



УДК 616.71-007.234.001.57

### ОСТЕОПОРОЗ И ЭКОЛОГИЧЕСКИ ВРЕДНЫЕ ФАКТОРЫ

*О.П.Тимошенко, Ф.С.Леонтьева, Г.В.Иванов*

Харьковский НИИ ортопедии и  
травматологии им. проф. М.И.Ситенко

В современном понимании проблемы остеопороз является не только рентгенологическим, клиническим, гистоморфологическим, но и биохимическим понятием. Поэтому изучение биохимических маркеров при остеопорозе является весьма актуальным, так как это позволяет не только диагностировать потерю массы костной ткани, но и оценить ее интенсивность [1]. Для развития остеопороза необходимы как усиленная резорбция костной ткани, так и нарушение ее образования. Появляется все больше доказательств, что не только максимальная плотность, но и метаболическая активность костей скелета генетически детерминированы [2]. Получены данные о том, что специфические гены могут определять массу костной ткани и обмен в ней. Однако при таком многофакторном заболевании, как остеопороз, большую роль играют эндогенные и средовые воздействия [3].

Среди факторов, определяющих развитие остеопороза, основополагающими являются пол и возраст. Значительное место принадлежит физической активности индивидуума. Так, неподвижность, иммобилизация ведут к быстрой потере костной массы, обусловленной как ускоренной ее резорбцией, так и замедленным костеобразованием [4, 5, 6, 7]. Среди множества причин ("мешок" причин [8]), приводящих к остеопорозу, существенное место занимают экологические: техногенная нагрузка, нейрорегенные и другие стрессы, нарушения локомоторного режима, особенности климата, загрязнение биосферы токсическими химическими веществами, отходами промышленности и сельского хозяйства и другие факторы, отрицательно влияющие на состояние организма [9, 10].

В числе прочих разработок по проблеме остеопороза особое место занимают экспериментальные исследования. Еще в 1969 г. S.E.Larsson [11] изучал остеопороз у взрослых крыс

при пролонгированном дефиците кальция и удалении яичников в сочетании с применением кортикостероидов. В дальнейшем остеопороз у лабораторных животных моделировали путем иммобилизации одной из конечностей или удаления части мускулатуры и нервных стволов, а также ампутации конечности ниже коленного сустава и заключения животных в тесные клетки. Результаты этих опытов были различными в зависимости от жесткости условий опыта. Но существенных различий в биохимическом составе костной ткани при этих воздействиях исследователи не наблюдали. Удаление щитовидных и паращитовидных желез у крыс приводило к развитию выраженных остеопоротических нарушений в скелете [12]. R.Z.Cruess, K.Kan и C.A.L.Bassett [13] получали в эксперименте остеопороз через 14 дней в результате сочетанного действия нескольких факторов – удаления группы мышц и ахиллового сухожилия и некрэктомии, после чего животные помещались в тесные клетки. В связи с этим воздействием в костной ткани увеличилось содержание гексозамина на фоне неизмененного уровня оксипролина, возрастала активность коллагеназы, в сыворотке крови снижались уровни кальция и фосфора. Отмечалось повышение включения радиоактивной метки (пролина, глюкозы) и снижение включения кальция. Полученные данные свидетельствуют от отсутствия существенных нарушений биосинтеза коллагена и протеогликанов, но резорбция кости увеличивалась.

Следовательно, моделирование остеопороза является достаточно сложной задачей, поскольку однозначные результаты не были получены. Аналогичная ситуация имеет место и в клинике – приводятся примеры, в которых у пациентов отмечаются активные и неактивные формы болезни, характеризующиеся качественно и количественно различными типами обмен-

на. Отмечаются также различия по локализации процесса – трабекулярный, кортикальный остеопороз и смешанная форма [14]. Большая площадь метаболически активной трабекулярной кости в телах позвонков делают позвоночник особенно чувствительным к действию факторов, вызывающих остеопороз [15, 17]. В трабекулярной кости при постменопаузальном остеопорозе было обнаружено меньше остеокластов, чем в кортикальной кости [16]. Авторы поддерживают концепцию высокого уровня обменных процессов в костной ткани при остеопорозе у женщин.

В связи с изложенным большое значение приобретают биохимические маркеры остеопороза. Если денситометрия костной ткани находится в стадии совершенствования, то применение новых биохимических маркеров для оценки состояния кости только началось [16]. Ю.Франке и Г.Рунге [14] подразделяют биохимические методы исследования для диагностики остеопороза на следующие:

- обычные (определение в сыворотке крови кальция, фосфора, креатинина, активности щелочной фосфатазы, печеночных ферментов; в моче – кальция, фосфатов, оксипролина),

- дополнительные (определение содержания в крови гормонов (КТ, ПТГ), активности кислой фосфатазы, проведение стеральной пункции для исключения плазмцитомы);

- высокоспециализированные методы (определение содержания витамина D, циклического аденозинмонофосфата, остеокальцина, проколлагеновых пептидов и  $\alpha_2$ -HS-гликопротеинов, проведение тестов с кортизолом, определение баланса простого и радиоактивного кальция).

Наиболее употребляемыми и информативными тестами при диагностике заболеваний скелета в практической медицине авторы считают уровень кальция и фосфора в сыворотке крови, а также активности щелочной фосфатазы и содержание кальция и оксипролина в моче. При первичном остеопорозе, по мнению авторов, они находятся в пределах значений нормы, а в ряде случаев имеет место снижение экскреции оксипролина.

При вторичном остеопорозе наиболее информативно определение кальция в сыворотке крови и уровня экскреции кальция и оксипролина. Эти же тесты используются для оценки эффективности лечения последствий длительной иммобилизации [19]. Авторы продемонстрировали существенное увеличение уровня биохимических маркеров костной резорб-

ции (оксипролин и кальций в моче) и отсутствие изменений уровня маркеров формирования кости (активность общей щелочной фосфатазы в сыворотке крови). В материалах симпозиума по проблеме “Остеопороз” в Токио в 1993 г. определен перечень биохимических маркеров обмена веществ при остеопорозе. Обмен может быть высоким, умеренным и низким, что свидетельствует о биохимической гетерогенности этого заболевания. Кроме уже упомянутых показателей, в перечень включен костный изофермент щелочной фосфатазы, фракции гидроксипролина, поперечно связанные пиридины (пиридинолин и диоксипиридинолин мочи) и гидроксизин. По измерению уровня остеокальцина в сыворотке крови, гидроксипролина в моче и поперечно связанных пиридинов, можно предсказать скорость снижения костной массы более чем на два года, что играет большую роль в выявлении пациентов с риском остеопороза. Подобные скрининговые исследования необходимы для осуществления профилактических и лечебных мероприятий. По мнению M.Quesada Gomes, P.Espero и N.Jose [20], определение в сыворотке крови активности щелочной и кислой фосфатаз и в моче – уровня гидроксипролина и кальция относительно креатинина позволяет получить данные, идентичные результатам костной денситометрии, что дает основание авторам высказать свое мнение о возможности замены последней биохимическими исследованиями для оценки остеопороза.

Наиболее обширный комплекс диагностических биохимических тестов представлен в справочнике “Остеопороз” [21]. Авторы рекомендуют при обследовании больных остеопорозом для оценки соматического статуса и уточнения этиологии заболевания (стр. 20-21) определять, кроме уже упомянутых, следующие параметры: активность трансаминаз (АЛТ и АСТ), холестерин,  $\gamma$ -липопротеиды, гликопротеиды, протеинограмму, фракционный состав гликозаминогликанов (ГАГ), экскрецию уроновых кислот и карбазолорциновый коэффициент. По данным ХНИИОТ им. проф. М.И. Ситенко, при остеопорозе на ранних стадиях повышается уровень уроновых кислот в моче и содержание хондроитинсульфатов в сыворотке крови. Авторы приводят таблицу, содержащую сведения о метаболических нарушениях при некоторых видах остеопороза, которые подтверждают высокую информативность показателей, характеризующих обмен протеогликанов соединительной ткани.

В литературе аналогичных данных в связи с

остеопорозом мы не нашли. Вместе с тем при некоторых его вариантах, в частности, иммобилизационном, имеет место выраженная потеря ГАГ [6]. Известно, что накопление кальция в областях, подвергающихся минерализации, связано с одновременным накоплением хондроитинсульфатов, активно фиксирующих экстрацеллюлярные катионы кальция. Высокополимерные гликаны в соединительной ткани способны непосредственно модифицировать физические характеристики коллагеновых волокон и влиять таким образом на механические свойства ткани. Поскольку общим компонентом всех гликозаминогликанов, за исключением кератосульфата, являются гексуроновые кислоты, то именно их целесообразно включить в число биохимических маркеров остеопороза.

Ранее нами [22, 7] было проведено моделирование дистрофии и остеопороза в костной ткани тел позвонков и бедренных костей белых крыс путем содержания их в тесных клетках, ограничивающих двигательную активность (модель гипокинезии) в течение 3 месяцев. Гистологические изменения подтвердились изменениями концентрации метаболитов в сыворотке крови, моче и в костной ткани животных.

К концу опыта в костной ткани бедренной кости и тел позвонков снижалось содержание коллагена и наблюдалось повышение содержания протеогликанов.

Оценивая исследуемый процесс по уровню метаболитов в сыворотке крови и моче, мы наблюдали увеличение концентрации сиаловых кислот и хондроитинсульфатов в сыворотке крови в сравнении с нормой, изменение фракционного состава ГАГ в сыворотке крови, особенно хондроитин-6-сульфатов, увеличение уровня лактата и пирувата, рост уровня  $\beta$ -липопротеидов и холестерина. Увеличивалась экскреция с мочой оксипролина, уроновых кислот и кальция. Следовательно, данные биохимические маркеры, в том числе метаболиты протеогликанов, объективно отражают развитие патологических изменений в костной ткани.

В проблеме остеопороза есть недостаточно изученные звенья, а именно: мало знаний о влиянии на ткани скелета экологически вредных факторов химической природы (солей тяжелых металлов, оксидов и др.); требует расширения комплекс показателей, которые характеризуют обмен протеогликанов; не выяснены патогенетические особенности реакции костной ткани разного вида (компактной и губчатой) на действие патогенных факторов, приводящих к развитию остеопоротичных изменений; неясно,

можно ли моделировать остеопороз на экспериментальных животных с использованием химических веществ и другие вопросы.

**Целью данной работы** было изучение метаболических процессов в костной ткани белых крыс под влиянием раствора сулемы.

Были сформулированы следующие задачи:

1) Моделирование хронической ртутной интоксикации на белых крысах путем введения сулемы в течение 30 сут.

2) Изучение состояния компонентов экстрацеллюлярного матрикса компактной и губчатой костной ткани экспериментальных животных под действием сулемы в течение 30 сут.

3) Изучение изменений микроэлементного спектра (содержания свинца, ванадия и цинка) в костной ткани экспериментальных животных под действием сулемы в течение 30 сут.

4) Оценка реакции организма белых крыс, в частности соединительной ткани, на действие сулемы при помощи комплекса биохимических показателей.

5) Анализ результатов действия ртутной интоксикации на состояние компактной и губчатой костной ткани самцов белых крыс линии Вистар 6-месячного возраста.

### **Материалы и методы исследования.**

Эксперимент выполнен на 64 белых крысах (самцы, возраст 6 месяцев), которым на протяжении 30 сут. вводили в желудок при помощи специального металлического зонда, соединенного со шприцом, раствор сулемы (концентрированный хлорид ртути на дистиллированной воде, 0,3 мг на 100 г живой массы). Животных выводили из эксперимента декапитацией на фоне гексеналового наркоза на 6-е, 12-е и 30-е сутки. Объектами исследования были тазобедренные кости и тела позвонков, а также сыворотка крови. Костную ткань (компактную и губчатую) обрабатывали с помощью метода приведенного в монографии Л.И.-Слуцкого [23]. В ней определяли содержание экстрацеллюлярного матрикса:

– оксипролина (ОП) как показателя количества коллагена;

– тирозина (ТиР) как показателя содержания неколлагеновых белков;

– гексозаминов (ГА) как показателя содержания гликопротеинов;

– гексуроновых кислот (ГУ), как показателя содержания гликозаминогликанов (ГАГ).

При обработке результатов исследования

пользовались коэффициентами, которые отображали содержание ОП, ГА и ГУ относительно содержания ТиР [22], и ГА - к ОП, значение которого является “показателем старения соединительной ткани” [24].

В сухой костной ткани методом спектрального эмиссионного анализа определяли содержание микроэлементов — свинца, ванадия и цинка как чувствительных показателей метаболизма этой ткани, особенно процесса минерализации [25]. В сыворотке крови определяли содержание холестерина, б-липопротеидов, гликопротеидов, общих хондроитинсульфатов, активности трансаминаз (АЛТ и АСТ), щелочной фосфатазы по унифицированным методам [26].

Статистическую обработку данных проводили согласно критериям Стьюдента и точного метода Фишера [27].

### Собственные исследования

Ниже приводим результаты исследований компонентов экстрацеллюлярного матрикса в компактной (тазобедренной) и губчатой (тела позвонков) костной ткани белых крыс при хронической ртутной интоксикации (табл. 1).

По данным таблицы видно, что введение раствор сулемы в желудок крысам приводило к существенным количественным изменениям изучаемых показателей.

Следует отметить разницу в характере “ответа” на действие хлорида ртути компактной и губчатой костной ткани. Первая реагировала на действие химического агента снижением содержания оксипролина уже на 6-е сутки эксперимента. Потом (12-е и 30-е сутки) содержание оксипролина постепенно возрастало. Изменения уровня углеводбелковых соединений в костной ткани выражались в асинхронных колебаниях содержания гексозаминов и уроновых кислот на фоне неизменного уровня тирозина. Это свидетельствует о патологической направленности метаболических реакций в соединительной ткани в форме перераспределения разных компонентов ГАГ. Более наглядно это видно по коэффициенту ОП/ГА, рост которого определяет “биохимический возраст” соединительной ткани, при патологических изменениях которой коэффициент увеличивается.

В губчатой ткани под действием сулемы не происходит существенное изменение уровня оксипролина, но изменяется содержание углеводного компонента матрикса — возрастает уровень ГАГ.

Коэффициент, который обозначает отношение содержания всех исследуемых показателей к содержанию тирозина как постоянной величине, представлен в табл. 2.

Анализируя данные, можно заметить, что направленность изменений коэффициентов, которые характеризуют состояние компактной и губчатой костной ткани отличается в разных сериях. Уровень оксипролина, являющегося показателем обмена колагена, в обоих объектах уменьшается (ОП/ТиР), однако в компактной костной ткани эти изменения более выражены, чем в губчатой. Коэффициент ГА/ТиР в обеих тканях в одинаковой степени уменьшается на 6-е сутки при “ответе” соединительной ткани на введение сулемы. Через 12 суток его значение возрастает, но больше в компактной кости. Повторное “падение” значения коэффициента ГА/ТиР на 30-е сутки исследований в 2 раза ниже в компактной костной ткани. Коэффициент ГУ/ТиР снижается лишь на 6-е сутки эксперимента в костной ткани как бедренной кости, так и тел позвонков крыс. В последних это снижение более выражено. Однако на 12-е и 30-е сутки опыта в обоих видах костной ткани относительное количество гексуриновых кислот повышается, особенно в компактной ткани (на 52 %) в сравнении с контрольной серией. Одинаковая направленность изменений показателей выявлена во время анализа коэффициента (ОП+ГА+ГУ)/ТиР.

На 6-е сутки изменения значения этого показателя одинаковы в обоих видах костной ткани в процессе введения животным раствора сулемы (27 и 24 %, соответственно); через 12 и 30 сут. исследований более значительные изменения происходят в губчатой ткани тел позвонков. Наконец, проанализировано “поведение” обоих видов костной ткани, представленное как интегральный показатель в виде суммы всех исследуемых ингредиентов экстрацеллюлярного матрикса — ОП+ГА+ГУ+ТиР. Данные свидетельствуют, что органическая часть матрикса компактной кости уменьшается в условиях ртутной интоксикации в большей степени на 6-е сутки наблюдения, а губчатой — на 12 сутки. Далее уровень органических соединений в компактной и губчатой костной тканях возрастает, хотя и не достигает значений контрольной серии.

Приведенные данные свидетельствуют о чувствительности костной ткани к сулеме, особенно на ранних стадиях интоксикации. Это проявляется в снижении уровня коллагеновых структур и увеличении уровня протеогликанов. Возможно, этим объясняется диссоциация меж-

**Таблица 1** – Содержание компонентов экстрацеллюлярного матрикса костной ткани белых крыс-самцов 6-месячного возраста при введении раствора сулемы на протяжении 30 сут. (г/100 г сухой ткани).

Показатель	Серия 1				Серия 2			
	Контроль	6 суток	12 суток	30 суток	Контроль	6 суток	12 суток	30 суток
N-количество животных	10	19	16	19	10	19	16	19
Объект исследования	Компактная кость				Губчатая кость			
Оксипролин	1,44±0,07	0,99±0,04*	1,16±0,06*	1,28±0,07	1,35±0,08	1,21±0,06	1,42±0,07	1,34±0,06
Гексозамин	0,27±0,03	0,19±0,01*	0,30±0,03	0,22±0,02	0,27±0,03	0,24±0,02	0,36±0,02*	0,30±0,03
Гексуроновая кислота	0,08±0,01	0,06±0,01	0,15±0,01*	0,15±0,01*	0,12±0,01	0,09±0,01	0,16±0,01*	0,19±0,01*
Тирозин	0,32±0,02	0,30±0,01	0,31±0,01	0,31±0,02	0,35±0,04	0,40±0,02	0,45±0,02	0,42±0,02
Отношение оксипролин/гексозамин	4,8	5,2	3,8	5,8	5,0	5,0	3,9	4,5

\* - разница между сериями “контроль – опыт” - достоверна (p<0,05)

**Таблица 2** – Относительные величины компонентов экстрацеллюлярного матрикса костной ткани белых крыс при введении раствора сулемы

Показатель	Компактная кость				Губчатая кость			
	Контроль	6 суток	12 суток	30 суток	Контроль	6 суток	12 суток	30 суток
N-количество животных	10	19	16	19	10	19	16	19
Оксипролин/ТиР	4,5	3,3/↓27%	3,7/↓18%	4,1/↓9%	3,9	3,0/↓23%	3,1/↓21%	3,2/↓18%
Гексозамин/ТиР	0,84	0,63/↓25%	0,97/↑15%	0,71/↓16%	0,77	0,60/↓22%	0,80/↑4%	0,71/↓8%
Гексуроновая кислота/ТиР	0,25	0,20/↓20%	0,48/↑52%	0,48/↑52%	0,34	0,22/↓35%	0,35/↑3%	0,45/↑32%
(ОП+ГА+ГУ)/ТиР	5,6	4,1/↓27%	5,2/↓7%	5,3/↓6%	4,9	3,8/↓24%	4,3/↓12%	4,3/↓12%
ОП+ГА+ГУ+ТиР г/100г сухой массы	2,1	1,54/↓27%	1,99/↓6%	1,96/↓7%	2,09	1,94/↓8%	2,39/↑14%	2,25/↑7%

**Таблица 3** – Содержание микроэлементов в костной ткани белых крыс при введении раствора сулемы

Показатель	Компактная кость				Губчатая кость			
	Контроль	6 суток	12 суток	30 суток	Контроль	6 суток	12 суток	30 суток
N-количество животных	9	16	13	17	9	17	15	16
Цинк	276±19,8	217±16,5*	201±11,5*	246±12,7	225±8,33	168±7,25*	176±9,66*	201±9,85
Ванадий	21,9±0,76	18,9±0,39*	19,3±0,41*	18,9±0,30*	20,1±0,34	17,4±0,16*	19,3±0,44	19,4±0,35
Свинец	7,8±0,35	5,5±0,18*	6,7±0,15*	7,2±0,23*	5,3±0,21	5,7±0,12	5,3±0,15	6,0±0,17

\* - разница между сериями “контроль-опыт” - достоверна (p<0,05)

ду уровнем содержания гексозаминов и генсуроновых кислот в костной ткани в условиях опыта. Такие биохимические изменения характерны для некоторых вариантов остеопороза.

Для проверки нашего предположения о том, что ртутная интоксикация может способствовать возникновению остеопении и остеопороза в эксперименте, кроме исследований органической фазы компактной и губчатой кости, был изучен их микроэлементный спектр. В табл. 3 приведены данные о содержании трех в исследуемых тканях элементов – цинка, ванадия и свинца.

По данным табл. 3 видно, что при ртутной

интоксикации изменяется уровень содержания исследуемых микроэлементов, из которых ванадий и особенно свинец являются остеотропными. Известно, что свинец – маркер содержания кальция, так как он откладывается в зонах кальцификации, сопровождая кальций.

Анализ результатов исследования демонстрирует снижение уровня цинка в обоих видах костной ткани, что свидетельствует об уменьшении интенсивности функционирования ферментных систем, в деятельности которых принимает участие цинк. На 6-12-е сутки наблюдения показатели снижались соответственно на 21 и 22 % в компактной и губчатой костной ткани.

Незначительное уменьшение уровня ванадия имело место на протяжении всего исследования в компактной костной ткани и на 6-е сутки – в губчатой. Содержание свинца заметно снижалось в компактной кости бедра крыс также на протяжении всего эксперимента (с 6-х по 30-е сут.), хотя в конце исследования уровень этого микроэлемента сравним со значением контрольной группы и коррелирует с ростом содержания гексурановых кислот. Изменений уровня свинца в губчатой ткани тел позвонков не зарегистрировано, однако их направленность совпадает с изменениями содержания ГУК.

Таким образом, интоксикация сулемой влияет на органический и микроэлементный компоненты костной ткани, хотя реакция последнего зависит от ее разновидности – большие отклонения показателей выявлены в компактной костной ткани. Очевидно, состояние костной ткани на фоне интоксикации сулемой характеризуется значительной биохимической гетерогенностью в зависимости от вида исследуемой ткани.

Для опровержения или подтверждения этих предположений исследовано содержание некоторых метаболитов в сыворотке крови исследуемых животных. Данные этого анализа приведены в табл. 4.

Из данных таблицы можно сделать вывод, что введение животным раствора сулемы в концентрации 0,3 мг/100 г живой массы ежедневно в течение 30 суток вызывает существенные изменения гомеостаза. Оно способствует повышению уровня 11-оксикортикостероидов (11-ОКС) в плазме крови, особенно на 6-й день опыта, и совпадает со значениями показателей органической и микроэлементной фаз костной ткани именно в этот период. Через

30 суток также регистрируется ответ организма на действие химического стрессора – сулемы, о чем свидетельствует резкое снижение концентрации 11-ОКС. Снижение глюкокортикоидной активности сопровождается увеличением показателей системы ПОЛ -  $\beta$ -липопротеидов, которые содержат фракцию липопротеидов низкой и очень низкой плотности (на 12-30-е сутки наблюдений). Уровень холестерина становится более высоким только в конце эксперимента. Одновременно имеет место снижение уровня гликопротеидов, что свидетельствует о сниженной реактивности соединительной ткани вследствие интоксикации на 12-30-е сутки исследования.

В то же время возрастает уровень хондроитинсульфатов, что является показателем как деструкции соединительной ткани, так и высокого уровня интоксикации (на 6-е сутки – на 109 %, на 12-е – на 152 %, на 30-е – на 243 %). Это коррелирует с повышением активности обеих трансаминаз на 6-30-е сутки опыта. Тот факт, что рост активности АСТ опережает рост активности АЛТ, может свидетельствовать о нарушениях в тканях сердечной мышцы.

Через 30 суток наблюдается заметное снижение активности щелочной фосфатазы, что расценивается нами как снижение функции остеобластов и совпадает со снижением уровня оксипролина и некоторых микроэлементов.

Все эти данные в комплексе свидетельствуют о том, что введение сулемы вызывает в костной ткани изменения метаболических реакций, которые приводят к уменьшению уровня оксипролина, активности щелочной фосфатазы, остеотропных микроэлементов – маркеров минерализации и, возможно, появлению атипичных форм ГАГ.

**Таблица 4** – Содержание биохимических показателей в сыворотке крови белых крыс в период введения раствора сулемы

Показатель		Контроль	6 суток	12 суток	30 суток
N-количество животных		9	19	16	17
11-ОКС мкг %		16,59±3,14	47,84±5,86*	22,02±1,65*	9,08±1,54*
$\beta$ -липопротеиды (ед)		5,93±0,18	5,55±0,45	8,95±0,42*	7,91±0,31*
Холестерол ммоль/л		1,75±0,06	1,88±0,11	1,70±0,12	2,45±0,11*
Гликопротеиды (ед)		0,77±0,08	0,61±0,03	0,31±0,03*	0,29±0,02*
Хондроитинсульфаты г/л		0,186±0,01	0,390±0,036*	0,469±0,052*	0,639±0,029*
Активность	АЛТ мкат/л	0,65±0,02	0,73±0,05	1,15±0,11*	1,44±0,08*
	АСТ мкат/л	1,40±0,05	2,03±0,10*	2,72±0,11*	2,96±0,11*
	Щелочная фосфатаза (ед. Бод)	41,4±1,6	44,0±3,9	42,5±2,1	31,5±1,5*

\*-разница между сериями “контроль-опыт” – достоверна ( $p < 0,05$ )

Изложенное выше позволяет расценивать выявленные изменения как проявления остеопении и, возможно, остеопороза. Отмечена различная реакция на действие сулемы губчатой и компактной костной ткани.

### **Обсуждение полученных результатов**

Когда решается вопрос о существовании какой-либо связи между возникновением остеопороза и экологическими факторами, то в первую очередь имеются в виду химические. Массивные дозы ксенобиотиков, которые поступают в биосферу вследствие химических катастроф, связанных с промышленным и сельскохозяйственным производством, влияют на генетический аппарат и иммунную систему организмов и вызывают разнообразные заболевания. Сложная экологическая обстановка негативно влияет на степень демографических процессов и здоровье населения Украины. Во внешней среде происходит накопление промышленных токсинов, в том числе тяжелых металлов (свинца, ртути, кадмия и др.).

Ртуть и ее соединения относятся к сильным биоцидам общетоксического действия, вызывающим у людей при попадании с питьевой водой в количестве 75-300 мг в сутки летальный исход. Наиболее токсической считается двухлористая ртуть (сулема). Она нефротоксична, что приводит к быстро развивающейся почечной недостаточности, парезам, параличам, нарушениям зрения и слуха. Высокие концентрации ртути вызывают торможение процессов окислительного фосфорилирования, ингибирования синтеза структурных и ферментных белков. Доказано, что ртуть неодинаково накапливается в разных органах.

По данным Л.О.Тарасенко [28], более всего соединений ртути накапливают почки, головной мозг, далее идут легкие, печень; значительно меньше ртути накапливается в тканях сердца и селезенке. По данным автора, в рамках допустимых концентраций ртуть содержится только в костной ткани.

Мы считали целесообразным проверить токсичность соединений ртути как экологически вредного элемента для костной ткани, в которой ртуть накапливается меньше, чем в других системах организма. Мы допускаем, что введение высокотоксичных соединений ртути, может привести к развитию остеопеничного состояния костной ткани.

Как продемонстрировали наши исследования, введение в желудок белым крысам (самцам, 6-ти месячного возраста) раствора суле-

мы (в концентрации 0,3 мг/100г живой массы) ежедневно на протяжении 30 суток приводило к существенным изменениям костной ткани. Количественные изменения выявились в компактной ткани, однако общая направленность была одинаковой – снижение остеобластической активности, рост деструктивных процессов, уменьшение интенсивности минерализации и содержания оксипролина, перераспределение гликанов на фоне выраженной реакции на целого организма – изменения уровня 11-ОКС, липопротеидов, активности трансаминаз.

Эти данные согласуются с данными других авторов. У людей (женщин) с сенильным остеопорозом отмечены разные уровни метаболической активности в трабекулярной костной ткани в сравнении с компактной [15]. Об усилении обменных процессов в кортикальной кости у женщин при остеопорозе сообщает P.D.Delmas [16]. Авторы обнаружили в сыворотке крови таких пациентов повышенное содержание костного морфогенетического белка и активности щелочной фосфатазы. Это дало им основание считать, что у таких пациентов имеет место повышенный обмен в костной ткани. Авторы также считают, что костная масса в разных участках скелета может меняться дифференцированно в зависимости от направленности обмена веществ в костной ткани. Они связывают это с большим количеством остеокластов в кортикальной кости, где обмен более интенсивен. Наши данные также подтвердили разницу уровней исследуемых показателей в костной ткани в зависимости от ее вида. Большие изменения были выявлены в компактной костной ткани.

Мы также использовали показатели обмена ГАГ как биохимических маркеров остеопороза. В литературе есть упоминания, что обмен протеогликанов активно реагирует на действие факторов, приводящих к развитию остеопоротических изменений [29]. По данным автора, в его исследованиях в соединительной ткани при гипокинезии не наблюдалось параллелизма изменений содержания гексоаминов и гексуриновых кислот, что говорит о нарушении баланса кислых и нейтральных ГАГ. Аналогичные данные имеют место и в нашей работе. Авторы также наблюдали повышение ГУК в разных видах соединительной ткани при гипокинезии, которая способствует развитию остеопороза [30]. По данным R.L.Guess [13], при экспериментальном остеопорозе в результате дисфункции конечности не было выявлено

но изменений ни одного из компонентов костной ткани животных, за исключением изменений уровня содержания протеогликанов, что также подтверждает мнение о большой диагностической значимости определения метаболитов этой системы. Наши данные показали, что такой подход вполне оправдан, так как изменения этих показателей в сыворотке крови объективно отражают состояние костной ткани при интоксикации соединениями ртути.

## ВЫВОДЫ

1. Введение сулемы белым крысам позволяет моделировать состояния системной остеопении и остеопороза.

2. Реакция компактной и губчатой костной ткани на пероральное введение сулемы в дозе 0,3 мг/100 г живой массы ежедневно в течение 30 суток однотипна, но выявлены количественные различия, свидетельствующие о разной интенсивности обменных реакций. Более высокая степень обмена при введении сулемы присуща компактной костной ткани.

3. Специфические изменения в костной ткани при хроническом отравлении сулемой:

**в костной ткани:** снижение уровня оксипролина, снижение уровня гексуроновых кислот,

снижение общей массы органической фазы костной ткани, асинхронные изменения содержания кислых и нейтральных гликанов, снижение содержания цинка, ванадия и свинца;

**в сыворотке крови:** повышение уровня 11-ОКС, сменяющееся падением ниже нормы, увеличение концентрации холестерина и  $\beta$ -липопротеидов, снижение уровня гликопротеидов на фоне резкого увеличения хондроитинсульфатов, увеличение активности АСТ и снижение активности щелочной фосфатазы по мере удлинения времени введения раствора сулемы.

4. Определение показателей, характеризующих обмен протеогликанов, отражает уровень обменных процессов в организме в целом и в костной ткани, в частности, при введении в него раствора сулемы, и их целесообразно включить в комплекс диагностических лабораторных критериев оценки состояния костной ткани для выявления остеопении и остеопороза (гликопротеиды, хондроитинсульфаты, фракции ГАГ сыворотки крови).

5. Соли ртути — являются экологически патогенными факторами, способными привести к развитию остеопенических состояний системного остеопороза, которые можно диагностировать с помощью предложенного комплекса лабораторных показателей.

## Литература

1. Беневоленская Л.И., Михайлов Е.Е. Социальные аспекты остеопороза // Медицинская визуализация, июль-сентябрь, 1996.

2. Tokita A., Kelly P.J., Nguyen T.V., Risteli L., Qi J.C., Morrison N.A. et al. Genetic influences on type I collagen synthesis and degradation: further evidence for genetic regulation of bone turnover // J. Clin. Endocrinol. Metab., 1994; 78, - P. 1461-1466.

3. Raisz L.G. The osteoporosis revolution // Ann. Intern. Med. - 1997. - Vol.126. - P.458-462.

4. Воложин А.И., Ступаков Г.П., Павлова М.Н., Мурадов И.Ш. Состояние минерального компонента костной ткани крыс при гипокинезии и в восстановительном периоде // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 1979. - Вып. 2. - С. 30-33.

5. Потапов П.П. Состояние соединительной ткани крыс при длительной гипокинезии и в восстановительном периоде // Космическая биология и авиакосмическая медицина. - 1982. - №3. - С. 73-76.

6. Amiel D., Akeson W.H., Frederick I., Harwood B.Sc., Frank C.B. Stress deprivation effect on metabolic turnover of the Medical Collateral Ligament Collagen // Clinical Orthop. and Relat. Res. - 1983. - №172. - P.265-270.

7. Тимошенко О.П. Стресс как этиопатогенетический фактор структурно-метаболических повреждений костной и хрящевой тканей // Дисс. ... докт. биол. наук. - М., 1990. - 489 с.

8. Jowsey J. Osteoporosis — Some thoughts by a non-physician // Austral. — Family Physician. — 1976. — Part 1. - №5. — P.1321-1322, Part 2. - 1327-1328.

9. Губский Ю.И., Долго-Сабуров В.Б., Храпак В.В. Химические катастрофы и экология. — Київ: Здоров'я, 1993. — 224 с.

10. Бур'янов О.А. Патогенетична роль екологічних факторів різної природи у виникненні остеопорозу // Тез. докл. І Укр. науково-практичної конф. "Остеопороз: епідеміологія, клініка, діагностика, лікування та профілактика." — Київ, 1995. — С.12-13.

11. Larsson S.E. On the development of osteoporosis. Experimental studies in the adult rat. Thesis // Acta Orthop. Scand. Suppl. — 1969. — P.120.

12. Sevastik J.A., Lindgren J.U. Osteoporosis. Experimental and Clinical Studies // Clin. Orthop. and Relat. Res. — 1984. - №191. — P.35-42.

13. Cruess R.L., Kan K., Bassett C.A.L. The effect of pulsing electromagnetic fields on bone metabolism in experimental disuse osteoporosis // Clin. Orthop. and Relat. Res. — 1983. - №173. — P. 245-250.

14. Франке Ю., Рунге Г. Остеопороз. — М.: Медицина, 1995. — 304 с.

15. Kaplan Ph.A., Orton D.F., Asleson R.J. Osteoporosis with Vertebral Compression Fractures, Retropulsed Fragments and Neurologic Compromise // Radiology. — 1987. — Vol. 165. — №2. — P.533-535.

16. Delmas P.D., Wahner H.W., Mann K.G., Riggs B.L., Assessment of bone turnover in postmenopausal

osteoporosis by measurment of serum bone Gla-protein // J. Lab. Clin. Med. – 1983. – Vol. 102. - №4. – P.470-476.

17. Jonston C.C., Siu L.Hui, Longcope Ch. Bone Mass and Sex Steroid Concentration in Postmenopausal Caucasian Diabetics // Metabolism. – 1985. – Vol. 34. - №6. – P.544-550.

18. Delmas P.D. Biochemical markers of bone turnover // J. Bone Miner. Res. – 1993. – Suppl. 2. - №8. – P.549-555.

19. Tsakalagos N., Magiasis B., Tsekoura M., Lyritis G. The effect of short-term calcitonin administration on biochemical bone markers in patients with acute immobilization following hip fracture // Osteoporosis international. – 1993. - №3. – P.337-340.

20. Quesada Gomes M., Espero P., Jose N. Densitometria of bone mass and biomechanical parametes in diagnostic of osteoporosis // In Thesis of 8-th European Students Conference of the Charite for Students and Young Doctors. – 1997. – Abstract book Charite. – В.56. – S.40.

21. Остеопороз // Диагностика и консервативное лечение заболеваний и повреждений опорно-двигательной системы: Справочник. – Харьков: Основа, 1995. – Кн.1. – 52 с.

22. Леонтьева Ф.С. Особенности обмена углеводосодержащих соединений и коллагеновых белков при

дистрофически-дегенеративном процессе в тканях позвоночника: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. / Харьков, 1984. – 24 с.

23. Слуцкий Л.И. Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани. – Л.: Медицина, 1969. – 375 с.

24. Саноцкий И.В., Фоменко В.Н. Отдаленные последствия влияния химических соединений на организм. – М.: Медицина, 1979. – 232 с.

25. Белоус А.М., Скоблин А.П. Методика спектрального определения микроэлементов в костной ткани // Лабораторное дело. – 1963. - №9. – С.28-30.

26. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск: Беларусь, 1982. - 366 с.

27. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. – Минск: Высшейш школа, 1973. – 320 с.

28. Тарасенко Л.О. Біогенна міграція сполук ртуті у системі ґрунт-вода-корма-організм телят: Автореф. дис... канд. біол. наук / Харків, 1998. – 16 с.

29. Потапов П.П. Мукополисахариды и коллаген тканей при гипокинезии у крыс // Космическая биология и авиакосмич. медицина. – 1977. – С. 44-48.

30. Прохончуков А.А., Десятниченко К.С., Тигранян Р.А., Комиссарова Н.А. Состояние минеральной фазы и белкового матрикса костной ткани после полёта на биоспутнике “Космос”-1129 //Космическая биология и авиакосмическая медицина. – 1982. - № 2. – С. 61-64.