из АК, и PGE₃ – из ЭПК – стимулируют продукцию RANKL остеобластами и подавляют синтез ими OPG, но при этом активность PGE₃ значительно ниже [23]. Одновременно с этим PGE₂ активирует и процессы, стимулирующие остеокластогенез: Wnt-путь, ядерный связывающий фактор α-1 (cbfa-1), синтез инсулиноподобного фактора роста IGF-1. При этом результирующее действие PGE₂ зависит от его дозы: в малых дозах – стимулирует остеобласты, в больших – остеокластогенез [23]. Вероятно, этим можно объяснить увеличение содержания органического компонента в данном исследовании на фоне применения преднизолона: из-за отсутствия жира в корме синтез PGE₂ мог быть ограничен до количеств, недостаточных для активации остеокластов, но обеспечивающих поддержание функционирования остеобластов.

Из ω-3 ПНЖК клетками костного мозга синтезируются резолвины – вещества противовоспалительного действия: из ЭПК – резолвины серии E, из ДГК – резолвины серии D [25]. Установлено, что резолвины вступают во взаимодействие по крайней мере с двумя типами рецепторов: Btl1 нейтрофилов и остеокластов, и chemR23 моноцитов макрофагов, дендритных клеток, нейтрофилов, T-лимфоцитов, клеток стромы костного мозга и остеобластов [26]. Через взаимодействие с этими рецепторами резолвины оказывают влияние на функционирование этих клеток. In vitro установлено, что резолвины оказывают прямое влияние на остеокласты: снижают количество первичных остеокластов и уменьшают размеры дифференцированных остеокластов на фоне стимуляции медиаторами остеокластогенеза, например, макрофагальным стимулирующим фактором M-CSF и RANKL [27]. Через взаимодействие с рецепторами Btl1 остеокластов резолвины нарушают способность ядерного фактора NFATc1 прикрепляться к промотору гена белка DC-STAMP, являющегося эссенциальным для дифференцировки и активации остеокластов [26].

Следовательно, соотношение ω-6/ω-3 ПНЖК в пище может определять соотношение эйкоза –

и докозаноидов, тем самым влияя на интенсивность синтеза и резорбции в костной ткани. Снижение потери костной массы и минеральной плотности костей в результате применения жиров с ω -3 ПНЖК на фоне моделирования остеопороза выявлено во многих исследованиях на лабораторных животных. Отмечено, что применение рыбьего жира с ЭПК и ДГК более эффективно по сравнению с растительными маслами [1]

Таким образом, установленный в нашем исследовании положительный эффект Липосан-форте на состояние костей крыс можно объяснить следующими сведениями литературы:

1) усилением абсорбции кальция в кишечнике и реабсорбции его в почках за счёт поступления витамина D₂;

2) повышением активности ферментов Ca²⁺-АТФазы и 1 α -гидролазы, способствующих усилению абсорбции кальция и росту содержания активной формы D в крови, за счёт увеличения содержания ω -3 ПНЖК в мембранах энтероцитов;

3) снижением интенсивности остеокластогенеза за счёт снижения поступления ω -6 ПНЖК;

4) усилением синтеза резолвинов, ингибирующих функции остеокластов, за счёт поступления значительных количеств ЭПК и ДКГ.

Полученные результаты позволяют рассматривать «Липосан-форте» как остеопротекторный препарат при длительном введении глюкокортикоидов.

Выводы. 1. Введение преднизолона крысам вызвало снижение плотности бедренных костей и позвонков за счёт снижения содержания минерального компонента и повышения содержания органического компонента.

2. Преднизолон преимущественно стимулировал резорбцию высокоминерализованной костной ткани и угнетал процесс кальцинирования новообразованной костной ткани.

3. Применение препарата ПНЖК «Липосан-форте» на фоне введения преднизолона способствовало нормализации показателей состояния костей крыс.

Список литературы

1. Protective effect of dietary oils containing omega-3 fatty acids against glucocorticoid-induced osteoporosis / A.S. Elbahnasawy, E.R. Valeeva, E.M. El-Sayed [et al.] // J. Nutr. Health. – 2019. – V.52(4). – P. 323–331.
2. Resolution of vitamin D insufficiency in osteopenic patients results in rapid recovery of bone mineral density / J.S. Adams, V. Kantorovich, C. Wu [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1999. – V. 84. – P. 2729–2730.
3. Buxton E.C. Changes in serum receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand, osteoprotegerin, and interleukin-6 levels in patients with glucocorticoid-induced osteoporosis treated with human parathyroid hormone / E.C. Buxton, W.

Yao, N.E. Lane // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2004. – 89. – P. 1–34.

4. Wang T. Pro-inflammatory cytokines: cellular and molecular drug targets for glucocorticoid-induced osteoporosis via osteocyte / T. Wang, X.Yu, C. He // Curr. Drug. Targets. – 2019. – 20(1). – P. 1–15.

5. Поворознюк В.В. Регуляция эстрогенами ремоделирования костной ткани / В.В. Поворознюк, Н.А. Резниченко, Э.А. Майлян // Эндокринология. – 2014. – № 1(5). – С.14–18.

6. Влияние гормонального статуса на развитие остеопороза и переломов костей у мужчин (Обзор литературы) / О.Б. Ершова, О.С. Сеницина, К.Ю. Белова [и др.] // Мед. совет. – 2013. – № 3. – С. 72–75.

7. Glucocorticoid-induced osteoporosis / L.H. Gregório, P.G.S. Lacativa, A.C.C. Melazzi [et al.] // Arg. Bras. Endocrinol. Metab. – 2006. – V. 50. – № 4. – P.793–801.

8. Поворознюк В.В. Внескелетные эффекты витамина D / В.В. Поворознюк, Н.А. Резниченко, Э.А. Майлян // Біль. Суглоби. Хребет. – 2014. – № 1–2(13–14). – С. 19–25.

9. Feeding soy protein isolate and oils rich in omega-3 polyunsaturated fatty acids affected mineral balance, but not bone in a rat model of autosomal recessive polycystic kidney disease / K.H. Maditz, B.J. Smith, M. Miller [et al.] // BMC Nephrol. – 2015. – 16(1). – P.13.

10. Omega-3 fatty acids modulate ATPase involved in duodenal Ca absorption / M. Haag, O.N. Magada, N. Claassen [et al.] // Prostaglandins Leukoc. Essent. Fatty Acids. – 2003. – 68. – P. 423–429.

11. Патент на корисну модель № 142656 «Спосіб моделювання авітамінозу F» / А.П. Левицький, І.В. Ходаков, В.М. Батіг та ін. // № заявки у 2019 10877. Бюл. № 12 від 25.06.2020.

12. Липосан-форте (витамин F, препарат ω -3 ПНЖК) / [Левицький А.П., Ходаков І.В., Лапинская А.П. и др.] – Одесса: ФЛП Таценко С.Ю., 2020. – 16 с.

13. Ходаков І.В. Спосіб визначення щільності кісток лабораторних тварин / І.В. Ходаков // Досягнення біології та медицини. – 2004. – № 2(4). – С. 38-41.

14. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза. Методические рекомендации / [Левицький А.П., Макаренко О.А., Деньга О.В. и др.] – Киев: Издательский дом «Авицена», 2005. – С. 16–20.

15. Левицький А.П. Методы определения активности эластазы и ее ингибиторов: методические рекомендации / А.П. Левицький, А.В. Стефанов. – К.: ГФЦ, 2002. – 15 с.

16. Горячковский А.М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике [3-е изд.] / А.М. Горячковский – Одесса: Экология, 2005. – 616 с.

17. Kruger M.C. Calcium metabolism, osteoporosis and essential fatty acids: a review / M.C. Kruger, D.F. Horrobin // Progress in lipid research. – 1997. – 36(2-3). – P. 131–151.

18. Leonard F. Modulation of intestinal vitamin D receptor availability and calcium ATPase activities by essential fatty acids / F. Leonard, M. Haag, M. Kruger // Prostaglandins, Leucotriens and Essential Fatty Acids. – 2001. – 64(3). – P.147–150.

19. Valentine R. Omega-3 fatty acids in cellular membranes: a unified concept / R. Valentine, D. Valentine // Prog. Lipid Res. – 2004. – 43. – P. 383–402.

20. The plasma membrane Ca²⁺-ATPase isoform 4 is localized in lipid rafts of cerebellum synaptic plasma membranes / M.R. Sepulveda, M.B. Berrocal-Carrillo, M. Gasset et al. // J. Biol. Chem. – 2006. – 281. – P.447–453.

21. A systematic review of omega-3 fatty acids and osteoporosis / T.S. Orchard, X. Pan, F. Cheek et al. // British J. of Nutrition. – 2012. – 107. – P. S253–S260.

22. The effect of omega-3 fatty acid on vitamin D activation in hemodialysis patients: a pilot study / S.M. Lee, Y.K. Son,

S.E. Kim [et al.] // *Mar. Drugs.* – 2015. – 13(2). – P. 741–755.

23. **Poulsen R.C.** Long-chain polyunsaturated fatty acids and the regulation of bone metabolism / R.C. Poulsen, P.J. Moughan, C. Kruger // *Exp. Biol. Med.*(Maywood). – 2007. – 232. – P. 1275–1288.

24. Роль полиненасыщенных жирных кислот в протекании сердечно-сосудистых заболеваний у детей, страдающих ожирением / Ю.Г. Самойлова, О.А. Олейник, Е.В. Саган [и др.] // *Современные проблемы науки и образования.* – 2019. – № 6. – С. 114–128.

25. Identification of inflammatory and proresolving lipid mediators in bone marrow and their lipidomic profiles with ovariectomy and omega-3 intake / R.C. Poulsen, K.H. Gotlinger, C.N. Serhan et al. // *Am. J. Hematol.* – 2008. – 83(6). – P. 437–445.

26. **Gyurko R.** The role of polyunsaturated ω -3 fatty acid eicosapentaenoic acid-derived resolving E1 (RvE1) in bone preservation / R. Gyurko, T.E. van Dyke // *Immunology.* – 2014. – 34(4). – P. 347–357.

27. An endogenous regulator of inflammation, resolving E1, modulates osteoclast differentiation and bone resorption / B.S. Herrera, T. Ohira, L. Gao et al. // *Br. J. Pharmacol.* – 2008. – 155(8). – P. 1214–1223.

REFERENTS

1. **Elbahnasawy A.S., Valeeva E.R., El-Sayed E.M., Stepanova N.V.** Protective effect of dietary oils containing omega-3 fatty acids against glucocorticoid-induced osteoporosis. *J. Nutr. Health.* 2019;52(4):323-331.

2. **Adams J.S., Kantorovich V., Wu C. et al.** Resolution of vitamin D insufficiency in osteopenic patients results in rapid recovery of bone mineral density. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1999;84:2729-2730.

3. **Buxton E.C., Yao W., Lane N.E.** Changes in serum receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand, osteoprotegerin, and interleukin-6 levels in patients with glucocorticoid-induced osteoporosis treated with human parathyroid hormone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004;89:1-34.

4. **Wang T., Yu X., He C.** Pro-inflammatory cytokines: cellular and molecular drug targets for glucocorticoid-induced osteoporosis via osteocyte. *Curr. Drug. Targets.* 2019;20(1):1-15.

5. **Povoroznyuk V.V., Reznichenko N.A., Maylyan E.A.** Estrogen-associated regulation of the bone tissue remodeling. *Endokrinologia* 2014;1(5):14-18.

6. **Yershova O.B., Sinitsina O.S., Belova K.Yu., Ganert O.A., Romanova A.V.** Vliyanie gormonalnogo statusa na rozvytjie osteoporoza i perelomov kostey u muzhchin. *Med. sovet.* 2013;3:72-75.

7. **Gregório L.H., Lacativa P.G.S., Melazzi A.C.C., Russo L.A.T.** Glucocorticoid-induced osteoporosis. *Arg.Bras.Endocrinol Metab.* 2006;50;4:793-801.

8. **Поворознюк В.В., Резниченко Н.А., Майлян Э.А.** Extraskeletal effects of vitamin D. *Bil. Sugloby. Khrebet.* 2014;1-2(13-14):19-25.

9. **Maditz K.H., Smith B.J., Miller M., Oldaker C., Tou J.C.** Feeding soy protein isolate and oils rich in omega-3 polyunsaturated fatty acids affected mineral balance, but not bone in a rat model of autosomal recessive polycystic kidney disease. *BMC Nephrol.* 2015;16(1):13.

10. **Haag M., Magada O.N., Claassen N., et al.** Omega-3 fatty acids modulate ATPase involved in duodenal Ca absorption. *Prostaglandins Leukoc. Essent. Fatty Acids.* 2003;68:423-429.

11. **Levytskyy A.P., Khodakov I.V., Batig V.M., Lapinska A.P., Dvulit I.P., Markov A.V., Selivanska I.A.** Patent na korysnu model № 142656 «Sposib modeluvannya avitaminozu F» – № zayavky u 2019 10877. *Bul. 12 vid 25.06.2020.*

12. **Levytskyy A.P., Khodakov I.V., Lapinska A.P., Markov A.V., Pustovoit I.P., Selivanska I.A., Batig V.M., Levytskyy Yu.A.** *Liposan-forte (vitamin F, preparation ω -3 PUFAs).* – *Odessa: FLP Tatsenko S.Yu.*, 2020:16.

13. **Khodakov I.V.** The method of determination of bone density of laboratory animals. *Achievement of biology and medicine* 2004;2(4):38-41.

14. **Levytskyy A.P., Makarenko O.S., Denga O.V., Sukmanskyy O.I., Podorozhnaya R.P., Rossakhanova L.N., Khodakov I.V., Zelenina Yu.V.** *Eksperimentalnye metody issledovaniya stimulatorov osteogeneza.* *Met.rec.– Kuiv: «Avitsena»* 2005:16–20.

15. **Levytskyy A.P., Stefanov A.A.** *Metody opredeleniya aktivnosti elastazy i yeye ingibitorov: Met.rec.– Kyiv: GFTS* 2002:15.

16. **Goryachkovckiy A.M.** *Klinicheskaya biochimia v laboratornoy diagnostike [3th ed.]* *Odessa: Ekologia;* 2005:616.

17. **Kruger M.C., Horrobin D.F.** Calcium metabolism, osteoporosis and essential fatty acids: a review. *Progress in lipid research* 1997; 36(2-3):131-151.

18. **Leonard F., Haag M., Kruger M.** Modulation of intestinal vitamin D receptor availability and calcium ATPase activities by essential fatty acids. *Prostaglandins, Leucotriens and Essential Fatty Acids* 2001;64(3):147-150.

19. **Valentine R., Valentine D.** Omega-3 fatty acids in cellular membranes: a unified concept. *Prog. Lipid Res.* 2004;43:383-402.

20. **Sepulveda M.R., Berrocal-Carrillo M.B., Gasset M., Mata A.M.** The plasma membrane Ca^{2+} -ATPase isoform 4 is localized in lipid rafts of cerebellum synaptic plasma membranes. *J. Biol. Chem.* 2006;281:447- 453.

21. **Orchard T.S., Pan X., Cheek F., Ing S.W., Jackson D.** A systematic review of omega-3 fatty acids and osteoporosis. *British J. of Nutrition* 2012;107:253-260.

22. **Lee S.M., Son Y.K., Kim S.E., An W.S.** The effect of omega-3 fatty acid on vitamin D activation in hemodialysis patients: a pilot study. *Mar. Drugs* 2015;13(2):741-755.

23. **Poulsen R.C., Moughan P.J., Kruger C.** Long-chain polyunsaturated fatty acids and the regulation of bone metabolism. *Exp. Biol. Med.*(Maywood) 2007;232:1275-1288.

24. **Samoylova Yu.G., Oleynik O.A., Sagan E.V., Denisov N.S., Filipova T.A., Podchinenova D.V.** *Rol polinenasytchennukh zhyrnykh kislotyv protokaniiserdechno-sosudistykh zabolovaniy u detey, stradayutichikh ozhyreniyem. Sovremennyye problem nauki i obrazovaniya* 2019;6:114-128.

25. **Poulsen R.C., Gotlinger K.H., Serhan C.N., Kruger M.C.** Identification of inflammatory and proresolving lipid mediators in bone marrow and their lipidomic profiles with ovariectomy and omega-3 intake. *Am. J. Hematol.* 2008;83(6):437-445.

26. **Gyurko R., van Dyke T.E.** The role of polyunsaturated ω -3 fatty acid eicosapentaenoic acid-derived resolving E1 (RvE1) in bone preservation. *Immunology* 2014;34(4):347-357.

27. **Herrera B.S., Ohira T., Gao L., Otori K., Yang R., Zhu M., Muscara M.N., Serhan C.N., Van Dyke T.E., Gyurko R.** An endogenous regulator of inflammation, resolving E1, modulates osteoclast differentiation and bone resorption. *Br. J. Pharmacol.* 2008;155(8):1214-1223.

Поступила 09.11.2020

