

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ДВНЗ «ІВАНО-ФРАНКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ»

На правах рукопису

ХОПТА НАДІЯ СТЕПАНІВНА

УДК 546.48:546.173:577.12:591.84

ВПЛИВ СОЛЕЙ КАДМІЮ ТА НІТРИТІВ
НА МЕТАБОЛІЗМ У КІСТКОВІЙ ТКАНИНІ

03.00.04 – біохімія

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук

Науковий керівник
Ерстенюк Ганна Михайлівна,
доктор біологічних наук, професор

Івано-Франківськ – 2015

ЗМІСТ

	Стор.
ВСТУП	6
РОЗДІЛ 1. БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ ВПЛИВУ СПОЛУК КАДМІЮ ТА НІТРИТІВ НА МЕТАБОЛІЗМ У КІСТКОВІЙ ТКАНИНІ (Огляд літератури)	13
1.1. Вплив сполук кадмію та нітритів на метаболічні процеси в організмі	13
1.2. Особливості метаболізму у кістковій тканині.....	23
1.3. Вплив сполук кадмію на кісткову тканину.....	31
1.4. Метаболічні процеси в кістковій тканині за умов впливу нітритів	33
1.5. Вплив екстрактів артишоку на метаболічні процеси в організмі.....	36
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	40
2.1. Модель інтоксикації	40
2.2. Біохімічні дослідження показників фосфорно-кальцієвого обміну та маркерів кісткового метаболізму у плазмі крові	44
2.3. Визначення макро- та мікроелементного складу стегнових кісток атомно-абсорбційним методом.....	50
2.4. Гістологічні дослідження структури кісткової тканини та денситометричне визначення мінеральної щільності стегнових кісток експериментальних тварин.....	51
2.5. Кількісний аналіз результатів дослідження із статистичною обробкою даних	53
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	55
3.1. Роздільний і комбінований вплив кадмію хлориду та натрію нітриту на метаболічні процеси в кістковій тканині.....	55
3.1.1. Вплив кадмію хлориду на метаболічні процеси в кістковій тканині	55

3.1.2.	Вплив натрію нітриту на метаболічні процеси в кістковій тканині	59
3.1.3.	Комбінований вплив досліджуваних токсикантів на метаболічні процеси в кістковій тканині	63
3.2.	Макро- і мікроелементний склад, мінеральна щільність кісткової тканини за умов роздільної та комбінованої дії досліджуваних токсикантів	67
3.2.1.	Вміст макро- і мікроелементів у стегнових кістках та їх мінеральна щільність за умов кадмієвої інтоксикації.....	67
3.2.2.	Вміст макро- і мікроелементів у стегнових кістках та їх мінеральна щільність за умов нітритної інтоксикації.....	69
3.2.3.	Вплив комбінованої дії досліджуваних токсикантів на вміст макро- і мікроелементів у стегнових кістках та їх мінеральну щільність	72
3.3	Особливості структури кісткової тканини за умов окремого та комбінованого впливу досліджуваних токсикантів	74
3.3.1.	Гістологічне дослідження стегнових кісток за умов впливу кадмію хлориду	74
3.3.2.	Гістологічне дослідження стегнових кісток за умов впливу натрію нітриту	78
3.3.3.	Вплив комбінованої дії досліджуваних токсикантів на структуру кісткової тканини	84
3.4.	Корекція екстрактом артишоку порушень у кістковій тканині за умов кадмієво-нітритної інтоксикації	92
3.4.1.	Вплив екстракту артишоку на метаболічні процеси в кістковій тканині дослідних тварин за умов дії кадмію хлориду та натрію нітриту	93
3.4.2.	Корегуючий вплив екстракту артишоку на біоелементний склад мінерального матриксу стегнових кісток уражених тварин	99

3.4.3. Мінеральна щільність стегнових кісток тварин дослідних груп за умов застосування екстракту артишоку.....	105
3.4.4. Зміни структури кісткової тканини під впливом екстракту артишоку на тлі інтоксикації кадмію хлоридом та натрію нітритом	108
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ	131
ВИСНОВКИ.....	149
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	152
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	153
ДОДАТКИ	185

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АФК	–	активні форми кисню;
АОЗ	–	антиоксидантний захист;
БАР	–	біологічно активні речовини;
ВМ	–	важкі метали;
ГП	–	гідроксипролін;
ЕА	–	екстракт артишоку;
ЕПР	–	ендоплазматичний ретикулум;
КТ	–	кісткова тканина;
КФ	–	кисла фосфатаза;
ЛФ	–	лужна фосфатаза;
МТ	–	металотіонеїни;
МЩКТ	–	мінеральна щільність кісткової тканини;
ОБ	–	остеобласти;
ОК	–	остеокласти;
ОП	–	остеопороз;
ОЦ	–	остеоцити;
ПОЛ	–	пероксидне окиснення ліпідів;
ПТГ	–	паратгормон.

ВСТУП

Актуальність теми. Метаболічні процеси в кістковій тканині (КТ), ступінь її мінералізації, збалансованість процесів де- і ремінералізації великою мірою визначаються вмістом життєво необхідних макро- та мікроелементів [1, 2]. Деякі автори [3–6] вказує на порушення структури кісток скелету під впливом факторів зовнішнього та внутрішнього середовища. Зважаючи на зростаюче техногенне і антропогенне забруднення довкілля, сьогодні актуальним є вивчення окремої й комбінованої дії на КТ найпоширеніших поллютантів, до яких належать солі важких металів (ВМ), зокрема, Кадмію (Cd), а також нітрати та нітрити [7–11].

Механізм токсичного впливу Кадмію пов'язаний з його здатністю активувати процеси пероксидації ліпідів та білків за одночасного зниження активності системи антиоксидантного захисту, порушувати цілісність мембран, пригнічувати активність ензимів, блокуючи –SH групи [12–14]. Як відомо, токсичність нітритів значно вища, ніж нітратів. Нітрити згідно з літературними даними [15, 16] сприяють оксидації гемоглобіну до метгемоглобіну, зумовлюючи розвиток гемічної гіпоксії. Нітрит-йони є джерелом високореакційного нітроген (II) оксиду – NO та його похідних, які впливають на параметри вільнорадикального гомеостазу [17]. Відомо, що головними мішенями токсичної дії нітритів виступають кров і печінка, вони чинять негативний вплив на енергетичний обмін та окисно-відновні процеси в організмі, активізують ПОЛ (Гоженко А. І., 2014), сприяють розвитку токсичного гепатозу (Фіра Л. С., 2013). Нітрити, як стверджують Должкова К. П., Романюк А. М. [18–20], впливають на процеси репаративної регенерації кісток. Стосовно комбінованої дії сполук Cd та нітритів, у наукових джерелах [21–23] показано їх вплив на показники білкового обміну та стан захисних систем організму.

Однак, незважаючи на різноманітність наукових публікацій, присвячених дослідженню впливу солей Кадмію та нітритів на організм людини і тварин, не з'ясованими залишаються біохімічні механізми роздільного та комбінованого

впливу цих токсикантів на обмінні процеси та структуру КТ. Це стало підставою для обрання теми цього дослідження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація виконана відповідно до плану наукових досліджень державного вищого навчального закладу (ДВНЗ) «Івано-Франківський національний медичний університет» МОЗ України і є фрагментом міжкафедральних науково-дослідних робіт «Вивчення стану стоматологічного здоров'я населення західного регіону України та розробка пропозицій щодо його збереження і покращення», № держ. реєстрації 0107U004631 (2301050 – прикладні дослідження та розробки) і «Розробка методів діагностики, лікування та профілактики стоматологічних захворювань у населення, що проживає в екологічно несприятливих умовах», № держ. реєстрації 0111U003681 (КПКВК 2301020), що мають державне фінансування.

У межах цієї тематики автор дослідила роздільний та комбінований вплив кадмію хлориду (CdCl_2) та натрію нітриту (NaNO_2) на метаболічні процеси, біоелементний склад і структуру КТ тварин та доцільність застосування екстракту артишоку (ЕА) з метою корекції порушень, спричинених впливом досліджуваних токсикантів. Тема дисертації затверджена Проблемною комісією МОЗ і АМН України «Біологічна та медична хімія» (протокол № 9/08 від 27 червня 2008 р).

Мета і завдання дослідження. Мета роботи полягала у з'ясуванні особливостей метаболічних процесів, біоелементного складу та структури КТ тварин за умов роздільної та комбінованої дії кадмію хлориду і натрію нітриту, обґрунтуванні на цій основі засобів корекції виявлених порушень.

Для досягнення поставленої мети в роботі визначено такі основні завдання:

1. Вивчити вплив кадмію хлориду, натрію нітриту та їх комбінованої дії на метаболічні процеси в КТ тварин.
2. Дослідити дію солей CdCl_2 та NaNO_2 як окремо, так і комбіновано на макро- та мікроелементний склад КТ.

3. Визначити вплив досліджуваних токсикантів на рівень кальцитоніну і паратгормону (ПТГ) в крові тварин.

4. Дослідити гістологічну структуру та мінеральну щільність кісткової тканини (МЩКТ) за умов ураження тварин CdCl_2 і NaNO_2 як окремо, так і комбіновано.

5. З'ясувати доцільність застосування екстракту артишоку з метою корекції метаболічних порушень, спричинених дією досліджуваних токсикантів.

Об'єкт дослідження – метаболічні процеси, біоелементний склад і структура КТ щурів за умов токсичного ураження йонами Cd^{2+} та NO_2^- окремо та за їх комбінації.

Предмет дослідження – біохімічні показники фосфорно-кальцієвого обміну та маркери кісткового метаболізму в плазмі крові, вміст основних макро- та мікроелементів у стегнових кістках, їх гістологічна структура та МЩКТ у щурів, уражених CdCl_2 та NaNO_2 за умов як окремого, так і комбінованого введення, а також після корекції ЕА.

Методи дослідження: комплекс біохімічних (спектрофотометрія, титриметричний та імуноферментний аналіз), біофізичних (атомно-абсорбційна спектрофотометрія), гістологічних і рентгенологічних (денситометрія) методів дослідження з подальшим статистичним і кореляційним аналізом одержаних результатів.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше проведено комплексне дослідження біохімічних і структурних змін у КТ щурів за умов комбінованої та окремої дії солей Cd і нітритів. На підставі проведених досліджень визначено, що за дії йонів Cd^{2+} та NO_2^- розвиваються дисмікроелементози, які супроводжуються порушенням органічного та мінерального матриксу КТ і підтверджуються достовірними змінами рівня гідроксипроліну (ГП), як маркера обміну колагену, рівня всіх форм Ca (загального, зв'язаного та йонізованого), Магнію, Цинку, Купруму, активності кислоти та лужної фосфатаз (КФ та ЛФ). Отримано нові дані про те, що

інтоксикація йонами Cd^{2+} та NO_2^- призводить до зниження МЩКТ, порушення рівня кальцитоніну та ПТГ. Гістологічними дослідженнями стегових кісток підтверджено метаболічні порушення, які супроводжуються дезорганізацією колагенових волокон і впорядкованого розміщення кісткових пластинок за умов дії йонів Cd^{2+} та поєднаної його дії з нітритами. Вперше для даної експериментальної моделі показано, що застосування екстракту артишоку прискорює розвиток компенсаторно-відновних процесів у КТ; це підтверджується нормалізацією маркерів кісткового метаболізму, хімічного складу мінеральної фази КТ і відновленням гістологічної структури та МЩКТ.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані результати можуть бути використані для моделювання екологічної патології КТ, спричиненої дією цих токсикантів; розширюють і поглиблюють знання про біохімічні особливості реакції-відповіді КТ на дію йонів Cd^{2+} та NO_2^- за умов окремого та комбінованого їх впливу. Завдяки виявленим закономірностям динаміки метаболічних порушень запропоновано як корекцію лікарський засіб “Артишоку екстракт – Здоров’я”, введення якого сприяє процесам нормалізації біохімічних показників, гістологічної структури та МЩКТ за окремої та комбінованої дії CdCl_2 та NaNO_2 на організм тварин.

Впровадження результатів дослідження. Основні положення дисертації впроваджені і використовуються в навчальному процесі на кафедрах біологічної та медичної хімії ім. ак. Г. Бабенка; гістології, цитології та ембріології; променевої діагностики і променевої терапії; гігієни та екології з курсом охорони праці ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»; на кафедрах медичної біохімії та фармацевтичної хімії ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського»; на кафедрі фармацевтичної хімії та фармакогнозії, а також кафедрі медичної хімії ДЗ «Луганський державний медичний університет»; кафедрі фізіології та екології рослин ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету ім. Т. Шевченка

Особистий внесок здобувача. Представлені в роботі матеріали є

особистим внеском здобувача. Самостійно проведено аналіз джерел літератури із даної проблеми, здійснено патентно-інформаційний пошук, визначено мету і завдання дослідження. Самостійно виконано експериментальне дослідження; проведено статистичну обробку отриманих цифрових даних, оформлено розділи дисертації. Аналіз отриманих результатів, формулювання висновків і практичних рекомендацій здійснено разом із науковим керівником. Наукові праці підготовлені до друку здобувачем самостійно. У працях, опублікованих у співавторстві, використано фактичний матеріал автора, узагальнення та висновки сформульовані спільно.

Апробація результатів дисертації. Основні положення та результати дисертаційної роботи доповідалися на IV Всеукраїнській науково-технічній конференції «Актуальні питання теоретичної і прикладної біофізики, фізики та хімії». (м. Севастополь, 21–26 квітня 2008); науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (м. Тернопіль, 6–7 листопада 2008); III Міжнародній конференції «Біологія: від молекули до біосфери» (м. Харків, 18–21 листопада 2008); II з'їзді російського товариства медичної елементології (м. Тверь, Росія, 24–27 листопада 2008); V та VI Міжнародних наукових конференціях «Молодь і поступ біології», (м. Львів, 12–15 травня 2009 та 21–24 вересня 2010); науково-практичних конференціях «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (м. Тернопіль, 4 червня 2009 та 17 квітня 2012); всеукраїнській науково-практичній конференції «Досягнення і перспективи експериментальної і клінічної біохімії» (м. Тернопіль, 8–9 жовтня 2009); науково-практичних конференціях з міжнародною участю «Бабенківські читання» (м. Івано-Франківськ, 29–30 жовтня 2009, 27–28 жовтня 2011, 24–25 жовтня 2013); 14- та 15-му міжнародних медичних конгресах (м. Тернопіль, 13–15 квітня 2010, 27–29 квітня 2011); всеукраїнських науково-практичних конференціях «Довкілля та здоров'я» (м. Тернопіль, 23–24 квітня 2010, 27–28 квітня 2012 та 25–26 квітня 2013); X Українському біохімічному з'їзді (м. Одеса, 13–17 вересня 2010); 80-ій ювілейній науково-практичній конференції з міжнародною

участю «Працюємо, творимо, презентуємо» (м. Івано-Франківськ, 7–8 квітня 2011); IX науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науковий потенціал молоді – прогрес медицини майбутнього» (м. Ужгород, 13–15 квітня 2011); науково-практичній конференції «Біохімічні основи патогенезу ураження внутрішніх органів різної етіології та способи їх фармакологічної корекції» (м. Тернопіль, 3–4 листопада 2011); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Остеопороз: від дитинства до старості» (м. Харків, 13–14 березня 2012); III науково-практичній конференції (м. Вінниця, 17–18 квітня 2012); «7th Lviv – Lublin conference of Experimental and Clinical Biochemistry» (Львів, 23–24 травня 2013); 8- та 9-ї міжнародній науково-практичних конференціях «Наукові дослідження – теорія та експеримент 2013», (м. Полтава, 29–31 травня та 25–27 листопада 2013); науково-практичній конференції «Природничі читання», присвяченій 70-річчю БДМУ (м. Чернівці, 16–19 травня 2014); міжнародній науково-практичній конференції «Мікроелементи в медицині, ветеринарії, харчуванні: перспективи співробітництва і розвитку» (м. Одеса, 24–26 вересня 2014); XI Українському біохімічному конгресі (м. Київ, 6–10 жовтня 2014); міжнародній науковій конференції «Механізми функціонування фізіологічних систем», що приурочена до 70-ліття біологічного факультету у Львівському університеті (м. Львів, 15–17 жовтня 2014); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (Інститут біології тварин НААН, 5–6 грудня 2014); науково-практичній конференції «Концепція сталого розвитку та її реалізація в освіті», присвяченій 75-річчю Тернопільського національного педагогічного університету ім. В. Гнатюка (м. Тернопіль, 16–18 квітня 2015); III міжнародному конгресі «Медицина транспорту – 2015» (м. Одеса, 15-17 вересня 2015).

Публікації. За результатами дисертаційної роботи опубліковано 38 наукових праць, із них 6 статей у фахових журналах, які включені до міжнародних наукометричних баз, зокрема, Index Copernicus International (3 –

самостійно, 3 – у співавторстві, з них одна – в зарубіжному журналі) 32 – в матеріалах конференцій (з них 5 – самостійно).

РОЗДІЛ 1

БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ ВПЛИВУ СПОЛУК КАДМІЮ ТА НІТРИТІВ НА
МЕТАБОЛІЗМ У КІСТКОВІЙ ТКАНИНІ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Вплив сполук Кадмію та нітритів на метаболічні процеси в організмі

Проблема впливу хімічного забруднення довкілля на здоров'я людини уже давно стала пріоритетною [5, 28-30]. Відомо, що ВООЗ виділила в окрему групу екологічно обумовлені захворювання [12, 31-34]. Рівень забруднення довкілля в Україні у 6,5 рази вищий, ніж у США, у 3,2 рази – ніж у країнах ЄЕС [7, 8, 35-37]. Чільне місце серед найпоширеніших поллютантів довкілля займають ВМ, нітрати та нітриси [6, 29, 38-41]. В Україні існують регіони з одночасним забрудненням сполуками ВМ, зокрема кадмію (Cd), а також нітратами, де їх надходження до організму перевищує гігієнічні норми в 5-10 разів [8, 29, 42].

ВМ характеризуються високою токсичністю і біохімічною активністю, що дозволяє відносити їх до екоцидних та біоцидних токсикантів, якщо їх концентрація у довкіллі перевищує ГДК. Основними патогенетичними факторами цитотоксичної дії ВМ є активація процесів ліпопероксидації з дисфункцією системи антиоксидантного захисту (АОЗ), що обумовлює наступний розвиток патологічного процесу з порушенням цілісності мембранних структур [31]. До одних з найнебезпечніших в токсикологічному відношенні ВМ відносять Cd та його сполуки [34, 43-46]. Антропогенне забруднення Cd довкілля втричі перевищує природні джерела його надходження. Широке застосування Cd у багатьох галузях, як от кольорова металургія, виробництво сплавів, металокераміки, полімерів, пігментів для скла, фарфору, гальванічних покриттів, тощо, зумовило біоконцентрацію Cd в компонентах екосистем, в тому числі в рослинних та тваринних продуктах харчування, подальше надходження елемента по трофічних ланцюгах і

включення в клітинні структури [3, 30, 48]. Для території України, як і для країн Європи, характерне забруднення Cd, пов'язане передусім з металургійною промисловістю, а також із зберіганням та переробкою побутових і промислових відходів [38, 41, 42, 48-50].

Аналіз дієт країн Європи за даними ряду авторів [12, 50–52] показав, що в організм дорослої людини з їжею та рідинами надходить від 4 до 150 мкг Cd щоденно, хоча оптимальна інтенсивність його надходження не повинна перевищувати 1–5 мкг, при пороговому значенні токсичності – 30 мкг/добу [52, 53]. Летальною для організму людини при пероральному надходженні є разова доза 30–40 мг Cd [37]. Харчові джерела надходження Cd – це морепродукти, зернові злаки, листові овочі. Сполуки Cd надходять в організм також з тютюновим димом, який містить їх значні концентрації, а 50 % металу, що потрапив до організму з цигарковим димом, абсорбується в легенях [35, 38, 53–57]. За іншими джерелами [57, 63, 64], середньодобове надходження Cd в організм людини може коливатись від 6 мкг в осіб, що проживають у сільській місцевості та не палять, до 115 мкг у курців, що проживають на забрудненій Cd території.

Висока токсичність Cd обумовлена здатністю проникати в організм і накопичуватись в ньому навіть при низьких рівнях забруднення довкілля [25, 28, 30]. Він володіє високим ступенем депонування в печінці, нирках та КТ, що зумовлює порушення їх структури та функцій: якщо накопичення його в мозку прийняти за 1, то в кістках – 15, в печінці – 500, в нирках – 1500 [37, 51]. Найважчим проявом кадміозу є ураження нирок, що проявляється в дисфункції ниркових каналців і клубочків із сповільненням каналцевої резорбції, протеїнурією, глюкозурією, наступними аміноацидурією, фосфатурією [44]. Роботи українського дослідника Стусь В. П., 2011, доводять, що проживання в інтенсивному промисловому регіоні порівняно з екологічно чистим сприяє накопиченню Cd у тканині нирок [40, 41, 64]. З віком вміст Cd збільшується, особливо у чоловіків [65].

Cd виводиться із організму переважно з сечею (до 100 мкг/добу) та калом (до 50 мкг/добу) [28, 65]. Середньодобова швидкість виведення цього елемента незначна і складає не більше 0,01% від загальної кількості Cd в організмі. Період напіввиведення із організму 13–47 років [35]. На думку авторів [25, 35, 45, 66-68], природна елімінація Cd проходить такими шляхами: а) транспорт і виведення макрофагальними клітинами; б) виведення в складі металотіонеїнів (MT); в) елімінація внаслідок антагонізму внутрішньо-клітинних мікроелементів, а також зв'язуючись з ендогенними хелаторами (амінокислоти, NO, нуклеїнові кислоти); г) виведення в йонізованій формі або у вигляді мінералів. Природними факторами, що регулюють рівень елімінації Cd є гормони, цитокіни, фактори росту. Індукторами елімінації служать хелатори (N-метил-N-дитіокарбокси-D-глюкамін, димеркапрол, унітіол) [69–71]; сорбенти (альгінати, марініл, полісорб, харчові волокна, біомелан та ін.) [72–75]; вітаміни, антиоксиданти [23, 71, 76, 77, 81]. Безумовно, існують ще невідомі фактори, що впливають на процеси елімінації Cd. Наймасовіші отруєння людей водою з високим вмістом Cd (близько 600 мкг на добу) спостерігались в Японії у 1960-х роках. Симптоми хвороби «ітаї-ітаї» виражалися остеомаляцією, остеопорозом, частими переломами на тлі ураження нирок [63–65, 78].

Cd в тканинах утворює хелатні комплекси з дуже міцними зв'язками, що пояснює повільне елімінування із організму – близько 1% введеної дози за добу з подальшим зменшенням швидкості. Різноманітні комплексони не впливають істотно на цей процес. Вони ефективні лише в перші 10–30 хв., поки Cd не займе своє місце в міцних хелатних комплексах. Двовалентний Cd володіє спорідненістю до гемоглобіну [14, 58, 79]. В досліджах *in vitro* при використанні в якості білкового препарату альбуміна яйця доведено, що Cd зв'язується з карбоксильними групами, а при зміні рН і з імідазольними групами, що призводить до збільшення логарифма константи зв'язування Cd [13, 51, 80].

Особливості біоцидних ефектів йонів Cd зумовлені їх антагонізмом з такими есенціальними макро- та мікроелементами, як кальцій (Ca), цинк (Zn),

селен (Se), купрум (Cu), ферум (Fe), що змінює їх метаболізм [28, 53, 58, 81]. Поглинання Cd всередину клітин відбувається за механізмами та шляхами, спільними для йонів Zn^{2+} , тому недостатність Zn модифікує тканинний розподіл Cd та істотно збільшує його токсичність [82, 83]. Скальний А. В. та інш., 2004, вважають, що Cd є однією із причин розвитку дисмікроелементозів в організмі [28, 53, 84, 86]. Зважаючи на конкурентні взаємовідносини Cd з двовалентними есенціальними металами, автори [37, 87, 88] відзначають порушення вмісту Ca, Zn та Cu у тканинах. Серед численних симптомів дисбалансу Ca в організмі – слабкість суглобів і зв'язок, порушення постави, крихкість кісток, дисфункція щитоподібної залози, та інші [85, 89–91].

Російські дослідники Кудрин А. В. і Громова О. А., 2007, відзначають, що обмін Cd характеризується такими основними особливостями: а) відсутністю ефективного механізму гомеостатичного контролю; б) тривалою затримкою в організмі з надзвичайно довгим періодом напіввиведення; в) переважним накопичення в нирках, печінці та кістках; г) інтенсивною взаємодією з іншими двовалентними металами (Ca, Mg, Zn, Cu) як в процесі всмоктування, так і на тканинному рівні [35, 60, 56, 88]. Токсична дія Cd пов'язується з його здатністю конкурувати з Zn^{2+} за центри зв'язування в МТ, численних транскрипційних факторах, викликати вільнорадикальне пошкодження білків та ліпідів, ДНК [68, 83, 89].

Після абсорбції біологічними поверхнями та біотранспорту через мембранні структури йони Cd^{2+} надходять у кров, де зв'язуються з еритроцитами, сироватковим альбуміном та білками – специфічними транспортерами йонів металів. Надходження в організм тварин надлишкових кількостей Cd стимулює індукований синтез специфічних лігандів – металотранспортних білків, зокрема МТ [57, 66-68, 92]. Hunk P., Faisal M. et al., 2006, вважають, що Cd у вільній формі більш токсичний, ніж у зв'язаній з МТ [93]. Однак, вітчизняні вчені Пихтеева Е. Г., Шафран Л. М., Большой Д. В., 2013, вважають комплекс метал-МТ більш токсичним (в перерахунку на метал), ніж сіль Cd^{2+} такої ж концентрації [66–68]. Комплекси Cd^{2+} –МТ руйнуються в

лізосомах, що може викликати апоптоз клітин. Однак, ці ж автори зауважують [94], що *in vitro* попередня індукція МТ знижувала токсичні ефекти Cd^{2+} . Завдяки фізико-хімічним властивостям цього металу як кислоти Льюїса (тобто акцептора електронів) він здатен до ковалентного зв'язування з -SH-групами, що визначає його як тіолову отруту з вираженими мембранотропними ефектами.

Блокування -SH-груп відновленого глутатіону та ензимів антиоксидантної дії є біохімічною основою прооксидантної дії солей Cd, що призводить при інтоксикації до функціональної недостатності антиоксидантного захисту (АОЗ) [81, 86, 95]. В результаті нагромаджуються активні форми кисню (АФК), що стимулює інтенсивність процесів пероксидного окиснення білків та ліпідів, зниження активності супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, каталази [43, 45, 96–98, 103].

Оскільки мінеральний обмін, зокрема фосфорно-кальцієвий, регулюється гормонально, важливим є те, що Cd є деструктором ендокринної системи [87, 89], впливає на функції щитоподібної залози, зменшуючи вміст тироксину в крові [104], діяльність наднирників, гіпофізу та внутрішніх органів [102, 103]. Kendrey G. R., 2002, вказує на те, що Cd негативно впливає на трансмембранну передачу гормональних сигналів у клітині [105].

Йони Cd^{2+} , як і інших двовалентних металів (Ca^{2+} , Zn^{2+}), виявляють здатність до активації мітохондріальної пори неспецифічної проникності, а, отже, викликають набрякання мітохондрій та вихід Ca^{2+} з них. Такі процеси супроводжуються значними морфо-функціональними порушеннями на рівні клітини та можуть призвести до її некротичної та/або апоптичної загибелі. Підтверджено, що зі збільшенням концентрації Cd^{2+} (1-50 мкмоль/л) зростає швидкість та скорочується латентний період Cd^{2+} -індукованого набрякання мітохондрій [99]. Cd гальмує процеси росту клітини, зупиняє клітинний цикл, що відкриває шлях до апоптозу: в низьких дозах (10^{-5} – 10^{-3} М) пригнічує мітози клітин [25, 23, 34]. Електронномікроскопічні дослідження клітин різних тканин вказують, що йони Cd^{2+} проявляють руйнівну дію стосовно до ядерних

компонентів і цитоплазматичних структур, що підтверджується дезінтеграційними і деструктивними змінами їх компонентів [39, 102, 103]. У роботах Мельникової Н. М. і співав., 2008, доведено достовірне зниження рН крові тварин за умов кадмієвої інтоксикації [106, 107].

Узагальнюючи дані літератури стосовно впливу йонів Cd^{2+} на метаболічні процеси, слід відзначити, що токсичність цього елемента, на думку багатьох вчених [14, 28, 29, 32, 68, 98, 103, 108], полягає в наступному: а) дія на специфічні рецептори до йонів Са та Mg; внутрішньоклітинні рецептори до Са на мітохондріях, ЕПР; б) вплив на активність ензимів (конкурентне інгібування або алостерична активація металоензимів); в) впливає на активність гормонів; г) вплив на МТ, які синтезуються в мононуклеарних клітинах ретикуло-ендотеліальної системи організму; д) фізико-хімічний вплив на мембрани, в тому числі і на їх напівпроникні властивості до різних біологічних субстратів, їх пошкодження через активацію ПОЛ.

Нітрати і нітрити займають чільне місце серед забруднювачів довкілля [5, 9, 109], що є наслідком інтенсифікації сільського господарства, недосконаlosti очисних споруд, порушення технології зберігання і використання азотних добрив, забруднення повітря оксидами нітрогену, тощо [7, 8]. Крім того, нітрати можуть утворюватись у ґрунті та водоймах за рахунок процесів нітрифікації N-вмісних органічних забруднень [112]. Зростання вмісту нітратів у воді, повітрі та біосистемах призводить до збільшення надходження їх в організм людини [15, 109]. Відповідно до вимог глобальної системи моніторингу стану довкілля (ГСМОС/GEMS) нітрит- і нітрат-йони входять у програми обов'язкових спостережень за складом питної води. Основна маса нітратів потрапляє до організму людини з питною водою, свіжими овочами і фруктами. Це становить, за оцінками різних авторів, 40–90% добової кількості нітратів [5, 109, 111]. Інші джерела – різноманітні консерви, молочні продукти, лікарські препарати тощо. За оцінками експертів ВООЗ у розвинених країнах людина щоденно одержує з продуктами харчування та питною водою до 400 мг нітрат-йону (NO_3^-), однак безпечною вважають дозу, що не перевищує 5 мг на

1 кг маси тіла людини (тобто 300–350 мг/добу) [107]. Як показують численні дослідження [9, 109, 115-117], нітрати швидко всмоктуються в шлунково-кишковому тракті, частина їх у незмінному вигляді виводиться з сечею протягом 6–8 годин, а інша – метаболізує до нітритів (NO_2^-) та інших сполук, в тому числі і канцерогенних N-нітрозамінів.

Токсичність нітратів відносно низька, а негативна дія їх обумовлена продуктами відновлення – нітритами, які у десятки разів отруйніші. Уже в ротовій порожнині під впливом ензимів мікрофлори іони NO_3^- перетворюються в NO_2^- . Також NO_3^- відновлюється в NO_2^- під впливом мікрофлори кишківника та тканинних ензимів. Ендогенні нітрити утворюються як стабільний продукт метаболізму монооксиду нітрогену NO [108, 117]. Крім цього, NaNO_2 та KNO_2 поступають в організм з м'ясними та рибними продуктами як харчові добавки E-250, E-251. Нітрити також використовуються як інгібітори корозії при підготовці технологічної води на підприємствах, у виробництві барвників, в текстильній промисловості [5, 9, 16, 114].

Отруйна дія нітритів проявляється на всіх структурно-функціональних рівнях: від окремих молекул до організму в цілому. Нітрити досить реакційноздатні, оскільки NO_2^- містить нітроген у проміжному ступені окиснення (+3), він може як окиснюватись до NO_3^- , так і відновлюватись до нижчих ступенів окиснення, зв'язуючись з білками (наприклад, гемоглобіном, міоглобіном), або з такими амінокислотами, як триптофан і тирозин та частково з сульфгідрильними групами цистеїну [112].

Кінцевим продуктом відновлення як нітратів, так і нітритів в організмі є нітроген (II) оксид – NO, як універсальний регулятор метаболізму. Вивченню біологічних функцій NO в організмі присвячено багато досліджень [113, 118–120]. У фізіологічних концентраціях роль NO багатогранна і надзвичайно важлива для нормального функціонування практично всіх органів і систем організму. При надлишковому вмісті NO перетворюється із цитопротекторного агента в цитотоксичний [113]. NO – маленька ліпофільна молекула, яка вільно проникає через мембрани, має короткий період напіврозпаду, володіє

неспареним електроном, отже, є вільним радикалом. Взаємодіючи з супероксид-аніоном, утворює пероксинітрит, який запускає механізм вільнорадикального окиснення, провокуючи потужний оксидативний стрес [116–120]. Утворюються активні форми кисню (АФК) – NO, NO₂[•], O₂[•], H₂O₂. Ці вільнорадикальні інтермедіати, що за умов фізіологічної норми реалізують широкий спектр своїх регуляторних властивостей на різних рівнях організації організму, при інтоксикації нітритами спричиняють розвиток дестабілізуючих процесів: активація ПОЛ та зміни параметрів вільнорадикального гомеостазу [117–120, 125]. NO, NO₂[•] у певних концентраціях можуть окиснювати –SH групи цистеїну білків. Це може призводити до утворення дисульфідних зв'язків між білками цитоплазми і мембран та деградації білкових молекул [118].

Крім цього, NO взаємодіє з білками та низькомолекулярними сполуками, які містять в активному центрі йони металів зі змінною валентністю. Внаслідок цього відбувається інактивація багатьох ензимів, насамперед Fe-вмісних, що стає причиною розвитку гемічної та тканинної гіпоксії, недостатності основних ензимів АОЗ [10, 11, 115, 116, 122]. Сам по собі нітроген монооксид не є потужним цитотоксичним агентом, проте він може підвищувати чутливість клітин до інших цитотоксичних чинників, в тому числі і ВМ та інших токсикантів. Підвищене продукування печінкою NO спостерігалось у відповідь на дію гепатотоксинів, зокрема Cd [111].

За умов введення NO₂⁻ певна його кількість сполучається з гемовмісними білками, низькомолекулярними тіолвмісними і Fe-S-сполуками та вторинними амінами, формуючи комплекси з деякими компонентами мембранних структур, що є основною причиною ураження тканин. Лабораторними експериментами та клінічними дослідженнями підтверджена потужна метгемоглобіноутворююча дія нітритів [10, 16, 112]. Під впливом нітритної інтоксикації відбувається активація ПОЛ, зниження активності системи АОЗ, зміна проникності та деформування еритроцитів. Отримані Івановою А. С. і співав., 2001, результати свідчать, що тривале надходження нітритів в організм тварин (протягом 21-ї доби) впливає на показники еритроцитарної системи. NaNO₂ – класичний

метгемоглобіноутворювач, для якого характерне окиснення Fe^{+2} гемоглобіну в Fe^{+3} із втратою здатності до зворотного зв'язку з киснем і розвитком гемічної гіпоксії різного ступеня. За умов його дії на організм розвиваються метгемоглобінемія, гемічна гіпоксія та токсичний гепатоз [115, 120].

Згідно з дослідженнями *in vitro*, NaNO_2 взаємодіє з оксигемоглобіном з утворенням активних радикалів: NO_2^- , O_2^- , HO_2^- . Названі метаболіти є активними реагентами, які мають виражену цитотоксичну дію, ініціюють процеси ПОЛ. Токсична дія NaNO_2 пов'язана з процесами радикального пошкодження білкових та клітинних структур у результаті реакцій пероксидації [121]. Основна роль в біотрансформації нітратів та нітритів, належить ензимам ЕПР. В результаті метаболізму ензимами монооксигеназної системи ці токсиканти набувають більшої полярності, що сприяє їх кон'югації та елімінації з організму [113, 114].

Комбінована дія токсикантів – фактор ризику багатьох екологічно залежних мультифакторних патологій [7, 8, 124]. Поєднання декількох отруйних речовин часто має місце як у побуті, так і на виробництві [5, 54, 117]. Одним з універсальних механізмів адаптивної відповіді організму на такий вплив є розвиток оксидативного стресу. На думку Калімана П. А., 2010, дія сполук Cd та нітритів спричинює зрушення рівноваги системи прооксиданти↔антиоксиданти у бік збільшення прооксидантів [123]. Відбувається виснаження вмісту низькомолекулярних антиоксидантів, гальмування ензимів АОЗ та підвищення вмісту АФК, які активують NO-синтазу, яка продукує високореактивний нітроген (II) оксид, що нітрозилує молекули гему. Крім цього, NO бере участь у регуляції гемоксигеназної активності та активує розчинну форму гуанілатциклази, в результаті чого підвищується вміст цГМФ. Одночасно цГМФ активує цГМФ-залежні протеїнкінази, які діють протилежно до цАМФ-залежних протеїнкіназ і регулюють активність ензимів адаптації метаболізму [123].

У доступній літературі щодо комбінованої дії CdCl_2 і NaNO_2 на метаболічні процеси у КТ експериментальних тварин присвячено небагато

робіт, однак є достатньо даних стосовно впливу згаданих токсикантів на інші тканини і метаболічні процеси в них. Зокрема, Острівка О. І. та Гонський Я. І., 2006, вивчали комбіновану дію солей CdCl_2 і NaNO_2 на показники білкового обміну в крові та печінці щурів. Автори відзначають, що за таких умов значно посилюються катаболічні процеси, про що свідчить зростання вмісту молекул середньої маси у сироватці крові. Дослідники вказують на високу активність ферментів АсАТ і АлАТ у сироватці крові, що засвідчує більше пошкодження плазматичних мембран під впливом комбінованого впливу солей CdCl_2 і NaNO_2 , ніж при їх окремій дії [21]. Також авторами встановлено суттєві порушення системи про- та АОЗ.

Головко Л. Л., 2009, досліджуючи стан захисних систем організму білих щурів-самців за умов комбінованої дії солей Cd , Pb та NaNO_2 [22], відзначає істотне зниження активності ензимів глутатіонової системи та церулоплазміну. В цьому дослідженні зафіксовано достовірне зростання еритроцитарного індексу інтоксикації та вмісту молекул середньої маси, які утворюються в процесі пошкодження білків, пептидів, нуклеотидів, а також зменшення активності монооксигеназної системи ЕПР. Кметь Т. І., 2005, стверджує, що схильність до токсичного ураження за умов комбінованої нітратно-кадмієвої інтоксикації більш виражена у старих тварин із повільним типом ацетилювання [123, 124], ніж у молодих, і проявляється підвищеною загибеллю та більш вираженим зростанням рівня вторинних продуктів ПОЛ і зниженням активності лактатдегідрогенази [98]. Комбінована дія солей NaNO_2 та CdCl_2 призводить до достовірного зниження церулоплазміну як компонента системи АОЗ [21, 22, 126].

Отже, дані наукової літератури засвідчують, що комбінований вплив на організм солей NaNO_2 та CdCl_2 поглиблює деструктивні процеси в клітинах печінки та нирок, посилює порушення АОЗ, зумовлює активацію вільнорадикальних процесів, зниження інтенсивності адаптивних реакцій.

1.2. Особливості метаболізму кісткової тканини

Кісткова тканина – особливий вид сполучної тканини, головна складова частина кістки. Вона утворює кісткові пластинки, а залежно від щільності і розміщення пластинок розрізняють компактну (в тілах трубчастих кісток) і губчасту кісткову речовину (в епіфізах трубчастих, в коротких і широких кістках) [1, 127, 128]. Клітини КТ – остеобласти (ОБ), остеоцити (ОЦ), остеокласти (ОК). ОБ – маленькі одноядерні клітини, які беруть участь в утворенні міжклітинної речовини (остеоїд, переважно складається із колагену та протеогліканів). Вони мають високий вміст РНК, відзначаються потужним апаратом білкового синтезу, володіють добре розвинутим ЕПР. В ОБ синтезується проколаген, який потім переміщується із ЕПР в комплекс Гольджі, а також глікозаміноглікани, білкові компоненти протеогліканів, ензими та інші сполуки, багато з яких потім швидко переходять у склад міжклітинної речовини. Через кілька днів органічний матрикс піддається мінералізації шляхом відкладання солей Са і фосфатів, які формують кристали гідроксиапатитів $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. ОБ походять із мезенхімних стовбурових клітин сполучної тканини кісткового мозку. Вони здатні змінювати свої функціональні і морфологічні характеристики: після того як їх оточує створений ними мінералізований кістковий матрикс, можуть перетворюватись в ОЦ або вистилаючі клітини, що розміщуються на поверхні кістки [19, 128, 129]. ОК – гігантські багатоядерні клітини, що беруть участь у процесах резорбції КТ в процесі росту і перебудови кістки. Вони здатні розчиняти мінералізований кістковий матрикс. В них слабо розвинутий ЕПР і є невелика кількість рибосом, але міститься багато лізосом і мітохондрій [128, 131, 135]. ОЦ – зрілі полігональні клітини КТ з довгими відростками, які утворюють лакуну для цієї клітини. Вони замуровані в мінеральній речовині: це слабо функціонуючі ОБ, що беруть участь в утворенні міжклітинної речовини КТ. Розміщуються в ділянках найбільшої механічної напруги кістки [128, 135, 138], вносять внесок у гомеостаз Са, здійснюючи периостеоцитарну резорбцію.

Міжклітинна речовина КТ складається з органічного матриксу (20–25%), мінеральної фази (60–70%) та води (15–20%). Органічний матрикс КТ становить 3/4 її об'єму і на 90% складається із фібрилярного білка колагену I типу, який синтезують ОБ. Спочатку утворюється попередник колагену – проколаген I-го типу, який містить глобулярні фрагменти – карбокси- і амінотермінальні пептиди. Специфічні пептидази відщеплюють ці пептиди від основної молекули після секреції проколагену із клітини, і вони надходять у міжклітинну рідину. Незначну частину органічного матриксу складають неколагенові білки, ліпіди, органічні кислоти та інші (5%). Амінокислотний склад колагену дуже специфічний: одна третина всіх амінокислот припадає на гліцин, високий вміст також гідроксилізіну та гідроксипроліну (ГП) [50, 128-132]. Разом з мінеральними компонентами колаген є головним фактором, який визначає механічні властивості кістки. Цей білок містить більше вільних ϵ -аміногруп лізинових і гідроксилізинових залишків, а також підвищений вміст фосфату, більша частина якого зв'язана зі залишком серину, що є ініціальними факторами мінералізації. Окостеніння супроводжується зміною глікозаміногліканів, сульфатовані сполуки поступаються місцем нессульфатованим. Ліпіди беруть участь у процесі мінералізації, відіграючи істотну роль в утворенні ядер кристалізації [130–132, 135, 136, 149]. Близько 75% амінокислотних залишків, що входять у структуру колагену, мають гідрофобні радикали. Це зумовлює його нерозчинність, метаболічну інертність та стійкість до дії різних агентів [133, 146].

До складу неколагенових білків органічної фази КТ входять протеоглікани та глікопротеїни, остеокальцин, остеопонтин, остеонектин [128, 131, 135]. Особливістю органічного матриксу є висока концентрація цитрату: біля 90% від загальної кількості в організмі приходить на частку КТ. Цитрат утворює комплексні сполуки зі солями Са і фосфатами, забезпечуючи можливість підвищення їх концентрації в тканині до такого рівня, при якому починається кристалізація і мінералізація. Дослідження показали важливу роль

лимонної кислоти у всмоктуванні Ca з кишечника. Вона не тільки стимулює всмоктування Ca, але і сприяє його накопиченню в кістках [138–140, 178].

Частина мінеральної фази КТ – кристали гідроксиapatиту $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, інша частина – аморфний фосфат кальцію $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Вміст аморфного фосфату Ca піддається значним коливанням: аморфний фосфат Ca домінує в ранньому віці, а в зрілій кістці переважає гідроксиapatит. Аморфний фосфат Ca є лабільним резервом іонів Ca і фосфатів [19, 135, 141]. Методом трансмісійної електронної мікроскопії він визначається як електроннощільний, що не має чітких контурів або впорядкованості субстрат, що складається із три- або двозаміщеного фосфату Ca. Можливе існування стійкого аморфного фосфату Ca в мітохондріях за присутності Ca^{2+} і PO_4^{3-} . Співвідношення Ca/P в ньому складає 1,1:1,3, що значно нижче, ніж у кристалах гідроксиapatиту. Залежність між кількістю Ca і P в мінералізованих тканинах залежить як від віку та статі, так і від фізичного здоров'я суб'єкта. Їх вміст із віком знижується, в той же час вміст Mg з віком зростає [131, 139]. По периферії кристалів гідроксиapatиту в гідратній оболонці зосереджені іони натрію та калію. Іони Mg^{2+} конкурують за місце в кристалічній ґратці з Ca^{2+} . Більша частина Ca в кістках постійно оновлюється, щоденно кістки скелета втрачають і знову відновлюють до 700–800 мг Ca [142–144]. Ca – ключовий елемент структури кістки, однак не менш важлива його роль у метаболізмі КТ: регулює процеси мінералізації, кісткової резорбції і запрограмованого клітинного апоптозу [142-145]. Mg входить до складу солей, які утворюють мінеральний матрикс кістки (близько 60% від вмісту в організмі) [146]. Близько 1% складає позаклітинний Mg, решта – внутрішньоклітинний, він тісно взаємодіє з Na, K, Ca, є кофактором і активатором для багатьох ензиматичних реакцій, зокрема, гідролізу та транспорту фосфатних груп, біосинтезу білка [147].

Кісткове ремоделювання (перебудова) – це спряжений процес, що складається із резорбції старої кістки ОК і наступного відкладання нової кістки, що утворена ОБ [1, 144, 147]. Обидва ці процеси проходять в одному місці, підтримуючи, таким чином, структурну цілісність кістки [145, 148–150].

Основними клітинами, активність яких визначає характер ремоделювання, є кісткові клітини – ОБ та ОК. Перші продукують компоненти кісткового матриксу (колаген і основну речовину), а другі відповідають за резорбцію КТ. Порушення ремоделювання в сторону збільшення кісткової резорбції і зниження утворення КТ розглядається як основна причина розвитку остеопорозу (ОП) [129, 147–149, 156].

Для КТ характерна складна регуляція метаболізму [150, 152], що значною мірою визначається функціональним станом гормональних систем. ПТГ, тироксин, трийодтиронін, соматотропін та активні метаболіти вітаміну D₃, здатні стимулювати кісткову перебудову, а кальцитонін, естрогени, глюкокортикоїди пригнічують цей процес [153–155]. Гормональний дисбаланс є чинником ризику виникнення вторинного ОП [149, 156, 159]. Надходження в організм оптимальної кількості вітаміну D є необхідною умовою для нормального перебігу кальцифікації КТ, а надлишок призводить до демінералізації кісток [90, 155, 156, 205]. На розвиток кістки впливає також вітамін А: зупинка росту кісток є раннім проявом гіповітамінозу, що пов'язано з порушенням синтезу хондроїтинсульфатів. При гіпервітамінозі А спостерігається резорбція кістки [157, 161]. Дія вітаміну С на метаболізм КТ обумовлена передусім впливом на процеси біосинтезу колагену. Аскорбінова кислота необхідна для здійснення реакції гідроксилювання проліну і лізину. При гіповітамінозі вітаміну С спостерігаються зміни в синтезі ГАГ: вміст гіалуронової кислоти в КТ збільшується в кілька разів, тоді як біосинтез хондроїтинсульфатів сповільнюється [158–161].

Мінеральні компоненти КТ знаходяться практично в стані хімічної рівноваги з іонами Ca²⁺ і фосфату сироватки крові. Надходження, депонування і виведення Ca²⁺ і фосфату регулюється досить складною системою, в якій серед інших факторів важлива роль належить ПТГ і кальцитоніну [159]. При зменшенні концентрації йонів Ca²⁺ в сироватці крові зростає концентрація ПТГ, який швидко (протягом хвилини) підвищує рівень Ca, впливаючи на всі три органи-мішені: кишечник, нирки та скелет. Отже, він збільшує кісткову

резорбцію, абсорбцію Ca (опосередкованим шляхом, підвищуючи концентрацію $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ і його ниркову канальцеву резорбцію). ПТГ мобілізує Ca і фосфати КТ, забезпечуючи їх вихід у кров'яне русло, посилює канальцеву резорбцію Ca, активує вітамін D, який забезпечує нормальне всмоктування Ca^{2+} в кишечнику [154, 205]. Ефекти ПТГ направлені на відновлення зниженої кількості йонізованого Ca^{2+} . Безпосередньо під впливом цього гормону в КТ настає активація клітинних систем, що беруть участь в резорбції кістки (збільшення числа ОК та їх метаболічної активності). Ефект проявляється підвищенням рівня Ca в плазмі крові. Однак, при надмірному збільшенні вмісту рівня Ca^{2+} в сироватці крові виділяється кальцитонін, дія якого полягає в зниженні концентрації іонів Ca^{2+} в крові. Кальцитонін збільшує мінералізацію кістки і зменшує число і активність ОК в зоні дії, тобто пригнічує процес кісткової резорбції [148, 162–164]. Цей ефект кальцитоніна не залежить від ПТГ [148, 168]. Кальцитонін впливає на метаболізм фосфатів, сприяючи їх інкорпорації в КТ і періостальну рідину і знижуючи при цьому вихід Ca із кісток у плазму крові [159, 160].

Поряд із гормонами важлива роль у регуляції метаболічних процесів у КТ належить ензимам [149, 163, 164]. Лужна фосфатаза (ЛФ) асоціюється із формуванням КТ і є одним із найбільш ранніх маркерів діяльності ОБ [164–166]. ЛФ (3.1.3.1; фосфогідролаза моноестерів ортофосфатної кислоти з лужним оптимумом) каталізує перенесення фосфатних залишків в реакціях гідролізу та трансфосфорилування моноалкілфосфатів і включаються в регуляцію важливих біологічних процесів. ЛФ характеризується різноманіттям ізоферментних форм, які локалізуються, наприклад, у ОБ, печінці, кишечнику, плаценті та ін. [167, 171]. Загальна активність ЛФ визначається двома ізоферментами – кістковою ЛФ (кЛФ) та печінковою ЛФ [141, 166]. Відомо, що кЛФ бере участь у дозріванні матриксу кістки та його мінералізації і здійснює свою діяльність за участі $1,25$ -діоксихолекальциферолу [169, 205]. При метаболічних захворюваннях кісток загальна активність ЛФ в цілому віддзеркалює рівень формування КТ [158]. Кістковоспецифічна ЛФ становить

приблизно 50% активності загальної ЛФ; період її напіврозпаду 24–48 год [148, 149]. За рівнем активності ЛФ плазми крові можна певною мірою судити про функціональний стан ОБ [131]. Відомо, що в активному центрі кожної з двох ідентичних субодиниць цих ензимів знаходиться по два іони Zn^{2+} і одному іону Mg^{2+} [173]. Доведено, що за умов достатнього надходження Zn з раціоном нормалізується активність ЛФ [136]. Дослідження Івченко В. К. і співавт., 2008, довели важливу роль селену (Se) в активації ЛФ та процесах формування КТ. В свою чергу, ЛФ впливає на утворення кістки, тому дефіцит Se знижує кальцієвий обмін та уповільнює процес росту кістки [168, 204].

Кисла фосфатаза (КФ) – лізосомальний ензим, що присутній в кістках, передміхуровій залозі, тромбоцитах, еритроцитах та селезінці. На відміну від інших ізоензимів, кістковоспецифічна КФ володіє резистентністю до L(+)-тартрату. В плазмі активність тартратрезистентної КФ (ТРКФ) корелюється з ізоензимом 5КФ, що походить із КТ. ТРКФ міститься в ОК, збільшення її рівня відзначено при різних метаболічних захворюваннях кісток, що супроводжуються порушенням обміну в КТ. Однак неясно, чи має визначення ТРКФ якісь переваги перед визначенням ГП. Вважають, що розроблений недавно імуноензимний метод (Baron R, Boyle W., 2006) дозволить отримати повнішу інформацію про можливу цінність визначення ТРКФ для діагностики патології метаболізму КТ [138–141, 165, 169, 170].

Співвідношення показників активності індикаторних ензимів ЛФ і КФ використовують як індикатор балансу остеогенних і остеорезорбуючих процесів у КТ [166, 177]. Должкова К. П., 2009, відзначає, що регенерація кісткового дефекту викликає істотне збільшення активності ЛФ, що свідчить про збільшення числа ОБ та їх активацію [17, 18].

Активність процесів формування й резорбції кісткового матриксу може бути встановлений як шляхом вимірювання ензимної активності ОБ і ОК, так і визначення компонентів міжклітинного матриксу у крові та сечі [129, 204]. Важливим компонентом колагену є гідроксипролін (ГП), що складає приблизно 20% всього амінокислотного складу цієї молекули. Він утворюється із проліну

за рахунок посттрансляційного гідроксилювання пептидних ланцюгів у процесі дозрівання молекули колагену. Оскільки приблизно половина колагену в організмі людини міститься в кістках, де рівень його обміну вищий, ніж в інших тканинах, екскреція ГП з сечею та його рівень у плазмі крові відображає процеси кісткової резорбції [169, 179, 183].

У дорослих людей маса скелету складає 18% загальної маси і становить близько 12 кг. У скелеті міститься 99% кальцію, 87% – фосфору, 58% – магнію від загального вмісту в організмі. Мінеральна частина кісток має велику поверхню, яка знаходиться в постійному контакті з прилеглою тканинною рідиною [1, 172, 174]. Метаболічна роль Mg визначається його участю в якості кофактора в ензиматичних реакціях, зокрема є активатором ензимів, які мають безпосереднє відношення до процесів мінералізації (ЛФ, пірофосфатази). Встановлено патогенетичне значення дефіциту Mg в розвитку патологічного стирання зубів [187, 241, 259]. Mg є кофактором ЛФ, пірофосфатази, які беруть участь у процесах формування КТ. Дефіцит цього макроелемента призводить до уповільнення росту КТ, прискорення процесів резорбції, зменшення об'єму кістки і збільшення її крихкості. Гострі зміни концентрації Mg впливають на секрецію ПТГ [151]. Перевищення фізіологічної норми вмісту Mg в організмі викликає пригнічення процесів кристалізації гідроксиапатиту. Він входить до складу патогенних біомінералів, заміщуючи Ca у складі кристалічної ґратки апатиту, що змінює його розчинність [152].

Залучення КТ в патологічні процеси за умов впливу чинників хімічно зміненого довкілля пояснюється її буферною функцією, при якій вона, як депо мінеральних речовин, бере участь у компенсації порушень цілого ряду біохімічних процесів [129, 134, 172, 174]. Часто захворювання кісток не мають характерних суб'єктивних проявів, що не дозволяє здійснити їх діагностику до виникнення ускладнень. Тому вивчення їхньої поширеності пов'язано зі значними труднощами. Однак, із літературних джерел [7, 19, 129, 175, 176, 180, 186] відомо, що частота захворювань, які безпосередньо пов'язані з патологією

КТ, є істотно вищою у мешканців екологічно забруднених регіонів та працівників хімічних виробництв.

В умовах зниження метаболізму КТ зростає інтенсивність резорбційних процесів, знижується інтенсивність остеогенезу, що викликає рарефікацію або виникнення порожнин у кістці [174, 185, 194]. Хронічна ниркова недостатність у самок білих щурів викликає виражені зміни в структурно-функціональному стані КТ, що виявляються зменшенням поздовжніх і поперечних розмірів кістки, збільшенням міжклітинної речовини в хрящі, площі каналів остеона та кістковомозкової порожнини, що супроводжується порушенням міцності кістки і збільшенням її крихкості [176, 197]. Мірчук Б. М., 2011, вказує на негативний вплив аліментарної остеодистрофії на стан КТ [203].

З наукової літератури [53, 156, 215, 190] відомо про важливу роль остеотропних мікроелементів – Zn та Cu в метаболічних процесах у КТ. Zn відноситься до групи незамінних мікроелементів, виступає активатором більше 200 металоензимів, серед яких ЛФ, яка асоціюється з діяльністю ОБ. Підвищує затність ОБ до синтезу колагену [151]. У той же час Zn діє як інгібітор на рибонуклеазу, протеази. Zn необхідний для стабілізації структури НК, рибосом, незамінний у процесах трансляції, сприяє росту й регенерації клітин, стабілізації клітинних мембран, нормальній роботі імунної системи тощо [35–37, 56, 59]. Zn у фізіологічних концентраціях проявляє інгібуючий вплив на ПТГ, уповільнює діяльність ОК, отже, пригнічує процеси резорбції КТ, виступає синергістом Ca, збільшуючи його внутрішньоклітинний вміст та перерозподіл в цитозолі [135], регулює секрецію кальцитоніну [151]. Недостатність в організмі Zn призводить до активації ПОЛ, порушення диференціювання клітин [90, 190, 222].

Cu відноситься до біотиків, недостатність яких веде до значних порушень метаболічних процесів, зокрема у кістках та сполучній тканині [290]. Маючи два валентні стани, Cu залежно від природи і розташування лігандів дозволяє Cu-утримуючим білкам охоплювати широкий інтервал окисно-відновних потенціалів [233, 236]. Бере участь в реакціях клітинного дихання, забезпечує

АОЗ організму у системі церулоплазміну. Найбільший вміст Cu виявлено в молодих остеонах [151], що сприяє синтезу колагену й еластину та мінералізації КТ. Впливаючи через проліл- і лізилгідроксидази на метаболізм колагену, Cu забезпечує міцність КТ [188, 237].

Таким чином, доведеною є важливість макро- та мікроелементів та активність відповідних ензимів у метаболічних процесах в КТ за умов фізіологічної норми. Поряд з цим, недостатньо вивченими залишаються молекулярні механізми метаболічних та структурних порушень, які виникають у КТ за умов роздільного та комбінованого впливу поширених токсикантів, зокрема таких, як солі кадмію, нітрати та нітрити.

1.3. Вплив сполук кадмію на кісткову тканину

На порушення структури КТ за умов тривалого впливу Cd на організм людини і тварин вказують у своїх дослідженнях Kazantzis G., 2004 [226], Bhattacharyya M.H., 2009 [223], Trzcinka-Ochocka M., 2010 [227]. Вперше такий ефект установлений у мешкаців району Тояма в Японії, у яких багаторічне вживання забруднених Cd води та рису призводило до акумуляції Cd²⁺ в кістках і розвитку хвороби «ітай-ітай». За оцінками Kobayashi E., 2002, у 1960-х роках рівень добового надходження Cd²⁺ в організм людей, що проживали в районі, ендемічному за хворобою «ітай-ітай», становив майже 600 мкг [78]. Для цього захворювання властива остеомаліяція, ОП та часті переломи кісток [32–34].

Згідно з наказом МОЗ України від 10.01.2005 р. за №7 «Затвердження стандартів надання медичної допомоги за фахом «Професійна патологія» в амбулаторно-поліклінічних установах» існує стандарт надання медичної допомоги у разі хронічної інтоксикації Cd (шифр за МКХ – 10 E83.1). До переліку стандартних діагностичних досліджень входить визначення вмісту Cd в добовій сечі та рентгенографія трубчастих кісток [234]. Кулемзіна Т. В. і

співавт., 2008, спостерігаючи 22 пацієнтів з вказаним діагнозом, які мали професійний контакт з Cd в середньому 9 років, відзначають обмінні порушення і ураження кісток та появу типової жовтої облямівки уздовж шийки зубів і ясенного краю, схуднення, поганий апетит, астеничні і диспепсичні скарги. При лабораторному обстеженні визначалася протеїнурія, гіпокальціурія. Рентгенологічно фіксувалися порушення структури КТ: поперечні борозни в кістках лопаток, тазу, епіфізах кісток кінцівок і особливо часто ребер. Зафіксовано порушення вмісту макро- та мікроелементів за результатами багатоелементного аналізу волосся [234].

Оскільки КТ депонує мінеральні речовини, регулює фосфорно-кальцієвий обмін, а мікроелементи, як компоненти ензимних систем організму, беруть активну участь у процесах росту та формоутворення скелету, тому надходження в організм Cd призводить до взаємодії з есенціальними біоелементами, компонентами КТ, що впливає на її метаболізм, структуру та механічні властивості.

За умов підвищеного вмісту Cd порушуються процеси остеогенезу, розвивається остеопенія та ОП [175, 176, 191, 235]. В основі остеотоксичності Cd, на думку Bhattacharyya M. H., 2009, а також Білецької Е. Н., Стусь В. П., інш. [40, 41, 88], лежать різні механізми, серед яких важливу роль відіграє порушення функції нирок. Зокрема, Cd пригнічує процес утворення гормонально активної форми вітаміну D₃ (кальцитріолу) у проксимальних ниркових каналцях, що призводить до зменшення рівня абсорбції Ca з травного тракту [89, 222, 246]. При цьому інтенсивно виводиться Ca²⁺ з організму в результаті пошкодження Cd реабсорбційної функції дистальних каналців нефронів [32, 64]. Унаслідок гіпокальциємії зростає рівень ПТГ, який стимулює мобілізацію Ca²⁺ з кісток, сприяючи розвитку ОП і остемалії [64, 157, 209, 210, 212]. F. Korte et al, 1998, вважає, що зміни в кістках при захворюванні “ітаї-ітаї” вторинні стосовно до ураження нирок через порушення синтезу в них активної форми вітаміну D₃.

Cd може і безпосередньо впливати на стан КТ, пригнічуючи процеси мінералізації та активуючи резорбцію. Відомо, що за умов тривалої дії ВМ в низьких дозах порушується структура кісток без ознак дисфункції нирок, збільшується рівень захворюваності на ОП і хвороби пародонту [24, 223, 227, 247]. В цих роботах показано, що Cd, з однієї сторони зменшує акумуляцію іонів Ca^{2+} в ОБ, а з іншого – стимулює утворення та активність ОК, які руйнують колагеновий матрикс, прискорюючи процес резорбції кісток [88, 89, 226]. Крім цього, йони Cd^{2+} гальмують активність проколаген С-протеїнази та утворення колагену [248]. Вплив катіонів Cd^{2+} на метаболічні процеси в КТ може опосередковуватись і зменшенням ролі естрогенів у регуляції процесів мінералізації [181-184]. Cd негативно впливає на процеси мінералізації КТ за рахунок синергічної взаємодії йонами Fe^{2+} , оскільки цитрат Fe інгібує біологічну кальцифікацію, а також за рахунок включення в кристали гідроксиапатиту і порушення їх структури [191].

За допомогою гістологічних досліджень встановлено, що після нанесення термічної травми у білих щурів-самців, які споживали воду, насичену солями ВМ (Zn, Cr, Pb, Cd), розвиваються важкі зміни, зокрема, пригнічення росту, зниження проліферативної активності кісткових і хрящових клітин, порушення гістологічної структури хряща, компактною та губчастою кісток [193]. За даними Романюк А. М., Моїсеєнко О. С., 2008, за умов впливу на організм солей ВМ у КТ спостерігається порушення остеогенезу та пригнічення росту кісток [19, 207, 211].

Наведені дані літератури не дозволяють сформулювати цілісного уявлення про вплив іонів Cd^{2+} на колагеновий та мінеральний матрикс КТ, її мінеральну щільність, активність метаболічних процесів та можливість корекції виявлених порушень.

1.4. Метаболічні процеси в кістковій тканині за умов впливу нітритів

На сьогодні небагато робіт присвячено дослідженню метаболічних процесів у КТ за умов надходження нітритів в організм ссавців. Зокрема, у роботах Должкової К. П., 2009, встановлено, що при хронічній нітратній інтоксикації білих щурів (200 мг/кг маси NaNO_3) протягом 60 діб спостерігали уповільнення процесу регенерації КТ, як опосередковано, через підвищення продукції супероксид аніон-радикалу і порушення кровообігу в уражених ділянках, так і безпосередньо, через зменшення кількості ОБ та відносне збільшення їх незрілих форм, особливо у місці відтворення перелому. При цьому відзначались явища ОП, що негативно впливало на процеси регенерації [17, 18].

У роботах Wimalawansa S., 2010, наведені докази дозозалежного впливу NO на метаболічні процеси та структуру КТ, доведено, що надлишкове утворення монооксиду N викликає ультраструктурні зміни та порушення метаболічних процесів у кістках [116]. Також відомо, що NO стимулює утворення кістки, але інгібує її регенерацію *in vitro* (Jamal S. A., 2004). Бабієнко В. В., 2013, денситометрично дослідив МЩКТ дітей та підлітків Одеської області, які споживали питну воду з вмістом нітратів, які перевищували ГДК (нітрати і нітрити є екзогенними прекурсорами NO). В результаті було встановлено, що хронічний вплив неорганічних прекурсорів NO призводить до дизруптивних змін кісткового метаболізму у дітей препубертатного віку [112]. Існує зв'язок між кістковою інтеграцією, станом кальцієвого обміну та функціональною активністю NO-синтазних систем (NOS). У роботах Костенко В. О. і співр. показано, що за умов хронічної нітратної інтоксикації значно посилюються процеси колагенолізу та деполімеризації протеогліканів у КТ [264]. У той же час у літературі наводиться суперечлива інформація щодо ефектів NO на метаболізм та структуру кісток. Зокрема, Сорокін Б. В., 2013, у дослідженнях на щурах, яким відтворювали експериментальний глюкокортикоїдний ОП на тлі введення NaNO_3 (200 мг/кг маси), спостерігав стан високого кісткового обміну, при якому підвищена резорбція не компенсувалася нормальним процесом кісткоутворення,

відбувалось зниження маси та щільності нативної великогомілкової кістки та хребців.

Поодинокі роботи присвячено вивченню стоматологічного статусу людей, які проживають на нітратно-забрудненій території [186, 217, 290], а також МЦКТ та показників фосфорно-кальцієвого обміну [172, 175, 180].

Румянцев Е. В. та співавт., 2007 вказують на прямий пошкоджуючий вплив гіпоксичних отрут, до яких відносяться нітрити та NO, на тканини щитоподібної залози та їх ензимні системи [229]. За таких умов відбувається порушення синтезу гормонів, які регулюють фосфорно-кальцієвий обмін та впливають на баланс процесів демінералізації/ремінералізації у КТ, а також, за даними Stoking J. R., 2000, змінюється зв'язування кальцитоніну та паратгормону з білками плазми [260]. За умов дії нітратів і нітритів, за даними Рошупкиної С. В., 2002, у статевозрілих щурів зменшуються темпи повздовжнього і поперечного росту кісток, їх мінеральна насиченість, зменшується вміст Са та міцність кісток [216]. Найчутливішими є рістактивні зони – епіфізарний хрящ та періостальні зони діяфіза. Зменшується ширина епіфізарного хряща, спостерігаються глибокі деструктивні зміни хондроцитів та проміжної речовини зони проліферувального хряща. Відбувається звуження остеонного шару діяфізів, збільшення діаметра каналів остеонів. Найбільші зміни спостерігаються при введенні низьких доз нітриту протягом 3-6 місяців [216]. Пикалюк В. С., 2007, вказує на зменшення вмісту Са і фосфатів у кістках, порушення стехіометричних співвідношень між ними та зниження міцності КТ за умов надходження нітратів. Відомо також [112], що нітрати і нітрити проникають через плацентарний бар'єр, пригнічуючи внутрішньоутробний остеогенез та сповільнюючи процеси окостеніння.

Однак, недостатньо дослідженим залишається вплив нітрит-йонів на фосфорно-кальцієвий обмін, маркери кісткового метаболізму, макро- та мікроелементний склад кісток, МЦКТ у ссавців. У доступній літературі відсутні дані стосовно поєданого впливу солей Cd та нітритів на метаболічні

процеси та структуру КТ, що послужило підставою для проведення експериментального дослідження.

1.5. Вплив екстрактів артишоку на метаболічні процеси в організмі

Як свідчать основні положення теорії адаптації [195], необхідними умовами зниження ризику розвитку патологічних станів є мобілізація адаптогенних механізмів організму під впливом ушкоджуючих чинників. Це відбувається, коли БАР рослинних препаратів одночасно діють на ключові ланки системи адаптації. Адаптогенним ефектом володіють сполуки, що нормалізують функціональні системи організму – антиоксидантну, імунну, тощо. Це біофлавоноїди, каротиноїди, вітаміни, комплекси металів з органічними сполуками (білками, полісахаридами) [199–202].

Починаючи з 80-х років минулого століття увагу дослідників у багатьох країнах привернула давно відома харчова та лікарська рослина Артишок посівний (*Cynara scolymus L.*), введена в культуру ще в часи античності. Незважаючи на те, що лікарське застосування артишоку налічує близько 2,5 тис. років, сучасними дослідженнями було підтверджено, уточнено та розширено фармакологічні властивості ЕА, серед яких істотне значення має антиоксидантна, мембраностабілізуюча та детоксикуюча дія [251, 274]. При виготовленні вітчизняного препарату «Артишока екстракт-Здоров'я» застосована унікальна технологія одержання субстанції ЕА у вигляді густого екстракту, на відміну від хофітолу та інших закордонних аналогів, де в якості субстанції використовується сухий екстракт [275]. Ця технологія дозволяє уникнути висушування соку листків артишоку, і тому забезпечує збереження в густому екстракті, а потім в аптечному препараті всього комплексу діючих речовин, що властиві свіжій рослині. Серед вуглеводів є інулін – рослинний полісахарид класу фруктанів, який не перетравлюється птіаліном та амілазами.

Тільки специфічні бактерії кишківника здатні метаболізувати інулін, який підвищує поглинання есенціальних мінералів (особливо Ca та Mg), при цьому знижується рН в сліпій кишці та збільшується в ній рівень коротколанцюгових карбонових кислот [281]. БАР артишоку включають гідроксикоричні кислоти (зокрема, похідні кофеїнової кислоти), біофлавоноїди та інші поліфенольні сполуки [276-280], яких виявлено більше 45 в мас-спектрах ЕА [282]. Нутрієнтний склад артишоку наведений в табл. 1.1. [274].

Таблиця 1.1
Нутрієнтний склад артишоку (База даних «USDA-нутрієнти»)

Макронутрієнти	Маса в 100 г	Основні мікронутрієнти	% від рекомендованої добової потреби (для дорослих)
Вода	84,1 г	Фолієва кислота, 89 мкг	22
Вуглеводи, із них: дієтичні волокна	12,1 г 8,6 г	Вітамін С, 7,4 мг	12
Жири	0,34 г	Магній, 42 мг	11
Білки	2,89 г	Фосфор, 73 мг	10

Серед сполук з антиоксидантними властивостями – хлорогенова та кофеїнова кислоти, галактозиди лютеоліну, кверцитин і його глікозиди, апігенін, цинарин, цинарозид, сколімозид, рутин, ферулова, хлорогенова та ізохлорогенова кислоти поряд з більш рідкісними скополетином, гесперитином [283]. Варто зазначити, що речовини цинарин (1,5-дикофеїнохінова кислота), ціанідин, цинаропікрин, назви яких ідуть від латинської назви роду артишоків *Cynara*, мають сильнішу антиоксидантну активність, ніж вітамін Е, С та ресвератрол (відомий фітоалексин, виділений із червоного винограду). Біофлавоноїди лютеолін та апігенін – відомі антиоксиданти. Поряд з цим лютеолін сприяє метаболізму вуглеводів, апігенін – знижує експресію гену фактора індукованого гіпоксією (ген HIF-1) [284], що важливо при нітритній інтоксикації. Флавоноїди містять у молекулі реакційноздатні фенольні радикали та карбонільні групи, що забезпечує широкий спектр фармакологічної дії, зокрема: а) Р-вітамінну, тобто позитивно впливають на стан капілярів –

підвищують їх стійкість, збільшує еластичність та пропускну здатність; б) антиоксидантну; в) здатність до утворення хелатних комплексів з металами, що сприяє зв'язуванню та виведенню ВМ, зокрема Cd [274, 279]. Останні дослідження доводять, що флавоноїди володіють різною антипротеазною активністю стосовно до еластази та колагенази [200, 277, 278]. ЕА інгібують желатиназну активність і секрецію матриксної металопротеїнази ММП-9, захищаючи, таким чином, сполучну тканину від деградації [291].

В механізмі лікувально-профілактичної дії флавоноїдів та рослин, що їх містять, поряд з вираженими властивостями АОЗ істотну роль відіграє їх здатність інгібувати протеоліз, тобто впливати одночасно на універсальні ланки патогенезу багатьох захворювань [199]. У поєднанні з аскорбіновою кислотою біофлавоноїди беруть участь в окисно-відновних процесах, гальмують окиснення, є складовою АОЗ клітин. ЕА знижують втрати клітинного глутатіону [292]. У щурів, які отримували ЕА, на тлі збільшення рівня глутатіону поліпшувалась гістологічна структура печінкової тканини після пошкодження тетрахлорометаном [293]. Одержано дані, що свідчать про нормалізацію показників ліпопероксидації і системи АОЗ при включенні фітозасобу з артишоку гепар-ПОС до комплексу медичної реабілітації хворих на хронічні захворювання гепатобіліарної системи, легень тощо [305–311].

ЕА багаті на есенціальні макро- та мікроелементи, передусім Са, Mg та Fe, а також Se, I, Cr, V, Mn [282-286]. Орієнтовний вміст біоелементів в артишоках, вирощених на європейських ґрунтах [284], наведено в табл. 1.2. В ЕА співвідношення вмісту катіонів, за даними Громової А. О., 2009, змінюється в ряду $K > Mg > Na > Fe > Zn > Cu$. Особливо важливим є співвідношення K^+/Na^+ – досить велике, що позитивно впливає на сольовий обмін [274]. ЕА містять аскорбінову кислоту, каротини, вітаміни B_1 і B_2 , що сприяють нормалізації обмінних процесів. Слід відзначити, що ЕА більш ефективно, ніж аскорбінова кислота, захищає ендотелій від оксидативного стресу [281], підвищуючи активність глутатіонпероксидази [282]. Регулює функцію щитоподібної залози [280].

Середній вміст макро- та мікроелементів в роді *Cynara*
(концентрація оцінена методом мас-спектрометрії, мкг/г сухої маси)

Макро-елементи	Вміст в сухій речовині	Мікро-елементи	Вміст в сухій речовині	Мікро-елементи	Вміст в сухій речовині
Ca	11772	Fe	123	Cr	0,98
Mg	3859	Mn	63,2	Se	0,03
S	848	Zn	26,5	I	1,75
		Cu	8	V	0,95

ЕА має багатий комплекс БАР [251], що забезпечує широкий спектр фармакологічної дії препаратів, а також моно- та дикофеїлхініні кислоти, які на сьогодні не виявлені в інших рослин. Більшість позитивних ефектів ЕА є результатом високого вмісту в них поліфенольних антиоксидантів, що призводить за умов вживання до зростання ресурсу АОЗ плазми [280]. Важливим є збереження природних співвідношень всього ансамблю речовин, що містяться у вихідній лікарській сировині у зв'язку з взаємним підсиленням їх дії при реалізації лікувального ефекту в організмі. Це забезпечує ефективність препаратів АЕ при різних хронічних інтоксикаціях, в тому числі зумовлених солями ВМ, нітросполуками, гепатотоксинами різного походження [276]. Виходячи із багатокомпонентного складу ЕА, застосування його успішно заміщує одночасно декілька препаратів. Безпечність застосування та відсутність побічних ефектів дає можливість проводити курс лікування як в стаціонарних, так і в амбулаторних умовах, можливість використання у всіх вікових групах та під час вагітності [287, 288], а також для дітей [289, 290]. Єдиним протипоказанням для призначення ЕА є непрохідність жовчних шляхів. Зважаючи на такий склад препарату ЕА, важливим є дослідження ефективності його впливу на метаболізм, біоелементний склад КТ за умов як роздільної, так і комбінованої дії токсикантів, зокрема солей кадмію та нітритів.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Модель інтоксикації

Закономірності роздільного та комбінованого впливу солей Cd та нітритів на метаболічні процеси, біоелементний склад, гістологічну структуру та мінеральну щільність КТ та можливості застосування ЕА з метою корекції порушень, що виникають під впливом CdCl_2 та NaNO_2 , досліджували на лабораторних тваринах – білих безпородних статевозрілих щурах-самцях масою 180–220 г. Ці тварини характеризуються порівняно швидким і постійним ростом, невеликою тривалістю життя, що дозволяє спостерігати вікові зміни у порівняно малому інтервалі часу. Трубочасті кістки щурів мають анатомічні структури, характерні для трубочастих кісток людини: діафіз, епіфізи, головку та шийку, що дає можливість екстраполяції на людину результатів досліджень, виконаних на лабораторних тваринах. Тому, проводячи вибір піддослідних тварин, ми керувались даними про те, що при порівняльному дослідженні КТ, зокрема стегнової кістки людини і щурів, спостерігається їх гомологічність [294]; білі щури є адекватним об'єктом для групового експерименту [295, 296].

Піддослідних тварин розділили на такі групи (табл. 2.1): інтактні та шість дослідних груп по 7–13 тварин у групі. Утримання тварин, їх харчування та маніпуляції з ними проводилися з дотриманням етичних і законодавчих норм і вимог при виконанні наукових і біохімічних досліджень: Додатку 4 до «Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин», затвердженого наказом МОЗ України № 755 від 12.08.1997 р.; «Про заходи щодо подальшого вдосконалення організації форм роботи з використанням експериментальних тварин» та положення «Загальних принципів експериментів на тваринах», ухваленого Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р); згідно з Законом України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження»

від 21.02.2006 р.; European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg. – 1986 – №123. – 52 p. [295–297].

Таблиця 2.1

Розподіл тварин за групами, видом інтоксикації та етапами проведення експерименту

Групи тварин	Вид інтоксикації	Етапи експерименту	Кількість особин
Інтактні	Отримували фізіологічний розчин; слугували контролем відносно дослідних груп		18
1-ша	Кадмієва 1/10 LD ₅₀ CdCl ₂ (1,2 мг/кг маси тварини CdCl ₂)	1-а доба 14-а доба 28-а доба	13 11 11
2-га	Кадмієва з корекцією 1/10 LD ₅₀ CdCl ₂ + EA	14-а доба 28-а доба	8 8
3-тя	Нітритна 1/10 LD ₅₀ NaNO ₂ (2,1 мг/кг маси тварини NaNO ₂)	1-а доба 14-а доба 28-а доба	13 11 11
4-та	Нітритна з корекцією отримували 1/10 LD ₅₀ NaNO ₂ + EA	14-а доба 28-а доба	8 8
5-та	Кадмієво-нітритна 1/10 LD ₅₀ CdCl ₂ + 1/10 LD ₅₀ NaNO ₂	1-а доба 14-а доба 28-а доба	8 9 10
6-та	Кадмієво-нітритна з корекцією 1/10 LD ₅₀ CdCl ₂ + 1/10 LD ₅₀ NaNO ₂ + EA	14-а доба 28-а доба	8 8
Загальна кількість особин			163

В експеримент відбирали здорових статевозрілих самців білих безпородних щурів з початковою масою 180–220 г (вік 3–3,5 місяці). Тварин утримували в клітках по 5–7 особин в стандартних умовах віварію. Всі тварини мали вільний доступ до питної відстояної водогінної води, їх харчовий раціон був збалансований за вмістом Са (151 мг), фосфору (122 мг) та білка (4 г) [297]. Тварин зважували перед початком експерименту та на кожному із його етапів. Інтоксикацію здійснювали протягом 10-ти днів шляхом введення відповідного ксенобіотика в дозі 1/10 LD₅₀ щоденно один раз на добу (табл. 2.1): CdCl₂ вводили внутрішньом'язово 1,2 мг/кг у фізіологічному розчині [43, 79], NaNO₂

– 1,2 мг/кг з питною водою [50]. Контролем слугували інтактні тварини – практично здорові щури, яким вводили фізіологічний розчин. Всі дослідження проводили в проміжку 10^{00} – 12^{00} год. доби, щоб виключити вплив на результати експерименту добових ритмів фізіологічних і біохімічних процесів. Протягом експерименту у віварії підтримувалася постійна температура, за тваринами здійснювався належний догляд [297, 298]. По завершенні десятиденного введення ксенобіотиків тварин 1-ї, 3-ї та 5-ї груп виводили з експерименту на 1-шу, 14-ту та 28-му доби під легким ефірним наркозом та наступною декапітацією, а тваринам 2-ї, 4-ї та 6-ї груп з метою корекції вводили ЕА, застосовуючи вітчизняний препарат «Артишоку екстракт – Здоров'я». Тварин цих груп виводили з експерименту на 14-ту та 28-му добу як зазначено вище. Кров збирали у пробірки з 0,5 мл 5 % розчину гепарину, яку центрифугували при 3000 об/хв. протягом 10 хв., відділяли плазму, а стегнові кістки ретельно очищували від м'яких тканин та піддавали денситометричному дослідженню та озоленню. Частину кісток готували, як описано нижче, до гістологічного дослідження.

Розрахунок дозування препарату «Артишоку екстракт – Здоров'я» для введення піддослідним щурам проводили з урахуванням рекомендацій Ю. Р. Риболовлева [299, 300], який при використанні лікарських засобів в експерименті на тваринах рекомендують враховувати константу біологічної активності при дозуванні речовин в роботі зі ссавцями. Використання даної рекомендації ґрунтується на особливостях видових відмінностей, які залежать від основного обміну, маси тіла, площі поверхні тіла, інтенсивності серцевої діяльності та температури тіла тварин. Формула розрахунку дозування лікарського засобу для щура має наступний вигляд:

$$\text{доза для щура} = r \times \text{доза для людини} / R ,$$

де r – коефіцієнт видової витривалості для щура (3,62),

R – коефіцієнт видової витривалості для людини (0,57).

Тривалість курсу лікування становить 2-3 тижні [275].

Для реалізації завдань по вивченню впливу солей CdCl_2 та NaNO_2 на метаболічні процеси в КТ та можливості застосування ЕА з метою корекції порушень, що виникають, застосовували комплекс біохімічних, біофізичних (атомно-абсорбційна спектрофотометрія), гістологічних та денситометричних методів (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

Загальний розподіл досліджуваних тварин за групами і методами експерименту

Групи тварин	Етапи експерименту	Кількість особин	Методи дослідження			
			біохімічні (плазма крові)	спектрофото-метричні (стегнова кістка)	гістологічні (стегнові кістки)	денситометричні (стегнові)
Інтактні		18	18	18	5	12
1-а дослідна група	1-а доба	13	13	13	-	-
	14-а доба	11	11	11	5	6
	28-а доба	11	11	11	5	6
2-а дослідна група	14-а доба	8	8	8	5	7
	28-а доба	8	8	8	5	7
3-я дослідна група	1-а доба	13	13	13	-	-
	14-а доба	11	11	11	5	7
	28-а доба	11	11	11	5	7
4-а дослідна група	14-а доба	8	8	8	5	7
	28-а доба	8	8	8	5	7
5-а дослідна група	1-а доба	8	8	8	-	-
	14-а доба	9	9	9	5	7
	28-а доба	10	10	10	5	7
6-а дослідна група	14-а доба	8	8	8	5	6
	28-а доба	8	8	8	5	6
Загальна кількість особин:		163	163	163	65	92

2.2. Біохімічні дослідження показників фосфорно-кальцієвого обміну та маркерів кісткового метаболізму у плазмі крові

Біохімічне дослідження плазми крові включало визначення наступних показників: а) концентрації ГП; б) активність загальної ЛФ; в) активність загальної КФ; г) концентрації загального Са, іонізованого Ca^{2+} , Mg, неорганічного фосфату; д) рівень ПТГ та кальцитоніну.

Визначення проводили у біохімічній лабораторії ІФНМУ (Свідоцтво про атестацію № 001479) за стандартизованими методиками з використанням наборів реактивів вітчизняних та зарубіжних фірм. Для вивчення зазначених параметрів були використані наступні біохімічні методики.

2.2.1. Методика визначення концентрації гідроксипроліну [147]. Принцип методу: окиснення ГП гідроген пероксидом до піролу в лужному розчині за наявності йонів Cu^{2+} , видалення надлишку H_2O_2 і утворенні рожевого забарвлення з пара-диметиламінобензальдегідом у кислому середовищі. Інтенсивність забарвлення розчину пропорційне концентрації ГП, визначається фотометрично за довжини хвилі 500–560 нм (зелений світлофільтр).

Хід визначення. У три пробірки, що містять по 1 мл: 1-ша дослідна – плазми крові, 2-га – стандартного розчину ГП (10 мкг/мл), 3-тя контроль – дистильованої води; додають по 1 мл 0,05 М розчину CuSO_4 , по 1 мл 2,5 М розчину NaOH, по 1 мл 6% розчину H_2O_2 . Проби перемішують протягом 10 хв. за кімнатної температури, потім нагрівають 3 хв. у киплячій водянній бані для видалення надлишку H_2O_2 , а потім пробірки охолоджують водою з крану. У пробірки додають по 4 мл 3н H_2SO_4 і по 2 мл реактиву Ерліха (5% розчин п-диметиламінобензальдегіду) і ставлять на 5 хв. у киплячу водяну баню, охолоджують водою з крану і колориметрують проби досліду і стандартного розчину проти контроль у кюветах 10 мм. Розраховують кількість ГП за формулою:

$$X = C_{\text{ст}} \times E_{\text{досл}} / E_{\text{ст}} \times V_{\text{досл}},$$

де X – концентрація ГП, мкг/мл;

$C_{\text{ст}}$ – концентрація стандартного розчину ГП, 10 мкг/мл;

$E_{\text{досл}}$ – екстинкція дослідної проби;

$E_{\text{ст}}$ – екстинкція стандартної проби;

$V_{\text{досл}}$ – об'єм плазми крові, взятої для аналізу, 1 мл. Коефіцієнт перерахунку в одиниці системи СІ (мкмоль/л) – 7,626.

2.2.2. *Методика визначення активності лужної фосфатази* (“Філісіт-Діагностика”, Дніпропетровськ, Україна). Принцип методу: ЛФ розщеплює фенілфосфат з утворенням фенолу. Окисне сполучення фенолу з 4-амінофеназоном утворює червоне забарвлення, інтенсивність якого визначається фотометрично при довжині 490–560 нм. Активність ферменту є пропорційною збільшенню оптичної щільності розчину.

Хід визначення. Дослідну і контрольну проби (містять по 2,1 мл субстратно-буферного розчину) інкубують 3 хв. при +37°C. Потім в дослідну додають 0,07 мл плазми крові; інкубують 10 хв. при +37°C. Потім в дослідну і контрольну проби додають 2,1 мл окисного розчину (окиснювач – періодат натрію, 50±2,5 г/л), а у холосту – ще 0,07 мл плазми крові. Витримують 5 хв. при кімнатній температурі. Вимірюють оптичну щільність дослідної проби проти холостої. Величину активності ЛФ у плазмі крові знаходять за калібрувальним графіком. Діапазон визначень активностей від 100 до 10000 нмоль/с·л.

2.2.3. *Методика визначення активності кислої фосфатази* (“Вітал”, Санкт-Петербург, Росія). Принцип методу: КФ розщеплює п-нітрофенілфосфат з утворенням п-нітрофенолу та фосфату. Кількість утвореного за одиницю часу п-нітрофенолу пропорційна активності ферменту, визначається фотометрично за оптичною щільністю при довжині 405 нм. Активність простатичної фракції ензиму блокується тартратом.

Хід визначення. Дослідна проба А – загальна активність КФ: до 0,5 мл робочого реагенту №1 (цитратний буфер, рН 4,8; 90 ммоль/л цитрату Na) додати 0,1 мл плазми крові; дослідна проба №2 Б – тартратстабільна (тартрат Na, 90 ммоль/л + 20 ммоль/л цитрату Na): до 0,5 мл робочого реагенту №2 додати 0,1 мл плазми крові; контрольна проба – 0,5 мл робочого реагенту №1.

Проби інкубують при 37°C (бажано на водяній бані) точно 30 хв. Після закінчення інкубації в дослідну і контрольну проби вносять по 2 мл реагента №5 (1,0 моль/л NaOH). Після цього в контрольну пробу додають 0,1 мл плазми і фотометрують в кюветі з товщиною поглинаючого шару 10 мм при довжині хвилі 405 нм проти води. Розрахунок активності КФ проводять за калібрувальною кривою. Калібратор – розчин п-нітрофенолу (16,68 мг/100 мл); реагент №3 – розчин п-нітрофенілфосфату (32,7 ммоль/л). Із основного калібрувального розчину готують відповідні робочі розчини, які розливають у 5 пробірок по 0,1 мл, додають по 2,5 мл реагенту №5, перемішують і вимірюють екстинцію проти дистильованої води за тих самих умов, що і екстинцію дослідної проби. За отриманими даними будують калібрувальний графік залежності екстинцій від активності фермента. Від екстинції дослідної проби А віднімають екстинцію холостої проби, отримана різниця відповідає загальній активності КФ: $E_{\text{проби А}} - E_{\text{контрольної}} = A_{\text{загальна}}$. Від екстинції проби Б віднімають екстинцію холостої проби, отримана різниця відповідає тартратстабільній активності КФ: $E_{\text{проби Б}} - E_{\text{контрольної}} = A_{\text{тартратстабільна}}$. Різниця активностей А і Б відповідає активності тартратлабільної фракції КФ:

$$A_{\text{загальна}} - A_{\text{тартратстабільна}} = A_{\text{тартратлабільна}}. \quad (1 \text{ од/л} = 16,67 \text{ нмоль/с}\cdot\text{л}).$$

2.2.4. *Методика визначення концентрації Кальцію* (“Simko Ltd”, Львів, Україна). Принцип методу: Са утворює в нейтральному середовищі з барвником арсеназо ІІІ комплекс синього кольору, який визначають фотометрично при довжині 590–650 нм. Забарвлення стабільне.

Хід визначення. До 4 мл робочого реагенту для визначення Са прибавляють 0,05 мл (50 мкл) досліджуваної проби (сироватки). Суміш перемішують. Одночасно ставлять також калібрувальну пробу (4 мл робочого реагенту + 50 мкл калібрувального розчину). Витримують 5-10 хв. при кімнатній температурі і колориметрують при довжині хвилі 590-650 нм на

ФЕКУ проти контролю в кюветі шириною 10 мм. Контроль: до 4 мл реагенту прибавляють 0,05 мл дистильованої води. Вміст Са розраховують за формулою:

$$\text{концентрація Са (ммоль/л)} = E_{\text{досл.}} \times 2,5 \text{ ммоль/л} / E_{\text{станд.}},$$

де $E_{\text{досл.}}$ – поглинання дослідної проби;

$E_{\text{станд.}}$ – поглинання стандартного зразка з концентрацією 2,5 ммоль/л.

Діапазон вимірювань від 0,5 до 3,5 ммоль/л.

2.2.5. Методика визначення концентрації йонізованого Кальцію [301].

Принцип методу: комплексометричне титрування трилоном Б в присутності мурексиду, який в точці еквівалентності змінює забарвлення з рожевого в бузково-фіолетове.

Хід визначення. До 1,0 мл досліджуваної проби (плазми крові), поміщеної в конічну колбу ємністю 50 мл додають приблизно 10 мл бідистильованої води, 1,0 мл 2 М розчину NaOH, індикатор мурексид (у суміші з NaCl 1:100) і титрують за допомогою мікробюретки до переходу забарвлення з рожевого в бузково-фіолетове. Концентрацію Ca^{2+} розраховують за формулою:

$$\text{концентрація } \text{Ca}^{2+}(\text{ммоль/л}) = V_{\text{ТрБ}} \times 0,005 \times 2 / V_{\text{проби}},$$

де $V_{\text{ТрБ}}$ – об'єм розчину трилону Б, мл;

$V_{\text{проби}}$ – об'єм плазми крові, мл.

2.2.6. Методика визначення концентрації неорганічного фосфату ("Simko Ltd", Львів, Україна).

Принцип методу: неорганічний фосфат реагує з амоній молібдатом з утворенням фосфомолібдатного комплексу, який має максимум поглинання при довжині хвилі 340 нм, величина якого пропорційна концентрації неорганічного фосфату.

Хід визначення. До 0,1 мл (100 мкл) досліджуваної проби (плазми крові) прибавляють 3,0 мл молібденового реактиву. Суміш перемішують. Витримують 20 хв. при кімнатній температурі і колориметрують при довжині хвилі 340 нм

на ФЕКу. Аналогічно обробляють і стандартний розчин фосфату. Контроль: до 0,1 мл дистильованої води прибавляють 3,0 мл реагенту. Забарвлення стабільне протягом не менше 60 хв. Вміст фосфату неорганічного розраховують за формулою:

$$\text{Концентрація Р (мкг/мл)} = E_{\text{досл.}} \times 50 \text{ мкг/мл} / E_{\text{станд.}},$$

де, $E_{\text{досл.}}$ – поглинання дослідної проби;

$E_{\text{станд.}}$ – поглинання стандартного зразка з концентрацією 50 мкг/мл.

2.2.6. Методика визначення концентрації Магнію (“Lachema”, Брно, Чехія). Принцип методу: В лужному середовищі 1-(2-оксіазо)-2-нафтол-3-(2,4-диметил)-карбоксанілід (Магон) реагує з іонами Mg^{2+} з утворенням комплексу червоного кольору, який має максимум поглинання при довжині хвилі 505 нм, величина якого пропорційна концентрації неорганічного фосфату.

Хід визначення. Проба – змішують робочий розчин з сироваткою крові (100+1), еталон – робочий розчин з стандартом (100+1), контроль – робочий розчин з дистильованою водою (100+1). Залишають при кімнатній температурі на 15 хв. Потім, але не пізніше ніж через 60 хв., вимірюють оптичну густину проби (A_1) та еталону (A_2) проти контролю при довжині хвилі 490-520 нм на ФЕКу проти контролю в кюветі шириною 10 мм при температурі в інтервалі 15 – 25°C. Вміст Mg розраховують за формулою:

$$\text{концентрація Mg (ммоль/л)} = 0,823 \times A_1 / A_2,$$

де A_1 – поглинання, відповідно, дослідної проби;

A_2 – поглинання еталону з концентрацією 0,823 ммоль/л.

Діапазон вимірювань від 0,34 до 3,5 ммоль/л.

2.2.7. *Визначення концентрації кальцитоніну* (“Иммунология-ELISA”, DRO USA). Принцип методу: Даний набір призначений для кількісного вимірювання кальцитоніну в сироватці *in vitro*; є двостадійним ELISA для вимірювання біологічного інтактного ланцюга 32-х амінокислот кальцитоніну. Він використовує два різні мишачі моноклональні антитіла до кальцитоніну, що специфічні до молекули кальцитоніну на чарунці мікропланшету. Одне антитіло зв’язується тільки з кальцитоніном 11-23 і це антитіло є біотинальне. Інше антитіло зв’язується тільки з кальцитоніном 21-32 і є міченим пероксидазою для визначення. В цьому аналізі калібратори, контролі або зразки одночасно інкубуються з ензимо-міченим антитілом та біотин-парним антитілом в стрептавідин-щепленій чарунці мікропланшету. Таким чином, кальцитонін в зразку буде в “сєдвічі” між двома антитілами. В кінці інкубації мікрочарунки промиваються для видалення незв’язаного вмісту і щеплений ензим інкубується із субстратом, ТМВ. Потім додається кислий стоп-розчин для зупинки реакції і з’являється жовте забарвлення, інтенсивність якого прямо пропорційна кількості кальцитоніну в зразку. Визначається кількість трансформованного ферментом субстрату при двох довжинах хвиль вимірювання 450 і 405 нм. Будується крива одиниць абсорбції проти концентрації, використовуючи результати, отримані для калібраторів. Концентрація кальцитоніну в контролі і зразках визначається на кривій.

2.2.8. *Визначення концентрації ПТГ* (“ACTIVE I-PTH”, DSL USA). Принцип методу: Даний набір містить матеріали для кількісного вимірювання інтактного ПТГ в сироватці чи плазмі *in vitro*, використовує ферментно-підсилений “двоступеневий” сандвіч-тип імунологічного аналізу. При проведенні аналізу стандарти, контролі і зразки інкубуються з біотинілірваними антитілами до анти-паратиреоїдного гормону певної специфічності в мікропланшетних чарунках, вкритих афінно-очищеними антитілами з певною унікальною специфічністю епітопа (ділянка молекули антигена, що з’єднується з антитілом). Після інкубації і промивання чарунки обробляються стрептавідином міченим пероксидазою. Після другої інкубації і

стадії промивання чарунки інкубуються із субстратом ТБМ. Потім додають стоп-розчин кислоти і визначається кількість трансформованного ферментом субстрату при двох довжинах хвиль вимірюваннях 450 і 620 нм. Виміряне поглинання прямо пропорційне концентрації наявного ПТГ. Стандарти використовуються для побудови точок на стандартній кривій поглинання, за якою можуть бути розраховані невідомі концентрації ПТГ.

2.3. Визначення макро- та мікроелементного складу стегнових кісток атомно-абсорбційним методом

Аналіз вмісту макроелементів Ca та Mg, мікроелементів Zn і Cu, а також токсичного елемента Cd проводили у лабораторії на базі Центру біоелементології ІФНМУ (Свідоцтво про атестацію № 037/14). Золю стегнових кісток готували за методикою Бабенка О. Г., 1991 [302]. Для цього при забиранні проб вживали всіх заходів обережності, щоб запобігти потраплянню мікроелементів у пробу з можливим забрудненням. Інструменти і посуд старанно вимивали дистильованою і бідистильованою водою. Узяті для аналізу стегнові кістки ретельно очищували від м'яких тканин та промивали бідистильованою водою. Пробу поміщували в порцелянові тиглі з непошкодженим глазурованим шаром внутрішньої поверхні (щоб запобігти реакції карбонатів лужних металів із силікатами посудини). Тиглі попередньо доводили до сталої маси. Для визначення сирової маси тиглі з пробною зважували на аналітичних терезах ВЛА з точністю до 10^{-6} г. Наважки для озолення підсушували в термостаті при температурі 150°C , а потім обвуглювали в муфельній печі при 300°C , уважно спостерігаючи за ходом процесу розкладу і не допускаючи горіння. Потім проводили мінералізацію у муфелі при температурі 450°C до повного позбавлення золи домішок вугілля (метод сухого озолення). Мінералізація рахувалася закінченою, коли зола ставала білою або

злегка забарвленою без обвуглених часток. Після озолення зважували охолоджені тиглі зі золою і визначали вихід золи. Одержану золу знімали неметалевим шпателем, зберігали в малих щільно закритих пробірках.

Підготовка проб для аналізу: 0,05 г золи розчиняли в тиглі при нагріванні в 10 % нітратній кислоті та кількісно переносили у мірну колбу ємністю 25 см³, доводили об'єм бідистильованою водою до мітки.

Проведення вимірювань: розпилюючи в полум'ї стандартну пробу, встановлюють показники приладу на нуль. Потім в порядку зростання концентрації замірюють абсорбцію стандартних зразків (калібрувальні графіки в інтервалі вимірюваних концентрацій елементів будували за допомогою стандартних проб розчинів солей (ICOPM-23-27)). На атомно-абсорбційному спектрофотометрі С-115ПК визначали концентрацію елементів-металів Ca, Mg, Zn, Cu та Cd з атомізацією в повітряно-ацетиленовому полум'ї. Аналітичні параметри вибирали, спираючись на дані літератури та експериментальні уточнення [145, 303]: тиск 0,4 кг/см³ і 20 мм вод. ст.; температура полум'я 2250°C, довжина хвилі: Ca – 495,5 нм, Mg – 285,2 нм, Zn – 213,9 нм, Cu – 324,7 нм та Cd – 228,8 нм. Комп'ютерна система приладу розраховує концентрації макро- та мікроелементів в досліджуваних розчинах за значенням величини абсорбції.

2.4. Гістологічні дослідження структури КТ та денситометричне визначення МЩКТ досліджуваних тварин

Для гістологічних та денситометричних досліджень виділені стегові кістки ретельно очищували від м'яких тканин. З метою виготовлення гістологічних зрізів очищені стегові кістки розтинали на шматочки, фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну. Декальцинацію здійснювали у 10% розчині нітратної кислоти на 5% формаліні з додаванням калію ацетату з розрахунку 5 г на 100 мл кислотного-формалінового розчину (за

Б. А. Віленсоном, 1950). Зневоднення проводили у розчинах етилового спирту зростаючої концентрації, заливали у парафін. Зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином [261].

Мікрофотографування проводили за допомогою мікроскопа Люмам Р8, мікрофотонасадки МФН-10 (гомаль 1,7), перехідного оптичного пристрою Optem 257010, цифрової камера Nikon Coolpix 5400 (оптична система 1) та мікроскопа Axioskop, цифрової камера Tucsen TCA-10.0-N, програмного забезпечення IS-capture (V. 1.0) (оптична система 2). Збільшення на мікрофотографіях 13x9 (см) визначали за допомогою тестового зразка "МИРА" (ГК 7.216.028-01, виробництво НДІ "Квант"). Реальне збільшення на мікрофотографіях для першої оптичної системи складає, відповідно, для об'єктива x10 – x140, для об'єктива x20 – x280, для об'єктива x40 – x560; для другої оптичної системи – для об'єктива x10 – x215, для об'єктива x20 – x430, для об'єктива x40 – x860.

Структурно-функціональний стан КТ досліджували за допомогою рентгенівської денситометрії стегнових кісток дослідних тварин на апараті KUNTCERD-701. Для оцінки стану КТ використовували еталонну рентгенівську денситометрію. Цей метод базується на оцінці поглинання рентгенівських променів кісткою при проведенні рентгенографії з використанням стандартизованої плівки. Стандартом денситометричних значень є алюмінієвий клин, що складається з 9 сходинок, кожна по 0,5 мм (від 2 до 7 мм товщиною). Отвір денситометра розміром 4x8 мм. Відомо, що 1 мм алюмінієвої пластинки відповідає 130 мг/мм³. Щоб виявити оптичну щільність КТ робили одночасно на одній плівці знімок алюмінієвого еталону та кісток тварин. Тоді криві поглинання і розсіювання рентгенівських променів будуть такі у мінеральній фазі КТ, як у алюмінієвого еталону. Оскільки абсолютні значення МЦКТ людини і тварин відрізняються [220], для дослідження стегнових кісток піддослідних тварин використали стандартні алюмінієві різноважки, товщину яких вимірювали

штангенциркулем, визначили оптичну щільність та склали еталонну денситометричну шкалу (табл. 2.3).

Таблиця 2.3

Еталонна денситометрична шкала

Вид різноважки, мг	Товщина, мм	Густина, мг/мм ³	Середня відносна оптична щільність, г/см ²
500	1,175	152,75	031,7
200	0,550	71,50	022,3
50	0,315	40,95	014,7
20	0,150	19,50	008,7

Рентгенограму алюмінієвих еталонів та очищених від м'яких тканин стегнових кісток тварин проводили за таких параметрів навантаження на рентгенівську трубку: 44 мВ, 25 мА та 0,020 сек – час експозиції. Опісля скануванням рентгенівського зображення знімали показники МЩКТ на денситометрі KUNTCERD-701, який оцінює щільність кортикальної та трабекулярної кістки та трансформує отримані значення в одиниці відносної оптичної щільності. За еталонною денситометричною шкалою (щільність різноважок) реєстрували справжні значення щільності кісток тварин всіх дослідних груп та інтактних. Застосування денситометричного еталона дало змогу мінімізувати варіації при визначеннях щільності кортикальної та трабекулярної КТ. Досліджували і аналізували BMD (bone mineral density) – МЩКТ в г/см² проекційної густини.

2.5. Кількісний аналіз результатів дослідження із статистичною обробкою даних

Після закінчення експериментальної частини роботи та збору результатів досліджень всі отримані кількісні дані були перевірені на тип розподілу з допомогою тесту Колмогорова-Смірнова і Ліліфорса (Kolmogorov-Smirnov &

Lilliefors test for normality). Тип розподілу абсолютної більшості даних відповідав нормальному закону Гауса [257]. Тому для обробки представлених даних та оцінки достовірності різниці даних в групах порівняння нами було обрано методи параметричної статистики, а саме середнє арифметичне і середнє квадратичне (стандартне) відхилення ($M \pm \sigma$) та відповідний t-тест (критерій Ст'юдента). Стандартне відхилення відображає дисперсію (σ^2) отриманих даних, є мірою їх варіабельності і вказує на однорідність вибірки (чим менше σ , тим менший діапазон варіації, а отже більш однорідні дані). Розраховували коефіцієнти варіації величин, що досліджуються [258]. Для оцінки ступеня взаємозв'язку досліджуваних показників у межах кожної групи тварин розраховували кореляційні матриці за методом Пірсона (Pearson correlation coefficient – r). Статистичну обробку отриманих результатів проведено на персональному комп'ютері за допомогою ліцензійних програм "Microsoft Excel" і "Statistica". Оцінювали середні значення (M), їх похибки (m), коефіцієнти кореляції (r) і вірогідність статистичних показників (p -value). Результати вважалися достовірними, якщо $p < 0,05$ – оскільки в такому разі з ймовірністю безпомилкового прогнозу у 95% різниця даних достовірна (межа статистичної вагомості $p = 0,05$).

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Роздільний та комбінований вплив кадмію хлориду та натрію нітриту на метаболічні процеси та структуру кісткової тканини

3.1.1. Вплив кадмію хлориду на метаболічні процеси в КТ. Для з'ясування біохімічних механізмів токсичного впливу йонів Cd^{2+} на кістки тварин проведено дослідження маркерів кісткового метаболізму в плазмі крові та рівень кальційрегулюючих гормонів у динаміці експериментальної інтоксикації CdCl_2 .

Проведені нами дослідження показують різнонапрямлений характер змін концентрації одного з основних макроелементів мінерального матриксу кістки – Кальцію (табл. 3.1). Зокрема, у тварин 1-ої дослідної групи на 1-шу добу по завершенні введення CdCl_2 концентрація загального Са плазми достовірно знижувалася на 16,9 %, у наступні періоди (14-та та 28-ма доби) – поступово підвищувалася, перевищуючи значення інтактних на 25,0–38,0 % відповідно ($p < 0,005-0,001$).

Як відомо [129, 146, 259], Кальцій в плазмі крові знаходиться у вигляді трьох молекулярних форм: в йонізованому стані Ca^{2+} (найбільш активний); у зв'язаному з білками (переважно з альбумінами) та у стані малодисоційованих солей з цитратами і фосфатами. У плазмі крові тварин дослідних груп у ранньому періоді інтоксикації спостерігалось зниження концентрації Ca^{2+} на 15,0–23,8 % з достовірним зростанням на 28-му добу на 22,2 %, порівняно з інтактною групою тварин. Одночасно, на 1-шу добу концентрація зв'язаного Кальцію плазми крові достовірно не відрізнялася від показників інтактних, а на 14-ту та 28-му доби збільшувалась відповідно на 40,7 % та 42,9 % ($p < 0,001$).

Таблиця 3.1

Вміст різних форм Кальцію, Магнію та неорганічного фосфату у плазмі крові щурів-самців, що піддавались кадмієвій інтоксикації ($M \pm m$)

Досліджувані показники (концентрація, ммоль/л)	Групи тварин			
	контрольна (інтактні) n=18	1-ша (уражені CdCl ₂)		
		1-ша доба (n=13)	14-та доба (n=11)	28-ма доба (n=11)
загального Са	2,34 ± 0,08	1,94 ± 0,13 ***	2,91 ± 0,21 *	3,23 ± 0,18 **
йонізованого Са ²⁺	0,68 ± 0,02	0,52 ± 0,03 ***	0,58 ± 0,04 *	0,83 ± 0,05 *
Са _{зв'язаного}	1,66 ± 0,08	1,43 ± 0,14 *	2,33 ± 0,14 **	2,37 ± 0,19 **
неорганічного фосфату	1,33 ± 0,05	1,39 ± 0,06	1,76 ± 0,12 ***	1,69 ± 0,13 *
гідроксипроліну	28,31 ± 2,79	52,38 ± 2,19 *	60,54 ± 4,78 **	70,53 ± 3,14 **
Магнію	0,72 ± 0,08	1,66 ± 0,19 **	0,42 ± 0,07 ***	0,47 ± 0,05 **

Примітка. Тут і далі : * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ – ступінь вірогідних змін порівняно з показниками інтактної групи тварин; # – $p < 0,05$ – ступінь вірогідних змін між 2-ою та 1-ою дослідними групами тварин.

Рівень Са в організмі перебуває під контролем гормонів щитоподібної та паращитоподібних залоз [134, 153, 268]. У зв'язку з цим проведено дослідження рівня кальцитоніну та ПТГ за умов інтоксикації CdCl₂ (рис. 3.1).

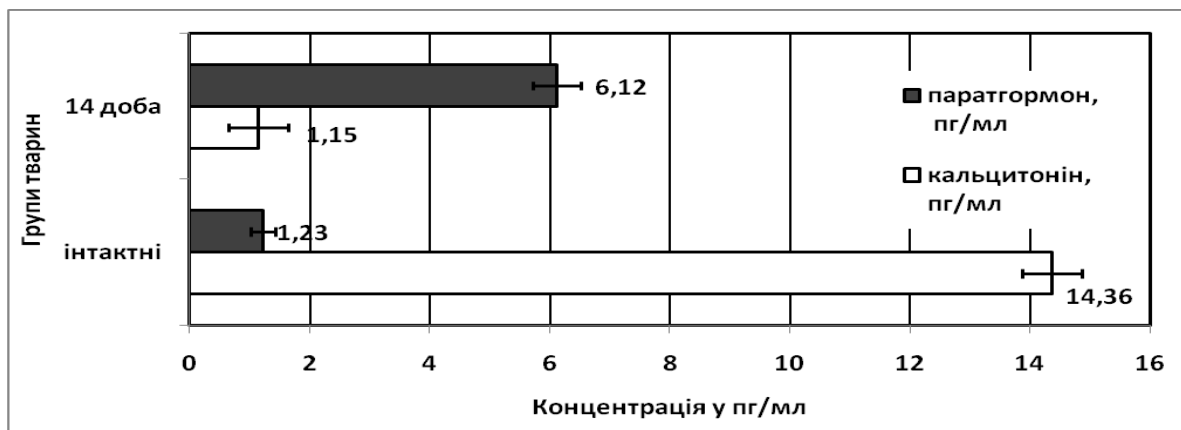


Рис. 3.1. Концентрація кальцитоніну та ПТГ у крові тварин дослідних груп на 14-у добу після введення CdCl₂, пг/мл.

На 14-у добу рівень кальцитоніну був нижчим у 12,5 разу, а ПТГ у 5,0 разу вищим за показники інтактних тварин. Такі результати з одного боку пояснюють зміни в концентрації Ca в плазмі крові експериментальних тварин, з іншого боку підтверджуються результатами досліджень стосовно цитотоксичної дії йонів Cd^{2+} на щитоподібну залозу (Козловская А. Г., 1990; Полякова Н. А., 1991; Hammouda F., 2008).

Обмін Ca тісно пов'язаний з обміном Магнію та Фосфору. Як видно із даних табл. 3.1, динаміка змін концентрації Mg у плазмі крові мала протилежний характер до зміни вмісту Ca, що підтверджує тезу про те, що ці два макроелементи є фізіологічними антагоністами. Так, на 1-шу добу концентрація Mg була вищою у 2,3 рази відносно показників інтактних тварин, у наступні періоди різко знижувалася і становила 58,0–64,9 % від рівня показників контрольної групи ($p < 0,05$ – $0,001$). Метаболічна роль Mg у КТ визначається його участю як активатора багатьох ензимів, зокрема, ЛФ і пірофосфатази, що мають безпосереднє відношення до процесів мінералізації: в активному центрі кожної з двох ідентичних субодиниць ЛФ знаходиться по два йони Zn^{2+} і одному йону Mg^{2+} [141, 148].

Дослідження нами динаміки активності ЛФ в умовах надходження Cd^{2+} (табл. 3.2) показало, що активність ензиму була найнижчою на 1-шу добу після завершення введення $CdCl_2$ – у 2,1 разу ($p < 0,001$), а потім поступово підвищувалась, у кінці спостереження залишаючись, однак, нижчою у 1,3 рази ($p < 0,005$) за показники інтактних тварин. Протилежний характер змін спостерігався в динаміці активності КФ, яка є маркером діяльності ОК, а отже кісткової резорбції: її активність достовірно перевищувала значення інтактних у 1,7–2,5 разів протягом всього періоду спостереження. Найвище значення активності КФ відзначено на 14-ту добу.

Збалансованість процесів резорбції і остеосинтезу лежать в основі ремоделювання КТ і нормального перебігу всіх метаболічних процесів у ній (Delmas P. D., 2000). Відображенням гармонії цих процесів є відношення активностей ензимів – індекс ЛФ/КФ [271].

Активність лужної та кислої фосфатаз у плазмі крові щурів-самців, що піддавались кадмієвій інтоксикації ($M \pm m$)

Досліджувані показники (активність, мкмоль/с·л)	Групи тварин			
	контрольна (інтактні) n=18	1-ша (уражені CdCl ₂)		
		1-ша доба (n=13)	14-та доба (n=11)	28-ма доба (n=11)
ЛФ	15,07 ± 0,08	7,23 ± 0,65 ***	7,72 ± 0,56 *	11,55 ± 0,85 *
КФ	0,93 ± 0,23	1,57 ± 0,06 *	2,33 ± 0,09***	2,02 ± 0,07 *
Індекс ЛФ/КФ	16,20 ± 0,31	4,61 ± 0,09 **	3,31 ± 0,16**	5,72 ± 0,08 *

За результатами наших досліджень встановлено, що індекс ЛФ/КФ протягом всього періоду спостереження був достовірно нижчим у 2,8–4,9 разів за показники інтактних тварин, а найнижчі значення спостерігались на 14-ту добу, що свідчить про переважання процесів резорбції над остеосинтезом в цей період.

За таких обставин дослідження концентрації неорганічних фосфатів у плазмі крові піддослідних тварин показало наступні зміни: на 1-шу добу цей показник достовірно не відрізнявся від показників інтактних (див. табл. 3.1). Проте, на 14-ту та 28-му доби відзначено достовірне зростання концентрації фосфатів відповідно на 32,4 % та 27,7 % відносно рівня контрольної групи.

На тлі таких змін, що спостерігаються за умов надходження йонів Cd²⁺, встановлено порушення обміну колагену – органічної матриці кістки, що підтверджується поступовим зростанням концентрації в плазмі крові ГП – маркерної амінокислоти катаболізму колагену. Зокрема, уже на 1-шу добу по завершенні введення CdCl₂ концентрація ГП в плазмі крові піддослідних тварин перевищувала значення інтактних у 1,9 разу; на 14-ту добу – у 2,1 разу, а на 28-му – у 2,5 разів.

Проведений нами кореляційний аналіз між досліджуваними показниками плазми крові тварин 1-ї групи виявив достовірні кореляційні зв'язки ($p < 0,05$). Зокрема, прямі зв'язки середньої сили встановлено між активністю ЛФ і

концентрацією загального Са та фосфатів ($r = 0,44$ та $0,34$ відповідно); активністю КФ і концентрацією загального Са, фосфатів та ГП (відповідно $r = 0,47$, $0,55$, та $0,56$). Слід відзначити зворотні зв'язки між вмістом Mg^{2+} і активністю КФ, концентрацією ГП та неорганічних фосфатів у плазмі крові (відповідно $r = -0,66$, $-0,58$, $-0,44$); між фосфатами та активністю КФ – $r = -0,58$.

Отже, результати даної серії досліджень свідчать, що під впливом йонів Cd^{2+} в плазмі крові тварин дослідних груп спостерігаються достовірні зміни показників, які вказують на порушення фосфорно-кальцієвого обміну (концентрація Ca^{2+} , зв'язаного та загального Са, фосфатів, Mg^{2+} , активності ЛФ та КФ), що має важливе значення для стану мінерального матриксу КТ, а також порушення органічного матриці кістки, зокрема колагену (рівень ГП). При цьому спостерігаються достовірні зміни зі сторони гормонів-регуляторів фосфорно-кальцієвого обміну (ПТГ та кальцитоніну).

3.1.2. Вплив натрію нітриту на метаболічні процеси в КТ. З даних літератури [10, 16, 110, 264] відомо, що головними мішенями токсичної дії нітратів і нітритів виступають кров і печінка, вони спричиняють негативний вплив на енергетичний обмін та окисно-відновні процеси в організмі, зумовлюють утворення вільних радикалів, активізують ПОЛ [11, 124], розвиток токсичного гепатозу, гемічної гіпоксії та утворення метгемоглобіну [120]. Однак, в літературі наявні поодинокі та суперечливі дані стосовно впливу цих токсикантів на КТ [17-19, 36, 216].

Проведені нами дослідження дозволили встановити суттєві порушення метаболічних процесів у кістках тварин 3-ї дослідної групи (табл. 3.3). Зокрема, спостерігалось достовірне ($p < 0,001$) зниження концентрації загального Са на 14-ту та 28-му доби експерименту – на 9,8–17,4 %. Дослідження концентрації йонізованого Ca^{2+} у плазмі тварин даної групи показало достовірне зростання її на 81,8 % на 1-шу добу, з наступним зниженням у більш віддалений період (14-та і

28-ма доби). Однак, цей показник залишався вищим відносно показників інтактних тварин на 4,6–7,5 %.

Концентрація зв'язаного Са протягом всього періоду спостереження була достовірно нижчою за показники контролю, а найнижчі значення спостерігались на 1-шу добу – 27,7 % від рівня інтактних ($p < 0,001$). Таким чином, одержані дані вказують, що за умов нітритної інтоксикації в дослідних тварин спостерігається порушення концентрації різних форм Са у плазмі крові.

Таблиця 3.3

Вміст різних форм Кальцію, Магнію та неорганічного фосфату у плазмі крові щурів-самців, що піддавались нітритній інтоксикації ($M \pm m$)

Досліджувані показники (концентрація, ммоль/л)	Групи тварин			
	контрольна (інтактні), n=18	3-тя (уражені NaNO ₂)		
		1-ша доба (n=13)	14-та доба (n=11)	28-ма доба (n=11)
загального Са	2,34 ± 0,08	2,43 ± 0,14	2,11 ± 0,09 *	1,93 ± 0,08 **
йонізованого Са ²⁺	0,68 ± 0,02	1,24 ± 0,06 **	0,71 ± 0,05 *	0,73 ± 0,04 *
Са _{зв'язаного}	1,66 ± 0,08	1,20 ± 0,06**	1,40 ± 0,11 *	1,20 ± 0,11**
неорганічного фосфату, мг/мл	1,33 ± 0,05	2,42 ± 0,23 **	1,29 ± 0,09 *	1,60 ± 0,04 *
гідроксипроліну	28,31 ± 2,79	26,67 ± 1,01	32,11 ± 3,64 *	22,31 ± 1,57 *
Магнію	0,72 ± 0,08	0,40 ± 0,05 *	0,32 ± 0,06***	0,36 ± 0,06 *

Зміни концентрації йонів Са²⁺ у плазмі крові можуть свідчити про порушення функції ендокринної системи з одного боку, з іншого – відомо, що донори NO (натрію нітрит) підвищують концентрацію Са²⁺ в міоплазмі та стимулюють пасивний транспорт катіону в міоцити [259].

Порушення гомеостазу Са може бути спричинене змінами головних регуляторів кальцієвого балансу: ПТГ, кальцитріолу та кальцитоніну [157, 158]. Дослідження нами концентрації кальцитоніну у плазмі крові показало зниження цього показника на 14-ту добу спостереження у 6,2 разу (рис. 3.2). Водночас,

рівень ПТГ зростав незначно – на 8,9 %. Як наслідок порушення кальцієвого гомеостазу у тварин може розвиватися демінералізація КТ [207, 218].

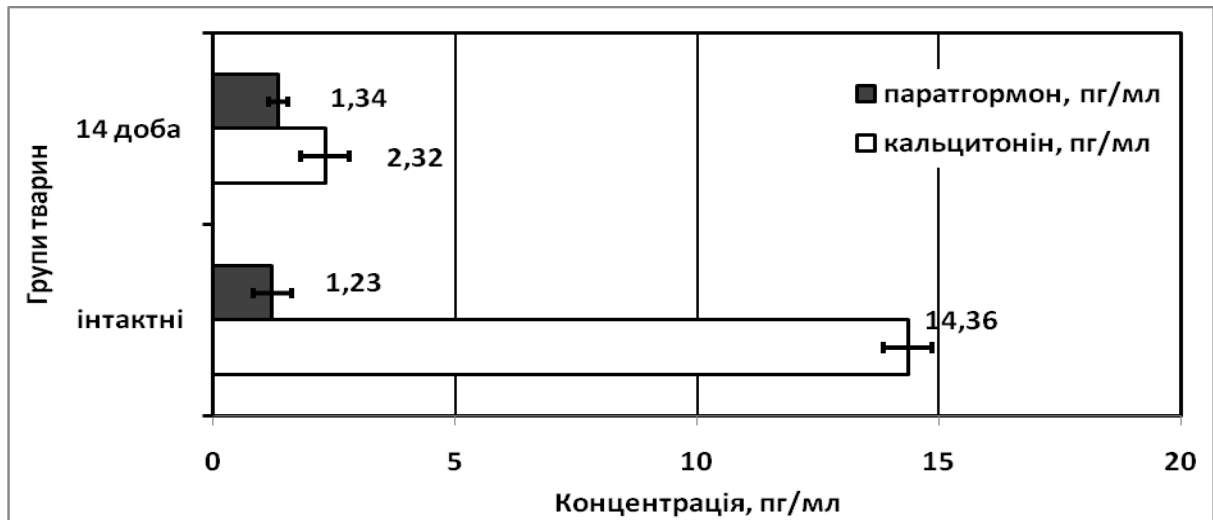


Рис. 3.2. Концентрації кальцитоніну та ПТГ у крові тварин дослідних груп на 14-у добу після введення NaNO_2 , пг/мл

КФ вважають індикаторним ензимом кісткової резорбції [141, 271]. Проведені нами дослідження її активності (табл. 3.4) показали зміни цього показника у різні періоди спостереження, порівняно з контрольними значеннями.

Таблиця 3.4

Активність лужної та кислої фосфатаз у плазмі крові щурів-самців, що піддавались нітритній інтоксикації ($M \pm m$)

Досліджувані показники (активність, мкмоль/с·л)	Групи тварин			
	контрольна (інтактні), n=18	3-тя (уражені NaNO_2)		
		1-ша доба (n=13)	14-та доба (n=11)	28-ма доба (n=11)
ЛФ	$15,07 \pm 0,08$	$11,61 \pm 1,94 \#$	$9,26 \pm 0,74 \#$	$5,90 \pm 0,56 \#$
КФ	$0,93 \pm 0,23$	$0,97 \pm 0,17$	$1,79 \pm 0,12 \#$	$0,46 \pm 0,05 \#$
Індекс ЛФ/КФ	$16,20 \pm 0,31$	$11,92 \pm 1,12 \#$	$5,18 \pm 0,72 \#$	$13,11 \pm 1,13 \#$

Зокрема, якщо на 1-шу добу активність ензиму достовірно не відрізнялася від показників інтактних (див. табл. 3.4), то на 14-ту добу активність КФ різко підвищувалась у 1,9 рази ($p < 0,05$) порівняно з інтактними тваринами. На 28-му

добу спостереження активність КФ різко знижувалась – у 3,9 разу і становила 49,5 % від рівня контрольних значень.

Дослідження активності ензиму, що стимулює остеосинтез – ЛФ [166, 230], показали достовірне зниження активності ензиму протягом всього періоду спостереження порівняно з інтактними тваринами (див. табл. 3.4). Уже на 1-шу добу активність ЛФ була достовірно нижчою ($p < 0,05$) на 23,0 % від контрольної групи. На 14-ту добу спостерігалось подальше зниження на 38,6 % ($p < 0,01$), найнижчі значення відзначено на 28-му добу після завершення введення NaNO_2 : активність ЛФ знижувалась у 2,6 рази ($p < 0,001$). За таких обставин важливим є дослідження концентрації йонів металів, які виступають в ролі активаторів ЛФ, зокрема, Mg^{2+} . Дослідження нами концентрації Mg у плазмі крові уражених NaNO_2 тварин (див. табл. 3.3) засвідчило достовірне зниження у 1,80 – 2,01 рази, найнижчі значення фіксувались на 14-ту добу – в 2,24 рази порівняно з контрольною групою тварин ($p < 0,001$). Такі дані частково можуть пояснити порушення активності ензиму в цій групі уражених тварин.

Порушення активності ЛФ в дослідних тварин супроводжувалось неоднозначними змінами концентрації неорганічного фосфату плазми крові: різке підвищення вмісту фосфатів на 1-шу добу після 10-денного надходження NaNO_2 – у 1,8 разу. У наступний період (14-та доба) концентрація фосфатів достовірно не відрізнялася від контрольних значень, а у кінці експерименту (28-ма доба) – знову підвищувалася на 19,9 %: до $49,39 \pm 3,23$ мкг/мл.

Співвідношення активностей ЛФ/КФ, яке характеризує баланс процесів остеосинтезу та резорбції кістки, достовірно знижувалось на 26,4 % уже на 1-шу добу після завершення введення NaNO_2 (див. табл. 3.4). Найнижчі значення відзначались на 14-ту добу – у 3,1 разу. У кінці експерименту спостерігалася тенденція до підвищення індексу ЛФ/КФ, зокрема, на 28-му добу він зростав, однак, залишався нижчим на 19,1 % від інтактної групи тварин.

Дослідження маркерної амінокислоти обміну колагену ГП (див. табл. 3.3) у динаміці нітритної інтоксикації показало незначне зниження на 1-шу добу з

достовірним зростанням на 14-ту добу стосовно до інтактних (на 13,4 %, $p < 0,05$); на 28-му добу концентрація ГП знижувалась на 21,2 %.

Проведений нами кореляційний аналіз між досліджуваними показниками плазми крові тварин 3-ї групи виявив достовірні сильні та середньої сили кореляційні зв'язки. Зокрема, прямий зв'язок спостерігався між концентрацією ГП і активністю КФ ($r = 0,83$), а з рівнем неорганічних фосфатів – сильний зворотній ($r = -0,84$). Також зафіксовані прямі зв'язки між активністю ЛФ і концентрацією загального Са ($r = 0,34$), неорганічних фосфатів та Mg^{2+} ($r = 0,38$ та $r = 0,36$).

Отримані результати дослідження показників фосфорно-кальцієвого обміну в плазмі крові експериментальних тварин дають підстави стверджувати, що за умов нітритної інтоксикації відбувається більшою мірою порушення мінерального матриксу КТ, що супроводжується зниженням індексу ЛФ/КФ більше, як у 3 рази на 14-ту добу спостереження. У цей період має місце значне зниження (у 6,2 рази) вмісту у плазмі крові кальцитоніну та незначне підвищення ПТГ (на 8,9 %), що призводить до активації процесів демінералізації КТ, які підтверджують показники рівня Са та фосфатів у плазмі крові. Одночасно, низькі значення концентрації ГП, які близькі до контрольних значень інтактних, не дають підстави стверджувати про значні порушення органічної основи КТ – колагенових волокон.

3.1.3. Комбінований вплив токсикантів на метаболічні процеси у КТ. У зв'язку з тим, що в реальному житті живі організми зазнають одночасного впливу декількох токсикантів [7, 42], актуальним стає вивчення поєднаної дії солей $CdCl_2$ та $NaNO_2$ на КТ. Результати експерименту наведені в табл. 3.5. В піддослідних тварин 5-ї групи виявлено глибокі порушення фосфорно-кальцієвого обміну, маркерів кісткового метаболізму та концентрації гормонів за умов десятиденного комбінованого надходження до організму щурів солей $CdCl_2$ та $NaNO_2$. Як видно з отриманих даних, концентрація загального Са в плазмі крові інтоксикованих тварин достовірно зростала і на 14-ту добу після завершення введення токсикантів становила $2,83 \pm 0,14$ ммоль/л ($p < 0,001$), що на

21,2 % перевищувало значення інтактних тварин. У віддалений період експерименту (28-ма доба) спостерігалось достовірно зниження концентрації загального Са на 11,2 % порівняно з інтактними тваринами ($p < 0,001$).

Таблиця 3.5

Вміст різних форм Кальцію, Магнію та неорганічного фосфату у плазмі крові щурів-самців, що піддавались комбінованій інтоксикації ($M \pm m$)

Досліджувані показники (концентрація, ммоль/л)	Групи тварин			
	контрольна (інтактні) n=18	5-та (уражені $CdCl_2 + NaNO_2$)		
		1-ша доба (n=7)	14-та доба (n=9)	28-ма доба (n=10)
загального Са	2,34 ± 0,08	2,68 ± 0,13 *	2,83 ± 0,14 **	2,08 ± 0,17 *
йонізованого Ca^{2+}	0,68 ± 0,02	0,43 ± 0,04 *	0,38 ± 0,02 ***	0,35 ± 0,02 **
Са _{зв'язаного}	1,66 ± 0,08	2,25 ± 0,14 *	2,31 ± 0,12 ***	1,73 ± 0,15*
неорганічного фосфату, мг/мл	1,33 ± 0,05	2,16 ± 0,24 *	1,42 ± 0,08 *	1,76 ± 0,15 *
гідроксипроліну	28,31 ± 2,79	71,43 ± 3,23 **	74,56 ± 1,39***	99,70 ± 2,94***
Магнію	0,72 ± 0,08	0,43 ± 0,02**	0,31 ± 0,03***	0,33 ± 0,033**

Концентрація Ca^{2+} у плазмі крові уражених тварин 5-ї групи протягом всього періоду спостереження знижувалась і на 28-му добу була нижчою на 48,8 % від інтактних тварин. Вивчення динаміки змін концентрації зв'язаного Са показало, що цей показник був найвищим у ранньому періоді інтоксикації – 2,25±0,14 – 2,31±0,12 ммоль/л ($p < 0,005$), відповідно на 1-шу та 14-му доби, що відповідно на 35,7–39,3 % перевищувало контрольні показники.

Дослідження гормонального фону дослідних тварин, що зазнали поєданого ураження $CdCl_2$ та $NaNO_2$, виявило суттєві відхилення концентрації кальцитоніну та ПТГ у плазмі крові порівняно з інтактними тваринами (рис. 3.3). Так, на 14-ту добу спостереження рівень ПТГ був вищий у 5,8 разу, а кальцитоніну нижчий у 12,6 разу. Відповідно, на 28-му добу рівень ПТГ

знижувався у 5,8 рази, а кальцитоніну підвищувався у 3,1 рази, що пояснює зміни концентрації Кальцію та фосфатів у плазмі крові у відповідні періоди.

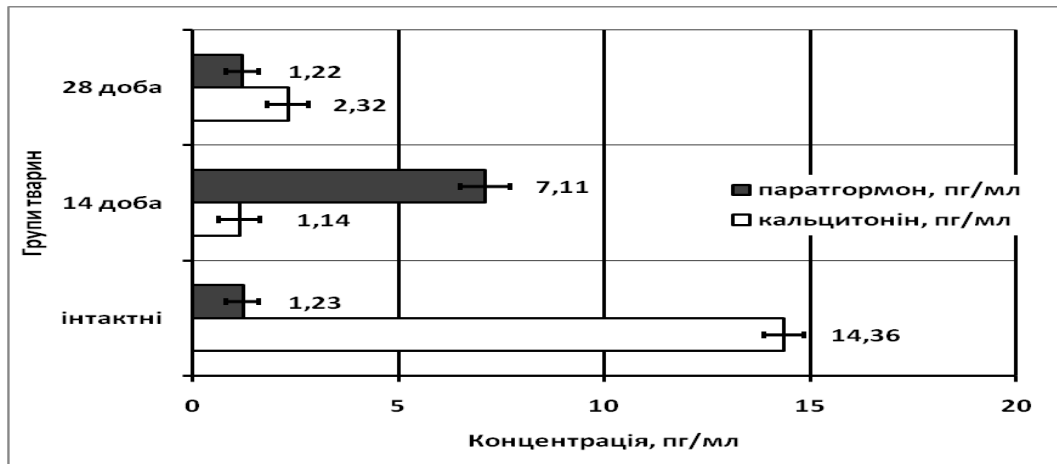


Рис. 3.3. Концентрація кальцитоніну та ПТГ у крові тварин дослідних груп на 14-ту та 28-му доби після введення CdCl_2 та NaNO_2 , пг/мл

Стосовно рівня фосфатів, то слід відзначити (див. табл. 3.5), що найвищою концентрація фосфатів була на 1-у добу – $66,87 \pm 7,55$ мкг/мл, при $41,17 \pm 1,58$ мкг/мл у інтактних (на 62,4 % більше). Дослідження нами активності фосфатаз дозволило встановити суттєве зниження активності ЛФ протягом всього періоду спостереження – від 28,1 % на 1-шу добу і до 52,9 % на 28-му добу (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

Активність лужної та кислої фосфатаз у плазмі крові щурів-самців, що піддавались нітритній інтоксикації (n=26, M ± m)

Досліджувані показники (активність, мкмоль/с·л)	Групи тварин			
	контрольна (інтактні) n=18	5-а (уражені $\text{CdCl}_2 + \text{NaNO}_2$)		
		1 доба (n=7)	14 доба (n=9)	28 доба (n=10)
ЛФ	$15,07 \pm 0,08$	$10,84 \pm 2,28 *$	$9,30 \pm 1,23 **$	$7,12 \pm 1,95 **$
КФ	$0,93 \pm 0,23$	$1,89 \pm 0,18 **$	$2,47 \pm 0,13 **$	$4,17 \pm 0,48 ***$
Індекс ЛФ/КФ	$16,20 \pm 0,31$	$5,77 \pm 0,21 *$	$3,76 \pm 0,28 ***$	$1,70 \pm 0,19 **$

Водночас нами відмічено зростання активності КФ (у 2,1 та 2,7 разів на 1-шу та 14-ту добу), а найвищі значення спостерігались у пізньому періоді інтоксикації – у 4,5 рази перевищували показники інтактних тварин. Зниження індексу ЛФ/КФ, який відображає співвідношення процесів кісткоутворення та резорбції, відмічено протягом всього періоду спостереження у 2,8–9,5 рази (на 1-шу добу – $5,77 \pm 0,21$, на 28-у добу – $1,70 \pm 0,19$, в інтактних тварин – $16,2 \pm 0,3$).

Співставлення активностей фосфатаз та концентрації фосфатів у плазмі крові дозволяє припустити, що рання фосфатемія пов'язана із зростанням активності КФ, яка уже на 1-шу добу у 2 рази перевищує показники інтактних ($1,88 \pm 0,18$ мкмоль/л проти $0,93 \pm 0,23$ мкмоль/л). Одночасно, зниження активності ЛФ може бути пов'язано із заміщенням Mg^{2+} у активному центрі ензиму Кадмієм, оскільки іонні радіуси двозарядних катіонів Mg^{2+} та Cd^{2+} близькі [37]. Результати дослідження концентрації Mg^{2+} у плазмі крові тварин 5-ї групи засвідчили її достовірне ($p < 0,001$) зниження відповідно від 39,8 % на 1-шу добу і до 57,2 та 53,9 % на 14-ту і 28-му доби відповідно порівняно з інтактними тваринами.

Вивчення маркера обміну колагену показало, що у тварин за умов впливу $CdCl_2$ та $NaNO_2$ спостерігалось суттєве порушення колагенової матриці, яке підтверджується стійким поступовим зростанням рівня ГП від 2,5 разів на 1-шу добу до 3,5 разів на 28-му добу. Такі зміни певною мірою можна пояснити зростанням концентрації ПТГ, який є активатором колагенази – ензиму, що каталізує гідроліз колагену.

Проведений кореляційний аналіз між досліджуваними показниками плазми крові тварин 5-ї групи виявив достовірні сильні та середньої сили кореляційні зв'язки. Зокрема, прямий зв'язок спостерігався між активністю КФ і концентрацією ГП ($r = 0,84$), а з рівнем загального Са – сильний зворотній ($r = -0,70$). Також зафіксовані зворотні зв'язки між активністю ЛФ і КФ ($r = -0,57$), а також концентрацією ГП ($r = -0,47$). Одночасно, між активністю ЛФ та загального Са – прямий ($r = 0,50$). Слід відзначити зворотні зв'язки між

концентрацією ГП та неорганічними фосфатами ($r = -0,58$), вмістом Mg^{2+} у плазмі крові ($r = -0,40$).

Таким чином, проведені дослідження вказують на те, що за умов комбінованого впливу солей $CdCl_2$ та $NaNO_2$ спостерігаються порушення як органічного матриксу (колагену), так і мінерального матриксу КТ. Про глибину цих порушень можна судити як за концентрацією ГП, так і за рівнем фосфатів, Са, активності фосфатаз та концентрації кальцитоніну та ПТГ у плазмі крові експериментальних тварин.

3.2. Макро- і мікроелементний склад, мінеральна щільність кісткової тканини за умов роздільної та комбінованої дії досліджуваних токсикантів

3.2.1. Вміст макро- та мікроелементів у стегнових кістках та їх мінеральна щільність за умов кадмієвої інтоксикації. Виходячи із того, що експериментально нами було встановлено порушення показників метаболічних процесів КТ у крові досліджуваних тварин, важливо визначити вміст основних біоелементів у стегнових кістках (табл. 3.7). Дослідження динаміки вмісту Са у золі стегнових кісток уражених Cd^{2+} щурів дозволило встановити чітку тенденцію до зниження цього показника. Зокрема, протягом всього періоду спостереження рівень Са був достовірно ($p < 0,001$) нижчим відносно показників інтактних: на 12,7 % на 1-шу добу і 20,2 % на 28-му добу. Найнижчий вміст Са у стегнових кістках щурів був зафіксований на 14-ту добу – на 24,3 % нижче значень контролю. Одночасно, вміст Mg у стегнових кістках змінювався іншим чином: зростав незначною мірою у ранньому періоді на 3,3–3,5 %, а на 28-му добу знижувався на 25,4 % ($p < 0,001$).

Дослідження важливих остеотропних мікроелементів, зокрема Zn і Cu, дозволили встановити зниження вмісту Zn на 32,3 %, Cu – на 20,8 % уже на 1-шу добу порівняно з показниками інтактних тварин. У наступні періоди (14- та

28-а доби) вміст Zn дещо підвищується, залишаючись, однак нижчим за показники інтактних на 22,3– 22,5 % ($p < 0,001$), а Cu продовжує знижуватися і в кінці експерименту його вміст стає нижчим за показники інтактних на 31,7 % ($p < 0,005$). Отже, дослідження вмісту макро- та мікроелементів у стегновій кістці щурів вказують на зменшення ступеня їх мінералізації за умов надходження в організм іонів Cd^{2+} . Отримані дані певною мірою корелюють з роботами інших науковців [117, 262, 271].

Таблиця 3.7

Вміст основних макро- та мікроелементів у стегнових кістках щурів, яких піддавали кадмієвій інтоксикації ($M \pm m$)

Досліджувані показники	Групи тварин			
	інтактні n=18	1-ша (уражені $CdCl_2$)		
		1-ша доба (n=13)	14-та доба (n=11)	28-ма доба (n=11)
Кальцій, мг/г золи	330,9±6,2	289,0 ± 3,9*	250,4 ± 6,5 * #	264,1 ± 7,7 **
Магній, мг/г золи	38,1 ± 1,4	39,4 ± 1,3	39,5 ± 2,4	28,5 ± 0,9 *
Цинк, мкг/г золи	458,6 ± 37,2	310,5 ± 23,6 **	356,6 ± 10,0 **	355,4 ± 8,1 **
Купрум, мкг/г золи	17,9 ± 0,9	14,2 ± 1,0 *	12,3 ± 0,7 *	12,4±0,98 *
Кадмій, мкг/г золи	2,10±0,26	9,58±0,29 **	19,84±1,32 ***	20,61±1,06 ***

Поряд з цим, дослідження мінерального матриксу стегнових кісток тварин, уражених йонами Cd^{2+} , підтвердило накопичення цього ВМ у мінеральній фазі КТ: вміст у стегнових кістках Cd поступово зростав і на 1-шу добу після десятиденного надходження $CdCl_2$ перевищував показники інтактних у 4,6 разів, а на 28-му добу – у 9,8 рази.

Проведене дослідження МЩКТ щурів показало, що даний показник значно знижувався протягом періоду спостереження (табл. 3.8): на 14-ту добу цей показник був нижчим на 50,8 % у епіфізах та на 52,1 % у діафізах стегнових кісток ($p < 0,001$).

Мінеральна щільність стегнових кісток щурів, яких піддавали кадмієвій інтоксикації ($M \pm m$)

Ділянка стегнової кістки	Групи тварин		
	Інтактні (n=12)	1-ша (уражені CdCl ₂)	
		14-та доба (n=6)	28-ма доба (n=6)
Діафіз (кортикальна кістка)	34,19±1,28	16,37±0,98 ***	22,00±1,42**
Епіфіз (трабекулярна кістка)	35,90±1,21	17,66±1,33 ***	23,27±1,17**
Головка	34,49±1,53	14,39±0,95 ***	21,40±1,21***
Шийка	34,74±1,40	17,37±1,40 ***	20,45±0,91 ***

На 28-му добу МЩКТ дещо підвищувалась, залишаючись, однак, нижчою за показники інтактних тварин відповідно на 35,3 % та 35,7 % ($p < 0,001$) у кінці експерименту. Аналогічно, МЩКТ у головці та шийці стегнових кісток експериментальних тварин 1-ї групи мала найнижчі значення на 14-ту добу: у головці на 58,3 %, а шийці – на 49,9 % нижче відносно показників інтактних. На 28-му добу цей показник дещо зростав, однак залишався нижчим за показники інтактних тварин на 38,0 – 41,1 %.

Отримані нами результати вказують на те, що в процесі кадмієвої інтоксикації спостерігається накопичення Cd у стегнових кістках тварин дослідних груп на тлі істотного зниження вмісту біоелементів – Ca, Mg, Zn та Cu. Такі зміни макро- та мікроелементного складу супроводжувались зниженням МЩКТ, яке найбільш виражене на 14-ту добу експерименту.

3.2.2. Вміст макро- і мікроелементів у стегнових кістках та їх мінеральна щільність за умов нітритної інтоксикації. Для розуміння механізмів розподілу біоелементів в організмі щурів дослідних груп, що піддавались дії нітритів (NaNO₂), було проведено дослідження їх вмісту у стегнових кістках (табл. 3.9). Рівень Ca у стегнових кістках уражених тварин достовірно знижувався на 26,9 %

уже на 1-шу добу після завершення введення NaNO_2 ($241,93 \pm 2,27$ мг/г золи проти $330,85 \pm 6,21$ мг/г у інтактних, $p < 0,001$).

Таблиця 3.9.
Вміст основних макро- та мікроелементів у стегнових кістках щурів, яких піддавали нітритній інтоксикації ($M \pm m$)

Досліджувані показники	Групи тварин			
	інтактні n=18	3-тя група (уражені NaNO_2)		
		1-ша доба (n=13)	14-та доба (n=11)	28-ма доба (n=11)
Кальцій, мг/г золи	$330,9 \pm 6,2$	$241,9 \pm 2,9^{**}$	$283,2 \pm 1,3^{**}$	$284,3 \pm 1,3^{**}$
Магній, мг/г золи	$38,1 \pm 1,4$	$48,1 \pm 1,6^*$	$42,0 \pm 1,6^*$	$37,3 \pm 1,1$
Цинк, мкг/г золи	$458,6 \pm 37,2$	$364,3 \pm 12,1^{**}$	$350,5 \pm 24,3^*$	$411,9 \pm 23,3^*$
Купрум, мкг/г золи	$17,9 \pm 0,9$	$10,7 \pm 1,3^{**}$	$8,7 \pm 0,6^{***}$	$3,4 \pm 0,7^{***}$
Кадмій, мкг/г золи	$2,10 \pm 0,26$	$2,18 \pm 0,38$	$2,71 \pm 0,23$	$4,44 \pm 0,58^*$

У наступні періоди вміст Ca дещо зростав, залишаючись однак достовірно нижчим ($p < 0,001$) за контрольні показники на 14,1– 14,4 %. За умов дії нітритів на організм щурів вміст Mg у стегновій кістці змінювався наступним чином: зростав на 26,1 % на 1-шу добу спостереження ($48,07 \pm 1,59$ мг/г золи, $p < 0,001$), а потім знижувався до показників інтактних тварин. Вміст остеотропних мікроелементів Cu та Zn змінювався наступним чином: рівень Zn у стегновій кістці уражених NaNO_2 тварин був нижчим за контрольні показники протягом всього періоду спостереження, зокрема, на 1-шу та 14-ту доби відмічено його достовірне зниження на 20,6– 23,6 % ($p < 0,05$). У віддаленому періоді спостерігалася тенденція до підвищення, однак вміст Zn не досягав показників інтактних тварин. Вміст Cu у стегнових кістках в уражених NaNO_2 тварин достовірно ($p < 0,001$) знижувався протягом всього періоду спостережень, а найбільшою мірою – у 5,3 разів відносно рівня інтактних на 28-му добу.

Представлені дані стосуються тільки есенціальних елементів. У зв'язку з цим становить інтерес дослідження рівня токсичного елемента Cd, який за даними літератури [33-37], належить до групи особливо небезпечних ВМ та впливає на стан КТ. Проведені дослідження виявили, що в уражених NaNO₂ тварин вміст Cd у кістках поступово зростав і на 28-му добу у 2,1 рази перевищував показники інтактних: 4,44 ± 0,58 мкг/г при 2,10±0,26 мкг/г у інтактних.

Дослідження МЦКТ різних ділянок стегнових кісток дослідних тварин виявило суттєве її зниження протягом експерименту (табл. 3.10), а найнижчі значення спостерігались на 14-у добу по завершенні введення NaNO₂.

Таблиця 3.10

Мінеральна щільність стегнових кісток щурів, яких піддавали нітритній інтоксикації (M ± m)

Ділянка стегнової кістки	Групи тварин		
	інтактні (n=12)	3-тя (уражені NaNO ₂)	
		14-ша доба (n=7)	28-ма доба (n=7)
Діафіз (кортикальна кістка)	34,19±1,28	25,25 ± 0,94 **	27,18±0,92 *
Епіфіз (трабекулярна кістка)	35,90±1,21	26,20 ± 0,79 **	29,10±0,85 *
Головка	34,49±1,53	24,74 ± 0,82 **	27,50±1,05 *
Шийка	34,74±1,40	24,94±1,12 **	26,98±1,04 *

Зокрема, мінеральна щільність діафізу та епіфізу знижувалась на 26,2 %, а головки та шийки – на 28,3 %. До кінця експерименту (28-ма доба) МЦКТ дещо збільшувалась – на 7,13–11,24 % порівняно з показниками на 14-ту добу. Однак, значення МЦКТ на 28-му добу суттєво була нижчою відносно інтактних тварин: у діафізі, епіфізі та головці – на 18,9 –20,5 %, а шийці стегнової кістки – на 22,3 %.

Таким чином, одержані результати вказують на розвиток дисмікроелементозу в досліджуваних тварин за умов нітритної інтоксикації. При цьому знижується МЦКТ за рахунок зниження вмісту основних біоелементів КТ – Ca, Mg, Zn і Cu. Найбільшою мірою процеси демінералізації проявлялися у

ранньому періоді експерименту (на 1-шу та 14-ту доби). На кінець спостереження (28-ма доба) розвивалася тенденція до часткового відновлення МЩКТ, однак, цей показники МЩКТ були нижчими, ніж в інтактних тварин.

3.2.3. Вплив комбінованої дії досліджуваних токсикантів на вміст макро- і мікроелементів у стегнових кістках та їх мінеральну щільність. Дослідження комбінованого впливу CdCl_2 і NaNO_2 на хімічний склад мінерального матриксу стегнових кісток дослідних тварин виявило тенденцію до поступової їх демінералізації, про що свідчить рівень остеотропних елементів (табл. 3.11).

Таблиця 3.11

Показники вмісту основних макро- та мікроелементів у стегнових кістках щурів, яких піддавали нітритно-кадмієвій інтоксикації ($M \pm m$)

Досліджувані показники	Групи тварин			
	Інтактні n=12	5-та (уражені CdCl_2 і NaNO_2)		
		1-ша доба (n=8)	14-та доба (n=9)	28-ма доба (n=10)
Кальцій, мг/г золи	330,9 ± 6,2	311,1 ± 4,3*	305,7 ± 3,3*	285,1 ± 3,5**
Магній, мг/г золи	38,1 ± 1,4	51,8 ± 2,1**	34,6 ± 1,8*	45,6 ± 2,5*
Цинк, мкг/г золи	458,6 ± 37,2	314,2 ± 25,1**	252,9 ± 32,8***	369,6 ± 29,3*
Купрум, мкг/г золи	17,9 ± 0,9	13,6 ± 0,7*	13,1 ± 1,2*	17,7 ± 1,1
Кадмій, мкг/г золи	2,10±0,26	8,18±0,43**	8,85±0,52**	37,08±1,02***

Зокрема, протягом всього періоду спостереження поступово зменшувався вміст Са до $285,06 \pm 3,47$ мг/г золи при $330,85 \pm 6,21$ мг/г золи у контрольній групі тварин. Динаміка вмісту Mg була іншою: на 1-шу добу – на 35,8 % ($p < 0,01$) цей показник був вищим, ніж в інтактних тварин, на 14-ту добу знижувався на 9,2 %, а на 28-му добу перевищував значення інтактних на 19,6 %. Найсуттєвіше зниження Zn та Cu відбувалося на 14-ту добу – відповідно на 44,9 % та 26,9 %. Дослідження вмісту Cd показало накопичення його в КТ

починаючи з 1-ї доби спостереження – у 3,9 рази більше, ніж в контрольній групі тварин, на завершення експерименту цей показник зростав у 17,7 разів.

Денситометричне дослідження МЩКТ різних ділянок стегнової кістки тварин, що зазнали комбінованого ураження кадмію хлоридом та натрію нітритом засвідчило (табл. 3.12), що найнижчі значення в усіх досліджуваних ділянках спостерігалось на 14-ту добу після завершення введення токсикантів. Зокрема, в цей період МЩКТ у кортикальній кістці була нижчою на 44,8 % від показників інтактних тварин, у трабекулярній – відповідно на 45,6 %.

Таблиця 3.12

Показники мінеральної щільності стегнових кісток щурів, яких піддавали нітритно-кадмієвій інтоксикації ($M \pm m$)

Ділянка стегнової кістки	Групи тварин		
	Інтактні (n=12)	14-ша доба (n=7)	28-ма доба (n=7)
Діафіз (кортикальна кістка)	34,19±1,28	18,88±1,46***	21,33±1,59***
Епіфіз (трабекулярна кістка)	35,90±1,21	19,58±1,53***	22,82±1,31***
Головка	34,49±1,53	20,33±1,53***	23,80±2,77**
Шийка	34,74±1,40	21,32±1,34**	23,55±2,59**

Аналогічна закономірність спостерігалась у головці та шийці стегнової кістки отруєних $CdCl_2$ і $NaNO_2$ щурів. На 28-у добу МЩКТ залишалася доволі низькою, хоч була достовірно вищою за показники, які фіксувались на 14-ту добу. Зокрема, у діафізах на 37,7 %, а епіфізах – на 36,4 % нижче показників інтактних тварин.

Такі дані атомно-абсорбційного та денситометричного дослідження можуть свідчити про переважання процесів остеокластичної резорбції у стегнових кістках над остеосинтезом за умов комбінованої дії $CdCl_2$ та $NaNO_2$. Порушення макро- та мікроелементного складу КТ, яке спостерігалось за умов

комбінованого впливу CdCl_2 та NaNO_2 , зумовлює структурні зміни мінерального матриксу кістки та зниження МЦКТ.

3.3. Особливості структури кісткової тканини за умов окремого та комбінованого впливу досліджуваних токсикантів

3.3.1. Гістологічне дослідження стегнових кісток за умов впливу кадмію хлориду. Введення CdCl_2 спричиняло, загалом, однотипні зміни в компактній КТ діяфізу та губчастій тканині епіфізу стегнової кістки щурів, інтенсивність яких зростала пропорційно тривалості терміну дослідження. Так, на 14-ту добу експерименту спостерігається нерівномірне стоншення компактної кістки діяфіза, яке відбувається переважно за рахунок зменшення товщини шару внутрішніх генеральних пластинок (рис. 3.4).

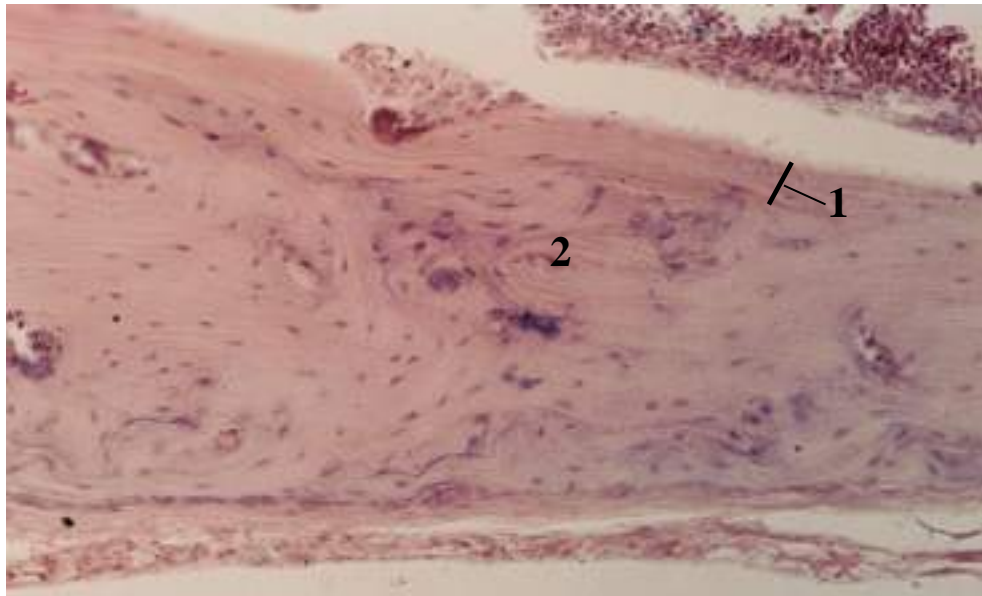


Рис. 3.4. Діяфіз стегнової кістки щура на 14-ту добу після десятиденного введення CdCl_2 :

1 – стоншення шару внутрішніх генеральних пластинок;
2 – порушення впорядкованого розміщення колагенових волокон кісткових пластинок остеонного шару та їх тинкторіальних властивостей.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 280$.

В окремих полях зору спостерігається зниження щільності КТ за рахунок розширення периваскулярних просторів (рис. 3.5.а). Можливе формування дефектів внутрішніх шарів кістки у вигляді доволі глибоких узур (рис. 3.5.б).

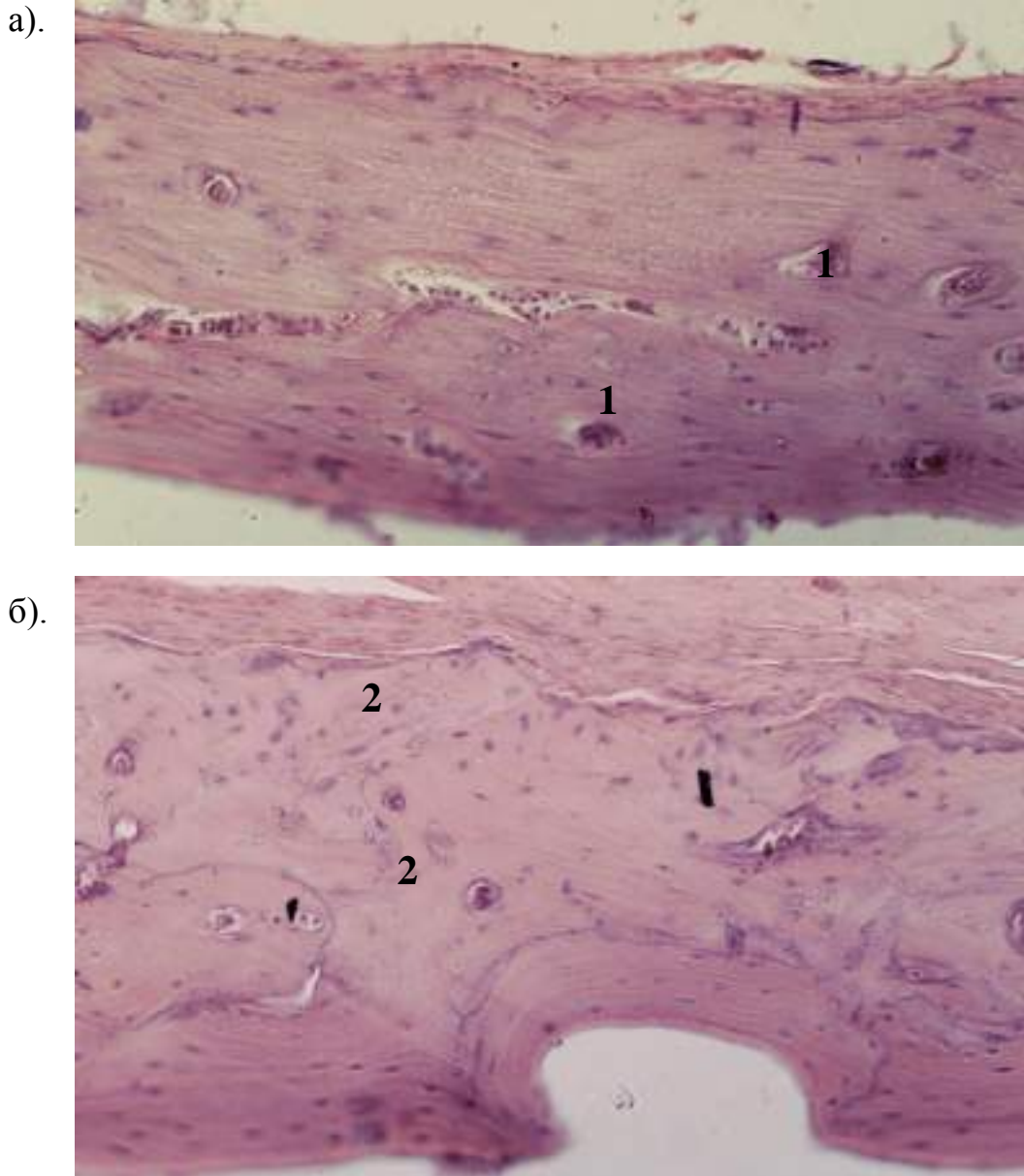


Рис. 3.5. Діафіз стегнової кістки щура на 14-ту добу після десятиденного введення CdCl_2 :

- 1 – розширення периваскулярних просторів;
- 2 – дезорганізація органічної матриці усіх шарів.

Забарвлення гематоксилином та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 280$.

При цьому, як правило, спостерігається новоутворення колагенових волокон, орієнтованих переважно радіально довкола поверхні дефекту. Поєднання процесів пошкодження та репаративної регенерації призводить до формування ділянок з хаотично орієнтованими волокнистими структурами не лише у шарі внутрішніх генеральних пластинок, але і веде до глибокої дезінтеграції остеонного шару.

Більш інтенсивно процеси резорбції КТ відбуваються в епіфізі стегнової кістки (рис. 3.6).

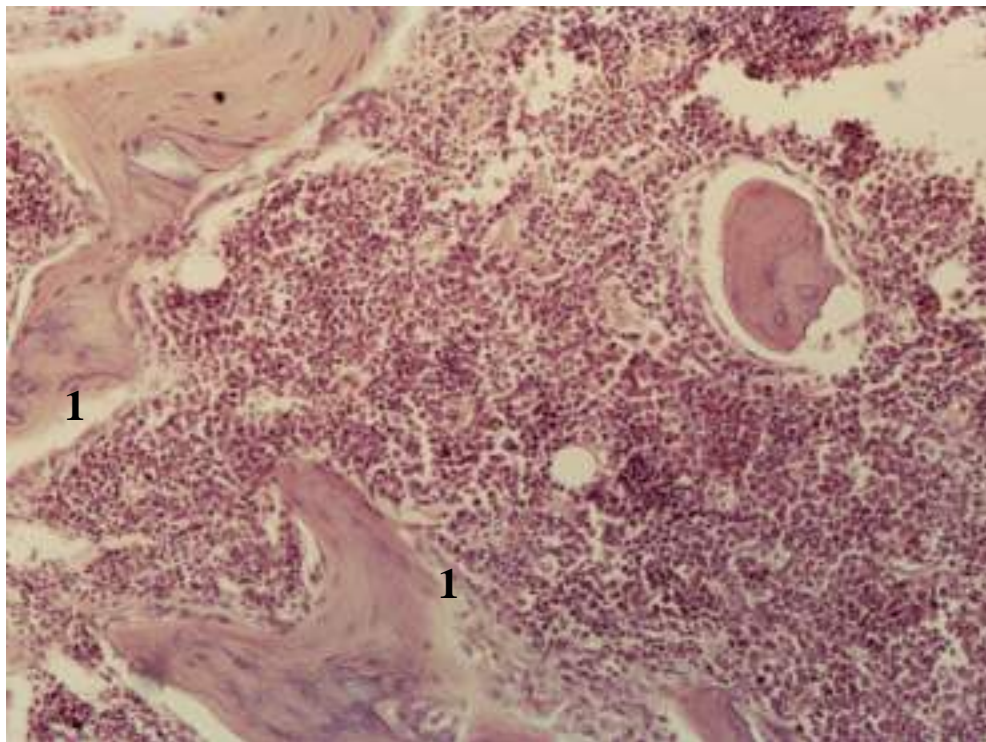


Рис. 3.6. Епіфіз стегнової кістки щура на 14-ту добу після десятиденного введення CdCl_2 :

1 – руйнування кісткових перекладин у губчастій КТ.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 280$.

Через руйнування кісткових трабекул та їх стоншення зростає площа чарунок, губчаста кістка втрачає характерний комірчастий вигляд.

На 28-му добу після десятиденного введення CdCl_2 у діафізі стегнової кістки спостерігаються доволі поліморфні зміни. Доволі часто спостерігається утворення глибоких дефектів зі сторони ендосту з явищами дисхромії

колагенових волокон (рис. 3.7), на окремих ділянках визначається зменшення відносного об'єму кісткових пластинок з одночасним зростанням кількості судин з широкими периваскулярними просторами, заповненими клітинами остеобластичного ряду, відкладанням остеїду. Глибока дезорганізація колагенової матриці компактної кістки (рис. 3.7) завершує процеси неколагеногенезу у пошкодженій кістці. На зрізах у кортикальній та трабекулярних частинах стегнової кістки спостерігаються численні узури та невідповідність і стоншення кісткових балок, які свідчать про розвиток остеопоротичних порожнин (первинний дифузний ОП).

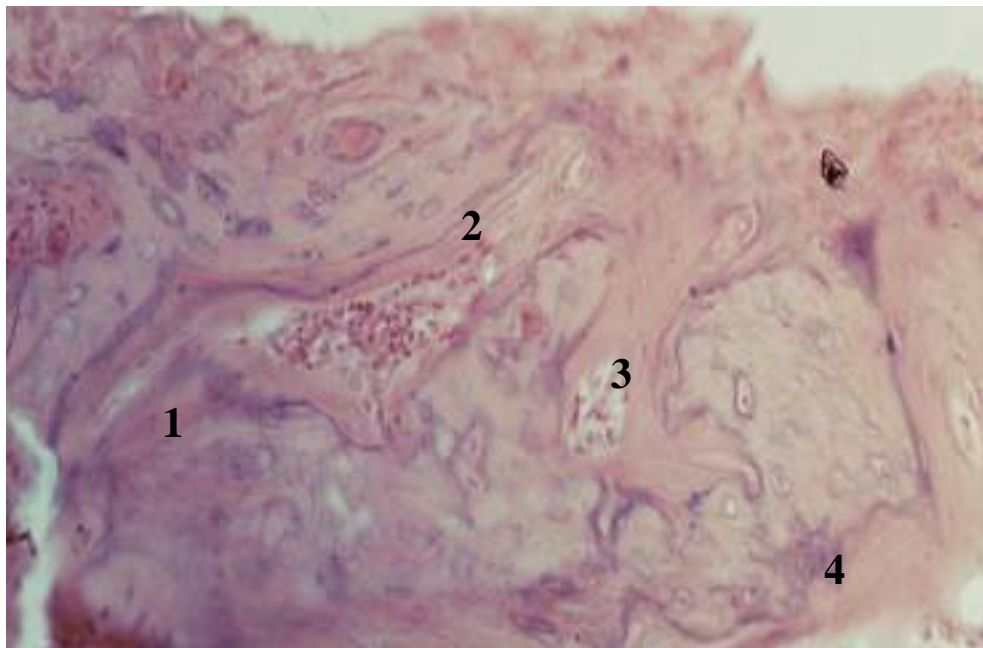


Рис. 3.7. Компактна КТ діафіза стегнової кістки щура на 28-му добу після десятиденного введення $CdCl_2$. Поліморфні морфологічні зміни:

1 – утворення глибоких дефектів ендосту з явищами дисхромії колагенових волокон;

2 – зменшення відносного об'єму кісткових пластинок;

3 – зростання кількості судин з широкими периваскулярними просторами, заповненими ОБ;

4 – дезорганізація колагенової матриці.

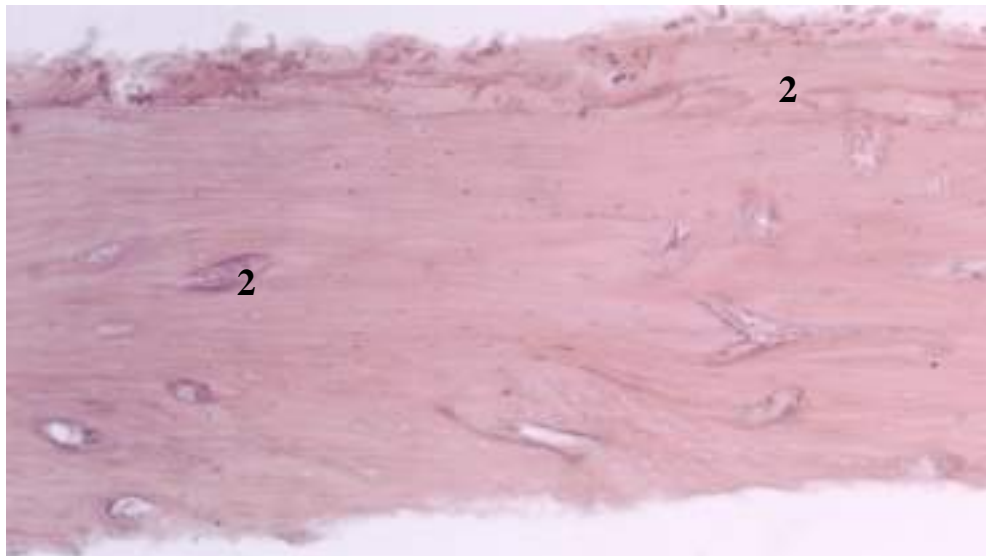
Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 280$.

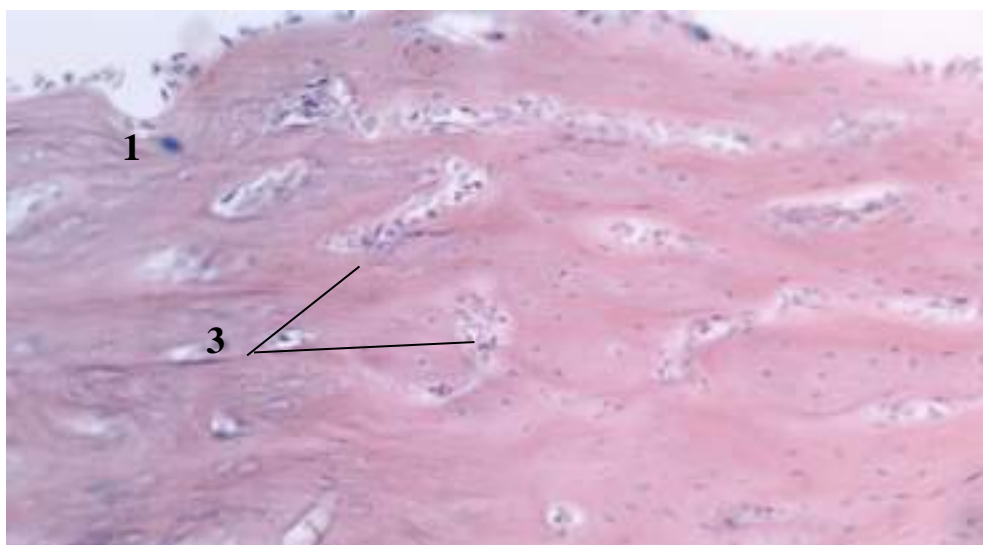
Отже, на 28-му добу спостерігаються однотипні явища, характерні для попереднього періоду спостереження, однак з'являються ділянки часткової репарації КТ. Патоморфологічна картина епіфізу на 28-му добу не виявила суттєвих відмінностей від попереднього терміну дослідження.

3.3.2. Гістологічне дослідження стегнових кісток за умов впливу натрію нітриту. На 14-ту добу після десятиденного введення NaNO_2 спостерігаються ознаки патологічної перебудови як у компактній, так і губчастій КТ. Зокрема, у діяфізі стегнової кістки щурів визначається переважно стоншення усіх шарів, зовнішній та внутрішній контури втрачають гладкість за рахунок формування неглибоких узур. Хід волокон органічної матриці стає менш впорядкованим, ніж у попередній термін дослідження, посилюються оксифілія та анізохромія колагенових волокон. Поряд із цим, зі сторони ендосту спостерігається відкладання новоутвореної КТ у вигляді гомогенних безструктурних мас із невеликою кількістю клітин остеобластного ряду (рис. 3.8 а).

а).



б)



3

Рис. 3.8. Діафіз стегнової кістки щура на 14-ту добу після введення NaNO_2 :

- 1 – стоншення кістки,
- 2 – явища замісного остеогенезу,
- 3 – остеокластична резорбція, помірно виражений ОП.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 280$.

Поряд із цим, в окремих ділянках визначаються вогнища посиленої остеокластичної резорбції, яка супроводжуються новоутворенням оссеїда у вигляді аморфних мас із наявністю великої кількості остеобластів (рис. 3.8 б).

Більш виражені зміни спостерігаються в губчастій кістковій тканині діафіза стегнової кістки (рис. 3.9).

При збереженні дрібночарункової структури губчастої кістки, визначаються ознаки перебудови кісткових балок.

Перш за все, звертають на себе увагу виражені явища остеокластичної резорбції (див. рис. 3.9). При цьому спостерігаються як лакунарний (1), так і гладкий (2) характер руйнування кісткових балок (рис. 3.10).

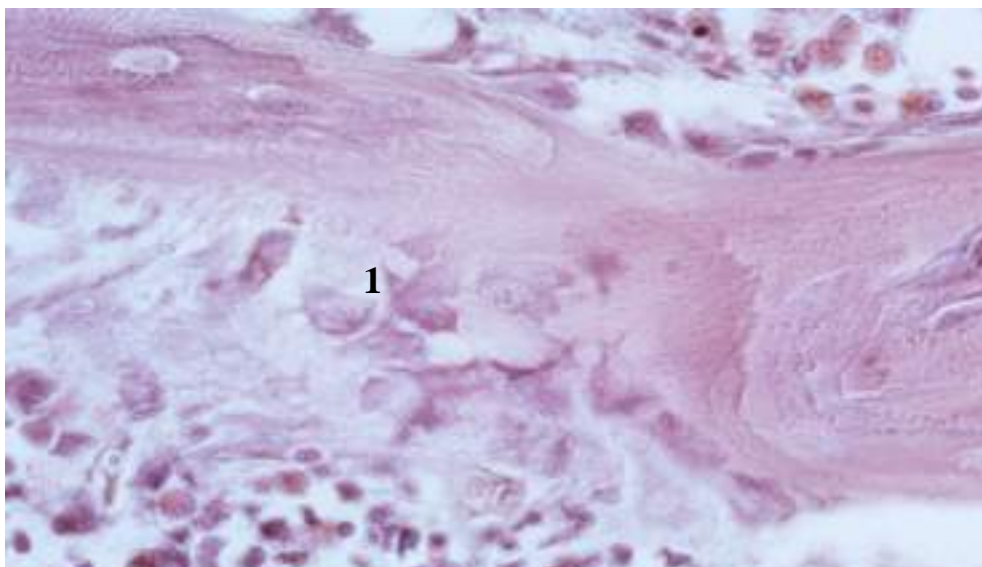


Рис. 3.9. Епіфіз стегнової кістки щура на 14-ту добу після десятиденного введення NaNO_2 :

1 - лакунарна резорбція трабекул.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 860$.

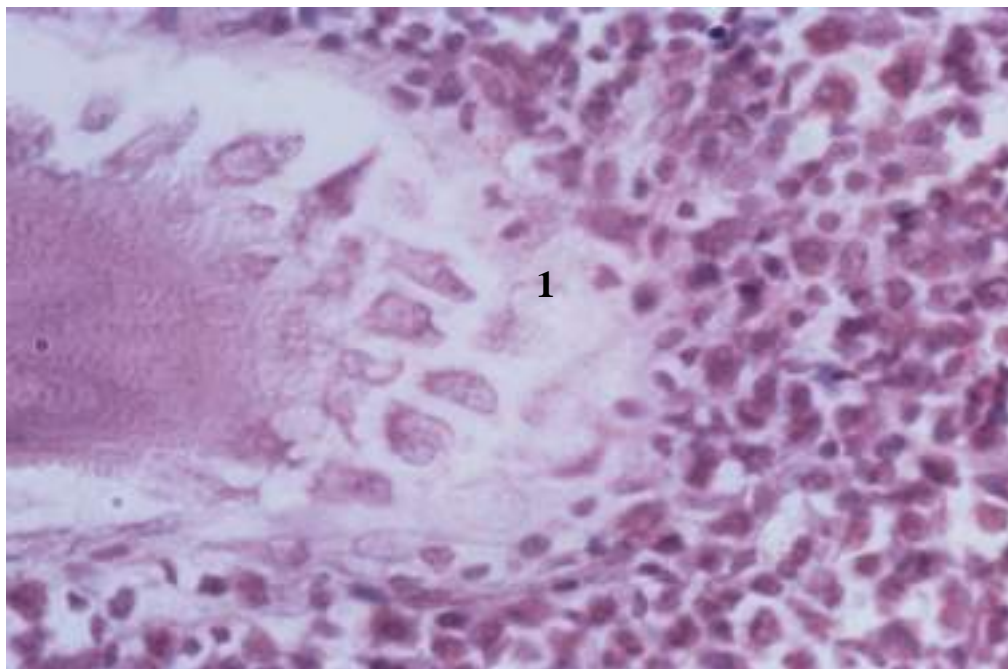


Рис. 3.10. Епіфіз стегнової кістки щура на 14-ту добу після десятиденного введення NaNO_2 :

1 - гладка резорбція трабекул губчастої кістки.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 860$.

Високу інтенсивність процесів розсмоктування засвідчує наявність великої кількості клітин остеокластів. Поряд з цим, спостерігається виражений процес новоутворення кісткової тканини (рис. 3.11). При цьому в товщі кісткових перекладин визначаються групи активних ОБ, які оточені гомогенними беструктурними масами осеоїда.

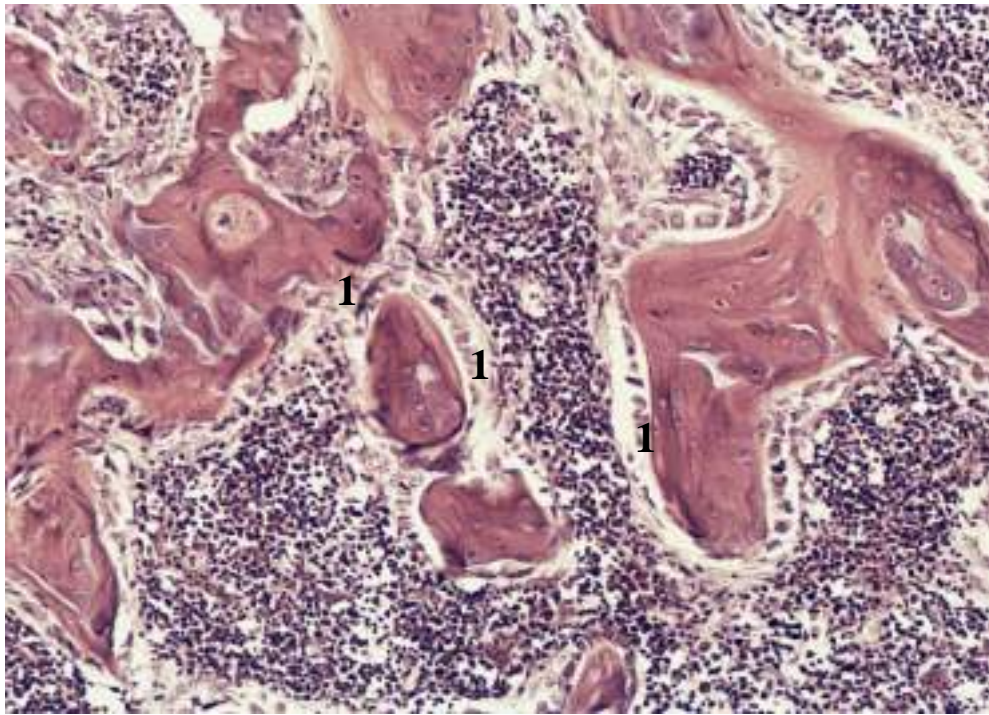


Рис. 3.11. Епіфіз стегнової кістки щура на 14-ту добу після десятиденного введення NaNO_2 :

1 - інтенсивне новоутворення кісткової тканини.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 560$.

На 28-му добу після завершення введення NaNO_2 структура компактної кістки діафіза та губчастої кістки епіфіза не зазнає суттєвих змін порівняно з інтактними тваринами. Товщина периосту та кістки однакова на усьому протязі. Межі шарів зовнішніх та внутрішніх генеральних пластинок гладкі. Волокна органічної матриці остеонного шару рівномірно сприймають барвник (рис. 3.12), характеризуються чіткою, впорядкованою структурою, спрямовані переважно вздовж довгої осі кістки. Між пластинками розміщені остецити зі сплющеними видовженими ядрами. Спостерігається незначне повнокров'я судин. Кісткові балки губчастої тканини збережені, поверхня їх гладка. Вони формують дрібночарункові структури, заповнені елементами червоного кісткового мозку



Рис. 3.12. Компактна кістка діафізу стегнової кістки щура на 14-ту добу після десятиденного введення NaNO_2 .

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 280$.

Кісткові трабекули представлені пластинками, що тісно прилягають одна до одної, між ними знаходяться ОЦ з видовженими ядрами. Поверхня балок гладка. В окремих ділянках між шаром зовнішніх генеральних пластинок та остеонним шаром спостерігаються поздовжні щілини. Колагеновий каркас остеонного шару діафіза не зазнає суттєвих змін.

Визначається незначна анізохромія волокон. Подекуди візуалізуються групи остеоцитів або поодинокі клітини різного ступеня зрілості з округлими ядрами, відділені від стінок лакун широкою прозорою смужкою. Між ними виявляються гомогенні маси оксифільного оссеоїду. Судини кісткових каналців переважно повнокровні (див. рис. 3.12).

Кісткові балки губчастої речовини збережені (рис. 3.13), поверхня їх гладка, однак доволі часто визначаються поздовжні щілини між пучками волокон. Кістковомозкові порожнини дрібні, заповнені червоним кістковим мозком. Ознак надмірної активності ОБ та ОК не спостерігається. Товщина периосту однакова. Зовнішній шар генеральних пластинок представлений концентричними прошарками колагенових волокон, між якими знаходиться невелика кількість ОЦ. Волокна органічної матриці рівномірно сприймають барвник.

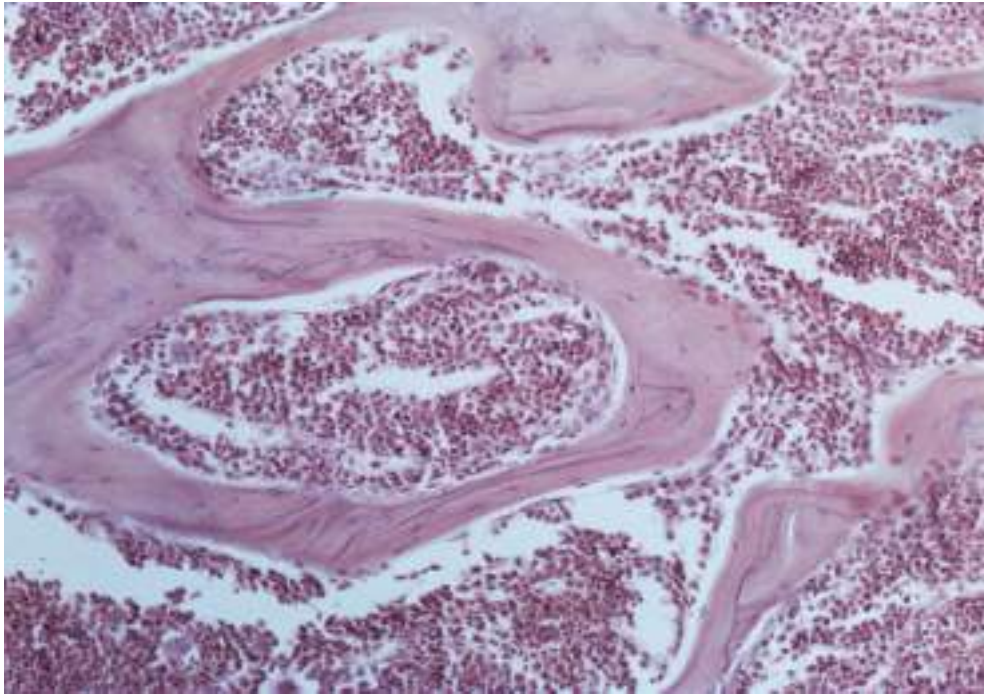


Рис. 3.13. Губчаста кістка епіфізу стегнової кістки щура на 28-му добу після десятиденного введення NaNO_2 .

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 280$.

Гістологічне дослідження стегнових кісток тварин, уражених нітритом натрію, на 28-му добу після введення токсиканту виявило, що структура компактної кісткової тканини діафіза та губчастої епіфіза суттєво не відрізнялася від нормальної.

3.3.3. Вплив комбінованої дії досліджуваних токсикантів на структуру КТ. На 14-ту добу після десятиденної інтоксикації тварин дослідних груп CdCl_2 і NaNO_2 у компактній КТ діафіза стегнових кісток визначається порушення структурної організації усіх шарів, яке проявляється дезорганізацією колагенових волокон органічної матриці та впорядкованого розміщення кісткових пластинок. Товщина периосту та ендоосту в ділянці діафізу нерівномірна. Границя між шаром зовнішніх генеральних пластинок та окістям нерівна, визначаються поверхневі узури. В остеонному шарі спостерігаються явища остеопору з наявністю множинних порожнин, заповнених сполучною тканиною, ОК та ОБ (рис. 3.14).

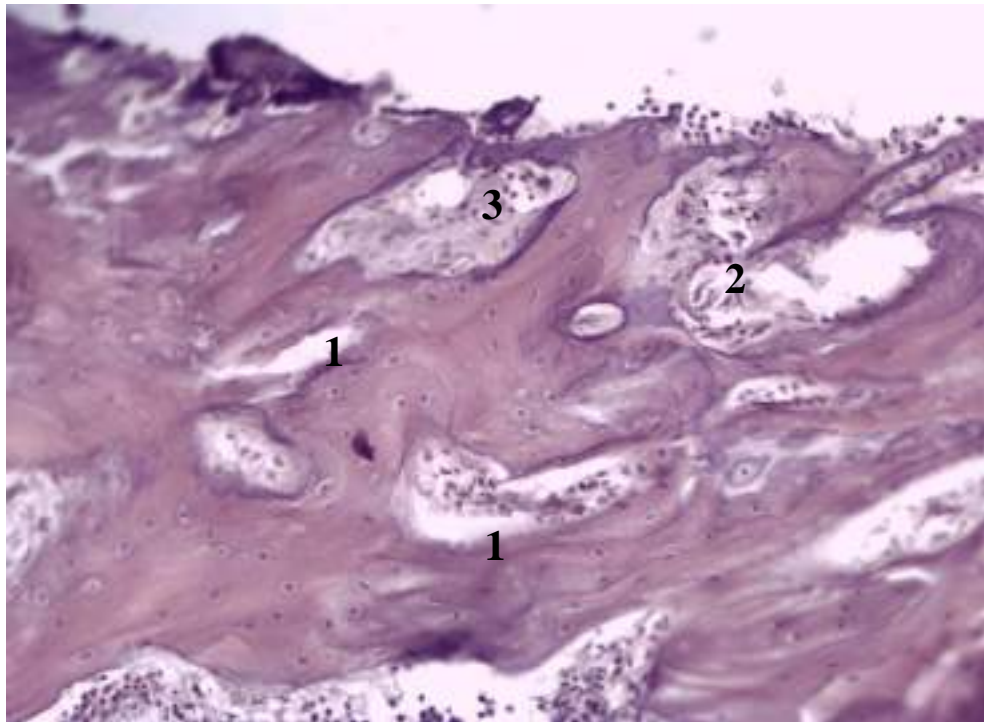


Рис. 3.14. Компактна КТ діафіза стегнової кістки щура на 14-ту добу після десятиденного введення CdCl_2 і NaNO_2 :

1 – остеопоротична порожнина;

2 – остеобласти;

3 – остеокласт.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 560$.

Кісткові канали містять повнокровні судини та периваскулярно локалізовані остеобласти. Колагенові волокна розміщуються неупорядковано, характеризуються нерівномірністю забарвлення. Визначаються поодинокі поздовжні щілини, ділянки злипання та гомогенізації колагенових волокон. Органічна матриця кістки характеризується вираженою анізохромією. У більш інтенсивно забарвлених зонах визначається переважання ОЦ з видовженими ядрами та тонким обідком оксифільної цитоплазми. Однак розміщуються ці клітини неупорядковано, щільність відрізняється на окремих ділянках, їх довга вісь спрямована під різним кутом до поздовжньої осі.

У ділянках, які представлені волокнами, що гірше сприймають барвник, визначаються ОБ різного ступеня зрілості. Як видно з рис. 3.14, часто вони утворюють групи, що складаються з 3-6 клітин, нечітко відмежовані від оссеїда, що їх оточує.

Ще більш виражені зміни візуалізуються в губчастій КТ епіфіза (рис. 3.15).

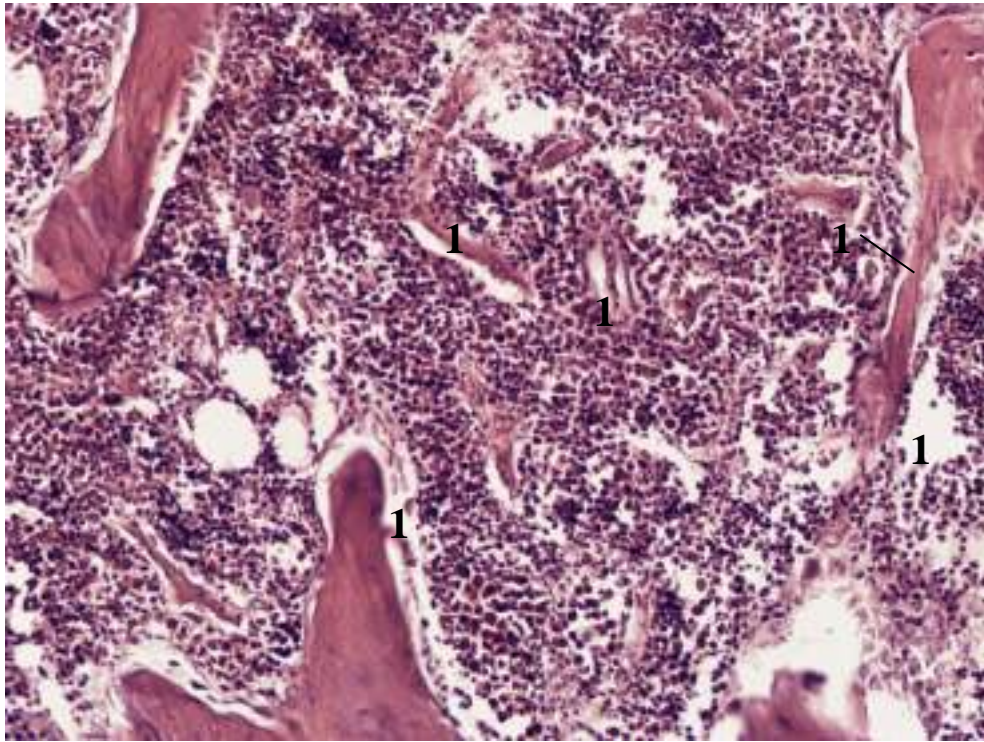


Рис. 3.15. Губчаста КТ епіфіза стегнової кістки щура на 14-ту добу після десятиденного введення CdCl_2 і NaNO_2 :

1 – руйнування кісткових перекладин.

Забарвлення гематоксилином та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 280$.

Кісткові балки нерівномірно стоншені, деякі з численними узурами. В окремих ділянках відбувається руйнування кісткових перекладин, що супроводжується зростанням площі комірок, заповнених червоним кістковим мозком.

На 28-му добу після десятиденної інтоксикації CdCl_2 та NaNO_2 у компактній КТ діафіза вираженість порушень структурної організації зменшується (рис. 3.16 а).

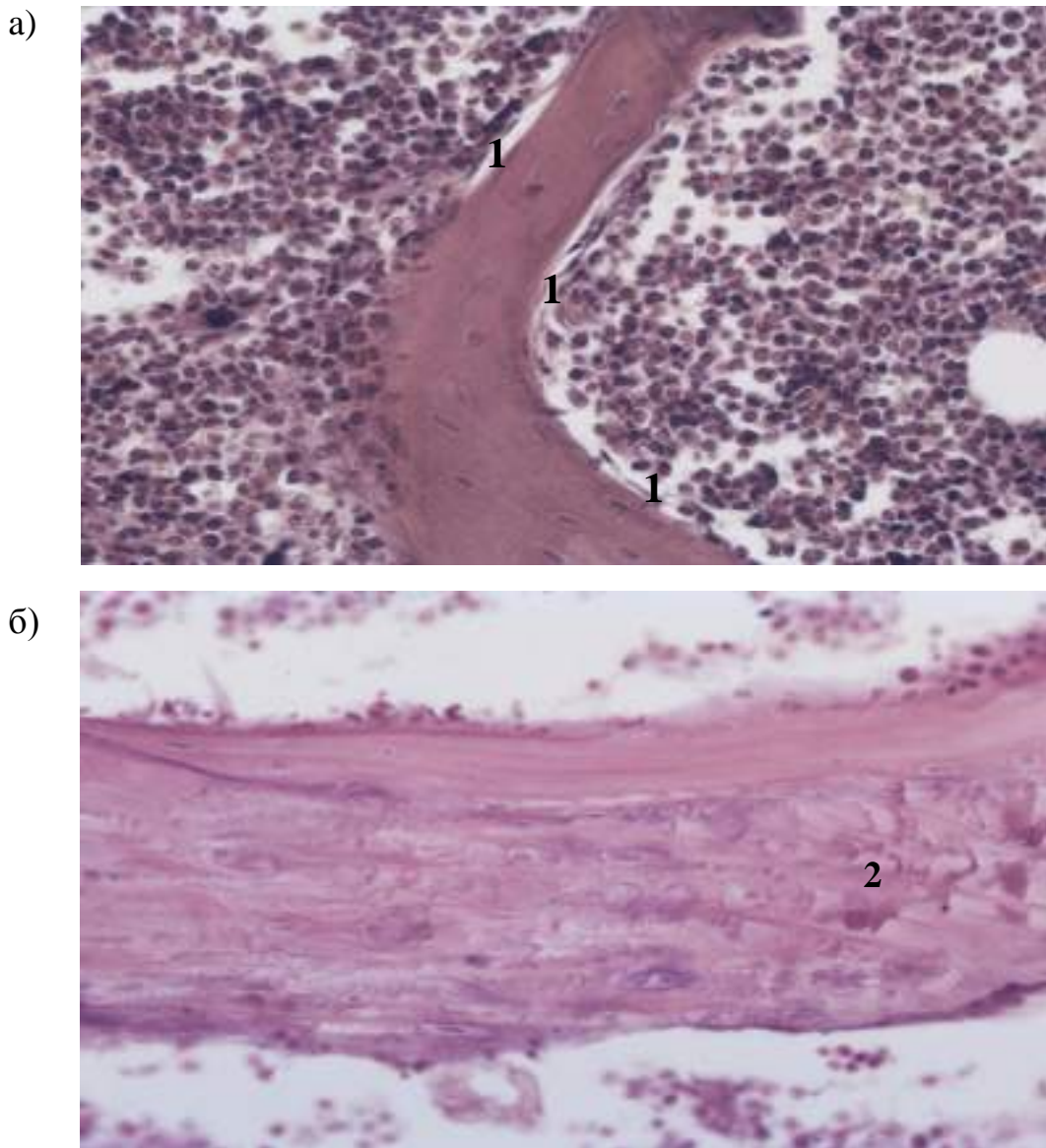


Рис. 3.16. Губчаста КТ епіфіза стегнової кістки щура на 28-му добу після десятиденного введення CdCl_2 і NaNO_2 :

1 – явища резорбції;

2 – новоутворення волокон органічної матриці.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

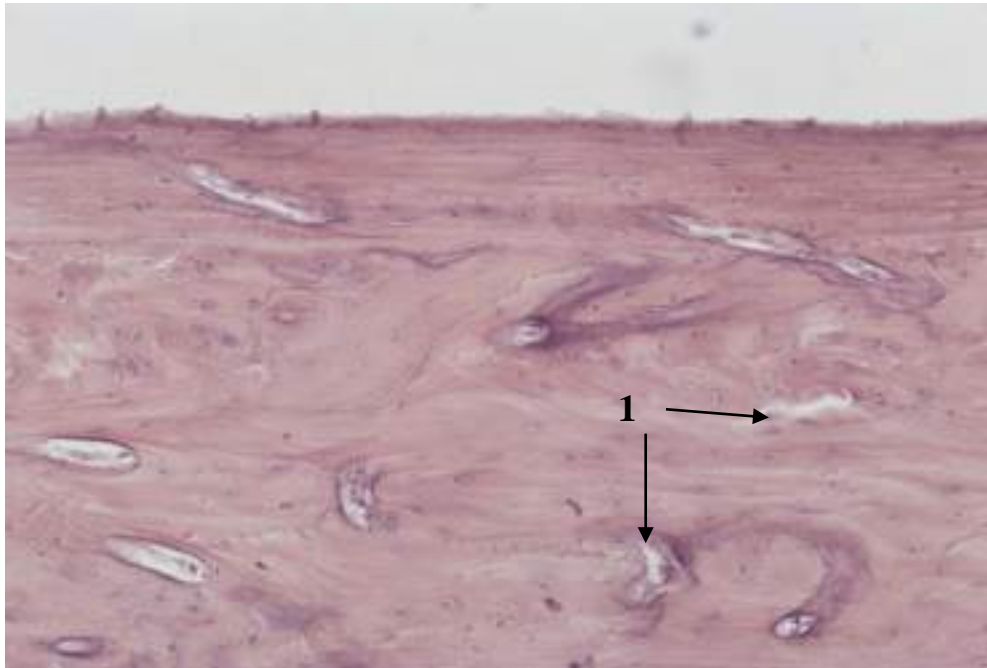
Мікрофотографія. Збільшення: $\times 560$.

Знижується кількість та об'єм остеопоротичних порожнин в остеонному шарі на тлі активації процесів відновлення органічної матриці. Поряд з цим, визначаються порушення архітекtonіки колагенових волокон, кількісних та якісних характеристик клітин, тинкторіальних властивостей волоконного компоненту.

Товщина периосту в ділянці діафізу нерівномірна. На окремих ділянках визначається окістя звичайної гістологічної будови, яке межує з різко стоншеним периостом. Зберігаються окремі зони остеокластичної резорбції поверхневих генеральних пластинок (рис. 3.16 б).

Зазвичай, по периферії узур спостерігається гіперплазія ОБ з перифокальним відкладанням гіперхромного новоутвореного остеїду (рис. 3.17):

а)



б)

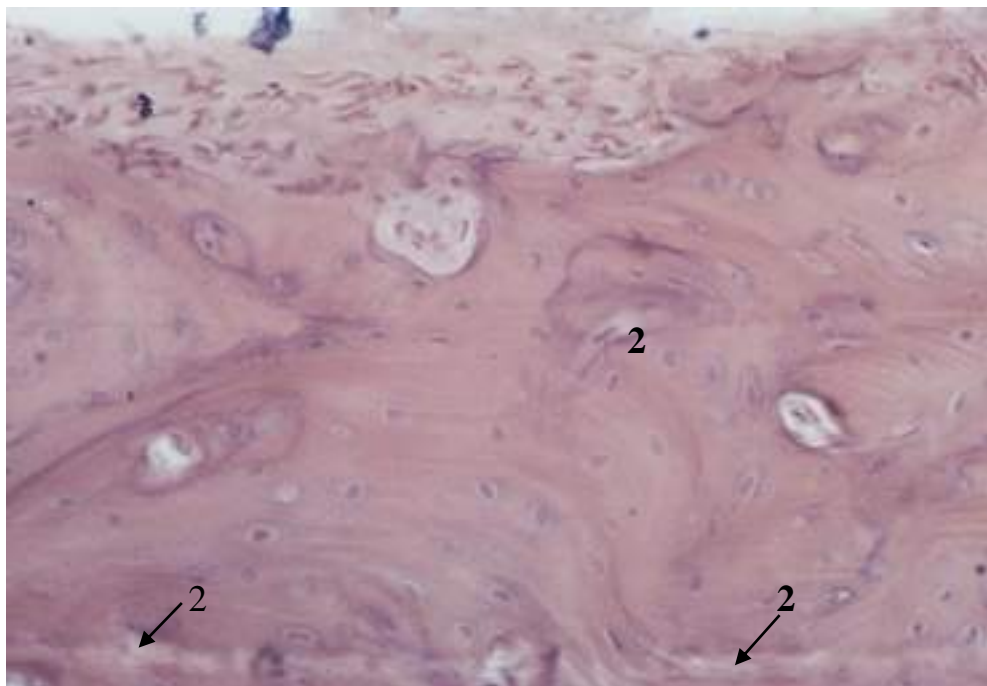


Рис. 3.17. Компактна КТ діафіза стегнової кістки щура на 28-му добу після введення CdCl_2 та NaNO_2 .

1 – помірно виражені явища остеопорозу;

2 – узури у шарі зовнішніх генеральних пластинок.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 280$.

У кінці експерименту порівняно з попереднім терміном дослідження (14-та доба) визначається тенденція до відновлення структурної організації зовнішнього шару генеральних пластинок. Вони розміщуються більш впорядковано у вигляді концентричних смужок, між якими знаходяться переважно зрілі ОЦ.

Волокна органічної матриці більш рівномірно сприймають барвник. Поряд з цим, визначаються поодинокі групи ОБ, оточені новоутвореними гіпохромними хаотично орієнтованими волокнами (рис. 3.18).

Візуалізуються поодинокі тонкі поздовжні щілини, розміщені переважно на межі з остеонним шаром, а також ділянки з незначно вираженими ознаками дезорганізації шару зовнішніх генеральних пластинок.

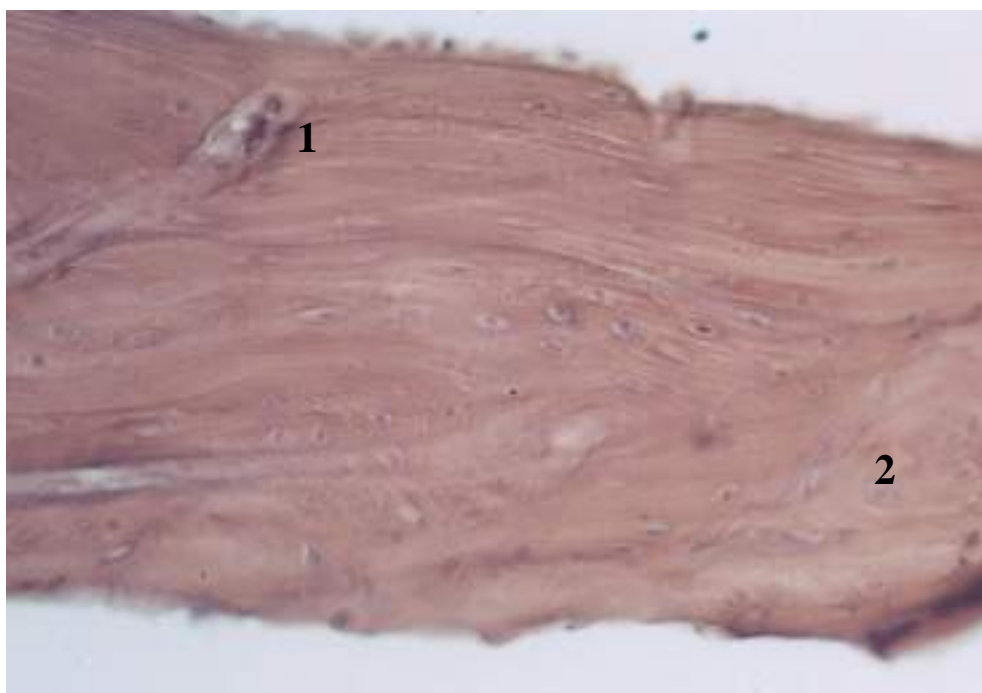


Рис. 3.18. Компактна КТ діафіза стегнової кістки щура на 28-му добу після введення CdCl_2 та NaNO_2 :

1 – ділянка з ознаками дезорганізації шару зовнішніх генеральних пластинок;

2 – гіпохромні хаотично орієнтовані волокна.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 280$.

Більш виражені порушення структурної організації колагенового каркаса спостерігаються в остеонному шарі діафіза (рис. 3.19).

Зберігаються поодинокі, переважно вузькі порожнини, заповнені сполучною тканиною та ОБ, оточені вираженими прошарками новоутворених гіперхромних колагенових волокон. Ділянки з нормальною архітектонікою колагенових волокон чергуються з хаотично розміщеними волокнами. Визначаються множинні вогнища, в яких колагенові волокна мають вигляд різноспрямованих або концентрично нашарованих довкола каналців пучків, між якими знаходяться гомогенні безструктурні маси остеїду.

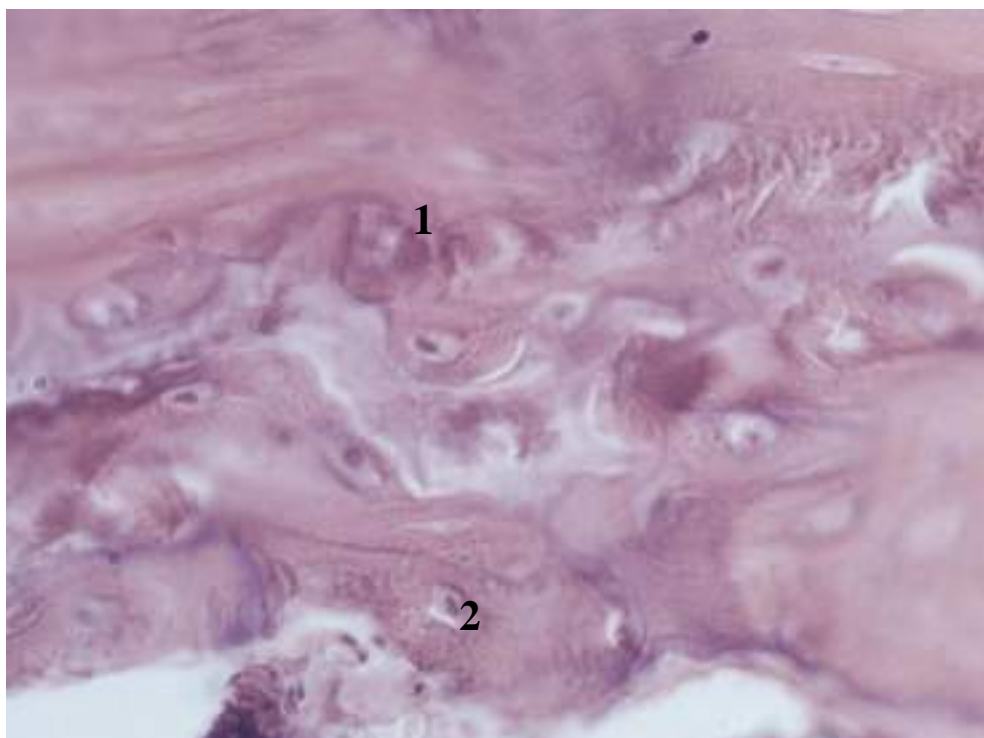


Рис. 3.19. Діафіз стегнової кістки щура на 28-у добу після десятиденного введення CdCl_2 і NaNO_2 :

1 – вогнище посиленого неоостеогенезу;

2 – остеобласти з ознаками посиленої активності в остеогенному шарі.

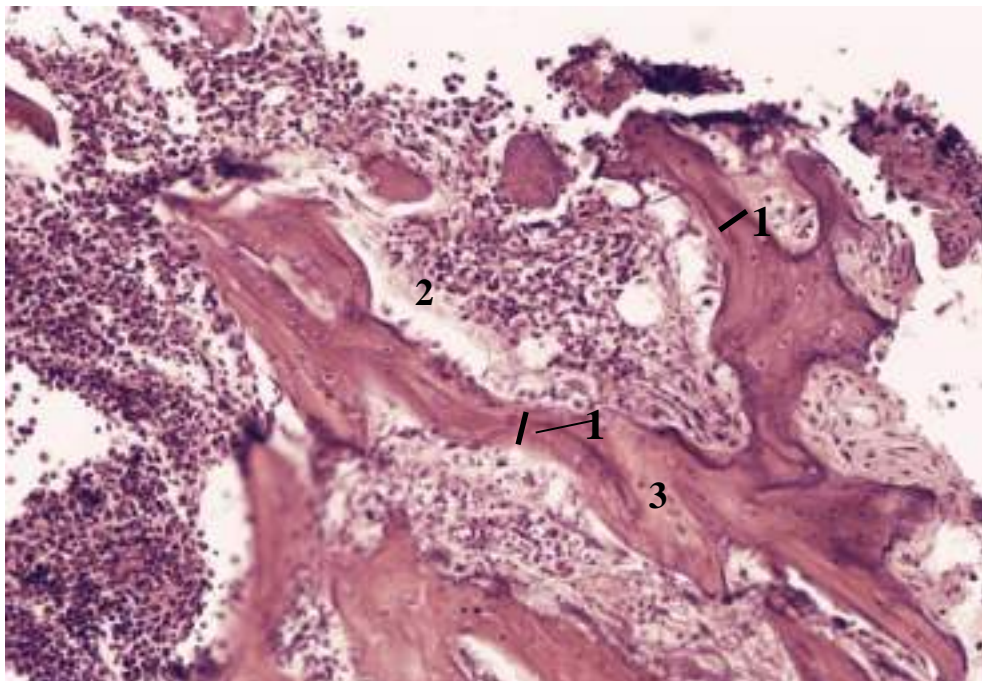
Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 560$.

У центральній частині вогнищ локалізовані переважно ОЦ з округлими ядрами, оточені широкою світлою зоною. На периферії знаходяться переважно ОЦ з видовженими ядрами, які нерідко формують групи з 2–5-ти клітин. Поряд з цим спостерігаються ділянки з поздовжньо орієнтованими колагеновими волокнами, які формують пластини, що нашаровуються одна на одну у вигляді черепиці. Зберігається анізохромія волокон. Водночас, визначаються вогнища посиленого неоостеогенезу, в яких спостерігається велика кількість ОБ.

Характер морфологічних змін губчастої КТ, виявлений у попередній термін спостереження, зберігається. Кісткові балки нерівномірно стоншені, багато з них зруйновані (рис. 3.20).

Визначається різко виражена анізохромія волокон органічної матриці, вони орієнтовані здебільшого хаотично, подекуди розділені щілиноподібними проміжками.



3

2

2

Рис. 3.20. Губчаста КТ епіфіза стегнової кістки щура на 28-му добу після десятиденного введення CdCl_2 та NaNO_2 :

1 – нерівномірне стоншення волокон;

2 – множинні узурі;

3 – анізохромія волокон.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 430$.

Таким чином, результати гістологічних досліджень КТ щурів за умов роздільного та комбінованого впливу CdCl_2 та NaNO_2 вказують на порушення структури колагенової матриці кістки, появу численних узур та явищ остеокластичної резорбції, які найбільше виражені за умов дії іонів Cd^{2+} та комбіновано Кадмію з нітритами на 14-у добу після десятиденного надходження токсикантів.

3.4. Корекція екстрактом артишоку порушень у кістковій тканині за умов кадмієво-нітритної інтоксикації

За результатами досліджень роздільного та комбінованого впливу CdCl_2 та NaNO_2 на метаболічні процеси, елементний склад та структуру КТ тварин дослідних груп нами встановлено зміни показників маркерів кісткового метаболізму, дисбаланс макро- та мікроелементного складу КТ, гістологічної структури та мінеральної щільності стегнових кісток щурів. Такі дані спонукали до пошуку ефективних, доступних та безпечних засобів корекції виявлених метаболічних і структурних порушень, що виникають при роздільному та комбінованому впливі досліджуваних токсикантів. З наукової літератури [265–270] відомо, що при надмірному надходженні ВМ, нітратів та нітритів широко застосовують пектини, ентеросорбенти [23, 72–74, 76], вітаміни [90, 269] та антиоксиданти [23, 75–77, 110, 264–267, 270–272], а також комплекси мікроелементів з органічними лігандами, зокрема амінокислотами та білками [70–72, 269, 273]. Здійснюється активний пошук засобів для підвищення опірності організму до дії найпоширеніших поллютантів за допомогою БАР рослинного походження [55, 72], які підвищують адаптацію за рахунок посилення захисту клітин, прискорюють зв'язування та виведення токсинів із організму, цілеспрямовано змінюють ушкоджений обмін та регуляцію у фізіологічних межах функцій органів та систем.

На нашу думку, таким вимогам відповідає вітчизняний лікарський засіб «Артишоку екстракт – Здоров'я», при виготовленні якого застосована унікальна технологія одержання субстанції ЕА у вигляді густого екстракту, на відміну від хофітолу та інших закордонних аналогів, де як субстанцію використовують сухий екстракт. Ця технологія забезпечує збереження в препараті всього комплексу діючих речовин, що властиві свіжій рослині, а отже його ефективність при різних хронічних інтоксикаціях [199, 201, 276, 282].

3.4.1. Вплив екстракту артишоку на метаболічні процеси в кістковій тканині дослідних тварин за умов дії кадмію хлориду та натрію нітриту. Проведені дослідження дозволили встановити різну ефективність впливу ЕА на метаболічні процеси, біоелементний склад, МЩКТ та гістологічну структуру стегнових кісток за умов роздільної та комбінованої інтоксикації CdCl_2 та NaNO_2 . Зокрема (табл. 3.13), у групі 2 (кадмієва інтоксикація) при застосуванні ЕА достовірно знижувалася концентрація загального Са плазми порівняно з тваринами 1-ї групи на 23,8 % (14-та доба) та 31,2 % (28-ма доба) ($p < 0,001$).

Таблиця 3.13

Концентрація загального та йонізованого кальцію (ммоль/л)
у плазмі крові дослідних тварин ($M \pm m$)

Групи тварин	Са загальний		Са ²⁺ йонізований	
	14-а доба	28-а доба	14-а доба	28-а доба
Інтактні	2,34 ± 0,08		0,68 ± 0,02	
1-а (CdCl_2)	2,91 ± 0,21*	3,23 ± 0,18**	0,58 ± 0,04*	0,83 ± 0,05*
2-а ($\text{CdCl}_2 + \text{EA}$)	2,22 ± 0,08 [#]	2,22 ± 0,05 [#]	0,63 ± 0,04 [#]	0,63 ± 0,04 [#]
3-я (NaNO_2)	2,11 ± 0,09*	1,93 ± 0,08**	0,71 ± 0,05*	0,73 ± 0,04*
4-а ($\text{NaNO}_2 + \text{EA}$)	2,29 ± 0,07	2,20 ± 0,06*	0,60 ± 0,04* [#]	0,58 ± 0,02* [#]
5-а ($\text{CdCl}_2 + \text{NaNO}_2$)	2,83 ± 0,14**	2,08 ± 0,17*	0,38 ± 0,02***	0,35 ± 0,02**
6-а ($\text{CdCl}_2 + \text{NaNO}_2 + \text{EA}$)	2,72 ± 0,11*	2,49 ± 0,12 [#]	0,56 ± 0,02 [#] *	0,61 ± 0,03 [#] *

У групі тварин з нітритною інтоксикацією (4-та група) концентрація загального Са підвищувалась на 8,7 % та 15,0 % порівняно з 3-ю групою, наближаючись до показників інтактних.

Стосовно групи тварин з комбінованою дією токсикантів, які отримували ЕА (6-та група), то концентрація загального Са плазми у них на 14-ту добу була нижчою на 4,1 %, а на 28-му добу – на 19,9 % вищою від показників тварин 5-ї групи, що не отримували ЕА, зменшуючи таким чином різкі зміни цього показника, які спостерігались при комбінованій дії солей CdCl_2 та NaNO_2 та наближаючи рівень загального Са до показників інтактних тварин.

Як видно з табл. 3.13, введення з метою корекції препарату ЕА при кадмієвому та комбінованому з нітритами ураженні сприяло нормалізації концентрації йонізованого Ca^{2+} до контрольних значень. Зокрема, у тварин 2-ї групи на 28-му добу концентрація Ca^{2+} була на 23,8 % нижчою за відповідні показники тварин 1-ї групи ($p < 0,05$), одночасно достовірно не відрізнялися від значення контролю.

У тварин 6-ї групи за умов застосування ЕА на 14-ту та 28-му доби концентрація Ca^{2+} у плазмі крові підвищувалось відповідно на 44,9 % та 74,7 % ($p < 0,001$) порівняно з тваринами, що не отримували препарат (5-а група), одночасно поступово наближаючись до значень, які достовірно не відрізнялися від контролю. На тлі корекції у щурів 4-ї групи (нітритна інтоксикація) концентрація йонізованого Ca^{2+} була нижчою у відповідні періоди на 15,2 % та 20,0 % порівняно з тваринами 3-ї групи.

Вплив ЕА на регуляцію концентрації Са засвідчують показники рівня ПГТ та кальцитоніну у плазмі крові (рис 3.21 та 3.22). Введення тваринам препарату ЕА вже на 14-ту добу сприяло появі тенденції до нормалізації гормонального балансу ПГТ–кальцитонін у тварин, що зазнали ураження йонами Cd^{2+} (група 2) та нітритами (група 4). Зокрема, на 14-ту добу зростав вміст кальцитоніну у тварин, які отримували ЕА на тлі токсичного впливу Cd^{2+} у 2,7 рази, порівняно з ураженими тваринами без корекції.

А у щурів з нітритним ураженням і наступною корекцією ЕА – у 3,1 рази (див. рис. 3.21). Концентрація ПГТ за цих умов знижувалась наступним чином: у 4,6 разу за умов дії Cd^{2+} та з наступним введенням ЕА та у 2,1 разу за впливу

нітритів та з наступною корекцією ЕА порівняно з тваринами, які не одержували ЕА.

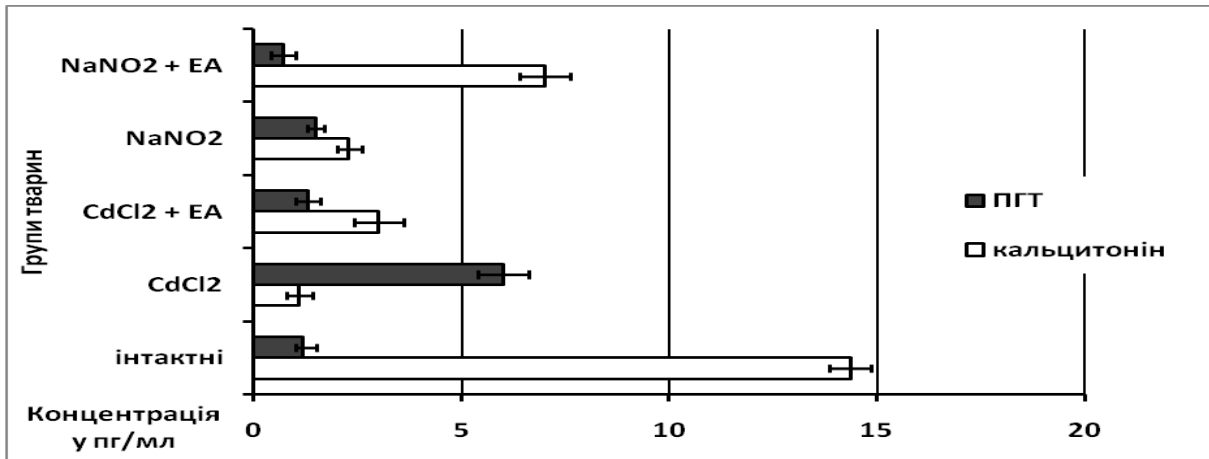


Рис. 3.21. Вплив ЕА на рівень кальцитоніну та ПТГ у крові тварин 1-ї – 4-ї дослідних груп на 14-ту добу по завершенні окремого введення солей CdCl₂ та NaNO₂, пг/мл.

Дослідження концентрації кальцитоніну у плазмі крові тварин, що зазнали комбінованого впливу досліджуваних токсикантів і отримували препарат ЕА (див. рис. 3.22) показало зростання цього показника у 3,3 та 3,5 рази на 14-ту та 28-у доби порівняно з показниками тварин, яким не проводилась корекція.

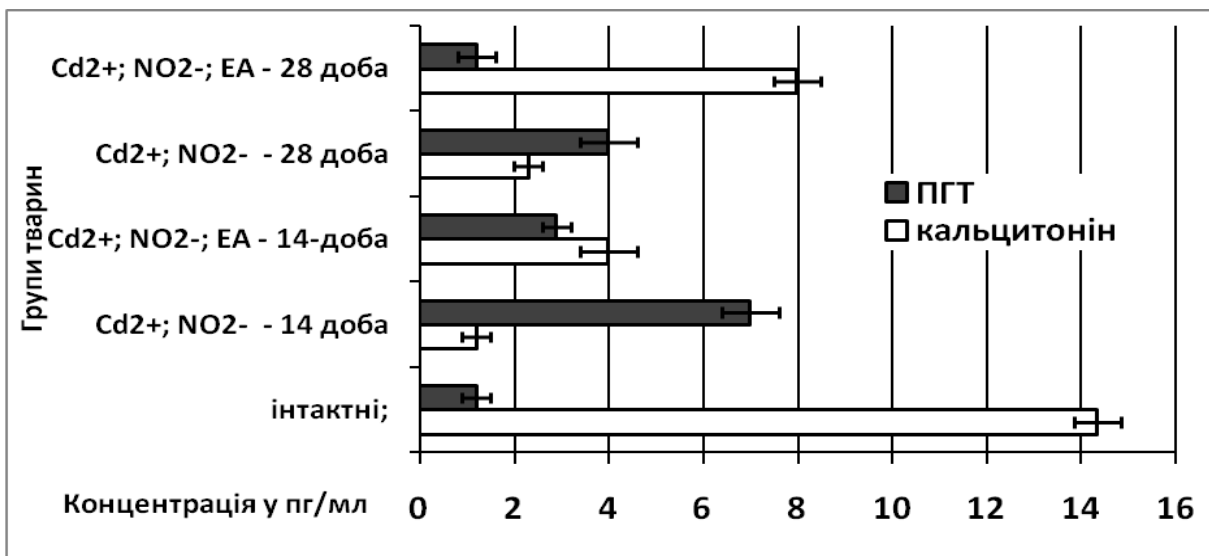


Рис. 3.22. Вплив ЕА на рівень кальцитоніну та ПТГ у крові тварин 5-ї та 6-ї дослідних груп на 14-ту та 28-му добу по завершенні комбінованого введення солей CdCl₂ та NaNO₂, пг/мл.

За цих умов концентрація ПТГ знижувалась у 2,4 разу на 14-ту добу, до 3,3 разу – на 28-му добу корекції.

Щодо концентрації неорганічного фосфату, то слід відмітити (табл. 3.14), що найбільш виражена тенденція до нормалізації цього показника у тварин, які отримували ЕА на тлі кадмієвої інтоксикації на 28-му добу спостереження. За умов дії нітритів та наступного застосування ЕА рівень фосфатів перевищував показники інтактних тварин на 15,8 % та 44,6 % ($p < 0,001$) відповідно на 14-ту та 28-му доби спостереження. За умов комбінованого впливу токсикантів та застосування ЕА концентрація фосфатів знижувалась, але до кінця експерименту достовірно перевищувала контрольні значення на 14,7 % ($p < 0,05$).

Як видно із табл. 3.14 активність ЛФ плазми крові за умов кадмієвої та нітритної інтоксикації на тлі застосування ЕА перебувала в межах показників інтактних тварин у пізньому періоді експерименту (на 28-му добу). За умов корекції ЕА комбінованого ураження тварин солями CdCl_2 і NaNO_2 (6-та група) активність ЛФ зростала у 1,7 та 2,6 разів порівняно з тваринами, які не отримували корегуючий засіб. Активність ЛФ на 28-му добу експерименту у цій групі перевищувала показники інтактних щурів на 20,3 % ($p < 0,05$). Отримані дані вказують на активацію ЛФ [286] до контрольних значень, у тварин, які отримували ЕА, що, в свою чергу, сприяє процесам репарації КТ і підтверджується власними гістологічними дослідженнями [304].

Застосування ЕА протягом 28-ми днів сприяло нормалізації активності КФ у всіх дослідних групах (див. табл. 3.14): у 2-й групі – у 1,8 та 2,2 рази знижувалась активність порівняно з ураженими CdCl_2 щурами, які не отримували ЕА; а у 6-й – у 1,6 та 3,2 рази. Застосування ЕА за умов нітритного ураження (4-та група) призводило до наближення активності КФ до значень, які достовірно не відрізнялись від показників інтактних тварин, як це видно з табл. 3.14.

Інформативним показником балансу процесів кісткового ремоделювання та резорбції є індекс ЛФ/КФ (див. табл. 3.14). Застосування ЕА протягом 28-ми

дiб сприяло наближенню iндексу ЛФ/КФ до значень iнтактних тварин, що засвiдчує позитивний вплив ЕА на процеси репарацiї КТ.

Таблиця 3.14

Концентрацiя неорганiчного фосфату (мг/мл), активнiсть ЛФ та КФ
(мкмоль/с·л) у плазми кровi дослiдних тварин, (М ± m)

Групи тварин	PO ₄ ³⁻		Активнiсть ЛФ		Активнiсть КФ	
	14-та доба	28-ма доба	14-та доба	28-ма доба	14-та доба	28-ма доба
iнтактнi	1,33 ± 0,05		15,07 ± 0,08		0,93 ± 0,23	
1-а (CdCl ₂)	1,76 ± 0,12***	1,69 ± 0,13*	7,72 ± 0,56*	11,55 ± 0,85*	2,33 ± 0,39***	2,02 ±0,07*
2-а (CdCl ₂ + EA)	2,15 ± 0,12*#	1,44 ± 0,11#	18,52 ± 1,71*#	15,41 ± 0,45#	1,32 ± 0,04*#	0,91 ± 0,05#
3-я (NaNO ₂)	1,29 ± 0,09*	1,60 ± 0,04*	9,26 ± 0,74*	5,90 ± 0,56**	1,79 ± 0,10**	0,467 ± 0,05**
4-а (NaNO ₂ + EA)	1,54 ± 0,06***#	1,92 ± 0,12*#	16,08 ± 1,77#	15,77 ± 0,84#	1,68 ± 0,20*#	1,14 ± 0,07#
5-а (CdCl ₂ + NaNO ₂)	1,42 ± 0,08*	1,76 ± 0,15*	9,30 ± 1,23**	7,10 ± 1,95**	2,47 ± 0,13**	4,17 ± 0,48***
6-а (CdCl ₂ + NaNO ₂ + EA)	1,58 ± 0,10*	1,52 ± 0,07*#	16,09± 1,77#	18,13 ± 0,58*#	1,53 ± 0,12*#	1,29 ± 0,04*#

Результати проведеного дослiдження концентрацiї Mg²⁺ у плазми кровi дослiдних тварин 2-ї та 4-ї груп, що отримували ЕА, показали (табл. 3.15), що рiвень Mg достовiрно не вiдрiзнявся вiд значень iнтактних тварин. У тварин 6-ї групи, що зазнали комбiнованої дiї токсикантiв, на 28-у добу корекцiї екстрактом артишоку вiмiст Mg у плазми перевищував на 30,2 % значення iнтактних щурiв i одночасно був бiльшим у 2,8 разу за показники щурiв 5-ї групи у вiдповiдний перiод.

Отримані результати вказують на те, що застосування препарату ЕА істотно впливає на динаміку рівня Mg у плазмі крові тварин, що має важливе значення для нормалізації обмінних процесів, зокрема у КТ.

Таблиця 3.15

Співвідношенні активностей ЛФ та КФ, концентрація гідроксипроліну та Магнію (ммоль/л) у плазмі крові дослідних тварин, ($M \pm m$)

Групи тварин	Індекс ЛФ/КФ		Концентрація			
			ГП		Mg ²⁺	
	14-та доба	28-ма доба	14-та доба	28-ма доба	14-а доба	28-а доба
Інтактні	16,20 ± 0,31		28,31 ± 2,79		0,72 ± 0,08	
1-а (CdCl ₂)	3,31 ± 0,16***	5,72 ± 0,08*	60,54 ± 4,78 **	70,53 ± 3,14 **	0,42 ± 0,07 ***	0,47 ± 0,05 **
2-а (CdCl ₂ + EA)	14,07 ± 1,67* #	16,97 ± 0,40 #	44,11 ± 1,91* #	31,20 ± 2,43#	0,53 ± 0,06* #	0,65 ± 0,04#
3-я (NaNO ₂)	5,18 ± 0,72**	13,11 ± 1,13*	32,11 ± 3,64*	22,31 ± 1,57*	0,32 ± 0,06***	0,36 ± 0,05*
4-а (NaNO ₂ + EA)	9,56 ± 1,57* #	13,84 ± 0,85	24,52 ± 0,87#	29,58 ± 1,25#	0,69 ± 0,06*	0,66 ± 0,03*
5-а (CdCl ₂ + NaNO ₂)	3,76 ± 0,28***	1,70 ± 0,19**	74,56 ± 1,39***	99,70 ± 2,94***	0,31 ± 0,03 ***	0,33 ± 0,03 **
6-а (CdCl ₂ + NaNO ₂ + EA)	10,49 ± 0,16* #	14,05 ± 0,54* #	47,13 ± 3,15** #	45,25 ± 2,41* #	0,69 ± 0,06#	0,93 ± 0,04* #

Таким чином, отримані нами результати вказують на позитивний вплив ЕА стосовно показників метаболізму в мінеральному матриксі КТ за умов токсичного впливу солей CdCl₂ і NaNO₂ окремо та за їх комбінованої дії.

Дослідження маркера обміну колагену (див. табл. 3.15) показало, що рівень ГП найбільше наближався до норми у тварин з нітритною інтоксикацією, які отримували ЕА протягом 28-ми днів. В інших групах цей показник достовірно ($p < 0,05 - 0,001$) знижувався порівняно з тваринами, які не

отримували цього препарату. Однак, варто зазначити, що порівняно з контрольною групою швидкість катаболізму колагену була вищою у дослідній групі тварин з дією CdCl_2 та за комбінації його з NaNO_2 за умов введення корегуючого препарату екстракту артишоку.

Проведені нами дослідження вказують на підвищення вмісту ГП у 2,4–2,5 разів у тварин 1-ї та 5-ї груп ($p < 0,001$), що свідчить про розпад колагену та руйнування КТ під дією кадмію хлориду та за комбінації його з натрію нітритом (табл. 3.15). За умов застосування ЕА поступово достовірно зменшувався рівень ГП у щурів 2-ї та 6-ї груп: у 1,4 та 2,3 рази порівняно з тваринами 1-ї дослідної групи та у 1,6 та 2,2 рази порівняно з щурами 5-ї групи (комбіноване ураження), як це видно з табл. 3.15. До кінця експерименту на 28-му добу концентрація ГП у тварин 2-ї та 4-ї дослідних груп (кадмієва та нітритна інтоксикації + ЕА) достовірно не відрізнялися від показників інтактних тварин. При корекції комбінованої дії (6-та група) рівень ГП у цей період значно знижувався відносно уражених тварин 5-ї групи, які не отримували ЕА – у 2,20 рази ($p < 0,001$), однак при цьому достовірно перевищував контрольні значення інтактних на 59,8 % ($p < 0,01$).

Таким чином, комплексна оцінка впливу досліджуваного препарату екстракту артишоку на біохімічні показники плазми крові, які характеризують метаболічні процеси в КТ тварин за умов роздільного та комбінованого впливу нітрит-йонів та йонів Cd^{2+} вказує на його ефективність і можливість застосування для зниження токсичного впливу досліджуваних токсикантів на стан КТ.

3.4.2. Корегуючий вплив екстракту артишоку на біоелементний склад мінерального матриксу стегнових кісток уражених тварин. Виходячи із показників плазми крові, важливим було дослідити вміст есенціальних макро- та мікроелементів та важкого металу Cd у мінеральній фазі стегнових кісток тварин дослідних груп за умов застосування ЕА. У підрозділах 3.1–3.2 представлені дані стосовно зниження Ca у мінеральній фазі КТ тварин за умов

дії солей CdCl_2 та NaNO_2 окремо та за їх комбінованої дії. При введенні тваринам ЕА вміст Са у золі стегнових кісток достовірно ($p < 0,05$) підвищувався порівняно до тварин, які не отримували препарату артишоку (рис. 3.23).

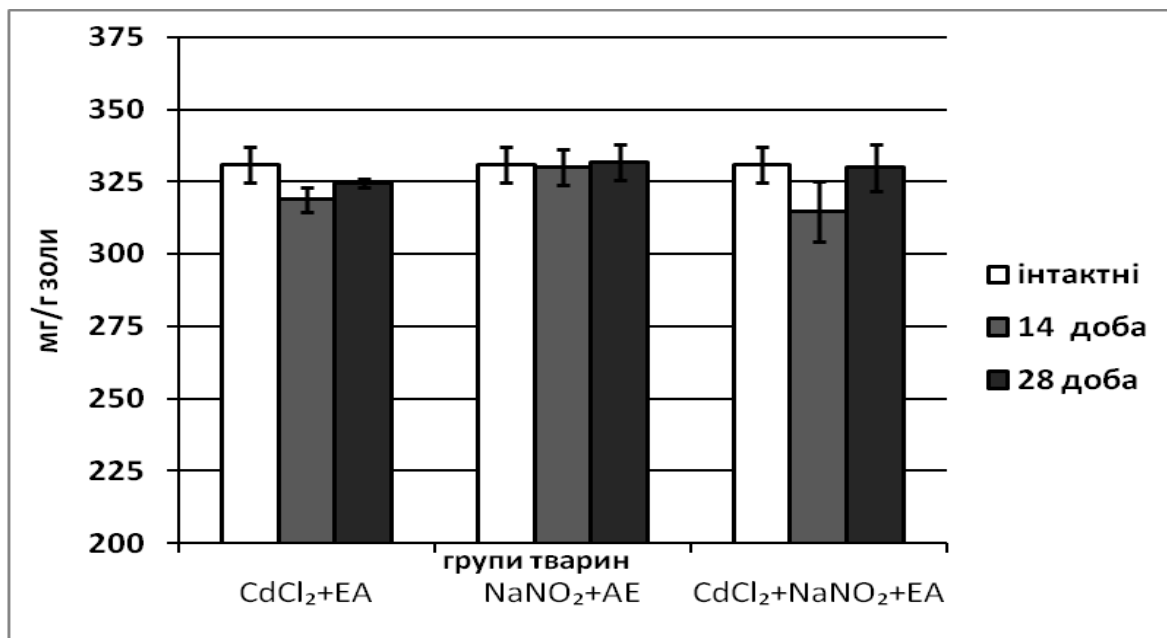


Рис. 3.23. Вплив екстракту артишоку на вміст Са у стегнових кістках інтактних та тварин 2-ї, 4-ї та 6-ї дослідних груп, мг/г золи.

Зокрема, за умов корекції кадмієвої інтоксикації зростає на 14-ту та 28-му доби відповідно на 27,4 % та 22,8 %, нітритної – на 16,6 % та 16,7 %, а за умов комбінованої дії токсикантів – на 9,5 % та 19,0 % відносно тварин, які не отримували ЕА. На 28-му добу корекції вміст Са у стегнових кістках цих тварин достовірно не відрізнявся від показників інтактних тварин, як видно з рис. 3.23.

Застосування ЕА з метою корекції виявляло чітку тенденцію до поступової нормалізації вмісту Mg у КТ до рівня інтактних (рис. 3.24). Зокрема, у групах дослідних тварин з нітритною та комбінованою з Кадмієм дією на 28-му добу застосування ЕА вміст цього макроелемента достовірно не відрізнявся від контрольних значень і становив відповідно – $40,9 \pm 4,1$ мг/г (за дії NaNO_2) та $38,2 \pm 2,2$ мг/г золи (за поєднаного впливу солей CdCl_2 та NaNO_2). Разом з тим, за умов кадмієвої інтоксикації вміст Mg на 28-му добу введення ЕА становив

43,3±0,4 мг/г золи, що перевищувало на 13,6 % показник інтактних тварин та одночасно на 52,2 % вище за рівень Mg у тварин, які не отримували EA ($p < 0,001$) (рис. 4.4).

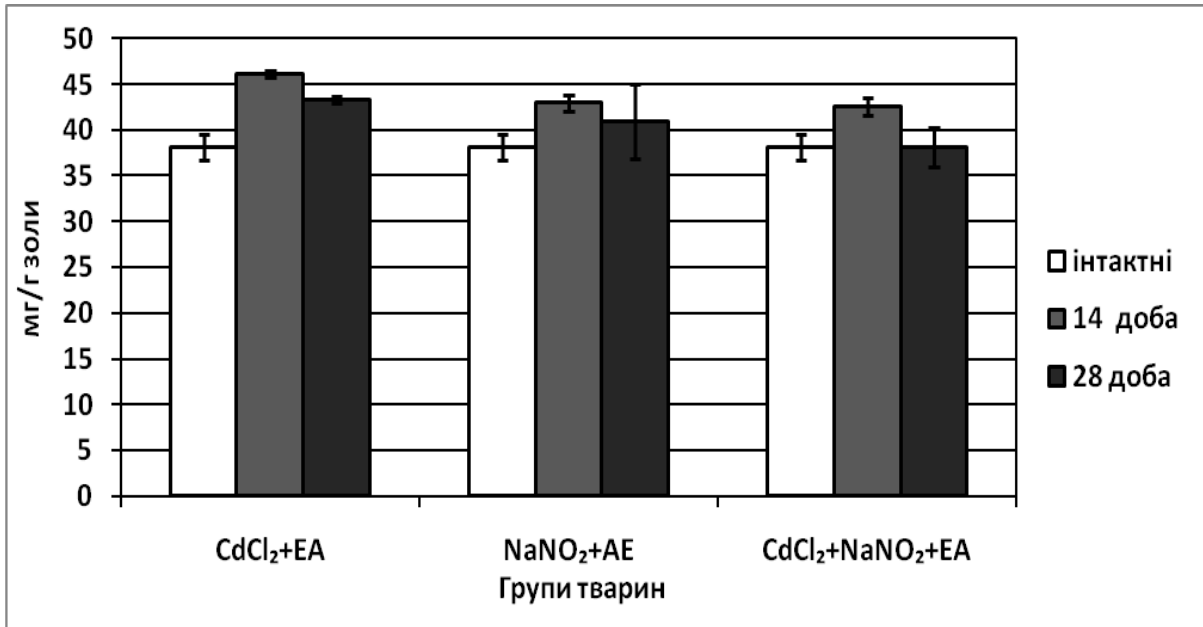


Рис. 3.24. Вплив екстракту артишоку на вміст Mg у стегнових кістках інтактних та тварин 2-ї, 4-ї та 6-ї дослідних груп, мг/г золи.

За умов застосування EA з метою корекції в усіх групах зафіксовано позитивну тенденцію до поступової нормалізації вмісту Zn у КТ (рис. 3.25). Зокрема, у групі тварин, що піддавались кадмієвій інтоксикації і наступній корекції EA, на 14-ту добу вміст Zn у стегнових кістках був нижчим за показники інтактних на 16,1 %, тоді як у тварин, що не отримували зазначений лікарський засіб – на 28,6 %. На 28-му добу корекції вміст Zn у КТ достовірно не відрізнявся від контрольних значень інтактних і одночасно був вищим на 24,4 % за показники, які фіксувались в уражених тварин.

Аналогічна тенденція спостерігалась за умов корекції ушкоджуючої дії нітритів: вміст Zn у стегнових кістках тварин, що отримували EA, на 14-ту добу був на 11,3 % вищим, а в кінці експерименту вміст Zn у стегнових кістках достовірно не відрізнявся від значень контролю. У групі тварин, що піддавались кадмієво-нітритній інтоксикації та наступній корекції EA, на 14-ту добу вміст Zn у стегнових кістках був нижчим за показники інтактних на 8,3 %, тоді як у тварин,

що не отримували зазначений лікарський засіб – на 44,9 %. На 28-му добу корекції вміст Zn у стегнових кістках достовірно не відрізнявся від контрольних значень інтактних тварин і одночасно був вищим на 22,9 % за показники в уражених щурів (див. рис. 3.25).

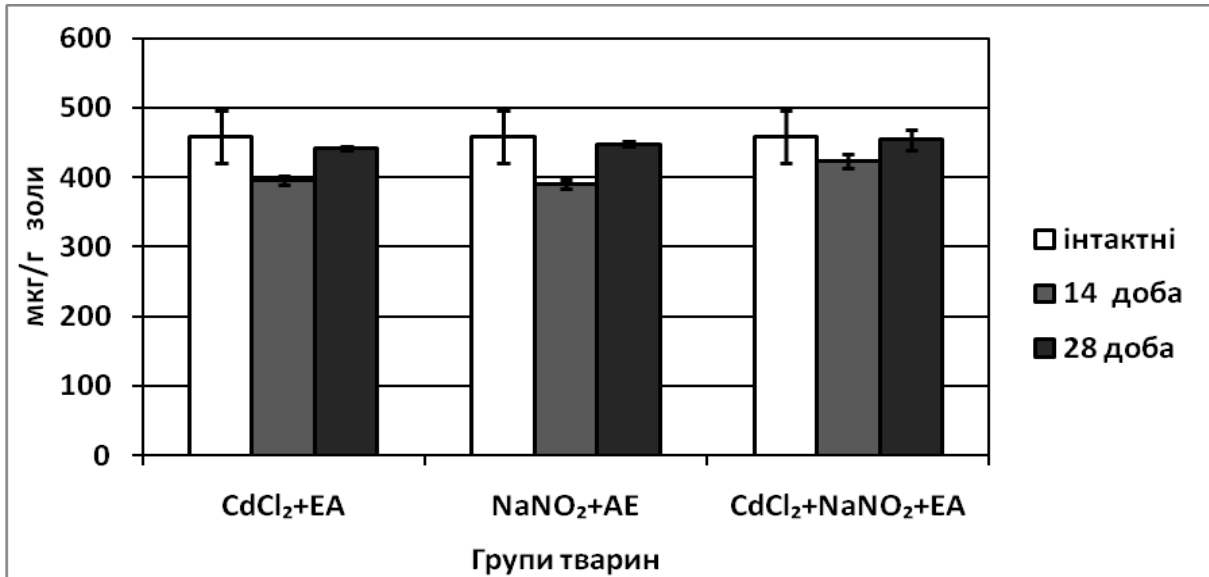


Рис. 3.25. Вплив екстракту артишоку на вміст Zn у стегнових кістках інтактних та тварин 2-ї, 4-ї та 6-ї дослідних груп, мкг/г золи.

На тлі введення EA вміст Cu у стегнових кістках тварин дослідних груп підвищувався, наближаючись до значень інтактних щурів у кінці експерименту (рис. 3.26). Зокрема, у групі тварин з кадмієвою інтоксикацією та наступною корекцією EA вміст Cu у стегнових кістках був нижчим за показники інтактних на 19,4 % ($p < 0,01$), тоді як у щурів, що не отримували зазначений лікарський засіб – на 31,7 % (див табл. 3.4). На 28-му добу корекції вміст Cu достовірно не відрізнявся від контрольних значень і одночасно був вищим на 30,9 % ($p < 0,001$) за показники тварин, які не отримували EA. Подібна тенденція спостерігалась за умов корекції нітритного ураження: вміст Cu у стегнових кістках тварин, що отримували EA, на 14-ту добу був на 26,3 % вищим за показники тварин, які не зазнавали корекції EA (табл. 3.5) та одночасно на 38,6 % ($p < 0,001$) нижчим відносно інтактних. У кінці експерименту вміст Cu у стегнових кістках тварин цієї групи достовірно не відрізнявся від контролю.

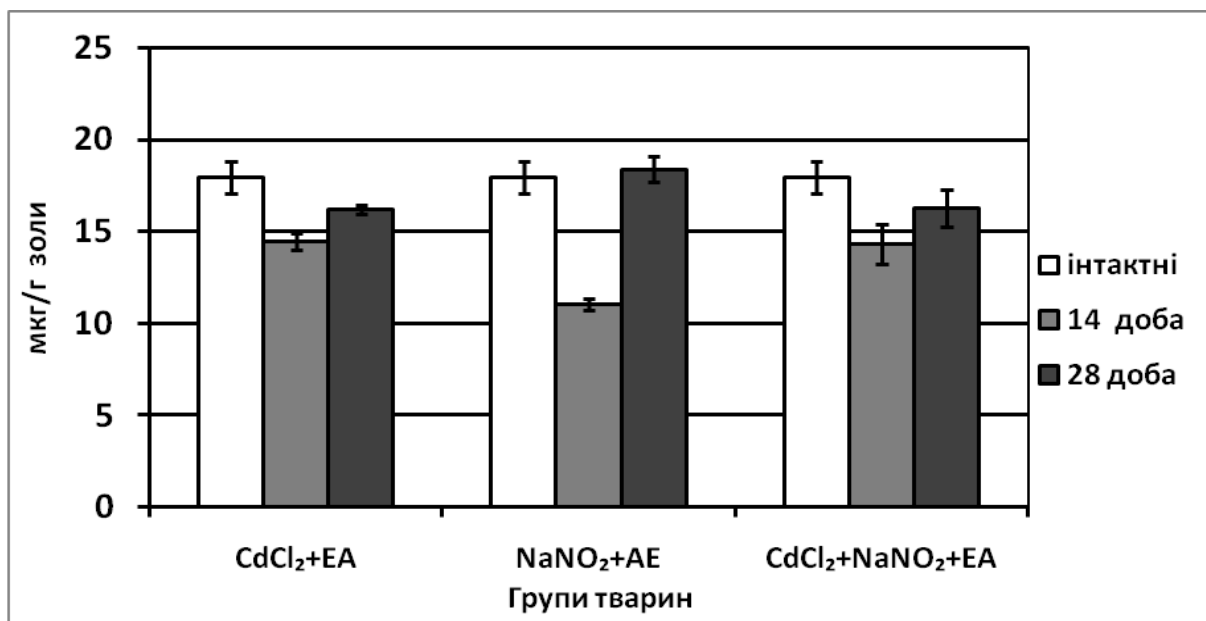


Рис. 3.26. Вплив екстракту артишоку на вміст Cu у стегнових кістках інтактних та тварин 2-ї, 4-ї та 6-ї дослідних груп, мкг/г золи.

У тварин, що піддавались кадмієво-нітритній інтоксикації та наступній корекції EA, на 14-ту добу вміст Cu у стегнових кістках був нижчим за показники інтактних на 20,2 %, тоді як у тварин, що не отримували зазначений лікарський засіб – на 26,9 %. На 28-му добу корекції вміст Cu достовірно не відрізнявся від значень інтактних тварин (див. рис. 3.26).

Оскільки доведеною є здатність Cd до кумуляції в різних органах організму, зокрема в кістках, та його конкурентні взаємовідносини з есенціальними двовалентними металами [32, 40, 54], важливо було з'ясувати, чи впливають біологічно активні речовини EA на рівень накопичення Cd в КТ. Проведені дослідження дозволили встановити, що за умов введення тваринам лікарського засобу EA суттєво зменшувало вміст Cd у стегнових кістках тварин дослідних груп (рис. 3.27). Зокрема, у тварин з експериментальним кадміозом на 14-ту добу введення EA вміст Cd у кістках був достовірно нижчим у 3,8 разу відносно тварин 1-ї групи, одночасно цей показник був вищим у 2,5 разів відносно інтактних тварин ($p < 0,001$).

На 28-му добу тенденція до зниження вмісту цього ВМ у стегнових кістках тварин 2-ї групи зберігалася – відповідно у 6,87 разів зменшувався рівень Cd відносно порівняної групи тварин, наближаючись до показників

інтактних щурів ($2,97 \pm 0,26$ мкг/г золи при $2,10 \pm 0,26$ мкг/г золи у інтактних, $p < 0,05$). У тварин з комбінованою дією на тлі корекції ЕА спостерігалася подібна динаміка зниження вмісту Cd у стегнових кістках: на 14-ту добу на 35,3 %, а на 28-му добу – у 14,8 разів.

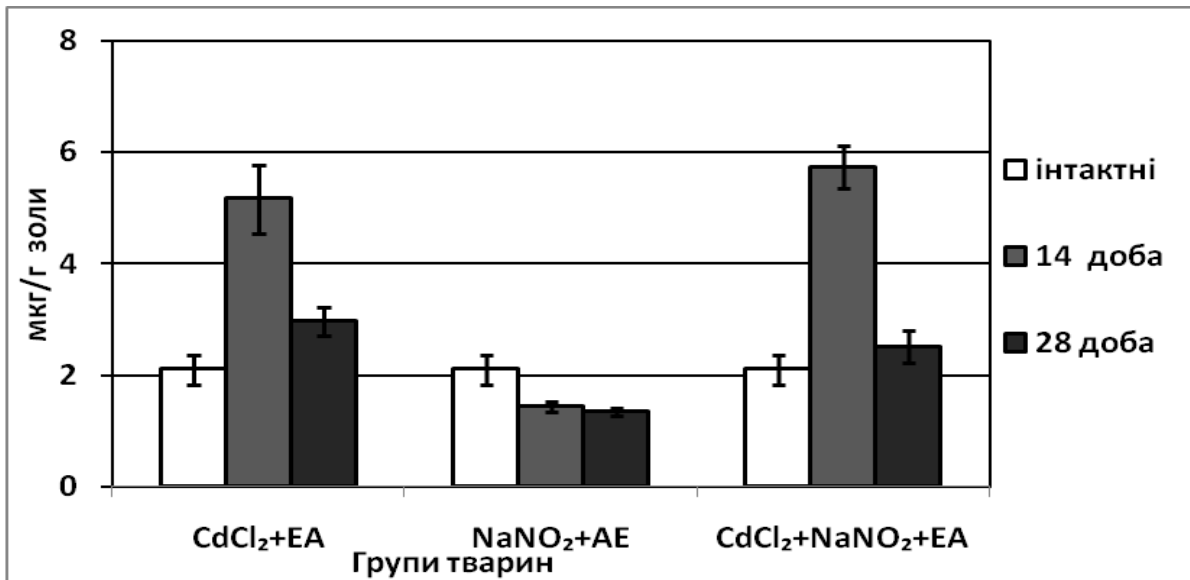


Рис. 3.27. Вплив екстракту артишоку на вміст Cd у стегнових кістках інтактних та тварин 2-ї, 4-ї та 6-ї дослідних груп, мкг/г золи.

У групі тварин, уражених нітритами, за умов застосування ЕА спостерігалася поступове зниження вмісту Cd у стегнових кістках як відносно тварин, що не отримували препарат артишоку: на 28-му добу – $1,35 \pm 0,07$ мкг/г золи при $4,44 \pm 0,58$ мкг/г золи ($p < 0,001$); так і відносно інтактних (на 31,4–35,7 %).

Дослідження біоелементного складу стегнових кісток 6-ї групи (інтоксикованих йонами Cd^{2+} та NO_2^-) тварин, що отримували ЕА підтверджує ефективність даного лікарського засобу. Зокрема, на 14-ту добу нами відмічена чітка тенденція до нормалізації вмісту есенціальних елементів – Ca, Mg, Cu та Zn у КТ, а на 28-му добу вміст згаданих біоелементів наближається до значень інтактних тварин. Одночасно корегуючий вплив ЕА проявляється зниженням вмісту у КТ важкого металу Cd: на тлі дії нітритів у кінці експерименту вміст даного ВМ навіть достовірно нижчий (на 35,7 %), ніж у інтактних тварин. Такі дані свідчать про здатність унікального природного ансамблю компонентів ЕА

(біофлавоноїдів, вітамінів та інших БАР) протидіяти накопиченню Cd у кістках та сприяти вилученню йонів Cd^{2+} , які інкорпоровалися у мінеральну матрицю КТ за умов екзогенного надходження солей Кадмію та нітритів в організм тварин.

3.4.3. Мінеральна щільність стегнових кісток тварин дослідних груп за умов застосування екстракту артишоку. Результати дослідження МЦКТ уражених тварин за умов корекції препаратом ЕА наведені на рис. 3.28–3.30. Зокрема, суттєво зростала МЦКТ стегнових кісток при введенні тваринам ЕА протягом 28-ми діб: за умов нітритної та комбінованої інтоксикації (у 4-ій та 6-ій групах) значення показників МЦКТ епіфіза та діафіза стегнових кісток до кінця експерименту достовірно не відрізнялися від таких у інтактних тварин (див. рис. 3.29 та 3.30).

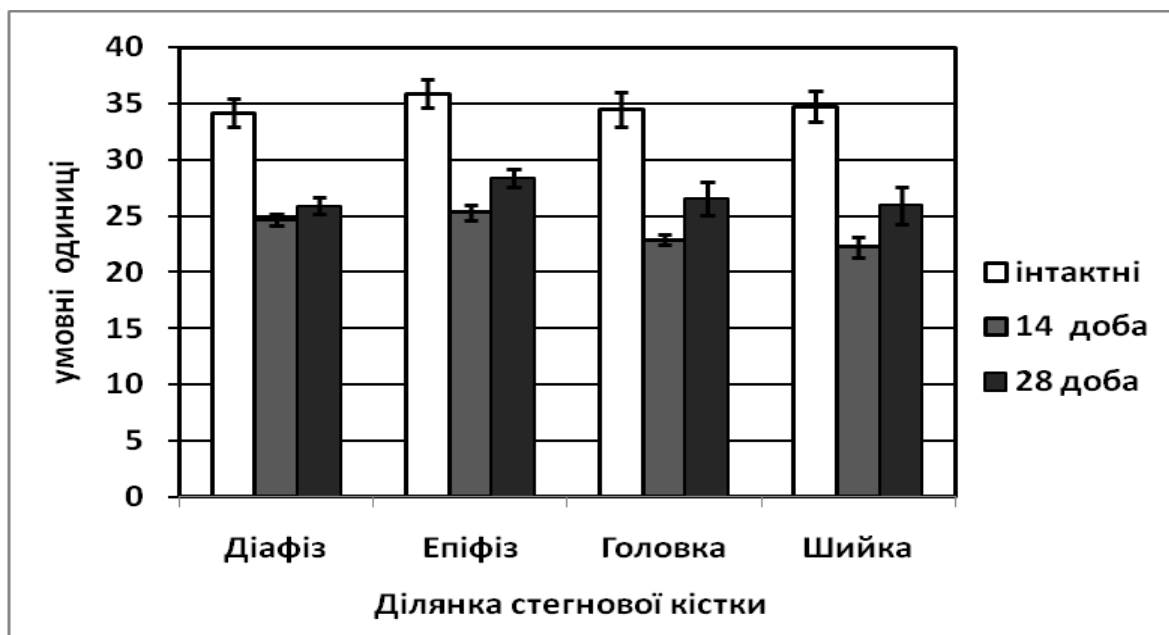


Рис. 3.28. Динаміка змін показників МЦКТ різних ділянок стегнових кісток інтактних щурів та уражених $CdCl_2$ з наступною корекцією ЕА (n=26).

Аналогічні тенденції спостерігались у динаміці змін показників МЦКТ головки та шийки стегнових кісток досліджуваних груп тварин.

Введення ЕА тваринам, які зазнали кадмієвого ураження (група 2), покращувало уже на 14-ту добу показники МЩ всіх досліджуваних ділянок стегнової кістки порівняно з тваринами, які не отримували препарат ЕА (див. рис. 3.28). Зокрема, у кортикальній кістці діафіза МЩКТ зростала на 50,3 % (із $16,4 \pm 0,9$ до $24,6 \pm 0,5$, $p < 0,001$), у трабекулярній КТ епіфіза – на 43,3 % (із $17,7 \pm 1,3$ до $25,3 \pm 0,8$, $p < 0,001$). Подібні зміни відбувалися у головці та шийці стегнової кістки: МЩКТ зростала відповідно на 59,0 % та 27,6 %. Однак, ці показники залишалися з високою достовірністю ($p < 0,001$) значно нижчими за значення МЩКТ відповідних ділянок стегнової кістки у інтактних тварин, зокрема, діафіза – на 28,1 %, епіфіза – на 29,5 %.

Нижчими за норму на 28-му добу корекції залишалася також МЩКТ стегнових кісток за умов кадміозу: після надходження в організм отруєних щурів екстракту артишоку МЩКТ діафіза та епіфіза стегнових кісток зростала відповідно на 17,7 % та 22,0 % відносно показників отруєних тварин. Зокрема, у діафізі – з $22,0 \pm 1,4$ до $25,9 \pm 0,8$; у епіфізі – з $23,3 \pm 1,2$ до $28,4 \pm 0,8$ ($p < 0,05$) що, однак, було нижче за показники інтактних відповідно на 24,2 % та 20,8 % (див. рис. 3.28).

За умов нітритної інтоксикації застосування ЕА (4-а група) покращувало показники МЩКТ в усіх ділянках стегнової кістки уже на 14-ту добу (рис. 3.29). Зокрема, у діафізі – на 51,8 % (з $18,9 \pm 1,6$ до $28,7 \pm 0,8$); у епіфізі – на 60 % (з $19,8 \pm 1,5$ до $31,3 \pm 1,3$), $p < 0,001$, у головці та шийці – відповідно зростала на 43,3 % та 37,8 % відносно показників тварин 3-ї групи, які піддавались впливу нітритів. Ці значення були дещо нижчими за показники інтактних – на 5,4–15,9 %.

На 28-ту добу корекції екстрактом артишоку у тварин, інтоксикованих NaNO_2 , в усіх ділянках стегнової кістки щурів МЩКТ достовірно не відрізнялася від показників інтактних (див. рис. 3.29).

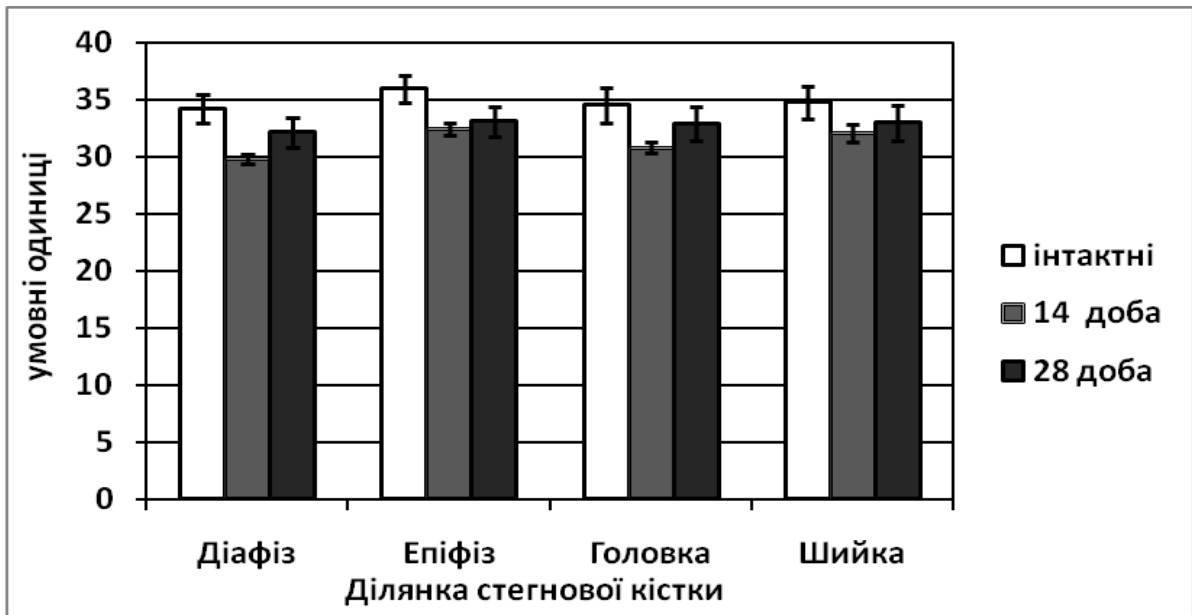


Рис. 3.29. Динаміка змін показників МЦКТ різних ділянок стегнових кісток інтактних щурів та уражених NaNO_2 з наступною корекцією ЕА (n=26).

Добрий ефект застосування досліджуваного препарату ЕА був одержаний у 6-й групі тварин, які піддавались комбінованому впливу натрію нітриту та кадмію хлориду (рис. 3.30).

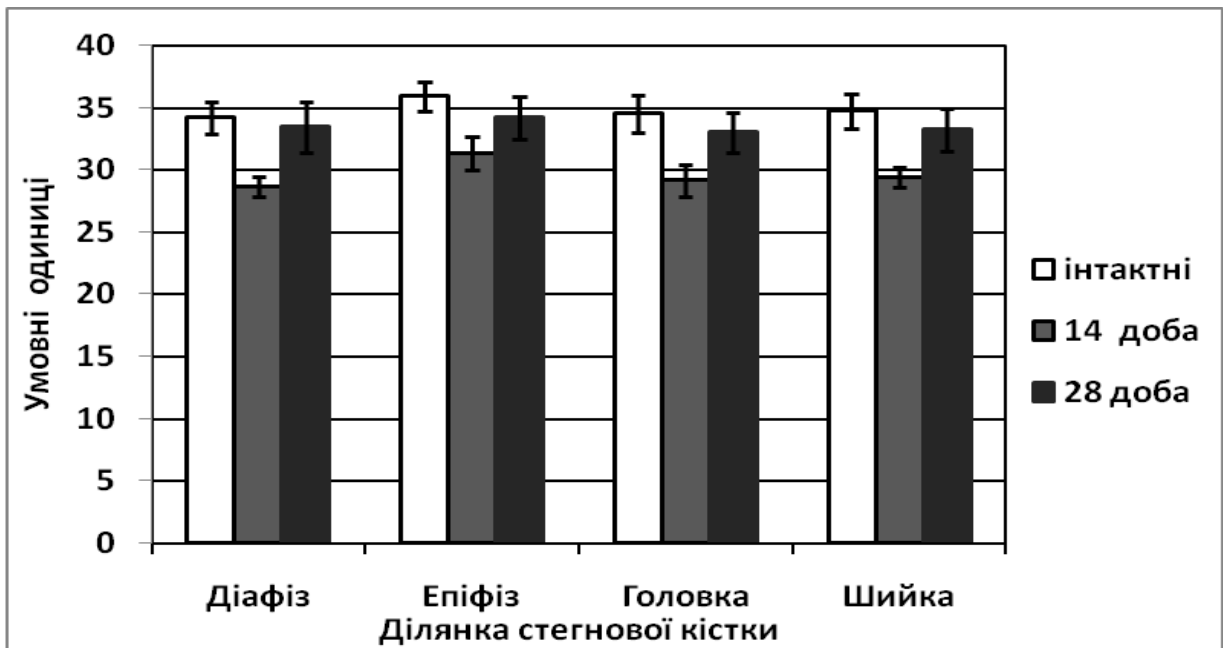


Рис. 3.30. Динаміка змін показників МЦКТ різних ділянок стегнових кісток інтактних щурів та уражених CdCl_2 і NaNO_2 з наступною корекцією ЕА (n=24).

Зокрема, у цій групі тварин на 14-ту добу мінеральна щільність достовірно ($p < 0,001$) зростала: у діафізах на 51,9 % (з $18,9 \pm 1,6$ до $28,7 \pm 0,8$); у епіфізах – на 59,7 % (з $19,6 \pm 1,5$ до $31,3 \pm 1,3$); у головці та шийці – на 43,3 % та 38,0 % відповідно до показників 5-ї групи тварин з комбінованим нітритно-кадмієвим ураженням.

Однак, ці значення були нижчими за показники мінеральної щільності відповідних ділянок стегнової кістки інтактних тварин. Зокрема, мінеральна щільність діафізів – на 16,1 %, епіфізів – на 12,8 %, головок – на 15,6 %, а шийок – на 15,3 %.

На 28-му добу введення тваринам 6-ї групи екстракту артишоку МЦКТ в усіх зонах стегнових кісток достовірно не відрізнялася від контрольних значень інтактних щурів (рис. 3.30), що було значно вищим за відповідні показники тварин порівнюваної групи – на 55,9% у діафізах та на 41,5–44,7 % у інших ділянках ($p < 0,01$).

Отже, найкращі результати збільшення МЦКТ у тварин дослідних груп під впливом застосування екстракту артишоку протягом 28-ми діб спостерігаються за умов нітритної та комбінованої дії солей нітритів і Cd^{2+} . Дещо нижчі значення зростання МЦКТ за умов введення ЕА спостерігаються на тлі кадмієвої інтоксикації.

3.4.4. Зміни структури кісткової тканини під впливом екстракту артишоку на тлі інтоксикації кадмію хлоридом та натрію нітритом. При введенні в організм тварин Cd хлориду та наступною корекцією ЕА (6-та дослідна група) на 14-у добу експерименту в компактній КТ діафіза стегнової кістки щурів спостерігається нерівномірне стоншення переважно остеонного шару, яке супроводжується фрагментацією гаверсових систем, порушенням їх впорядкованого розміщення (рис. 3.31).

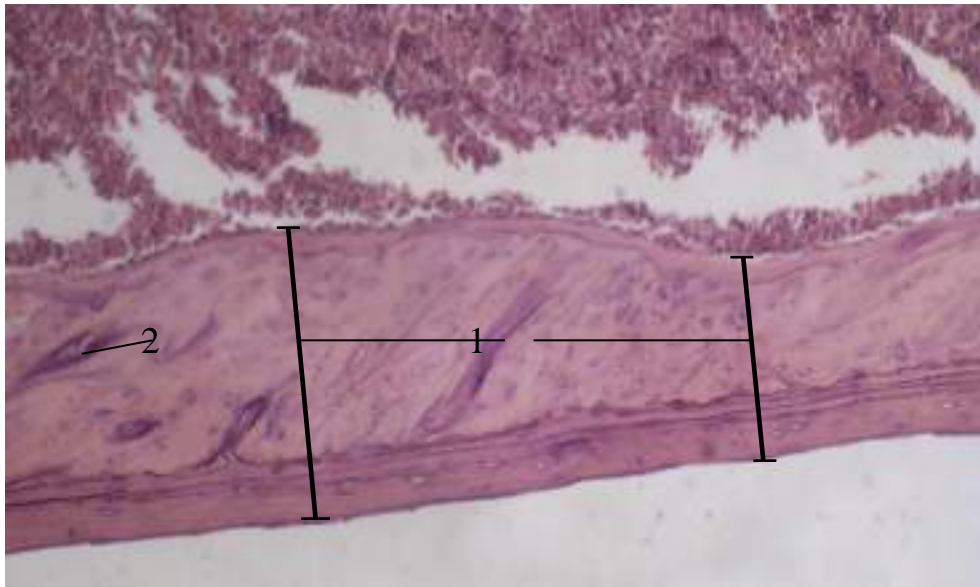


Рис. 3.31. Діафіз стегнової кістки щура на 14-ту добу після введення CdCl_2 та екстракту артишоку:

- 1 – нерівномірне стоншення кістки;
- 2 – порушення впорядкованого розміщення колагенових волокон кісткових пластинок остеонного шару.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 140$.

Зростання кількості ліній склеювання у шарі зовнішніх генеральних пластинок вказує на доволі високу інтенсивність процесів компенсаторного неколагеногенезу зі сторони окістя. Водночас в остеонному шарі спостерігається менш впорядковане формування органічної матриці з тангенційним або концентричним периваскулярним напрямком колагенових волокон, вогнищевим зростанням кількості ОЦ у зонах репаративної регенерації.

В окремих випадках визначається поява кісткових каналів у шарі зовнішніх генеральних пластинок, ділянки стоншення шару внутрішніх генеральних пластинок, що поєднується з порушенням впорядкованої структури остеонного шару за рахунок новоутворення волокон колагенової матриці з явищами базофілії (рис. 3.32).

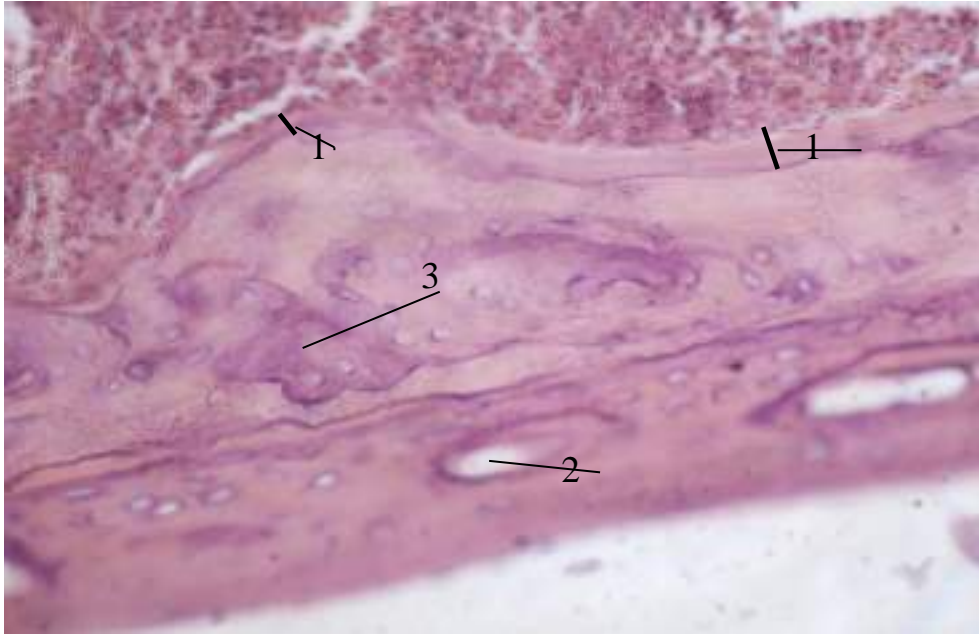


Рис. 3.32. Діафіз стегнової кістки щура на 14-ту добу після введення CdCl_2 та екстракту артишоку:

- 1 – нерівномірне стоншення шару внутрішніх генеральних пластинок;
- 2 – формування кісткових каналів у потовщеному шарі зовнішніх генеральних пластинок;
- 3 – вогнища репаративної регенерації остеонного шару.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 560$.

Дещо інший характер патоморфологічних змін КТ визначається на 28-му добу експерименту. При цьому характерним є стоншення діафіза за рахунок різкого зменшення ширини остеонного та шару зовнішніх генеральних пластинок.

У кінці дослідження, після 28-ми діб введення екстракту артишоку тваринам, ураженим кадмію хлоридом, у діалізі стегнових кісток спостерігається відносно потовщення шару внутрішніх генеральних пластинок та наявність вогнищ репаративної регенерації в остеонному шарі кістки (рис. 3.33).

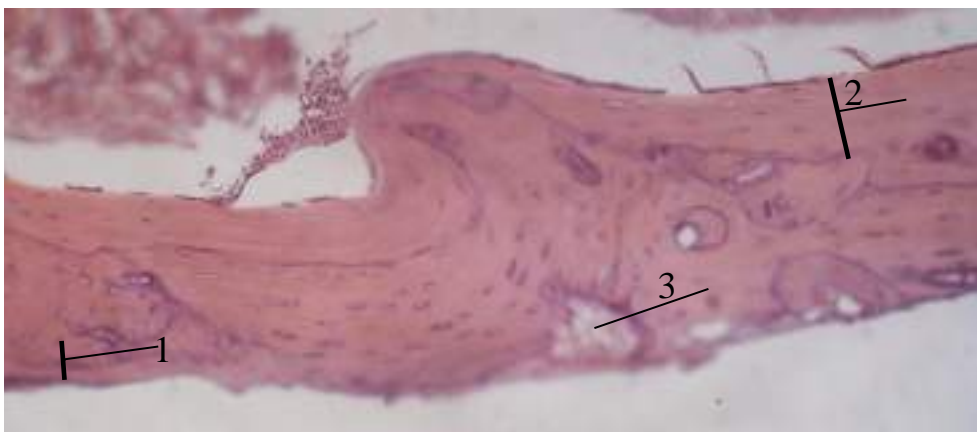


Рис. 3.33. Діафіз стегнової кістки щура на 28-му добу після введення CdCl_2 та екстракту артишоку.

- 1 – стоншення шару зовнішніх генеральних пластинок;
- 2 – гіпертрофія шару внутрішніх генеральних пластинок;
- 3 – помірно виражений неоваскулогенез та периваскулярний неокостогенез в остеонному шарі діафіза.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 280$.

Таким чином, введення ЕА тваринам, що були уражені йонами Cd^{2+} (2-га дослідна група), зменшує вираженість процесів руйнування компактної кістки в діафізах трубчастих кісток, знижує рівень диспропорції між процесами остеомалаяції та репаративної регенерації, хоча й не усуває повністю негативного впливу токсиканта на КТ. Це проявляється незначною вираженістю процесів новоутворення судин та більш однорідною структурою остеонного шару.

Більш інтенсивно процеси резорбції КТ відбуваються в епіфізі стегнової кістки (рис. 3.34). Масивне руйнування кісткових трабекул призводить до порушення характерної картини губчастої кістки, вона втрачає комірчастий вигляд. У препаратах візуалізуються лише поодинокі деформовані, різко стоншені кісткові балки. Достовірних ознак репаративної регенерації КТ не спостерігається.

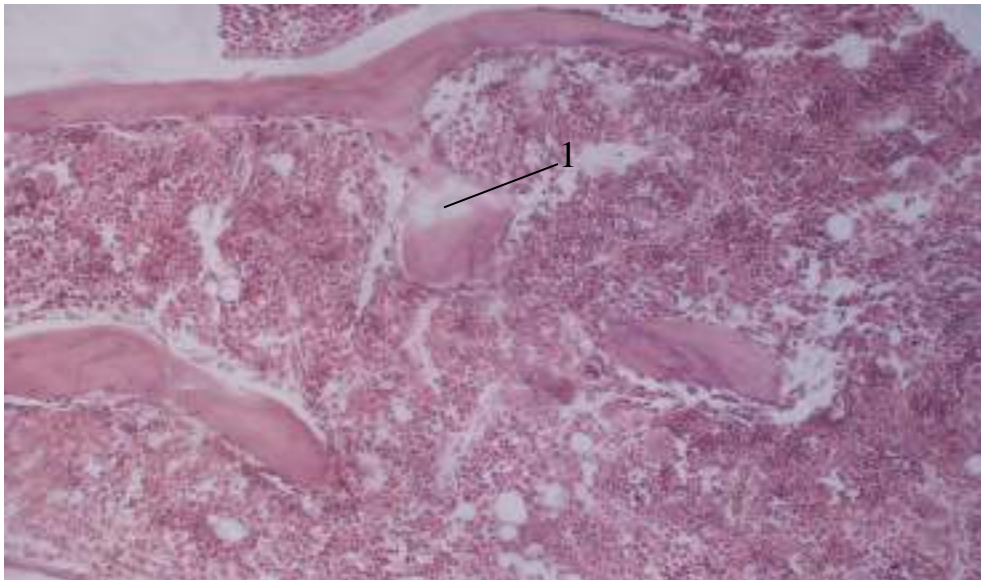


Рис. 3.34. Губчаста КТ епіфіза стегнової кістки щура на 14-ту добу введення CdCl_2 та екстракту артишоку:

1 – руйнування кісткових перекладин.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 140$.

На 14-ту добу після введення тваринам 3-ї дослідної групи NaNO_2 за умов корекції ЕА структура компактної кістки діяфіза та губчастої кістки епіфіза не зазнає суттєвих змін, порівняно з інтактними тваринами та з тваринами, яким корекції не проводилось. Товщина періосту та кістки однакова на усьому протязі. Межі шарів зовнішніх та внутрішніх генеральних пластинок гладкі.

Волокна органічної матриці остеонного шару рівномірно сприймають барвник, лінії склеювання спрямовані переважно вздовж довгої осі кістки (рис. 3.35). На поверхні можливе відкладання тонкого шару остеоїду вигляді гомогенної оксифільної маси, в якій замуруються поодинокі ОЦ.

Зміни губчастої КТ дещо відрізняються у різних тварин цієї групи. У більшості структура КТ загалом збережена. Кісткові трабекули здебільшого представлені пластинками, що тісно прилягають одна до одної, між ними знаходяться остецити з видовженими ядрами. Поверхня балок гладка.

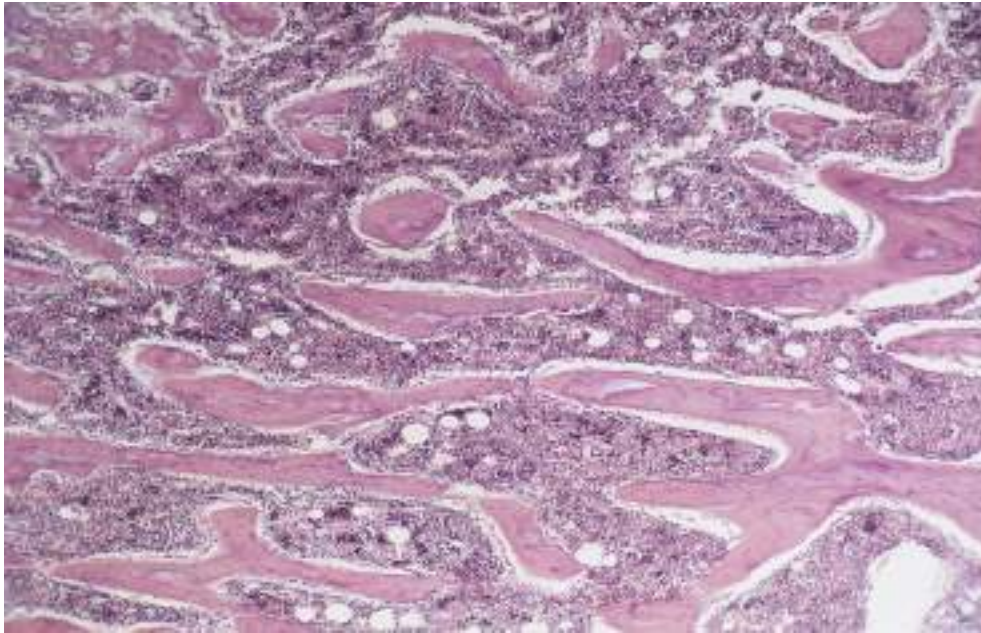


Рис. 3.35. Губчаста кістка епіфізу стегнової кістки щура на 14-ту добу після введення NaNO_2 та екстракту артишоку.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 140$.

Водночас, в окремих тварин визначаються явища резорбції КТ (рис. 3.36):

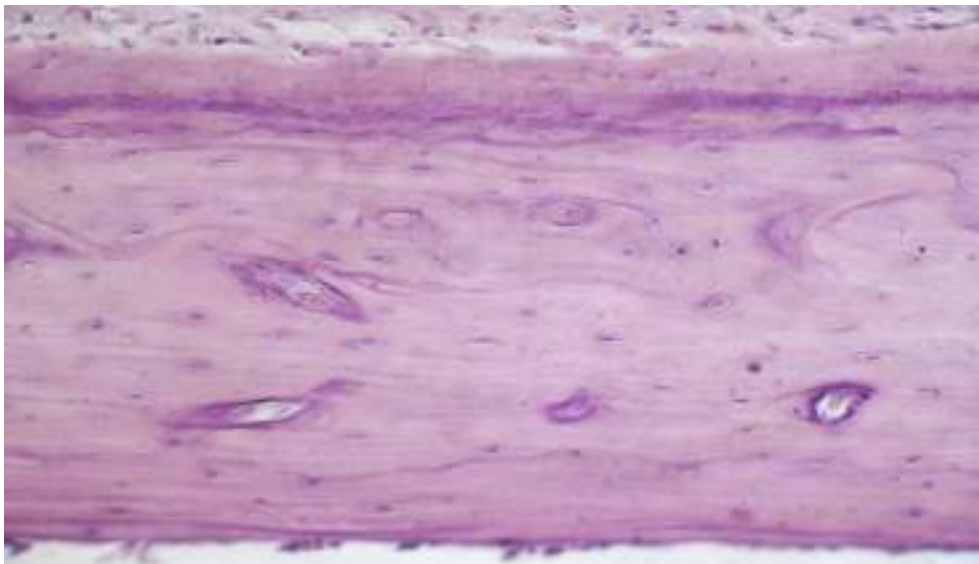


Рис. 3.36. Компактна кістка діфізу стегнової кістки щура на 14-ту добу після введення NaNO_2 та екстракту артишоку.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 280$.

При цьому спостерігається посилена активність ОБ з перичелюлярними відкладаннями новоутвореного остеоїда у товщі балок або на поверхні. При цьому дрібнокоміркова будова епіфізу збережена.

На 28-у добу після введення тваринам 4-ї групи NaNO_2 і застосування ЕА ознаки перебудови компактної та губчастої КТ тварин мають доволі поліморфний характер. Зокрема в діяфізі стегнової кістки щурів не визначаються стоншені ділянки, але спостерігається ділянки з великою кількістю розширених кісткових каналів, явищами оксифілії волокон (рис. 3.37), що співпадає з гістологічною картиною, яка спостерігається у інтактних тварин.

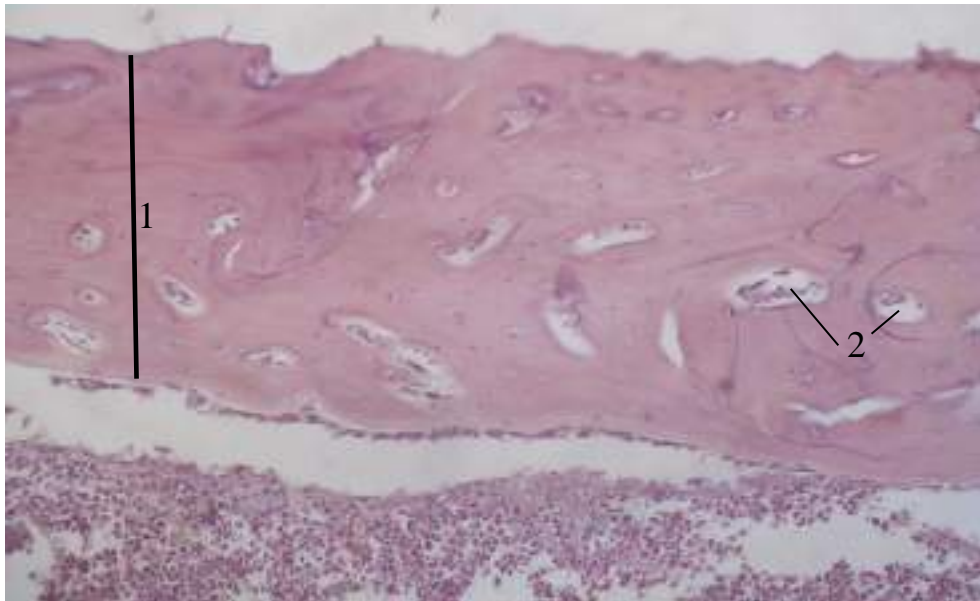


Рис. 3.37. Діафіз стегнової кістки щура на 28-му добу після введення NaNO_2 та екстракту артишоку:

- 1 – стоншення кістки;
- 2 – порушення впорядкованого розміщення кісткових каналів.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 280$.

Подекуди візуалізуються ділянки з хаотично орієнтованими лініями склеювання, які орієнтовані під кутом до довгої осі кістки або концентрично довкола кісткових каналів.

Принципово відмінною рисою перебудови КТ діяфіза стегнової кістки у щурів, які отримували токсикант NaNO_2 разом з ЕА, є наявність ділянок посиленого неоколагенезу. Вони характеризуються, перш за все, більшою товщиною (рис. 3.38) та більш однорідним характером забарвлення волокон органічної матриці.

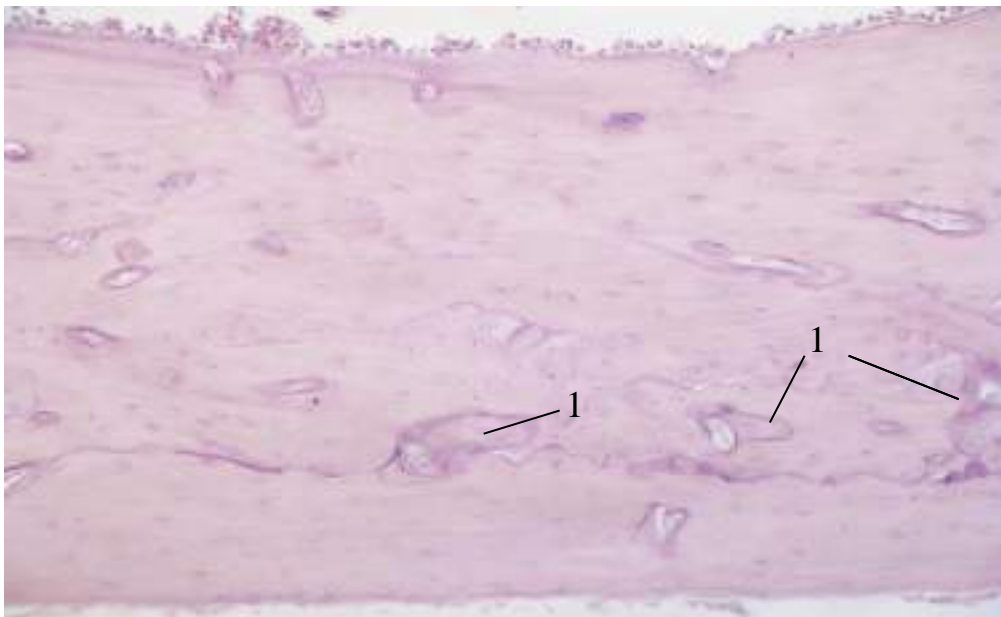


Рис. 3.38. Діяфіз стегнової кістки щура на 28-му добу після введення NaNO_2 та екстракту артишоку:

1 – новоутворення КТ зі сторони періосту.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 560$.

Звертає на себе увагу посилене новоутворення колагенових волокон зі сторони періосту (див. рис. 3.38). Новоутворені колагенові волокна орієнтовані переважно вздовж довгої осі кістки, забарвлюються рівномірно. Порівняно невелика кількість остеоцитів з видовженими ядрами розміщуються у вузьких лакунах.

Вищенаведене вказує на достатню зрілість новоутвореної КТ з ознаками остеонної будови, яка спостерігається у кінці досліду при корекції нітратного ураження ЕА.

Поряд з цим, в остеонному шарі визначаються вогнища неколагеногенезу відносно неупорядкованої будови, яка визначається особливостями ангіоархітекtonіки новоутвореної КТ, хоча кількість кісткових каналів відносно невелика.

Корекція патологічного стану, викликаного введенням NaNO_2 , за допомогою ЕА справляє суттєвий вплив на характер змін губчастої КТ епіфізів стегнових кісток. Звертає на себе увагу виражена проліферація клітин остеобластичного ряду в ділянках репарації кісткових балочок (рис. 3.39).

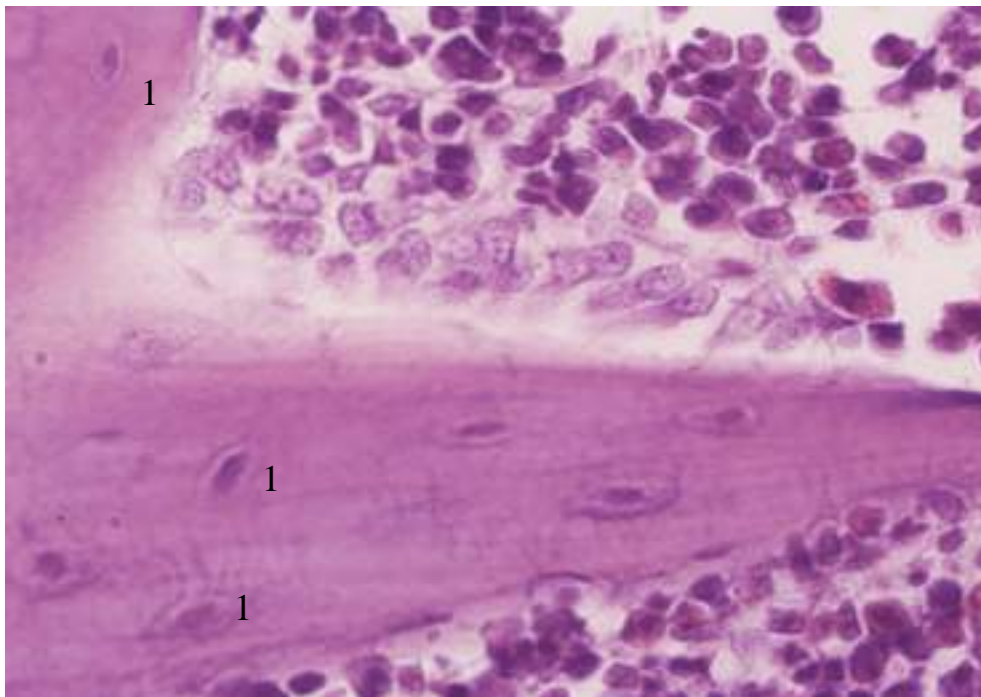


Рис. 3.39. Губчаста кісткова тканина епіфіза стегнової кістки щура на 28-му добу після введення NaNO_2 та екстракту артишоку:

1 – проліферація остеобластів.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 560$.

Доволі частою знахідкою є остеокласти великих розмірів з численними ядрами (рис. 3.40).

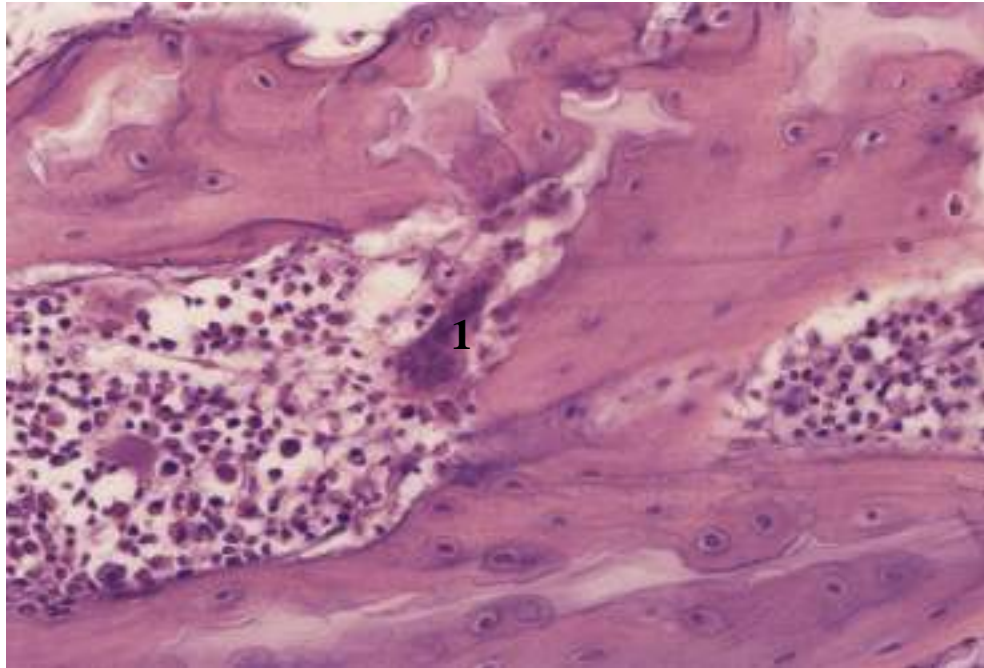


Рис. 3.40. Губчаста кісткова тканина епіфіза стегнової кістки щура на 28-му добу після введення NaNO_2 та екстракту артишока.

1 – остеокласт.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографії. Збільшення: $\times 430$.

Такі результати дають змогу стверджувати, що корекція нітритної інтоксикації тварин 4-ї дослідної групи введенням ЕА на 28-у добу експерименту забезпечує посилений неоостеогенез в діяфізах трубчастих кісток за рахунок посилення функціональної діяльності клітин периосту та формуванням зрілої КТ з чіткими ознаками остеонного принципу будови.

Корекція ЕА комбінованого впливу солей CdCl_2 та NaNO_2 справляє виражений позитивний вплив на перебіг деструктивних та репаративних процесів у компактній КТ діяфізів стегнових кісток тварин 6-ї групи. На 14-ту добу експерименту тільки в деяких випадках визначались глибокі деструктивні процеси руйнування кістки з явищами резорбції, неоваскулогенезу та

формування кісткових каналів. Зрідка спостерігаються також утворення дефектів у вигляді узур чи явищ гладкої і лакунарної резорбції, стоншення кістки.

При цьому виявляється дещо порушене співвідношення між товщиною шарів. Попри домінування остеонного шару, ширина шару внутрішніх генеральних пластинок більша, ніж зовнішніх (рис. 3.41). Границя між шаром зовнішніх генеральних пластинок та остеонним шаром нерівна, лінія склеювання різко базофільна, неоднакової товщини. Помірно виражена дезорганізація спостерігається в остеонному шарі.

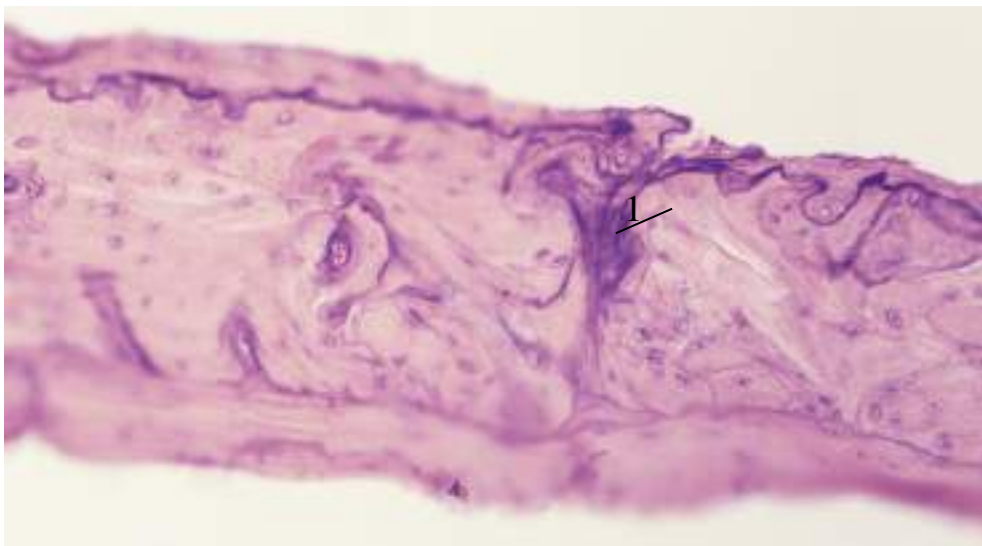


Рис. 3.41. Структура компакної кісткової тканини діяфіза стегнової кістки щура на 14-ту добу після введення солей CdCl_2 і NaNO_2 та екстракту артишоку:

1 – порушення організації кісткових пластинок.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 280$.

Попри відносно невелику кількість хаотично орієнтованих кісткових каналів, неколагеногенез носить вогнищевий характер, що надає остеонному шару мозаїчного вигляду. Спостерігаються численні ділянки з концентрично і тангенційно орієнтованими колагеновими волокнами з явищами анізохромії. У

вогнищах новосформованої органічної матриці остеоцити розміщуються групами, ядра їх мають овальну або округлу форму.

Більш виражені зміни візуалізуються в губчастій КТ епіфіза (рис. 3.42). Нерівномірно стоншені кісткові балки, деякі з численними узурами, визначаються лише поблизу суглобової поверхні, з віддаленням від головки стегнової кістки їх щільність зменшується. У зв'язку з цим значно зростає площа комірок, заповнених червоним кістковим мозком. Спостерігаються явища гладкої та подекуди лакунарної резорбції КТ при домінуванні процесів остеомалаяції без активації клітин моноцитарно-остеокластичного ряду.

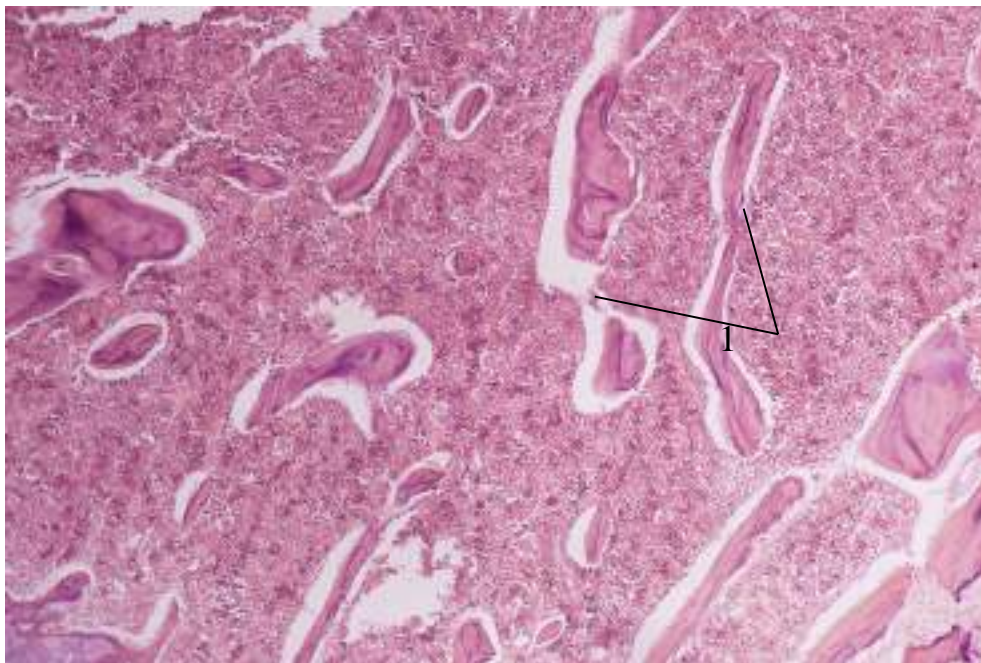


Рис. 3.42. Губчаста КТ епіфіза стегнової кістки щура на 14-ту добу після введення CdCl_2 і NaNO_2 та екстракту артишоку:

1 – руйнування кісткових балок.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 430$.

Водночас, практично не визначаються явища неоостеогенезу в пошкоджених кісткових перекладинах. Лише в окремих ділянках

спостерігається проліферація ОБ та незначне відкладання остеїду на поверхні кісткових балок (рис. 3.43).

Остеоцити нечисленні. Визначаються остеобласти різного ступеня зрілості та ділянки новоутворення органічної матриці на поверхні кісткової балки.

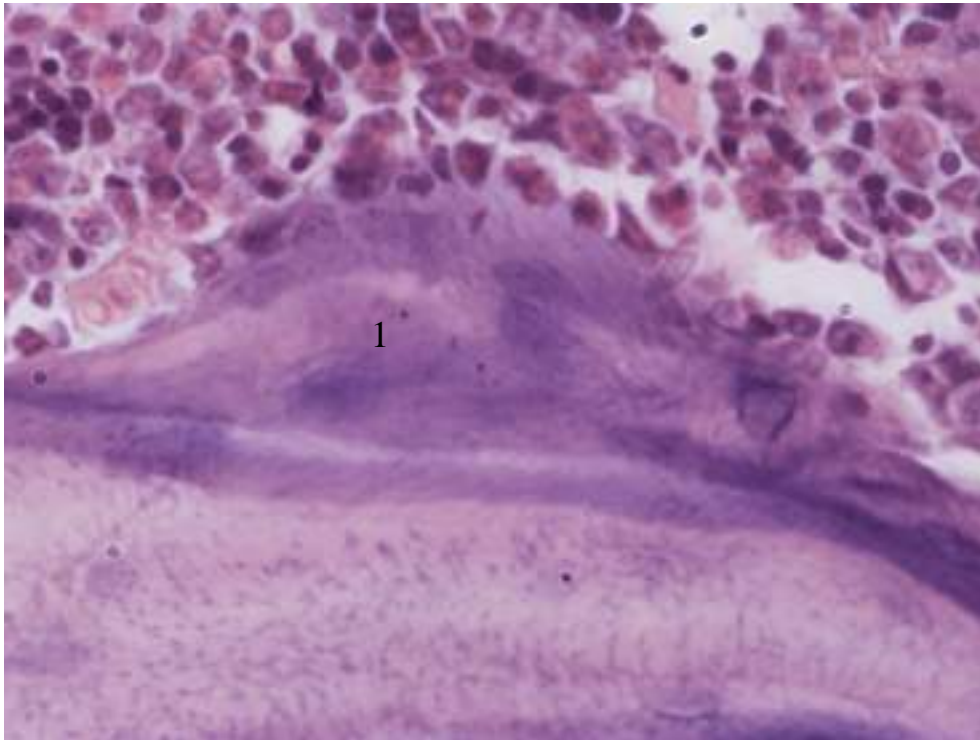


Рис. 3.43. Губчаста кісткова тканина епіфіза стегнової кістки щура на 14-ту добу після введення CdCl_2 , NaNO_2 та екстракту артишоку:

1 – ділянка новоутворення органічної матриці на поверхні кісткової балки.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 860$.

Поряд з вищеописаним способом репарації губчастої КТ в ділянках епіфізу стегнової кістки в окремих випадках на 14-ту добу експерименту спостерігається виражене новоутворення КТ шляхом формування доволі великої кількості хаотично орієнтованих примітивних балочок осеїдної будови (рис. 3.44).

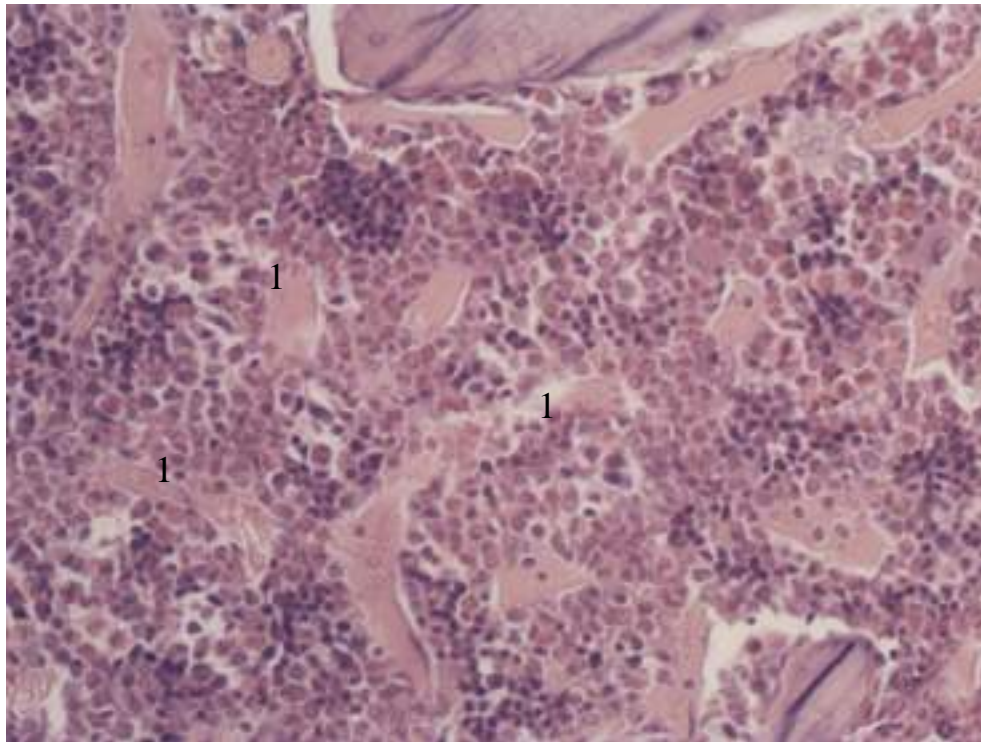


Рис. 3.44. Губчаста КТ епіфіза стегнової кістки щура на 14-ту добу після введення CdCl_2 , NaNO_2 та екстракту артишоку:

1 – новоутворення примітивних осеоїдних балочок.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 560$.

На 28-му добу експерименту в 6-ій дослідній групі тварин (комбінована дія CdCl_2 і NaNO_2) за умов корекції ЕА виявлені у попередній термін закономірності структурної організації компактної КТ діафіза стегнової кістки зберігаються (рис. 3.45).

До особливостей цього терміну слід віднести посилену проліферацію ОБ, формування тонких нашарувань доволі впорядкованих волокон органічної матриці зі сторони ендосту.

Поряд з цим спостерігається формування тонких прошарків волокнистої сполучної тканини. Інтенсивність репаративних процесів у відносно збережених кісткових трабекулах суттєво не відрізняється від попереднього терміну.

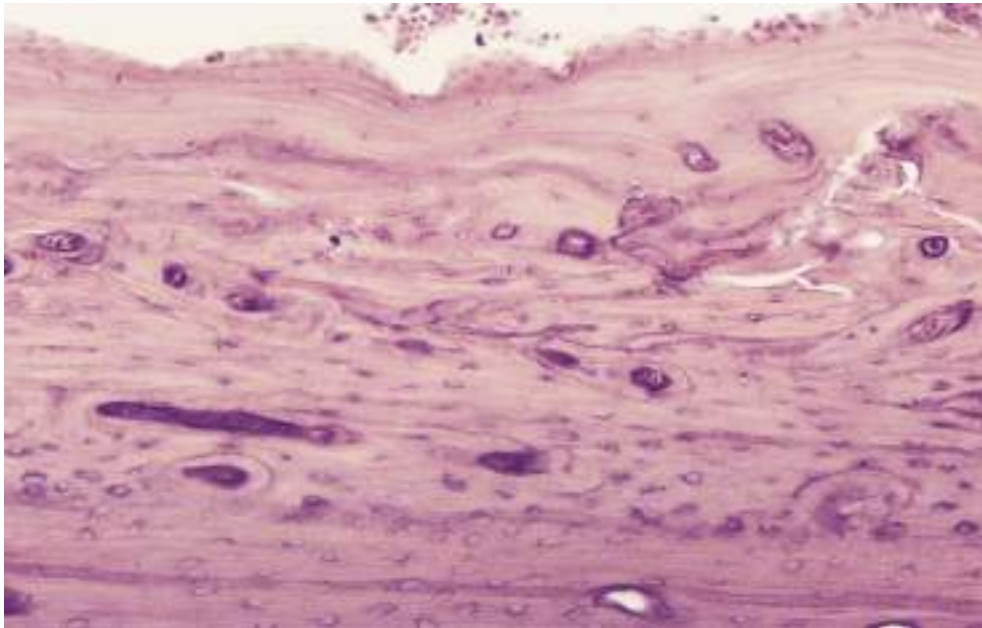


Рис. 3.45. Ділянка діафізу стегнової кістки щура на 28-му добу після введення CdCl_2 комбіновано з NaNO_2 та екстракту артишоку.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографія. Збільшення: $\times 280$.

В епіфізах стегнових кісток визначається різке зниження кількості примітивних осеїдних балок і зростання товщини тих, що залишились (рис. 3.46).

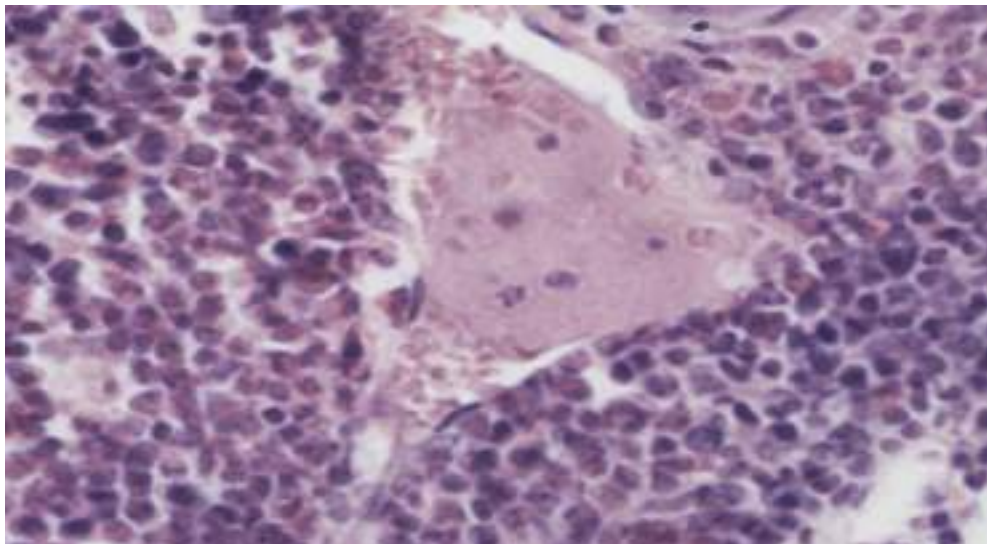
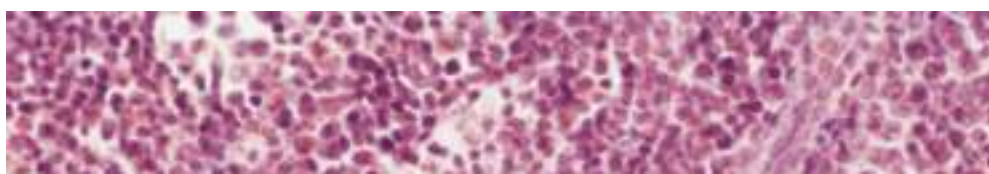


Рис. 3.46. Формування новоутворених кісткових балок в епіфізі стегнової кістки щура на 28-му добу після введення CdCl_2 , NaNO_2 та екстракту артишоку.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографії. Збільшення: $\times 430$.



1

Рис. 3.47. Розростання тонких прошарків волокнистої сполучної тканини (1) в епіфізі стегнової кістки щура на 28-му добу після введення CdCl_2 , NaNO_2 та екстракту артишоку.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікрофотографії. Збільшення: $\times 280$.

Таким чином, окрім зменшення явищ деструкції компактної кісткової тканини діяфізів, введення тваринам дослідних груп ЕА справляє суттєвий вплив на характер регенерації у губчастій кістці, що проявляється новоутворенням колагенового каркасу. Остеоїд здебільшого досягає структурної зрілості, завершується формуванням пластинчастих структур.

Результати досліджень опубліковані в статтях:

1. Хопта Н. С. Застосування препарату «Артишоку екстракт – Здоров'я» для корекції порушень кісткового метаболізму за умов дії ксенобіотиків / Н. С. Хопта // Вісник проблем біології і медицини. – 2011. – Т. 90, вип. 4. – С. 161–166.

2. Хопта Н. С. Нарушение состояния костной ткани крыс в условиях кадмиоза и их коррекция экстрактом артишока / Н. С. Хопта // Микроэлементы в медицине. – 2012. – Т. 13, № 2. – С. 19–26.

3. Хопта Н. С. Стан кісткової тканини щурів за умов надходження нітритів та корекція порушень екстрактом артишоку / Н. С. Хопта // Біологія тварин. – 2015. – Т. 17, № 3. – С. 128–135.

4. Хопта Н. С. Стан мінерального матриксу кісткової тканини експериментальних тварин за умов поєднаної дії ксенобіотиків / Н. С. Хопта, Г. М. Ерстенюк // Медична хімія. – 2009. – Т. 11, № 4. – С. 124–129.

5. Хопта Н. С. Особливості метаболізму кісткової тканини щурів за умов нітритної інтоксикації / Н. С. Хопта, Г. М. Ерстенюк // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету ім. В. Гнатюка, Серія : біологія. – 2010. – Т. 42, № 1. – С. 111–117.

6. Ерстенюк Г. М. Вплив хлориду кадмію та нітриту натрію на структурно-метаболічні процеси у кістковій тканині / Г. М. Ерстенюк, С. Б. Геращенко, Н. С. Хопта // Досягнення біології та медицини – 2011. – Т. 18, № 2. – С. 40–45. *(Дисертант провела визначення активності ензимів, елементного складу кісток та біохімічних показників у крові, статистичну обробку й аналіз результатів, підготувала статтю до друку).*

Також доповідались на Всеукраїнських та міжнародних наукових конференціях та опубліковані в матеріалах цих форумів:

1. XI Українському біохімічному конгресі, м. Київ, 2014:

Хопта Н. С. Вплив екстракту артишоку на метаболізм кісткової тканини за умов дії нітриту натрію / Н. С. Хопта, І. С. Базалицька, Г. М. Ерстенюк // Матеріали XI Українського біохімічного конгресу (м. Київ, 6–10 жовтня 2014). – Ukr. Biochem. J. – 2014. – Vol. 86, N 5 (Suppl. 2). – С. 147–148.

2. науково-практичній конференції з міжнародною участю «Остеопороз: від дитинства до старості», м. Харків, 2012:

Хопта Н. С. Корекція порушень у мінеральній фазі кісткової тканини щурів, що виникають за умов кадмієво-нітритної інтоксикації / Н. С. Хопта, З. Я. Витвицький // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Остеопороз: від дитинства до старості» (м. Харків, 13-14 березня 2012). – Проблеми остеології. – 2012. – Т. 15, № 1 (січень-березень). – С. 88–90.

3. 7-й Міжнародній Львівсько – Люблінській конференції експериментальної та клінічної біохімії, м. Львів, 2013:

Ersteniuk A. M. Correction of bone tissue alteration by artichoke extract in conditions of itai-itai disease / A. M. Ersteniuk, N. S. Khopta, I. S. Bazalytska // 7th Lviv-Lublin conference of Experimental and Clinical Biochemistry, May 23-24, 2013. / Abstract book, P. 38

4. IV Міжнародному симпозиумі Федерації європейських товариств по вивченню макро- і мікроелементів «Макро- і мікроелементи в медицині та біології», м. Санкт-Петербург, Росія, 2010:

Ersteniuk A. Biochemical mechanisms of development of cadmium-nitrite intoxication in conditions of experiment / A. Ersteniuk, L. Nechytailo, N. Khopta, L. Kuras, M. Zinkevych, L. Logaza // Матеріали IV Международного симпозиума Федерации Европейских обществ по изучению макро- и микроэлементов «Макро- и микроэлементы в медицине и биологии», 9-12 июня 2010 г. Санкт-Петербург, Россия. – Микроэлементы в медицине. – 2010. – Т. 11, Вып. 2. – С. 74–75.

5. науково-практичних конференціях «Здобутки клінічної та експериментальної медицини», м. Тернопіль, 2009, 2011 та 2012:

Хопта Н. С. Вплив нітритної інтоксикації на показники кальцій-фосфорного обміну у кістковій тканині щурів / Н. С. Хопта, Г. М. Ерстенюк // Збірник матеріалів підсумкової науково-практичної конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (м. Тернопіль, 4 червня 2009). – С. 149–150.

Хопта Н. С. Корекція порушень у кістковій тканині щурів за умов кадмієво-нітритної інтоксикації / Н. С. Хопта, З. Я. Витвицький // Здобутки

клінічної та експериментальної медицини: збірник матеріалів підсумкової науково-практичної конференції (м. Тернопіль, 17 квітня 2012). – С. 215–216.

Хопта Н. С. Особливості впливу екстракту артишоку на стан кальцієво-фосфорного обміну за умов дії нітритів / Н. С. Хопта // Медична і клінічна хімія. – 2011. – Т. 13, № 4. – С. 210.

6. науково-практичній конференції «Природничі читання», присвяченій 70-річчю Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці, 2014:

Павелко З. І. Дослідження впливу екстракту артишоку на деякі показники фосфорно-кальцієвого обміну тварин, уражених нітритами / З. І. Павелко, Н. С. Хопта // Матеріали науково-практичної конференції «Природничі читання» присвяченої 70-річчю БДМУ (м. Чернівці, 16–19 травня 2014). – С. 116–117.

7. IV Всеукраїнській науково-технічній конференції «Актуальні питання теоретичної і прикладної біофізики, фізики та хімії», м. Севастополь, 2008:

Ерстенюк А. М. Вплив ксенобіотиків на макро- та мікроелементний склад та деякі показники кальцій-фосфорного обміну експериментальних тварин / А. М. Ерстенюк, Н. С. Хопта, Л. Я. Нечитайло // Матеріали IV Всеукраїнської науково-технічної конференції «Актуальні питання теоретичної і прикладної біофізики, фізики та хімії» (г. Севастополь, 21–26 квітня 2008). – С. 12–13.

8. науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», м. Тернопіль, 2008:

Хопта Н. С. Деякі метаболічні зміни в кістковій тканині щурів за поєданого впливу ксенобіотиків – хлориду кадмію та нітриту натрію / Н. С. Хопта, Г. М. Ерстенюк // Матеріали науково-практичної конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (м. Тернопіль, 6-7 листопада 2008) / Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2008. – № 2. – С. 155–156.

9. III Міжнародній конференції «Біологія: від молекули до біосфери», м. Харків, 2008:

Сиротинська І. Д. Динаміка змін мікро- та макроелементного складу органів і тканин експериментальних тварин за умови інтоксикації нітритом натрію / І. Д. Сиротинська, Л. Я. Нечитайло, Н. С. Хопта // Матеріали III Міжнародної конференції «Біологія: від молекули до біосфери». (м. Харків, 18–1 листопада 2008). – С. 129–130.

10. II з'їзді російського товариства медичної елементології, м. Твер, Росія, 24-27 листопада 2008:

Хопта Н. С. Комбинированное влияние хлорида кадмия и нитрита натрия на метаболизм в костной ткани экспериментальных животных / Н. С. Хопта, А. М. Эрстенюк // Микроэлементы в медицине. Москва. – 2008. – Т. 9, Вып. 12. – С. 76–77.

11. V та VIII Міжнародних наукових конференціях «Молодь і поступ біології», м. Львів, 2009 та 2012:

Логаза Л. В. Вплив нітритної інтоксикації на показники крові експериментальних тварин / Л. В. Логаза, Н. С. Хопта // V Міжнародна наукова конференція молодих вчених «Молодь і поступ біології», збірник тез, Т.2. (м. Львів, 12-15 травня 2009). – С. 52–53.

Гризун І. О. Особливості впливу монооксиду нітрогену на маркери кісткового метаболізму у щурів / І. О. Гризун, Н. С. Хопта // Молодь і поступ біології: збірник тез VIII Міжнародної наукової конференції (м. Львів, 3–6 квітня 2012)). – С. 42–43.

12. X Українському біохімічному з'їзді, м. Одеса, 2010:

Хопта Н. С. Зміни елементного складу кісткової тканини щурів за умов експериментальної інтоксикації нітритом натрію та хлоридом кадмію / Н. С. Хопта, М. В. Зінкевич, Г. М. Ерстенюк // Український біохімічний журнал. – 2010. – Т. 82, №4 (додаток 2). – С. 187.

13. 8-ій та 9-ій міжнародних науково-практичних конференціях «Наукові дослідження – теорія та експеримент 2013», м. Полтава, 2013:

Хопта Н. С. Зміни маркерів кісткового метаболізму та балансу кальцитонін-паратгормон у крові дослідних тварин за умов дії кадмію хлориду / Н. С. Хопта, Г. М. Ерстенюк // Матеріали восьмої міжнародної науково-практичної конференції «Наукові дослідження – теорія та експеримент, 2013» – Т.4 (м. Полтава, 29–31 травня 2013). – С. 106–108.

Хопта Н. С. Деякі показники фосфорно-кальцієвого обміну за умов впливу ксенобіотиків / Н. С. Хопта, І. С. Базалицька // Матеріали дев'ятої міжнародної науково-практичної конференції «Розвиток наукових досліджень, 2013» (м. Полтава, 25-27 листопада 2013). – С. 99–101.

14. міжнародній науково-практичній конференції «Мікроелементи в медицині, ветеринарії, харчуванні: перспективи співробітництва і розвитку», м Одеса, 2014:

Ерстенюк Г. М. Рівень кадмію в екосистемі Прикарпаття та механізми розвитку експериментальної кадмієвої інтоксикації / Г. М. Ерстенюк, Н. С. Хопта, Л. Я. Нечитайло, Л. Д. Курас // Материалы международной научно-практической конференции «Микроэлементы в медицине, ветеринарии, питании: перспективы сотрудничества и развития» (г. Одесса, 24–26 сентября 2014). – С. 84–89.

15. науково-практичних конференціях з міжнародною участю «Бабенківські читання», м. Івано-Франківськ, 2009–2013:

Хопта Н. С., Ерстенюк Г. М. Вплив інтоксикації нітритом натрію на обмінні процеси у кістковій тканині експериментальних тварин / Н. С. Хопта, Г. М. Ерстенюк // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Бабенківські читання» (м. Івано-Франківськ, 29–30 жовтня 2009). – С. 55.

Хопта Н. С. Вплив хлориду кадмію на мінеральну щільність стегнових кісток білих щурів / Н. С. Хопта, З. Я. Витвицький // Науково-практична конференція з міжнародною участю «Бабенківські читання» (м. Івано-Франківськ, 27-28 жовтня 2011). – С. 94.

Хопта Н. С. Зміни структурної організації стегнових кісток щурів за умови поєднаного впливу хлориду кадмію та нітриту натрію / С. Б. Геращенко, Н. С. Хопта // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Бабенківські читання» (м. Івано-Франківськ, 27-28 жовтня 2011). – С. 59.

Хопта Н. С. Спосіб корекції метаболічних порушень у кістковій тканині щурів за умов поєднаного ураження хлоридом кадмію та нітритом натрію / Н. С. Хопта // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Бабенківські читання» (м. Івано-Франківськ, 24-25 жовтня 2013). – С. 99.

16. 15-му міжнародному медичному конгресі, м. Тернопіль, 2011:

Хопта Н. Вплив хлориду кадмію на елементний склад печінки і кісток тварин / Н. Хопта, Х. Данилюк, Л. Нечитайло // Матеріали XV Міжнародного медичного конгресу (м. Тернопіль, 27-29 квітня 2011). – Укрмедкнига. – С. 286.

17. всеукраїнських науково-практичних конференціях «Довкілля та здоров'я», м. Тернопіль, 2010–2013:

Нечитайло Л. Я. Вміст нітритів і кадмію у питній воді та їх поєднаний вплив на мікро- та мікроелементний склад печінки та кісткової тканини експериментальних тварин / Л. Я. Нечитайло, Н. С. Хопта // Матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції «Довкілля та здоров'я» (м. Тернопіль, 23-24 квітня 2010). – С. 86–87.

Хопта Н. С. Вплив кадмієвої інтоксикації на біохімічні показники обмінних процесів у кістковій тканині / Н. С. Хопта // Матеріали науково-практичної конференції «Довкілля і здоров'я» (м. Тернопіль, 27-28 квітня 2012). – С. 182–183.

Хопта Н. С. Корекція екстрактом артишоку порушень стану кісткового метаболізму за умов експериментального кадміозу / Н. С. Хопта // Збірник матеріалів науково-практичної конференції «Довкілля і здоров'я» (м. Тернопіль, 25-26 квітня 2013). – Тернопіль: Укрмедкнига, 2013. – С. 204–206.

18. X міжнародній медико-фармацевтичній конференції, м. Чернівці, 27-28 березня 2013:

Хопта Н. С. Спосіб корекції порушення вмісту біоелементів у кістковій тканині щурів за умов ураження хлоридом кадмію / Н. С. Хопта, Р. Я. Гобрей // Матеріали X міжнародної медико-фармацевтичної конференції (м. Чернівці, 27-28 березня 2013). – Хист. – Випуск 15. – 2013. – С. 53.

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Кісткова тканина, як найбільш мінералізована тканина організму, зазнає значного негативного впливу хімічних екотоксикантів, серед яких значне місце посідають сполуки кадмію та нітриту. Для з'ясування біохімічних механізмів токсичного впливу йонів Cd^{2+} та NO_2^- на КТ тварин, нами проведено дослідження маркерів кісткового метаболізму у плазмі крові, вміст основних макро- та мікроелементів у стегнових кістках, визначено їх мінеральної щільності, а також вивчено гістологічну структуру у динаміці роздільної та комбінованої інтоксикації солями CdCl_2 та NaNO_2 . Для характеристики метаболічних процесів у КТ за умов інтоксикації нами вибрані показники плазми крові, зокрема: концентрація різних форм Ca, концентрація Mg та фосфатів, активність лужної та кислої фосфатаз, рівень гормонів щитоподібної та паращитоподібних залоз, вміст маркерної амінокислоти обміну колагену – гідроксипроліну (ГП).

Аналіз одержаних результатів показав, що за умов кадмієвої інтоксикації спостерігається зниження рівня загального та йонізованого Ca плазми крові вже в ранньому періоді: відповідно на 16,9 % та 23,8 % ($p < 0,001$). У наступних періодах спостереження, (на 14-ту добу експерименту) спостерігалась наростаюча гіперкальціємія за рахунок фракції зв'язаного Ca, оскільки рівень Ca^{2+} залишався нижчим від показників здорових тварин на 15,0 %. Однак на 28-му добу істотно зростав рівень як загального (на 38,1 %), так і йонізованого Ca^{2+} (на 22,2 %). Такі зміни концентрації загального Ca та його найбільш активної форми – йонізованої можуть бути зумовлені як безпосереднім антагоністичним впливом CdCl_2 на мінеральний матрикс КТ шляхом витіснення Ca як із структури аморфного фосфату Ca, так і з гідроксиапатитів. З наукової літератури [6–7, 13, 24–26, 47–52] добре відомо, що Cd має високу здатність до накопичення у різних органах і тканинах, зокрема у КТ. З іншого боку, ряд авторів [31–38] стверджують про ураження клітин щитоподібної та прищитоподібних залоз за умов інтоксикації Cd^{2+} . Наші дослідження

засвідчили, що на 14-ту добу після завершення введення CdCl_2 рівень ПТГ зростав у 4,98 рази, а кальцитоніну знижувався у 12,5 рази. Такі показники дозволяють пояснити порушення не тільки концентрації Ca у крові, а й інших показників, зокрема, фосфатів. У динаміці Cd інтоксикації спостерігалось достовірне зростання концентрації фосфатів у плазмі на 14-ту (на 32,3 %) та 28-му доби (на 27,7 %).

За таких обставин важливим є дослідження активності фосфатаз, які відіграють провідну роль в обміні фосфатів. Отримані нами дані дозволили встановити достовірне зниження активності ЛФ на 1-шу добу після завершення введення CdCl_2 – у 2,1 рази, а потім поступове підвищення її активності. Однак, у пізньому періоді спостереження цей показник був нижчим у 1,3 разу за показники інтактних тварин. Водночас в тварин дослідних груп відзначено зростання активності КФ, яка є маркером діяльності ОК. Її активність перевищувала значення інтактних у 1,7–2,5 разу протягом всього експерименту, що засвідчує активацію процесів резорбції КТ.

Збалансованість процесів резорбції і остеосинтезу лежать в основі ремоделювання КТ і нормального протікання всіх метаболічних процесів у ній. Відображенням гармонії цих процесів може бути відношення активностей ЛФ/КФ [307]. За результатами проведених досліджень встановлено, що в динаміці кадмієвої інтоксикації індекс ЛФ/КФ був у 2,8– 4,9 разу нижчим за показники інтактних тварин, а найнижчі значення спостерігались на 14-ту добу. На думку Bilezikian J. P., 2002; Левицького А. П., 2006; Макаренко О. А., 2011; такі дані свідчать про те, що процеси резорбції переважають над остеосинтезом.

Активність фосфатаз перебуває під контролем макро- та мікроелементів, які виступають в ролі активаторів або інгібіторів ензимів. Виходячи з цього, важливим є дослідження концентрації Mg , який є активатором ЛФ [137, 145, 225]. Динаміка змін концентрації Mg у плазмі крові тварин дослідних груп мала такий характер: на 1-шу добу концентрація Mg була достовірно вищою у 2,3 рази за показники інтактних, у наступні періоди різко знижувалася – на 35,1 %.

Достовірні кореляційні зв'язки середньої сили спостерігались між такими показниками плазми крові: активністю КФ та загальним Са ($r = 0,47$), активністю КФ та вмістом фосфатів ($r = 0,55$), активністю КФ та концентрацією Mg ($r = -0,66$). Кореляційні зв'язки між деякими досліджуваними показниками плазми крові у інтоксикованих Cd^{2+} тварин відрізнялись від таких у інтактних, зокрема, між активністю ЛФ та загальним Са ($r = 0,44$, на відміну від $r = -0,37$ у інтактних тварин), активністю ЛФ та вмістом фосфатів ($r = 0,34$, на відміну від $r = -0,67$), концентрацією Mg та фосфатів ($r = -0,44$, на відміну від $r = 0,33$).

Такі зміни показників плазми крові, які характеризують фосфорно-кальцієвий обмін, спонукали до дослідження рівня основних остеотропних макро- та мікроелементів у КТ тварин дослідних груп. Вміст Са поступово знижувався на 12,7–24,3 %, вміст Mg на 1-шу та 14-ту добу достовірно не відрізнявся від показників інтактних щурів, однак у кінці експерименту знижувався на 25,4 %. Рівень основних остеотропних мікроелементів Zn і Cu був нижчим за показники контролю відповідно на 22,5–32,3 % та 20,8–31,7 %, найнижчі показники вмісту Zn спостерігались на 1-шу добу, а Cu – на 14-ту добу, що корелює з даними інших авторів [78, 95, 152].

Атомно-адсорбційний аналіз дозволив встановити суттєве зростання вмісту Cd у стегнових кістках – у 9,8 разу порівняно з показниками інтактних тварин. Завдяки близькості будови йонів Zn^{2+} та Cd^{2+} останній конкурентно взаємодіє з лігандними групами Zn^{2+} в біомолекулах і може заміщувати йони Zn^{2+} у складі Zn^{2+} -залежних металоензимів, змінюючи їх каталітичні властивості, зокрема ЛФ, що є важливими патохімічними механізмами токсичної дії йонів Cd^{2+} [47-49, 88]. Активність КФ і ЛФ має свій максимум (КФ – при $C_{Cd} = 0,1$ мг/л, ЛФ – при $C_{Cd} = 0,5$ мг/л).

Мова може йти про прояв правила, згідно до якого високі дози токсиканта сприяють неспецифічній цитотоксичній дії з пригніченням лізосомальних ензимів, тоді як при низьких дозах відзначається специфічна дія, що проявляється в переважно транзиторній активації ензимів. Наявність такого етапу токсичної дії низьких доз ВМ, поряд з індивідуальними особливостями

чутливості організму до хімічної агресії, лежить в основі парадоксальної токсичності, а також розкриває тимчасовий характер адаптації до отрут [54–56, 238–240].

Отримані біохімічні показники плазми крові, дослідження основних остеотропних макро- та мікроелементів у КТ зумовили інтерес до вивчення МЩКТ методом рентгенівської денситометрії. Проведений аналіз результатів показав, що за умов впливу CdCl_2 найнижчі значення мінеральної щільності стегнових кісток спостерігались на 14-ту добу – на 49,9–58,3 % нижче показників інтактних тварин у різних ділянках, зокрема епіфіз – 50,7 %, діафіз – 52,1 %, головка – 58,3 %, шийка – 49,9 %. На 28-му добу МЩКТ дещо підвищувалась, однак залишалась достовірно нижчою за значення інтактних тварин на 20,9–25,4%, найнижчий показник МЩКТ відмічений у шийці стегнової кістки.

Порушення МЩКТ на 14-ту та 28-му доби в тварин дослідних груп супроводжувались змінами гістологічної структури. Зокрема, на зрізах у кортикальній та трабекулярних частинах стегнової кістки спостерігаються численні узури та неупорядкованість і стоншення кісткових балок, які свідчать про розвиток остеопоротичних порожнин (первинний дифузний ОП). На 28-му добу спостерігаються однотипні явища, характерні для попереднього періоду, однак з'являються ділянки часткової репарації КТ.

У роботах Мельникової Н. М., 2008, показано, що за умов інтоксикації йонами Cd^{2+} знижується рН крові до $7,15 \pm 0,01$, розвивається субкомпенсований метаболічний ацидоз, який зумовлюється нирковою недостатністю і внаслідок цього зменшенням здатності до утворення HCO_3^- і його екскреції [104, 105]. Мельничук Д. О., 2010, відзначає, що ацидоз за умов кадміозу пов'язаний із заміщенням іона H^+ кадмієм у лігандах [77]. Зниження рН крові сприяє демінералізації кісток, евакуації із КТ Са та фосфатів. Подібні результати було отримано у роботах Satarug S., 2010 [24, 26, 89, 243].

При цьому слід відмітити деякі достовірні ($p < 0,05$) кореляційні зв'язки між досліджуваними показниками. Зокрема, між вмістом у стегнових кістках

токсичного Cd та основних макроелементів Ca і Mg зворотні середньої сили, відповідно $r = -0,44$ та $-0,43$, вмістом Zn – прямий середньої сили $r = 0,50$ при $p < 0,05$. Між вмістом Cd у стегнових кістках та Mg у плазмі крові відзначається достовірний сильний зворотний зв'язок: $r = -0,76$. Кореляційний аналіз підтвердив антагоністичні зв'язки між основними макроелементами КТ – Ca і Mg: $r = -0,82$. Одночасно встановлено достовірні зворотні кореляційні зв'язки середньої сили між вмістом Ca у КТ та показниками плазми крові, зокрема, активністю КФ ($r = -0,50$), концентрацією ГП ($r = -0,55$), загального Ca ($r = -0,51$, тоді як у інтактних тварин $r = 0,48$); та достовірний прямий з концентрацією Mg у плазмі крові ($r = 0,40$).

Отримані дані вказують як на порушення мінерального матриксу КТ, так і його органічної частини, що підтверджує дослідження показника інтенсивності катаболізму колагену. Рівень маркерної амінокислоти ГП протягом експерименту достовірно зростав у крові від 1,9 разів на 1-шу добу до 2,5 разів у кінці експерименту, що може бути зумовлено активацією колагенази, активність якої залежить від рівня ПТГ.

Таким чином, проведені дослідження структури і показників метаболізму в КТ за умов інтоксикації CdCl_2 дозволили встановити порушення мінерального та органічного матриксу, що найбільшою мірою спостерігались на 14-ту добу експерименту. У більш пізньому періоді нами відмічено незначну тенденцію до активації процесів регенерації, що супроводжувались частковим збільшенням мінеральної щільності та відновленням структури КТ.

Розглядаючи перебіг молекулярних механізмів ушкодження КТ за умов інтоксикації кадмію хлоридом можна припустити, що йони Cd^{2+} , накопичуючись у КТ зумовлюють порушення вмісту основних остеотропних макро- та мікроелементів, що призводить до порушення процесів мінералізації та ремінералізації. При цьому не менш важливим є істотне зростання рівня ПТГ і концентрації ГП, що засвідчує порушення структури органічної матриці.

Такі результати можуть бути зумовлені зростанням рівня ПТГ та зменшенням секреції кальцитоніну у тварин в умовах кадміозу (див. розд.

3.1.1.), процеси демінералізації та резорбції кісток посилюються, досягаючи максимуму на 14-ту добу, що підтверджується гістологічними дослідженнями (див. розділ 3.3.1.) та макро- та мікроелементним складом стегових кісток щурів.

Зниження у стегових кістках рівня Ca і Mg у пізньому періоді кадмієвої інтоксикації може бути зумовлене витісненням Ca із структури гідроксиapatиту або аморфного фосфату Ca, оскільки відомо, що радіуси атомів та йонів Ca та Cd близькі: радіус атома Ca – 0,197 нм, а Cd – 0,156 нм, відповідно їх катіонів – Ca^{2+} – 0,104 нм та Cd^{2+} – 0,099 нм. Внаслідок проникнення дещо меншого за своїм атомним радіусом Cd^{2+} у кристали гідроксиapatиту $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ на місця, які займав Ca^{2+} , відбувається порушення структури і міцності кристалу з наступним його руйнуванням. Кристал гідроксиapatиту деформується, порушується його симетрія, змінюються розміри окремих ділянок, порушується розподіл позитивних та негативних зарядів, які створюють у кристалі $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ в нормі впорядковано розмішені катіони та аніони. Такий аномальної будови кристал втрачає свою міцність і стійкість, стає доступним для руйнівної атаки інших катіонів та аніонів із-зовні і поступово руйнується.

Процеси демінералізації КТ проходять в умовах метаболічного ацидозу, який розвивається при кадміозі [77, 104, 105, 310], що сприяє руйнуванню мінерального матриксу кістки. Одночасно, проникаючи в ОБ, Cd проявляє свій цитотоксичний ефект та змінює обмін важливих остеотропних мікроелементів Zn і Cu, вміст яких у стегових кістках знижується. Як відомо, Cd зменшує всмоктування Cu та Zn у кишківнику [42, 95, 309, 310].

Відомо [207], що дефіцит Cu викликає деформацію скелета та розлади синтезу колагену через недостатнє утворення міцних поперечних зв'язків між окремими молекулами тропоколагену, оскільки йони Cu^{2+} є активаторами проліл- та лізилгідроксилаз, які забезпечують гідроксилювання проліну та лізину в структурі тропоколагену. Внаслідок недостатньої активності зазначених ензимів синтезується колаген, який є більш лабільним, що призводить до порушення формування колагенової матриці, яка служить основою мінералізації КТ.

Відомо, що метаболічні процеси в КТ, ступінь її мінералізації, збалансованість процесів де- та ремінералізації великою мірою визначаються вмістом життєво необхідних макро- та мікроелементів, а їх дисбаланс призводить до порушення біохімічних процесів, які протікають під їх контролем [154, 207].

Дослідження впливу натрію нітриту (NaNO_2) на структурно-метаболічні процеси у КТ показали суттєві відхилення показників фосфорно-кальцієвого обміну. Зокрема, на 1-шу добу після завершення введення токсиканту концентрація йонізованого Ca^{2+} збільшувалась на 81,8 % ($p < 0,001$). У наступні періоди (14-та та 28-ма доби) спостерігалось зниження йонізованого та загального Са, однак рівень Ca^{2+} був вищим відносно показників інтактних тварин на 7,4 %. Такі зміни концентрації йонів Ca^{2+} у плазмі крові можуть бути зумовлені зростанням рівня ПГТ на 8,9 %. Як наслідок порушення кальцієвого гомеостазу у тварин може розвиватися демінералізація КТ [207]. З літературних джерел [308] відомо, що донори NO (в тому числі NaNO_2) підвищують концентрацію Ca^{2+} у міоплазмі та стимулюють пасивний транспорт катіону у міоцити.

Водночас, дослідження концентрації фосфатів засвідчило достовірне зростання цього показника на 1-шу добу – на 82,0 % відносно інтактних тварин. На 14-ту добу концентрація фосфатів достовірно не відрізнялась від контрольних значень, а у кінці експерименту знову підвищувалась на 19,9 %. При цьому нами встановлено достовірне зниження активності ЛФ протягом всього періоду спостереження порівняно з інтактними тваринами, найнижчі значення спостерігались на 28-му добу – у 2,6 разів ($p < 0,001$).

За таких обставин важливим є дослідження концентрації Mg^{2+} , який виступає в ролі активатора ЛФ [146]. Уже на 1-шу добу вміст Mg^{2+} у плазмі крові різко знижувався (на 44,5 %), у наступні періоди ця тенденція зберігалася – на 50,2–55,4 % ($p < 0,001$) нижче показників інтактних тварин. Такі дані частково можуть пояснити зменшення активності ЛФ в плазмі крові уражених натрію нітритом тварин.

Проведений кореляційний аналіз між показниками плазми крові групи тварин з нітритним ураженням виявив достовірний прямий зв'язок середньої

сили між концентрацією загального Са плазми та фосфатів ($r = 0,65$). Кореляційні зв'язки між деякими показниками тварин, що піддавались дії йонів NO_2^- , відрізнялись від таких у інтактних: між активністю ЛФ та вмістом загального Са $r = 0,34$ (у інтактних $r = -0,37$); активністю ЛФ та вмістом фосфатів $r = 0,38$, (у інтактних $r = -0,67$).

Стосовно змін активності КФ, то слід відмітити різнонапрямлений характер: від різкого підвищення у 1,9 рази на 14-ту добу, до зниження у 3,9 разів на 28-му добу. Співвідношення активностей ЛФ/КФ, яке характеризує баланс процесів остеосинтезу та резорбції кістки, достовірно знижувалось на 26,4 % уже на 1-шу добу, найнижчі значення спостерігались на 14-ту добу – у 3,13 разів. У пізньому періоді експерименту відмічена тенденція до підвищення індексу ЛФ/КФ. Однак цей показник був достовірно нижчим ніж у контрольній групі на 19,1 % ($p < 0,05$).

Отримані результати вказують на порушення процесів остеосинтезу та ремінералізації у тварин, уражених NaNO_2 . Для визначення глибини змін у КТ тварин цієї групи проведено вивчення МЩКТ. У діафізі та епіфізі стегнових кісток цей показник знижувався на 18,9–26,2 %, а в голові та шийці – на 22,4–28,3 % у різні періоди експерименту порівняно з інтактними тваринами. Зниження МЩКТ можна пояснити достовірним зниженням у КТ вмісту Са на 26,9 % уже на 1-шу добу після завершення введення нітритів ($p < 0,001$). У наступний період вміст Са дещо зростав, залишаючись однак нижчим за контрольні показники на 14,39% ($p < 0,001$).

Вміст Mg зростав на 26,04% на 1-у добу спостереження ($p < 0,001$), а потім знижувався до показників інтактних. Рівень Zn і Cu у стегнових кістках уражених тварин був нижчим за контрольні показники протягом всього періоду спостереження. Зокрема, рівень Zn суттєво знижувався на 1- та 14-у доби – на 20,6–23,6 % ($p < 0,05$), у віддаленому періоді спостерігалася тенденція до його підвищення, однак не досягав показників інтактних тварин. Вміст Cu знижувався протягом всього періоду спостережень, а найбільше на 28-му добу – у 5,3 разів відносно рівня інтактних ($p < 0,001$).

Таким чином, одержані результати вказують на розвиток дисмікроелементозу в КТ піддослідних тварин за умов дії нітритів. В результаті експерименту також виявлено, що в уражених NaNO_2 тварин поступово зростав вміст Cd у КТ і на 28-у добу у 2,1 рази перевищував показники інтактних ($p < 0,05$). Накопичення Cd може бути зумовлене порушенням синтезу чи руйнуванням металотіонеїнів, які впливають на його обмін [66-68].

При цьому слід відмітити деякі достовірні ($p < 0,05$) кореляційні зв'язки між досліджуваними показниками. Зокрема, між вмістом Cd у стегнових кістках та рівнем біоелементів Ca, Mg і Cu виявлено зворотній зв'язок середньої сили: $r = -0,46$, $-0,59$ та $r = -0,42$ відповідно. Достовірні зворотні середньої сили зв'язки зафіксовано між вмістом Cd у КТ та показниками плазми: активністю ЛФ ($r = -0,57$), активністю КФ ($r = -0,44$), рівнем ГП ($r = -0,30$), вмістом загального Ca ($r = -0,37$). Встановлено достовірні прямі зв'язки середньої сили між вмістом Mg і Cu в КТ ($r = 0,55$); між рівнем Mg в КТ і активністю ЛФ ($r = 0,55$) та концентрацією фосфатів ($r = 0,42$) у плазмі крові. Достовірні зворотні зв'язки середньої сили проявляються між вмістом Zn в КТ та такими показниками плазми: активністю КФ ($r = 0,41$), рівнем ГП ($r = -0,45$). Достовірні прямі зв'язки середньої сили виявлені між вмістом Cu в КТ та такими показниками плазми: активністю ЛФ ($r = 0,47$), активністю КФ ($r = 0,52$), рівнем ГП ($r = 0,51$), вмістом загального Ca ($r = -0,46$).

Дослідження рівня ГП показало, що на 1-шу добу цей показник суттєво не відрізнявся від контролю, на 14-ту добу – зростав на 13,4 % ($p < 0,05$) відносно інтактних, а на 28-му добу концентрація ГП знижувалась на 21,2 %. Достовірний сильний прямий кореляційний зв'язок спостерігався між активністю КФ та рівнем ГП ($r = 0,83$).

Такі дані дають підстави стверджувати, що за умов нітритної інтоксикації найбільш істотні порушення мінерального та органічного матриксу спостерігаються на 14-ту добу, що підтверджується підвищенням концентрації неорганічних фосфатів та йонізованого Ca^{2+} на тлі зниження концентрації Mg та індексу ЛФ/КФ більше, як у 3 рази. У цей період також має місце значне зниження

вмісту у плазмі крові кальцитоніну та незначне підвищення ПТГ, що призводить до розвитку процесів демінералізації КТ та підтверджується морфологічними змінами.

Дослідження гістологічної структури стегнових кісток тварин, уражених NaNO_2 , показало, що на 14-ту добу експерименту спостерігались ознаки патологічної перебудови як у компактній, так і в губчастій КТ. У діяфізі стегнової кістки визначалось стоншення усіх шарів, формування неглибоких узур. Хід волокон органічної матриці ставав менш впорядкованим. Поряд з цим, в окремих ділянках визначались вогнища посиленої остеокластичної резорбції. При цьому мав місце як лакунарний, так і гладкий характер руйнування кісткових балок. На 28-му добу експерименту спостерігався виражений процес новоутворення КТ. Товщина периосту однакова. Зовнішній шар генеральних пластинок представлений концентричними прошарками колагенових волокон, між якими знаходиться невелика кількість остеоцитів. В окремих ділянках між шаром зовнішніх генеральних пластинок та остеонним шаром спостерігаються поздовжні щілини. Надмірної активності ОБ та ОК не спостерігалось.

У зв'язку з тим, що живі організми, як правило, зазнають одночасного впливу декількох токсикантів [1, 5–7], актуальним є вивчення комбінованої дії солей CdCl_2 та NaNO_2 на КТ. Аналіз одержаних нами результатів дозволив встановити, що концентрація загального Са в плазмі крові тварин дослідних груп поступово достовірно ($p < 0,001$) зростала протягом перших 14-ти діб після введення токсикантів відносно інтактних щурів. У віддалений період (28-ма доба) спостерігалось зниження концентрації загального Са на 11,2 % порівняно з інтактними тваринами ($p < 0,001$). Концентрація йонізованого Ca^{2+} у плазмі крові протягом всього періоду спостереження поступово знижувалась на 36,8–48,8 % ($p < 0,001$). Стосовно рівня зв'язаного Са, то слід відмітити, що найсуттєвіше підвищення спостерігалось на 1-шу та 14-ту доби на 35,7 % та 39,3 % ($p < 0,005$) відповідно.

Зниження концентрації Ca^{2+} у плазмі частково може бути обумовлене зв'язуванням його з неорганічним фосфатом [20], оскільки у цей період спостерігається різке збільшення концентрації фосфатів (на 62,4 %) порівняно з інтактними тваринами. Активність фосфатаз зазнавала суттєвих змін, зокрема активність ЛФ поступово достовірно ($p < 0,001$) зменшувалась на 28,1–52,9 %, а активність КФ – зростала у 2,1–4,5 разів.

Можна припустити, що рання фосфатемія пов'язана із зростанням активності КФ, яка уже на 1-шу добу удвічі перевищувала показники інтактних тварин ($1,88 \pm 0,18$ мкмоль/л при $0,93 \pm 0,23$ мкмоль/л). Активація цього ензиму може бути зумовлена розвитком субкомпенсованого метаболічного ацидозу, який за даними літератури [104, 105], має місце при кадмієвій інтоксикації. Зниження активності ЛФ може бути пов'язано із заміщенням Zn^{2+} та Mg^{2+} в активному центрі ферменту Кадмієм, оскільки йонні радіуси двозарядних катіонів Zn^{2+} , Mg^{2+} та Cd^{2+} є близькими [95, 115]. Результати дослідження концентрації Mg^{2+} у плазмі крові уражених тварин засвідчили достовірне ($p < 0,001$) зниження відповідно від 39,8 % на 1-у добу до 53,9 % на 28-му добу порівняно з інтактними щурами. Відомо [255, 312], що CdCl_2 та NaNO_2 порушують структуру та функціонування ендокринних залоз, зокрема щитоподібної. Порушення секреції регуляторів фосфорно-кальцієвого обміну – ПТГ та кальцитоніну, що спостерігалось в динаміці інтоксикації, може бути причиною змін в організмі тварин дослідної групи 5: найвище значення вмісту ПТГ спостерігалось на 14-у добу – у 5,8 разу відносно інтактних, а до кінця експерименту цей показник знижувався у 3 рази. Рівень кальцитоніну на 14-ту добу був нижчим у 12,6 разів, а на 28-му – дещо зростав, однак залишався нижчим у 6,2 рази порівняно з інтактними тваринами. Протягом експерименту спостерігалось значне підвищення активності КФ – у 2,0–4,5 рази і зниження індексу ЛФ/КФ у 2,8–9,5 разу порівняно з інтактними тваринами. Слід відмітити достовірний ($p < 0,05$) зворотний кореляційний зв'язок між показниками активності ЛФ та КФ ($r = -0,57$). Одночасно достовірно ($p < 0,001$) зростала концентрація ГП у 2,5–3,5 разу, що вказує на порушення обміну

колагену за умов поєднаної дії солей CdCl_2 та NaNO_2 . Нами виявлений прямий сильний кореляційний зв'язок між активністю КФ та концентрацією ГП у крові ($r = 0,84$).

Отримані дані дозволяють стверджувати, що найсуттєвіші порушення фосфорно-кальцієвого обміну під впливом комбінованої дії солей CdCl_2 та NaNO_2 відбуваються у період з 1-ї по 14-ту добу після завершення введення токсикантів. Слід відмітити достовірні ($p < 0,05$) кореляційні зв'язки, які спостерігались між такими показниками плазми крові: активностями КФ та ЛФ ($r = -0,57$), активністю КФ та рівнем загального Са ($r = -0,70$), концентраціями ГП та загального Са ($r = -0,58$), а також ГП та Mg ($r = -0,40$). Кореляційні зв'язки між деякими досліджуваними показниками плазми крові в уражених тварин відрізнялись від таких у інтактних: активністю ЛФ та рівнем загального Са – $r = 0,50$ на відміну від $r = -0,37$; рівнем ГП та загального Са – $r = 0,58$ на відміну від $r = 0,45$.

Дослідження рівня основних остеотропних макро- та мікроелементів у КТ уражених тварин виявило тенденцію до достовірного ($p < 0,05$) зниження рівня Са, Zn і Cu на тлі зростання вмісту Cd. Найсуттєвіше зниження Zn та Cu відбувалося на 14-ту добу – відповідно на 44,9 % та 26,9 %. Накопичення Cd в КТ спостерігалось з 1-ї доби – у 3,9 рази, а на кінець експерименту цей показник зростав у 17,7 разів порівняно з інтактними тваринами. Стосовно вмісту Mg слід відмітити зростання на 1-у добу на 35,8 % ($p < 0,05$) з наступним зниженням на 14-ту добу на 9,2 % порівняно з інтактними тваринами. Однак на 28-му добу цей показник перевищував значення контролю на 19,6 %.

При цьому слід відмітити деякі достовірні ($p < 0,05$) кореляційні зв'язки між досліджуваними показниками. Зокрема, між вмістом у стегнових кістках Cd та Са зворотний сильний ($r = -0,73$), а вмістом Zn та Cu – прямий середньої сили ($r = 0,67$; $r = 0,55$ відповідно). Між вмістом Cd у стегнових кістках та показниками плазми крові виявлено достовірні зворотні зв'язки середньої сили: активністю ЛФ ($r = -0,51$), прямий сильний з активністю КФ ($r = 0,85$), рівнем ГП ($r = 0,86$). Одночасно встановлено достовірні зворотні кореляційні зв'язки

середньої сили між вмістом Ca у КТ та показниками плазми крові: активністю КФ ($r = -0,63$), рівнем ГП ($r = -0,75$). Цікавими виявились кореляційні зв'язки між вмістом Zn у КТ та показниками плазми крові: сильний прямий з вмістом ГП ($r = 0,71$), тоді як у інтактних тварин ($r = -0,37$), активністю КФ ($r = 0,56$), рівнем загального Ca ($r = -0,39$).

Дослідження МЩКТ у тварин з комбінованою дією солей CdCl_2 та NaNO_2 показали найбільш істотні зміни на 14-ту добу після завершення введення токсикантів: на 36,4 % та 45,6 %.

Порушення МЩКТ на 14-ту і 28-му доби в тварин дослідної 5-ї групи супроводжувались змінами гістологічної структури. Зокрема, в остеонному шарі компактної КТ спостерігались явища ОП з наявністю множинних порожнин, заповнених сполучною тканиною, ОБ та ОК. В губчастій КТ кісткові балки нерівномірно стоншені, деякі з численними узурами. В окремих ділянках відбувається руйнування кісткових перекладин, що супроводжується зростанням площі комірок, заповнених червоним кістковим мозком. Спостерігаються явища гладкої та пазушної резорбції КТ.

На 28-му добу після комбінованого введення тваринам CdCl_2 та NaNO_2 у компактній КТ діафіза вираженість порушень структурної організації зменшувалась. Водночас, визначаються вогнища посиленого неоостеогенезу, в яких спостерігається значна кількість ОБ. Отримані результати дозволяють стверджувати, що за умов комбінованого впливу досліджуваних токсикантів активуються ОК та остеокластична резорбція, прискорюється катаболізм колагену, пригнічується функція ОБ та утворення нової кістки. Такі дані атомно-абсорбційного, денситометричного та гістологічного дослідження можуть свідчити про переважання процесів остеокластичної резорбції у стегнових кістках над остеосинтезом за умов комбінованої дії токсикантів – CdCl_2 та NaNO_2 .

Таким чином, проведені нами дослідження та літературні дані стосовно роздільного та комбінованого впливу CdCl_2 та NaNO_2 дозволили встановити

молекулярні механізми ушкоджуючого впливу даних токсикантів на КТ, які представлені схемою (рис. 1).

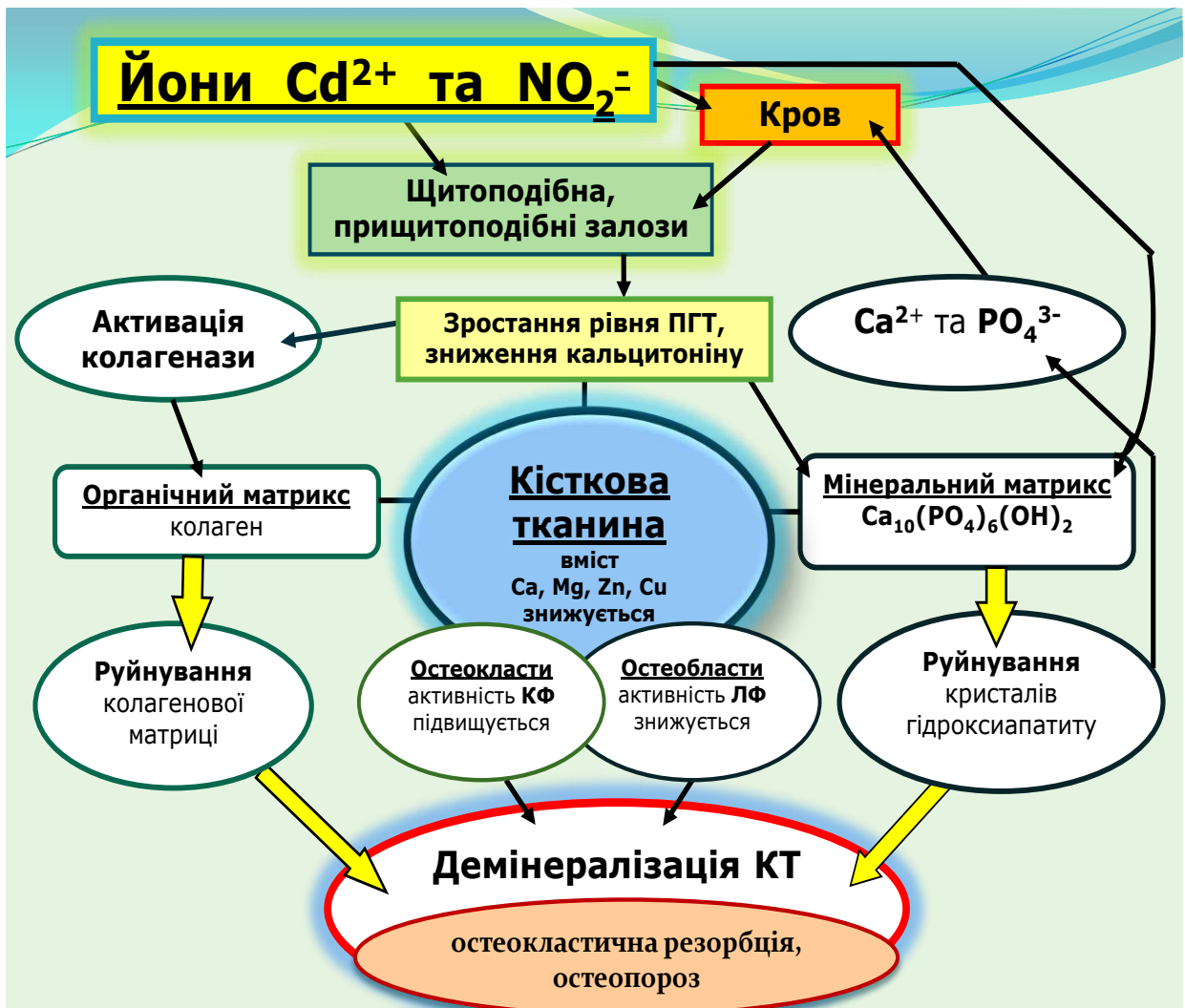


Рис. 1. Біохімічні механізми токсичного впливу солей кадмію та нітритів на кісткову тканину.

Отримані нами дані спонукали до пошуку ефективних, доступних та безпечних засобів корекції метаболічних і структурних порушень у КТ, що виникають при роздільному та комбінованому впливі солей CdCl_2 та NaNO_2 . На нашу думку таким вимогам відповідає вітчизняний лікарський засіб «Артишоку екстракт – Здоров'я» [312-326]. Ми звернули увагу на багатий хімічний склад артишоку: зокрема, цинарин (1,5-дикофеїнохінова кислота), ціанідин, цинаропікрин, назви яких ідуть від латинської назви роду артишоків *Cynara*, володіють сильнішою антиоксидантною активністю, ніж вітамін Е, С та

ресвератрол (відомий фітоалексин, виділений із червоного винограду). Біофлавоноїди лютеолін та апігенін – відомі антиоксиданти); та досвід використання препарату як гепатопротектора. Доведено також (Гарник Т. П., 2013; Mehmetcik G., 2008) мембраностабілізуючу, антитоксичну дію ЕА, яка полягає в активації детоксикаційної функції печінки, що підвищує виведення із організму токсинів (у тому числі нітросполук та солей важких металів).

Проведені дослідження мінеральної щільності різних ділянок стегнових кісток показали суттєве підвищення цього показника при введенні тваринам ЕА за умов нітритної та комбінованої дії йонів NO_2^- та Cd^{2+} . Зокрема, на 14-ту добу МЩКТ зростала відповідно на 37,8–60,0 %, а до кінця експерименту достовірно не відрізнялася від контрольних значень. Дещо нижчі показники зростання МЩКТ за умов введення ЕА спостерігались на тлі кадмієвої інтоксикації. При загалом, позитивній тенденції (зростання мінеральної щільності на 27,6–59,0 % різних ділянок стегнової кістки на 14-ту добу), до кінця спостереження МЩКТ залишалась нижчою за контрольні показники на 20,8–24,2 %.

При цьому у всіх групах тварин, що одержували ЕА, вміст Са у стегнових кістках на 28-му добу корекції достовірно не відрізнявся від показників інтактних тварин. Одночасно спостерігалась чітка тенденція до нормалізації вмісту есенціальних остеотропних елементів Mg, Zn та Cu до рівня інтактних тварин. Це може бути пов'язано з унікальним складом ЕА: за даними Громової О. А., 2009, артишоки багаті на есенціальні макро- та мікроелементи, передусім Са, Mg та Fe, а також Zn, Cu, Mn, Se, I, Cr, V. Враховуючи те, що ЕА містить біофлавоноїди у поєднанні з аскорбіновою кислотою, які є складовою АОЗ клітин, відбувається зниження втрати клітинного глутатіону (Gebhardt R., 2007), що сприяє активізації процесів репарації в ушкодженій КТ.

Слід відмітити сильні достовірні кореляційні зв'язки між вмістом у КТ Са та Mg ($r = -0,82$ у групі 2 – введення ЕА на тлі кадмієвого ураження; $r = -0,86$ у групі 4 – застосування ЕА з метою корекції негативного впливу NaNO_2).

Проведені дослідження дозволили встановити, що введення тваринам ЕА суттєво зменшувало вміст Cd у стегнових кістках уражених тварин всіх

дослідних груп. Такі дані свідчать про здатність унікального природного ансамблю компонентів ЕА протидіяти накопиченню Cd у кістках та сприяти вилученню йонів Cd²⁺, які інкорпоровалися у мінеральному матриці КТ за умов екзогенного надходження сполук Cd та нітритів в організм тварин. На думку Juzyszyn Z., 2008; Громової О. А., 2009, це пояснюється здатністю БАР артишоку до утворення хелатних комплексів з металами, що сприяє зв'язуванню та виведенню ВМ, зокрема Cd [274, 279].

Гістологічні дослідження підтверджують, що введення ЕА зменшувало процеси руйнування компактною кістки в діафізах трубчастих кісток, знижувало рівень диспропорції між процесами остеомаліяції та репаративної регенерації, хоча й не усувало повністю негативного впливу токсикантів на КТ. Принципово відмінною рисою перебудови КТ у щурів, які отримували ЕА, є наявність ділянок посиленого неоколагенезу. Звертає на себе увагу посилене утворення колагенових волокон зі сторони периосту, що вказує на достатню зрілість утвореної КТ з ознаками остеонної будови. Окрім зменшення явищ деструкції компактною КТ діафізів, введення ЕА справляло суттєвий вплив на характер регенерації у губчастій кістці.

Відображенням нормалізації метаболічних процесів в ушкодженій під впливом ксенобіотиків КТ щурів служать біохімічні показники кісткового метаболізму у плазмі крові. Зокрема, корекція ЕА мала стабілізуючу дію на метаболізм колагену. Свідченням цього є нормалізація концентрації ГП: за умов застосування ЕА цей показник поступово достовірно знижувався, а до кінця експерименту при нітритній інтоксикації рівень ГП у плазмі крові незначно мірою відрізнявся від значень контрольної групи. Корегуючий вплив ЕА за комбінованої дії токсикантів призводить до зниження рівня ГП з чітко вираженою тенденцією до норми. При цьому спостерігався достовірний прямий кореляційний зв'язок між вмістом Cd у КТ та рівнем ГП ($r = 0,67$; $p < 0,05$).

Стосовно рівня Са у крові, то слід відмітити, що застосування ЕА призводить до нормалізації цього показника у тварин всіх досліджуваних груп.

Однак при цьому у тварин з нітритним ураженням концентрація Ca^{2+} ще залишалась нижчою на 11,3–14,1% порівняно з інтактними тваринами.

Введення тваринам препарату ЕА за даними наукової літератури [276] сприяє відновленню функції щитоподібної залози, що підтверджується ефективністю його застосування за умов кадмієвої та нітритної інтоксикації щурів. Дослідження концентрації ПТГ та кальцитоніну у плазмі крові тварин, що отримували ЕА на тлі комбінованої дії солей CdCl_2 і NaNO_2 , виявило тенденцію до нормалізації вмісту кальцитоніну на 14-ту добу, а ПТГ – на 28-му добу.

Щодо концентрації неорганічного фосфату, то слід відмітити найбільшу ефективність корегуючої терапії у групах щурів з кадмієвою та комбінованою дією. У тварин з нітритним ураженням протягом часу спостереження концентрація фосфату залишалась вищою від показників інтактних на 16,5–20,5 % ($p < 0,001$).

При застосуванні ЕА у групах тварин з роздільною дією іонів Cd^{2+} та нітритів активність ЛФ мала чітко виражену тенденцію до нормалізації, найбільш виражену за умов нітритного ураження – у 1,7– 2,7 разу. Аналогічна динаміка активності ЛФ спостерігалась за умов корекції ЕА комбінованого ураження тварин CdCl_2 та NaNO_2 .

Застосування ЕА протягом 28-ми діб сприяло нормалізації активності КФ у всіх дослідних групах: за умов кадміозу – у 1,6–2,3 разу зменшувалась активність порівняно з тваринами, які не отримували ЕА; за умов поєданого ураження тварин солями CdCl_2 та NaNO_2 – у 1,6 –3,2 рази. Введення тваринам ЕА за умов нітритного ураження призводило до менших змін активності КФ. Застосування ЕА сприяло зростанню індексу ЛФ/КФ, який поступово до кінця експерименту наближався до контрольних значень у всіх групах тварин, які отримували корекцію. Одночасно відзначимо виявлений нами достовірний сильний зворотній кореляційний зв'язок між активністю КФ та вмістом Zn у КТ: $r = - 0,75$ у групі тварин, уражених CdCl_2 та з наступним введенням ЕА та $r = - 0,79$ у групі щурів, що отримували NaNO_2 та ЕА, $p < 0,001$.

Дослідження рівня Mg у плазмі крові показало, що у тварин, які зазнали впливу солей CdCl₂ та NaNO₂, при застосування ЕА протягом 28-ми діб цей показник достовірно не відрізнявся від значень контролю.

Комплексна оцінка впливу досліджуваного препарату ЕА на структуру, МЩКТ та біохімічні показники плазми крові, які характеризують метаболічні процеси в КТ тварин за умов окремого та комбінованого впливу нітритів та іонів Cd²⁺ вказує на його ефективність і можливість застосування для зниження токсичного впливу згаданих токсикантів на стан КТ.

Отримані результати можна пояснити унікальним комплексом БАР, які входять до складу ЕА. Найважливіші із них – фенольні сполуки (цимарин) у поєднанні з фенолокарбоновими кислотами, флавоноїди (силімарин), аскорбінова кислота, каротин, вітаміни В₁, В₂, які беруть участь в окисно-відновних процесах, гальмують окиснення, є складовою АОЗ клітин, що надає ЕА антиоксидантної та мембраностабілізуючої дії [312-326]. Нормалізації обмінних процесів у КТ сприяють інулін, мінеральні речовини (солі Ca, Mg, Cu, Fe, Zn, Mn). Препарат регулює функцію щитоподібної залози [274-278], підвищує виведення з організму токсинів (у тому числі нітросполук та солей ВМ). ЕА містить інулін (Соколова Л. В., 2013), який підвищує поглинання есенціальних елементів у кишківнику (особливо Ca, Mg, Cu, та Zn), що зменшує надходження Cd та сприяє його виведенню із організму.

ВИСНОВКИ

У дисертації здійснено нове теоретичне обґрунтування актуального наукового питання, яке стосується визначення метаболічних і структурних порушень КТ за умов окремого і комбінованого впливу кадмію хлориду та натрію нітриту, а також експериментально обґрунтовано застосування екстракту артишоку з метою корекції порушень, індукованих досліджуваними токсикантами.

1. Біохімічні зміни метаболічних показників плазми крові інтоксикованих тварин виявляються в такому: за умов кадмієвої та нітритної інтоксикації у плазмі крові щурів спостерігається достовірне зниження активності ЛФ у 1,3–2,7 разу та концентрації Mg в 1,5–2,4 разу, підвищення концентрації ГП на 14 % (за дії NaNO_2) та у 1,9–2,5 разу – за впливу CdCl_2 , активності КФ у 1,6–2,5 разу, різноспрямовані зміни вмісту йонізованого та загального Ca, фосфатів, що свідчить про порушення перебігу метаболічних процесів у КТ, зокрема, про переважання процесів резорбції над остеосинтезом (співвідношення ЛФ/КФ знижується у 1,2–4,9 разу). При цьому найсуттєвіші порушення кісткового метаболізму тварин спостерігаються за умов впливу йонів Cd^{2+} на 14-ту добу спостереження.

2. За умов комбінованої дії токсикантів на організм щурів спостерігаються глибші зміни показників метаболізму в КТ, які підтверджуються зниженням індексу ЛФ/КФ у 2,8–9,5 разу, концентрації загального Ca на 13 %, йонізованого на 36–48 %, Mg – у 1,7–2,3 разу. Підвищується у 2,0–4,5 разу активність КФ, яка є маркером функціонування остеокластів, та у 2,5–3,5 разу концентрація ГП – маркерної амінокислоти катаболізму колагену.

3. За окремого впливу солей CdCl_2 та NaNO_2 виявлено достовірне зниження вмісту в стегнових кістках тварин есенціальних макро- і мікроелементів: Ca на 14–36 %, Mg на 34 % за дії Cd^{2+} , Zn на 11–36 %, Cu у 1,2–

5,2 разу, на тлі поступового зростання рівня Cd (у 9,8 разу за кадмієвої інтоксикації та у 2,1 разу – за нітритної).

4. Комбінована дія токсикантів супроводжувалась більш істотними змінами макро- та мікроелементного складу КТ, зокрема, рівень Cd зростав і до кінця експерименту сягав 38 мкг/г золи, що перевищувало показники інтактних у 17,7 разу. Вміст інших досліджуваних остеотропних елементів знижувався, зокрема Zn – на 24–81 %, що пояснює глибші деструктивні зміни за поєднаної дії солей кадмію та нітритів.

5. За умов як окремого, так і комбінованого уведення CdCl_2 та NaNO_2 спостерігається зниження рівня кальцитоніну (у 6,2–12 разів) та підвищення ПГТ (на 18 % за умов дії нітритів; у 1,9–5,8 разу за умов комбінованого впливу токсикантів), що призводить до значних порушень фосфорно-кальцієвого обміну, особливо на 14-ту добу після завершення введення токсикантів.

6. Результати денситометричного та гістологічного досліджень дають змогу стверджувати, що в процесі інтоксикації спостерігаються структурні зміни КТ. Зокрема, гістологічні дослідження різних ділянок стегнової кістки підтверджують, що найсуттєвіші зміни фіксуються на 1-шу та 14-ту добу за умов впливу CdCl_2 як окремо, так і комбіновано з NaNO_2 (в остеонному шарі компактної кістки – явища остеопорозу, в губчастій – численні узури). Також знижується МЩКТ на 39–58 % за умов дії йонів Cd^{2+} та комбіновано Кадмію з нітритами, а за умов нітритної інтоксикації на 19–28 %. Найбільше знижується МЩКТ у головці та шийці стегнової кістки. Такі дані можуть свідчити про переважання процесів остеокластичної резорбції у стегнових кістках над остеосинтезом, особливо за умов комбінованої дії CdCl_2 та NaNO_2 .

7. Проведені дослідження дали змогу виявити порушення метаболічних процесів, які лежать в основі структурних змін КТ за умов впливу солей кадмію та нітритів, і обґрунтувати застосування для корекції порушень препарату «Артишоку екстракт – Здоров'я», що містить комплекс унікальних флавоноїдів, каротин, вітаміни С, групи В та ін. Найбільш ефективною виявилася дія цього препарату за окремого впливу йонів Cd^{2+} та нітритів на

метаболічні процеси в КТ щурів. Зокрема, це підтверджується тим, що до кінця експерименту у тварин цих дослідних груп концентрація Са, Mg, ГП, активність ЛФ та КФ у плазмі крові достовірно не відрізнялася від показників інтактних тварин. Екстракт артишоку також позитивно впливав на рівень кальцій-регулюючих гормонів, біоелементний склад, гістологічну структуру та МЦКТ, особливо у групах тварин із нітритною та комбінованою інтоксикацією.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Проведене дослідження характеризується комплексним методичним підходом до проблеми вивчення біохімічних порушень, що виникають під впливом CdCl_2 і NaNO_2 та їх комбінованої дії на метаболічні процеси в КТ. Отримані результати можуть використовуватись при моделюванні екологічної патології КТ, яка зумовлена дією даних токсикантів. Результати дослідження розширюють і поглиблюють знання про біохімічні особливості реакції-відповіді КТ на дію CdCl_2 і NaNO_2 за умов як окремого, так і комбінованого їх впливу.

Виявлені нами метаболічні порушення дали змогу запропонувати для корекції лікарський засіб “Артишоку екстракт-Здоров’я”, застосування якого адекватно сприяє процесам нормалізації біохімічних показників, макро- і мікроелементного складу кісток, гістологічної структури та МЩКТ за умов окремої та комбінованої дії кадмію хлориду та натрію нітриту на організм експериментальних тварин.

Результати роботи рекомендовано використовувати в навчальному процесі на кафедрах біохімії, гігієни і екології ДВНЗ та інститутів післядипломної освіти.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Проблеми остеопорозу /За ред. проф. Ковальчука Л. Я. – Тернопіль: Укрмедкнига. – 2002. – 446 с.
2. Структурно-функциональное состояние костной ткани у детей и подростков: результаты украинско-беларусского исследования / [В. В. Поворознюк, Э. В. Руденко, Е. В. Бутылина [и др.]] // Междунар. науч-практ. конф. «Остеопороз: Эпидемиология, клиника, диагностика, профилактика и лечение» Евпатория, 5-8 сентября 2006. – Проблеми остеології – Т. 9, додаток – 2006. – С. 99–100.
3. Department of Health and Human Services. Bone health and osteoporosis: a report of the Surgeon-General. Rockvile: US Department of Health and Human Services, Office of the Surgeon-General. – 2004. – V. 253, suppl. 43. – P. 152–157.
4. Поворознюк В. В. Міжнародна декада захворювань кісток та суглобів: участь української асоціації остеопорозу / В. В. Поворознюк // Проблеми остеології. – 2004. – Т. 7, № 3–4. – С. 3–13.
5. Вороненко В. В. Гігієнічна оцінка ризиків впливу нерадіаційних антропогенних чинників на стан здоров'я населення України / В. В. Вороненко, Ю. М. Скалецький // Одеський мед. журнал. – 2011. – № 5 (127). – С. 4–8.
6. Галецкий Л. С. Региональный эколого-геохимический анализ влияния тяжелых металлов промышленных отходов на состояние окружающей среды Украины / Л. С. Галецкий, Т. М. Егорова // Екологія довкілля та безпека життєдіяльності. – 2008. – № 5. – С. 10–14.
7. Кундієв Ю. І. Химическая опасность в Украине и меры по ее предупреждению / Ю. І. Кундієв, І. М. Трахтенберг // Журн. АМН України. – 2004. – Т. 10, № 2. – С. 259–267.
8. Гжегоцкий М. Р. Ксенобиотики в окружающей среде: физиолого-токсикологические основы системного подхода к обоснованию нормативов химической безопасности человека: Обзор литературы и собственных исследований / М. Р. Гжегоцкий, Б. М. Штабский // Журн. АМН України. – 2002. – Т. 8, № 3. – С. 575–590.

9. Гордієнко В. М. Здоров'я і нітрати: шляхи профілактики і зниження негативної дії / В. М. Гордієнко, І. М. Рожков // Спортивна медицина. – 2007. – № 1. – С. 62–66.
10. Лихацький П. Г. Стан клітинних мембран щурів різного віку за умов ураження нітритом натрію / П. Г. Лихацький, Л. С. Фіра, Н. І. Бурмас, І. З. Кернична // Мед. хімія. – 2011. – Т. 13, №1. – С. 74–77.
11. Лихацький П. Г. Динаміка активності вільнорадикальних процесів в органах щурів різних вікових груп після інтоксикації нітритом натрію / П. Г. Лихацький, Л. С. Фіра, В. В. Підгірний // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2014. – № 3. – С. 139–145.
12. ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). Toxicological Profile for Cadmium. U.S. Department of Health and Human Services. – Atlanta. – 2008. – 454 p.
13. Гигиеническая оценка приоритетности различных путей поступления тяжелых металлов в организм жителей экокризисного региона / С. В. Грищенко, Н. В. Гринь, М. Г. Степанова [и др.] // Довкілля та здоров'я. – 2004. – № 1. – С. 6–9.
14. Ерстенюк Г. М. Динаміка змін оксигемоглобіну в щурів при введенні хлориду кадмію / Г. М. Ерстенюк // Мед. хімія. – 2003.- Т. 5, № 4. – С. 23-25.
15. Коротун О. П. Вікові аспекти гігієнічної оцінки біомаркерів ефекту та схильності до нітратної інтоксикації // О. П. Коротун, Л. І. Власик // Буковинський мед. вісник. – 2007. – Т.11, №3. – С. 122–125.
16. Гунчак В. М. До токсикології нітратів і нітритів у тварин / В. М. Гунчак // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Ґжицького. – 2013. – Т. 15, № 3(1). – С. 62–70.
17. Должкова К. П. Вплив пригнічення та індукції NO-синтаз на біохімічний склад кісткової тканини нижньої щелепи при відтворенні її перелому на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію / К. П. Должкова, В. О. Костенко // Проблеми екології та медицини. – 2010. – Т. 14, № 1-2. – С. 35–38.

18. Должкова К. П. Вплив хронічної інтоксикації нітратом натрію на репаративну регенерацію нижньої щелепи / К. П. Должкова // Вісник української стоматологічної академії. – 2009. – Т.9, Випуск 2. – С. 44–45.
19. Романюк А. М. Реакція кісткової тканини на негативні впливи фізичних та хімічних факторів зовнішнього середовища. Огляд літератури. / А. М. Романюк, О. М. Гортинська, Г. Ю. Будко // Вісник СумДУ. – 2002. – Т.44. № 11 – С. 5–11.
20. Ерстенюк Г. М. Вплив хлориду кадмію та нітриту натрію на структурно-метаболічні процеси у кістковій тканині / Г. М. Ерстенюк, С. Б. Геращенко, Н. С. Хопта // Досягнення біології та медицини. – 2011. – Т.18, №2. – С. 40–45.
21. Острівка О. І. Вплив комбінованої дії хлориду кадмію та нітриту натрію на показники білкового обміну в крові та печінці щурів, опромінених низькими дозами радіації / О. І. Острівка, Я. І. Гонський // Мед. хімія. – 2006. – Т. 8, № 2. – С. 49–52.
22. Головка Л. Л. Стан захисних систем організму за умов поєднаної дії солей кадмію і свинцю та нітриту натрію / Л. Л. Головка // Мед. хімія. – 2004. – Т. 6, № 3. – С 176.
23. Гонський Я. І. Вплив поєднаної дії металокомплексу гістидинату міді та ентеросорбенту «Фібрабет» на показники білкового обміну за умов ураження хлоридом кадмію та нітритом натрію на тлі рентгенівського опромінення / Я. І. Гонський, О. І. Острівка // Мед. хімія. – 2006. – Т. 8, № 3. – С. 85–88.
24. Satarug S. Cadmium, environmental exposure, and health outcomes / S. Satarug, S. H. Garrett. // Environ. Health Perspect. – 2010. – Vol. 118(2). – P. 182–190.
25. Swiergosz-Kowalewska R. Cadmium distribution and toxicity in tissues of small rodents / R. Swiergosz-Kowalewska // Microsc. Res. Tech. – 2001. – V. 55, № 3. – P. 208–222.
26. Shafran L. M. Age Distinctions in Heavy Metals Toxicity (System Approach) / L. M. Shafran, D. V. Bolshoy, A. P. Loburenko // Abstracts of EUROTOX 2001, 13–16 September 2001. Military Museum, Istanbul, Turkey // Toxicological Letters. – 2001. – V. 123, suppl. 1. – P. 52.
27. Пацкань Л. О. Стан глутатіонової ланки антиоксидантної системи за умов гострого отруєння парацетамолом на тлі попереднього уведення субтоксичних доз

натрію нітриту / Л. О. Пацкань // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2012. – № 1. – С. 191.

28. Скальный А. В. Микроэлементозы человека (диагностика и лечение). – М. : Медицина, 2001. – 70 с.

29. Сердюк А. М. Тяжелые металлы внешней среды и их влияние на репродуктивную функцию женщин : Монография. / А. М. Сердюк, Э. Н. Белицкая, Н. М. Паранько // – Д. АРТ–ПРЕСС, 2004. – 148 с.

30. Кузнецова Е. А. Накопление тяжелых металлов в зерновых культурах и пути снижения их содержания / Е. А. Кузнецова // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2009. – Т. 8, № 2. – С. 50–53.

31. Davidson T., Ke Q., Costa M. Transport of Toxic Metals by Molecular/Ionic Mimicry of Essential Compounds. – In: Handbook on the toxicology of metals / ed. by G. F. Nordberg [et al] // Prees, London/New York/Tokyo. – 2007. – P. 79–84.

32. Jarup L. Current status of cadmium as an environmental health problem / L. Jarup, A. Akesson // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2009. – Vol. 238(3). – P. 201–208.

33. Jarup L. Cadmium and averse effects human health / L. Jarup // Indian J. Med. Res. – 2010. Vol. 128. – P. 557–564.

34. Gold J. The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health / J. Gold, Fr. Scheidig, Ch. Grosse-Siest [et al.] // Occupational Medicine and Toxicology.– 2011. – V. 1. – P. 22–30.

35. Кудрин А. В. Микроэлементы в иммунологии и онкологии. / А. В. Кудрин, О. А. Громова // М. – ГЭОТАР – Медиа. – 2007. – 544 с. : ил.

36. Мислива Т. М. Свинець і кадмій у грунтах природних і агроландшафтів Житомирського Полісся / Т. М. Мислива // Вісник Житомирського національного агроєкологічного університету. – 2013. – № 1(1). – С. 36–49.

37. Скальный А. В. Химические элементы в физиологии и экологии человека // М. : Издательский дом «ОНИКС 21 век»: – Мир, 2009. – 216 с., ил.

38. Шафран Л. М. Токсикология металлов в решении задач охраны здоров'я населения и окружающей среды / Л. М. Шафран, Е. Г. Пыхтеева, Д. В. Большой // Причорноморський екологічний бюлетень. – 2003. – Т. 7, №1. – С. 93–100.

39. Эпителиальные клетки как мишень воздействия малых доз кадмия и ртути / Л. М. Шафран, Д. В. Большой, Е. А. Потапов [и др.] // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2007. – Т. 8, № 2. – С. 125–128.
40. Стусь В. П. Вміст важких металів у нирках мешканців Дніпропетровської області / В. П. Стусь // Довкілля та здоров'я. – 2009. – № 2. – С. 20–24.
41. Стусь В. П. Вміст важких металів у нирках людей, які мешкають в інтенсивній промисловій зоні / В. П. Стусь // Урологія. – 2006. – №1. – С. 45–49.
42. Ляшенко В. І. Біомоніторинг металів та його значення в з'ясуванні механізмів формування стану здоров'я населення під впливом хімічних та соціальних факторів – www.health.gov.ua. – [Електронна публікація]. – 2010.
43. Котельникова С. В. Состояние перекисного окисления липидов в разных органах и тканях крыс в зимний и летний периоды в условиях кадмиевой интоксикации / С. В. Котельникова, И. Г. Соколова, А. В. Котельников // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2008. – Т. 146, № 9. – С. 264–266.
44. Загальні закономірності нефротоксичної дії кадмію, талію, платини та ртуті / В. М. Тащук, К. Г. Магальяс, М. М. Радько [та ін.]. // Мед. хімія. – 2007. – Т. 5, № 2. – С. 104–106.
45. Нейко Є. М. Інтоксикація кадмієм: токсикокінетика і механізм біоцидних ефектів (огляд літератури і власних досліджень) / Є. М. Нейко, Ю. І Губський, Г. М. Ерстенюк // Журн. АМН України. – 2003. – Т. 9, № 2. – С. 250–261.
46. Флекей Н. В. Перекисне окиснення ліпідів в організмі піддослідних тварин під впливом субтоксичних доз кадмію на фоні вживання питної води з різними концентраціями натрію / Н. В. Флекей // Довкілля і здоров'я. – 2008. – Т. 44, № 1. – С. 13–15.
47. Трахтенберг И. М. Тиоловые яды // Общая токсикология / Под. ред. Курляндского Б. И., Филова В. А. – М. : Медицина, 2002. – С. 111–175.
48. Мудрый И. В. Эколого-гигиенические аспекты загрязнения почвы кадмием / И. В. Мудрый // Токсикологический вестник. – 2009. – № 12. – С. 32–35.

49. Флекей Н. В. Стан антиоксидантного захисту у білих щурів при вживанні води з різними комбінаціями іонів натрію і кадмію / Н. В. Флекей, В. А. Кондратюк, В. В. Лотоцький // Здобутки клініч. і експеримент. медицини. – 2008. – № 2. – С. 150.
50. Гжегоцький М. Р. Нариси профілактичної медицини / За ред. Б. М. Штабського // М. Р. Гжегоцький, В. І. Федоренко, Б. М. Штабський. – Львів : 2008. – 400 с.
51. Трахтенберг І. М. Переваги методу дослідження токсичного впливу сполук важких металів у культурі клітин людини *in vitro* порівняно з традиційним методом *in vivo* на тваринах як більш достовірного та адекватного / І. М. Трахтенберг, М. Л. Марченко, Н. О. Безденежних, Ю. Й. Кудрявець // Современные проблемы токсикологии. – 2010. – № 2–3. – С. 69–72.
52. Манкевич Е. В. Тяжелые металлы в пище / Е. В. Манкевич // Инфекционный контроль. – 2009. – №2. – С. 26–28.
53. Скальный А. В. Микроэлементы для вашего здоровья // М. : Издательский дом «ОНИКС 21 век»: – Мир, 2003. – 238 с.
54. Кадмій в організмі людини і тварин. 1. Надходження до клітин і акумуляція / Г. Л. Антоняк, Л. П. Білецька, Н. О. Бабич [та ін.] // Біологічні студії. – 2010. – Т. 4, № 2. – С. 127–140.
55. О мембранотропном действии солей тяжелых металлов и основных путях его коррекции / А. Р. Гутникова, К. О. Махмудов, Б. А. Саидханов [и др.] // Токсикологический вестник. – 2009. – № 3, май-июнь. – С. 21–26.
56. Гжегоцький М. Р. Концептуальна модель профілактичної медицини з позицій фізіології людини / М. Р. Гжеготський // Журн. АМН України. – 2003. – Т. 9, № 2. – С. 312–324.
57. Olsson I. Cadmium in blood and urine – impact of sex, age, dietary intake, iron status and former smoking - association of renal effects / I. Olsson, I. Besryd, Th. Lundh [et al.] // Env. Hlth. Perspectives. – 2012. – V. 110, № 12. – P. 1186–1190.
58. Hollis L. Tissue-specific cadmium accumulation, metallothionein induction and tissue zinc and copper levels during chronic sublethal cadmium exposure in juvenile rainbow trout / L. Hollis, C. Hogstrand, C. M. Wood // Arch. Environ. Contam. Toxicol. – 2004. – N4. – P.468–474.

59. Більчук В. С. Вплив сполук кадмію на активність та компонентний склад пероксидази проростків кукурудзи / В. С. Більчук, Л. В. Шупранова // Укр. біохім. журн. – 2010. – Т. 82, № 4 (додаток 1). – С. 159–160.
60. Чужакин Н. Л. Влияние цинка и меди на распределение кадмия в организме / Материалы международной научной конференции «Проблемы современной аграрной науки», Красноярск, 15 октября 2010. – С. 19.
61. Гжегоцький М. Р. Оцінка вмісту міді, свинцю та кадмію в донорській крові як показник фізіологічної норми / М. Р. Гжегоцький, Н. В. Суходольська // Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. – 2006. – № 1. – С. 63–67.
62. Falfushynska H. I. Metallothioneins of aquatic animals interaction of buffering and scavenging functions / H. I. Falfushynska, L. L. Gnatyshyna, L. D. Romanchuk, [et al.] // Укр. біохім. журн. – 2010. – Т. 82, № 4 (додаток 1). – С. 44–45.
63. Cadmium, mercury and lead in kidney cortex of the general Swedish population: A study of biopsies from living kidney donors / Barregard L., Svalander Ch., Schuts A. [at al.] // *Env. Hlth Perspective.* – 2011. – V. 213, № 2. – P. 1999.
64. Angelova V. R. lead, cadmium, zinc and copper bioavailability in the soil-plant-animal system in a polluted area / V. R. Angelova, R. V. Ivanova, J. M. Todorov, K. I. Ivanov // *Sci. World J.* – 2010. – V. 10. – P. 273–285.
65. Chen Y. Blood and urine cadmium levels in relation to demographic and life style in middle aged and elderly men / Y. Chen, Y. Pu, Y. Lin [et al.] // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* – 2009. – V. 66, № 3. – P. 287–294.
66. Пыхтеева Е. Г. Металлотионеин: биологические функции. Роль металлотионеина в транспорте металлов в организме / Е. Г. Пыхтеева // *Актуальні проблеми транспортної медицини.* – 2009. – Т. 18, № 4. – С. 44–58.
67. Пыхтеева Е. Г. Металлотионеин: биологические функции. 2. Роль металлотионеина в защите от оксидативного стресса / Е. Г. Пыхтеева // *Актуальні проблеми транспортної медицини.* – 2010. – Т. 19, № 1. – С. 114–120.
68. Пыхтеева Е. Г. Роль металлотионеинов в реализации токсического действия кадмия и ртути / Е. Г. Пыхтеева, Д. В. Большой, Л. М. Шафран // II Съезд токсикологов Украины, 12-14 октября 2004, Киев. Тезисы докладов. – С. 40–41.

69. Ерстенюк Г. М. Ультрамiкроскопiчні дослідження печiнки за умов iнтотоксикацiї кадмiєм та корекцiї селеном / Г. М. Ерстенюк, Б. В. Шутка // Вiсник проблем бiологiї i медицини. – 2006. – Вип. 4. – С. 84–88.
70. Вiковi особливостi змiни вiмiсту молекул середньої маси у фракцiях плазми кровi щурiв з кадмiй-гiдразинним токсикозом та за корекцiї дипептидом / Є. Б. Дмухальська, С. О. Ястремська, I. Я. Криницька [та iн.] – Мед. хiмiя – 2006. – Т. 6, № 3. – С. 38–40.
71. Ерстенюк Г. М. Вивчення впливу препаратiв «Кальцемiн» та «Кальцинова» на бiохiмiчні показники експериментальних тварин за умов iнтотоксикацiї кадмiєм / Г. М. Ерстенюк, О. М. Рожко, Р. М. Назарук // Галицький лiкарський вiсник. – 2009. – Т. 16, № 1. – С. 33–35.
72. Федоренко Ю. В. Протекторна роль пектину та кальцiю при роздiльнiй i комбiнованiй дiї свинцю та фтору / Ю. В. Федоренко // Експериментальна фiзiологiя та бiохiмiя. – 2008. – № 4. – С. 13–18.
73. Матолiнець О. М. Стан iмунної та антиоксидантної систем щурiв, отруєних кадмiєм, пiсля застосування прополiсу / О. М. Матолiнець // Практична медицина. – 2007. – Т. XIII, №2. – С. 93–95.
74. Коваленко В. М. Антиоксичнi властивостi препарату Бiомелан при експериментальному отруєннi кадмiю сульфатом / В. М. Коваленко, М. I. Борщевська, Н. Н. Жданова [та iн.] // Мед. хiмiя. – 2006. – Т. 4, № 4. – С. 18–21.
75. Бондарев Е. В. Применение энтеросорбентов / Е. В. Бондарев, С. Ю. Штрыголь. // Провизор. – 2008. – №13-14 (июль). – С. 39–43.
76. Лихацький П. Г. Вивчення антиоксидантних та iмуностимулюючих властивостей екстракту з конюшини лучної за дiї солей кадмiю, кобальту та рентген променiв в експериментi / П. Г. Лихацький, Л. С. Фiра // Здобутки клiнiчної i експериментальної медицини. – 2009. – № 1. – С. 58–61.
77. Мельничук Д. О. Вплив рiзних умов антиоксидантного захисту на кумуляцiю кадмiю та бiохiмiчну характеристику кровi бiлих щурiв / Д. О. Мельничук, Н. М. Мельникова, Є. А. Деркач // Современные проблемы токсикологи. – 2004. – № 4. – С. 9–11.

78. Kobayashi E. Dose-response relationship between total cadmium intake calculated from the cadmium concentration in rice collected from each household of farmers and renal dysfunction in inhabitants of the Jinzu River basin, Japan / E. Kobayashi, Y. Okubo, Y. Suwazono // *J. Appl. Toxicol.* – 2007. – 22(6). – P. 431–436.
79. Ерстенюк Г. М. Стан лігандних форм гемоглобіну щурів за умов кадмієвої інтоксикації / Г. М. Ерстенюк // *Мед. хімія.* – 2004. – Т. 6, № 3.- С. 101–103.
80. Naughton D. P. The metal ion theory of aging: dietary target hazard quotients beyond radicals / D. P. Naughton, A. Petroczi // *Immunity and Aging.* – 2008. – Vol. 5, № 7. – P. 2379–2385.
81. Daniel S. Through metal binding, curcumin protects against lead and cadmium – induced lipid peroxidation in rat brain homogenates and against lead – induced tissue damage in rat brain / S. Daniel, J. L. Limson, A. Dairam // *J. Inorg Biochem.* – 2004. – Vol. 98. – P. 75–86.
82. Большой Д. В. Изучение распределения металлов между различными фракциями крови при экспозиции Zn, Cd, Mn и Pb *in vitro* / Д. В. Большой // *Актуальні проблеми транспортної медицини.* – 2009. – Т. 18, № 4. – С. 70–74.
83. Большой Д. В. Сравнительная оценка метаболических нарушений при действии малых доз кадмия и ртути / Д. В. Большой, Е. Д. Пыхтеева // *Актуальні проблеми транспортної медицини.* – 2007. – Т. 3, № 1. – С.12–16.
84. Лукашов С. Н. Кальцитонин – гормон и лекарственное средство / С. Н. Лукашов, С. А. Безбородько, И. П. Кувик. // *Укр. терапевт. журн.* – 2009. – № 2. – С. 22–25.
85. Гордієнко В. В. Вікові особливості хроноритмів екскреторної функції нирок у щурів за тривалої дії малих доз кадмію хлориду / В. В. Гордієнко // *Буковинський медичний вісник.* – 2006. – Т. 10, № 4. – С. 27–30.
86. Большой Д. В. Токсикокинетика и токсикодинамика кадмия и ртути / Д. В. Большой // *Експериментальна фізіологія та біохімія.* – 2007. – № 1. – С.47–53.
87. Залавина С. В. Многоэлементный портрет детей дошкольного возраста в условиях накопления кадмия / С. В. Залавина, А. В. Скальный, С. В. Ефимов // *Микроэлементы в медицине.* – 2009. – Т. 8, № 4. – С. 25–28.

88. Антоняк Г. Л. Екотоксикологічні аспекти впливу кадмію на організм людини і тварин / Г. Л. Антоняк, Н. Є. Панас, Ю. В. Жиліщич, Л. П. Білецька // Мед. хімія. – 2007. – Т. 9, № 3. – С. 112–119.
89. Антоняк Г. Л. Кадмій в організмі людини і тварин. II. Вплив на функціональну активність органів і систем / Г. А. Антоняк, Н. О. Бабич, Л. П. Білецька [та ін.] // Біологічні студії. – 2010. – Т. 4., № 3. – С. 125–136.
90. Хижня Я. В. Визначення вмісту макро- та мікроелементів у судинній стінці та кістковій тканині у щурів за умов D вітамінної інтоксикації / Я. В. Хижня, О. В. Атаман // Здобутки клініч. і експеримент. медицини. – 2008. – № 2. – С. 155.
91. Андрусишина И. Н. К вопросу о нефротоксичности свинца, кадмия и ртути / И. Н. Андрусишина, Е. Г. Лампека, И. А. Голуб // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2006. – Т. 4, № 2. – С. 53–55.
92. Пыхтеева Е. Г. *In vitro* моделирование действия кадмия на эпителиальные клетки при предварительной индукции металлотионеина *in vivo* / Е. Г. Пыхтеева, Е. А. Потапов, Д. В. Большой, // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2011. – Т. 24, № 2. – С. 88–92.
93. Hunk P. Interactive effects of cadmium and benzo[a]pyrene on metallothionein induction in mummichog / P. Hunk, M. Faisal, M. H. Roberts // Mar. Environ. Res. – 2006. – V. 50, № 1-5. – P. 83–87.
94. Основные показатели физиологической нормы у человека: Руководство для токсикологов / Трахтенберг И. М., Тычинин В. А., Сова Р. Е. [и др.] – К.: Авиценна, 2005. – 256 с.
95. Hwang D. F. Effect of taurine on toxicity of cadmium in rats / D. F. Hwang, L. C. Wang // Toxicology. – 2011. – Vol. 167, N1. – P. 173-180.
96. Развитие адаптационных механизмов самок белых крыс в ответ на воздействие ионов кадмия / Степанова Е. В., Слюзова О. В., Бучарская А. Б. [и др.] // Токсикологический вестник. – 2008. – №3. – С. 23–27.
97. Гонський Я. І. Функціональна активність дезінтоксикаційної системи мікрсом печінки та стан мембран за умов інтоксикації гідрозин хлоридом, кадмій хлоридом та за їх поєднання / Я. І. Гонський, Є. В. Дмухальська, С. О. Ястремська // Мед. хімія. – 2005. – Т. 7, № 2. – С. 79–81.

98. Гонський Я. І. Динаміка вмісту активних форм кисню і вільнорадикального окиснення ліпідів та білків у щурів, уражених хлоридами кадмію та кобальту / Я. І. Гонський, М. В. Чорна // Мед. хімія. – 2008. – Т. 10, № 1. – С. 102–104.
99. Кравенська Є. В. Кінетичний аналіз взаємодії катіонів металів з мітохондріальною порогою неспецифічної проникності / Є. В. Кравенська, Л. О. Дубицький, Н. В. Федірко // Укр. біохім. журн. – 2010. – Т. 82, № 4 (додаток 1). – С. 84–85.
100. Ricans L. E. Mechanisms of cadmium-mediated acute hepatotoxicity / L. E. Ricans // J. Biochem. Mol. Toxicol. – 2010. – V. 397, N 2. – P. 110–117.
101. Pourahmand J. A comparison of hepatocyte cytotoxic mechanisms for Cu and Cd / J. Pourahmand, P. O'Brien // Toxicology. – 2009. – V. 343, N 3. – P. 263–273.
102. Гістоструктурні зміни деяких внутрішніх органів за умов кадмієвої інтоксикації / О. І. Дельцова, Г. М. Ерстенюк, Р. М. Назарук [та ін.] // Галицький лікарський вісник. – 2007. – Т. 8., № 2. – С. 31–33.
103. Bernard A. Cadmium and its adverse effects on human health / Indian. J. Med. Res. – 2008. – V. 128(4). – P. 557–564.
104. Zhang Y. M. Lipid peroxidation and ultrastructural modifications in brain after perinatal exposure to lead and/or cadmium in rat pups / Y. M. Zhang, X. Z. Liu, H. Lu // Biomed. Environ. Sci. – 2009. – V. 22(5). – P. 423–429.
105. Kendrey G. R. Cadmium toxicology / G. R. Kendrey // Lancet. – 2002. – V. 349(1). – P. 7607–7611.
106. Мельникова Н. М. Вікові особливості вмісту кадмію в організмі отруєних ним щурів за дії експериментального метаболічного ацидозу / Н. М. Мельникова, Н. М. Ворошилова // Укр. біохім. журн. – 2007. – Т. 79., № 1. – С. 132–136.
107. Мельникова Н. М. Вплив метаболічного алкалозу на вміст мікроелементів у крові щурів, отруєних кадмію сульфатом / Н. М. Мельникова, Н. М. Ворошилова // Современные проблемы токсикологии. – 2008. – № 4. – С. 26–27.
108. Губський Ю. І. Молекулярні механізми загибелі клітини за дії біоцидних ксенобіотиків: вільні радикали, некроз, апоптоз / Ю. І. Губський, Є. Л. Левицький, В. В. Олар // Укр. біохім. журн. – 2010. – Т. 82, № 4 (додаток 2). – С. 9–11.
109. Медико-екологічна проблема сумарного надходження нітратів в організм людини з питною водою та харчовими продуктами та шляхи її вирішення /

- Ю. Г. Хоменко, І. В. Бондаренко, Л. І. Білик, О. С. Джулай [та ін.] // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2011. – Т. 23, №1. – С. 82–86.
110. Стахурська І. О. Інтенсивність метгемоглобінутворення у щурів різної статі за умови токсичного ураження натрію нітритом / І. О. Стахурська, А. М. Пришляк // Мед. хімія. – 2014. – Т. 16, № 3. – С. 128.
111. Трахтенберг І. М. Біологічні наслідки забруднення навколишнього середовища нітритами та нітратами / І. М. Трахтенберг, В. В. Бабієнко // Інтегративна антропологія. – 2013. – № 1. – С. 37–39. – http://nbuv.gov.ua/j-pdf/Ia_2013_1_9.pdf.
112. Бабієнко В. В. Особливості фізичного розвитку у дітей, що проживають в екологічно несприятливих умовах / В. В. Бабієнко // Укр. мед. альманах. – 2013. – Т. 16, № 1. – С. 169–171.
113. Корда М. М. Роль оксиду азоту в патогенезі ураження печінки ксенобіотиками / М. М. Корда, Т. Я Ярошенко // – Мед. хімія – 2005. – Т. 7, № 3. – С. 74–79.
114. Chen T. Role of nitric oxide in liver injury / T. Chen, R. Zamora, B Zuckerbraun // *Curr. Mol. Med.* – 2006. – № 3. – P. 519–526.
115. Винарська О. І. Гематологічні та імунологічні ефекти у тварин через три місяці впливу нітриту натрію та тетрацикліну / О. І. Винарська, Ю. С. Спаська, Л. Є Григоренко // Гігієна населених місць. – 2013. – Вип. 61. – С. 363–369.
116. Оксигеназні реакції в мікросомальній фракції гепатоцитів щурів за умов нітратної інтоксикації та корекції вітамінами-антиоксидантами / О. В. Задоріна, Г. І. Парамонова, А. С. Ягупова [та ін.] // Мед. хімія. – 2008. – Т.10. – №2. – С. 17–21.
117. Ревич Б. А. Биомониторинг токсичных веществ в организме человека / Б. А. Ревич // Гигиена и санитария. – 2005. – №6. – С. 26–31.
118. Wimalawansa S. J. Nitric oxide and bone / S. J. Wimalawansa // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2010. – V. 1192. – P. 391–403.
119. Стахурська І. О. Вплив натрію нітриту на вільнорадикальні процеси в організмі та ультраструктуру міокарда у щурів / Стахурська І. О., Пришляк А. М., Кондратюк В. А. // Гігієна населених місць. – 2014. – Вип. 64. – С. 409–415.

120. Гоженко А. І. Роль оксиду азоту в молекулярно-клітинних механізмах функції нирок / А. І. Гоженко // Укр. біохім. журн. – 2004. – Т. 74, №4а. – С. 96.
121. Паніна Л. В. Оцінка ендогенної інтоксикації організму за умов експериментальної гемічної гіпоксії / Л. В. Паніна, С. М. Ковальчук, М. Р. Гжегоцький // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2008. – №2. – С. 72–76.
122. Беленичев И. Ф. Свободнорадикальные механизмы повреждения митохондрий при воздействии избытка NO / И. Ф. Беленичев, Г. А. Жернова // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. – 2009. – Т. 2, Вип. XXII. – С. 38–43.
123. Кметь Т. І. Особливості стану прооксидантно-антиоксидантної системи печінки старих щурів з різним типом ацетилювання за умов гострої нітратно-кадмієвої інтоксикації / Т. І. Кметь, Л. І. Власик. // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2005. – №2. – С. 80–82.
124. Кметь Т. І. Особливості стану пероксидного окиснення білків у тварин ювенільного віку з різним типом метаболізму за умов нітратно-кадмієвої інтоксикації / Т. І. Кметь, Л. І. Власик // [www. Magazine./com/ua.pdf](http://www.Magazine./com/ua.pdf).
125. Каліман П. А. Оксидативний стрес – універсальний механізм адаптації метаболізму за умов дії на організм пошкоджуючи чинників / П. А. Каліман // Укр. біохім. журн. – 2010. – Т. 82, № 4 (додаток 1). – С. 132.
126. Гонський Я. І. Стан захисних систем організму за умов поєднаної дії солей кадмію та свинцю / Я. І. Гонський, Л. Л. Головка // Мед. хімія. – 2004. – Т. 6, № 1. – С. 10–13.
127. Застосування регресійного аналізу морфометричних показників при вивченні впливу ксенобіотиків на ріст і формоутворення трубчастих кісток / К. Г. Калікін, В. А. Коржан, О. А. Руденко [та ін.]. // Укр. мед. альманах. – 2007. – Т. 6, № 6. – С. 195–198.
128. Дєдуч Н. В. Регенерація кістки при аліментарному остеопорозі (експериментальне дослідження) / Н. В. Дєдуч, О. А. Нікольченко // Ортопедия и травматология. – 2009. – № 9. – С. 45–49.
129. Цейтлин О. Я. Эпидемиология остеопороза / О. Я. Цейтлин // Вестн. РАМН. – 2009. – № 3. – С. 54 – 57.

130. Бондаренко Л. Б. Взаємодія поліамінів і колагенів у різних процесах формування і функціонування позаклітинного матриксу в нормі та за патології / Л. Б. Бондаренко, Т. Т. Володіна // Укр. біохім. журн. – 2007. – Т. 79, № 6. – С. 19–24.
131. Калікс[4]аренметиленбісфосфонові кислоти: особливості інгібування лужних фосфатаз / О. В. Музичка, В. Ю. Танчук, А. І. Вовк [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2007. – Т. 79, № 6. – С. 26–33.
132. Горбунова В. Н. Коллагены и коллагеновые гены / В. Н. Горбунова, Т. И. Кадурина // Медицинская генетика. – 2006. – Т. 5, № 6. – С. 2–10.
133. Дедух Н. В. Генетика остеопороза / Н. В. Дедух // Проблеми остеології. – 2009. – Т. 12, № 1–2. – С. 3–25.
134. Бондарь Т. И. Тиреоидный статус организма и оксид азота / Т. И. Бондарь // *Annals of Mechnikov Institute*. – www.imiamn.org/jurnal.htm. – P. 8–12.
135. Ревелл П. А. Патология кости: Пер. с англ. – М., Медицина. – 2005. – 304 с.
136. Сорокін Б. В. Зміни компонентів органічного матриксу кісткової тканини щурів при відтворенні експериментального остеопорозу за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію / Б. В. Сорокін, В. О. Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини : Вісник укр. мед. стоматолог. академії. – 2013. – Т. 13, № 2. – С. 220-224.
137. Непорада К. С. Зміна органічного матриксу нижньощелепних кісток у щурів з різними типами нервової регуляції за умов хронічного стресу / К. С. Непорада // Мед. хімія. – 2013. – Т. 5, № 2. – С. 28–30.
138. Komori T. Clinical aspect of recent progress in phosphate metabolism. The functions of osteocytes / T. Komori // *Clin. Calcium*. – 2009. – 19 (6). – P. 837–843.
139. Nicoletta D. P. Osteocyte lacunae tissue strain in cortical bone / D. P. Nicoletta, D. E. Moravits, A. M. Gale, L. F. Bonewald [et al.] // *J. Biomech*. – 2006. – Vol. 39, N. 9. – P. 1735–1743.
140. Khosla S. Osteopenia / S. Khosla, L. J. Melton // *N. Engl., Med.* – 2007. – Vol. 356. – P. 2296–2300.
141. Moss D. W. Alkaline phosphatase isoenzymes / D. W. Moss // *Clin. Chem.* – 2002. – Vol. 228. – P. 2007–2016.

142. Болгова Е. С. Возрастные и половые особенности содержания кальция, фосфора и магния в минерализованных тканях / Е. С. Болгова, В. В. Маврич, В. Б. Возний // Укр. морфол. альманах. – 2006. – Т. 4, № 1. – С. 69–73.
143. Кравец Т. П. Кальций и фтор: какой из них более для зубов ценен? / Т. П. Кравец // Стоматолог. – 2004. – № 10. – С. 19–23.
144. Бенгус Л. М. Ультраструктурная характеристика костного ремоделирования в условиях алиментарного дефицита кальция / Л. М. Бенгус // Укр. морфол. альманах. – 2003. – Т. 1, № 2. – С. 9–13.
145. Аврунин А. С. Перестройка минерального матрикса костной ткани / А. С. Аврунин, Н. В. Корнилов. // Морфология. – 2004. – № 2. – С. 37–40.
146. Торчинов В. У. Современные возможности оценки состояния костной ткани: Обзор литературы / В. У. Торчинов // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2005. – № 5. – С. 28–31.
147. Біохімічні показники в нормі та при патології : [навчальний посібник] / Д. П. Бойків, Т. І. Бондарчук, О. Л. Іванків [та ін.]; за ред. О. Я. Склярєва. – К. : Медицина, 2007. – 320 с.
148. Baron R. L'osteoclaste et les mecanismes moléculaires de la résoption ossruse / R. Baron // M/S: Med sci. – 2001. – Vo1. 7, № 12. – С. 1260–1269.
149. Шуба Н. М. Остеопороз – актуальная проблема XXI века: современное представление о патогенезе и терапии / Н. М. Шуба //Український ревматологічний журнал. – 2008. – Т. 32, № 2. – С. 5–14.
150. Johnell O. Biochemical indices of bone tumover and the assesment of fracture prodadillty / O. Johnell, A. Oden, C. de Laet [et al.] // Osteoporos int. – 2002. – Vol. 13. – P. 523–526.
151. Гусак Є. В. Мікроелементний склад довгих та мішаних кісток скелета в нормі / Є. В. Гусак, М. В. Погорєлов, Г. Ф. Ткач [та ін.] // Укр. морфол. альманах. – 2010. – Т. 8, № 4. – С. 51–55.
152. Бельская Л. В. Оптимизация методики синтеза гидроксиапатита для биомедицинских целей / Л. В. Бельская, О. А. Голованова, А. П. Солоненко // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В. І. Вернадського. Серія : фізика. – 2009. – Т. 22(61), № 1. – С. 170–181.

153. Hammouda F. Reversal of cadmium-induced thyroid dysfunction by selenium, zinc, or their combination in rat / F. Hammouda, I. Messaoudi, J. El Hani [et al.] // *Boil. Trace Elem. Res.* – 2008. – Vol. 128(1-3). – P. 194–220.
154. Олійник В. А. Системна патологія кісткової тканини при захворюваннях щитоподібної залози: клініка, діагностика, профілактика і лікування: Огляд літератури та власні дані / В. А. Олійник, В. В. Поворознюк, Г. М. Терехова // *Ендокринологія.* – 2012. – Т. 7, № 2. – С. 257–273.
155. Олійник В. А. Показники кальцієвого балансу та структурно-функціональний стан кісткової тканини у хворих на первинну хронічну недостатність надниркових залоз / В. А. Олійник, В. В. Поворознюк, Г. М. Терехова // *Ендокринологія.* – 2013. – Т. 8, № 1. – С. 39-46.
156. Пикалюк В. С. Современные представления о биологии и функции костной ткани / В. С. Пикалюк, С. О. Мостовой // *Таврический медико-биологический вестник.* – 2006. – Т. 9, № 3. – С. 186–195.
157. Клінічна біохімія : Підручник / Д. П. Бойків, Т. І. Бондарчук, О. Л. Іванків [та ін.] // За ред. О. Я. Склярова. – К.: Медицина, 2006. – 432с.
158. Поворознюк В. В. Остеопороз та біохімічні маркери метаболізму кісткової тканини / В. В. Поворознюк // *Лаборат. діагностика.* – 2008. – №1. – С. 53–61.
159. Роль гормонов щитовидной и паращитовидной желез в патогенезе глюкокортикоидного остеопороза и заболеваний пародонта (экспериментальное исследование) / Золотухин С. Е., Аусси Г. С., Шпаченко М. М. [та ін.] // *Укр. морф. альманах.* – 2008. – Т. 6, № 2. – С. 110–113.
160. Білець М. В. Обґрунтування використання кальцитоніну для корекції структурних змін в кістковій тканині нижньої щелепи за умов емоційного стресу та його поєднання з оваріоектомією / М. В. Білець // *Мед. хімія.* – 2009. – Т. 11., № 4. – С. 92–93.
161. Garnero P. New developments in biochemical markers of osteoporosis / P. Garnero, P. D. Delmas // *Calcif. Tissue Intern.* – 2006. – Т. 59, № 3. – P. 52–59.
162. Савка І. Г. Вікові зміни та методи дослідження кісткової тканини у клінічній практиці / І. Г. Савка // *Буковинський медичний вісник.* – 2010. – Т. 14, №3(55). – С. 150–152.

163. Pamela Gehron. Bone Biochemistry. In: Osteoporosis. / Eds: Robert Marcus, David Feldman, Jennifer Kelsey. – 2-nd ed., Academic Press. – 2008. – Vol. 1-20.
164. Farley J. R. Improved method for quantitative determination inserum alkaline phosphatase of skeletal origin / J. R. Farley, C. J. Chesnut, D. J. Baylink // Clin. Chem. – 2003. – Vol. 27. – P. 2002–2007.
165. Мазур І. П. Порушення кісткового метаболізму у хворих на генералізований пародонти та шляхи корекції / І. П. Мазур // Журнал практичного лікаря. – 2005. – № 6. – С. 14–22.
166. Левицький А. П. Ферментативний метод оцінки стану кісткової тканини / А. П. Левицький, О. А. Макаренко, І. В. Ходаков, Ю. В. Зеленіна // Одеський медичний журнал. – 2006. – Т. 95, № 3. – С. 17–21.
167. Исследование биохимических маркеров ремоделирования костной ткани при постменопаузальном остеопорозе в условиях лаборатории диспансера / Г. В. Ибрагимова, Л. П. Пашинцева, О. В. Духарева [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 9. – С. 7 – 8.
168. Ивченко В. К. Определение селена в костной ткани человека методом атомно-абсорбционной спектрометрии / В. К. Ивченко, Д. В. Ивченко // Укр. журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2008. – Т. 3, №3. – С. 36–38.
169. Pajevic P. D. Regulation of bone resorption and mineral homeostasis by osteocytes / P. D. Pajevic // IBMS BoneKEy. – 2009. – V. 6(2). – P. 63–70.
170. Teitelbaum S. I. Osteoclasts: culprits in inflammatory osteolysis / Teitelbaum S. I. // Arthritis Research & Therapy. – 2006. – Vol. 8, № 1. – С. 201–209.
171. Активність кислої та лужної фосфатаз крові хворих з гострим коронарним синдромом / Рижкова Н. А., Гавриленко Т. І., Пархомчук І. П. [та ін.] // Лабораторна діагностика. – 2005. – Т. 32, № 2. – С. 13–18.
172. Атрушкевич В. Г. Остеопороз в клинике болезней пародонта. Часть 1. Этиопатогенез хронического генерализованного пародонтита и нарушения фосфорно-кальциевого обмена / В. Г. Атрушкевич // Российский стоматологический журнал. – 2007. – № 5. – С. 42–46.
173. Bilezikian J. P. Principles of Bone Biology /J. P. Bilezikian, G. R. Lawrence, A. R. Gideon – [2-nd ed.]. – New York : Academic Press, 2002.

174. Бабінець Л. С. Взаємозв'язок стану кісткової тканини, параметрів анемії та білкового статусу при хронічному панкреатиті / Л. С. Бабінець // Укр. морфол. альманах. – 2008. – Т. 6, № 3. – С. 93–95.
175. Васильева Т. Г. Состояние метаболизма костной ткани и распространенность остеопенического синдрома у здоровых детей Приморского края РФ / Т. Г. Васильева, О. Г. Максимова, С. А. Албавичус // Проблемы остеологии. – 2006. – Т. 9, додаток. – С. 32.
176. Васько Л. В. Морфофункціональні дослідження кісток після пошкодження на фоні дії негативних чинників / Л. В. Васько, Л. І. Кіптенко, Г. Ю. Будко // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2008. – № 1. – С. 104–105.
177. Влияние остеопластического материала на регенерацию костной ткани по данным определения активности фосфатаз / В. В. Лепский, Р. В. Керницкий, В. И. Карый [и др.] // Вісник стоматології. – 2005. – № 4. – С. 5-7.
178. Влияние различных доз цитрата кальция на протеолиз в костной ткани крыс при фторидной интоксикации / В. И. Гороховский, О. В. Деньга, А. П. Левицкий [и др.] // Вісник стоматології. – 2006. – № 2. – С. 3–6.
179. Волжин А. И. Остеопороз / А. И. Волжин; под. ред. А. И. Волжина, В. С. Оганова. – М. : Практическая медицина, 2005. – 240 с.
180. Геник І. Д. Особливості вікової динаміки мінерального складу кісткової тканини в осіб зрілого віку Прикарпатського регіону / І. Д. Геник, З. З. Масна, О. О. Адамович // Укр. морфол. альманах. – 2008. – Т. 6, № 2. – С. 86–87.
181. Гусар О. П. Вплив показників біохімічних маркерів метаболізму кісткової тканини на остеointegraцію кісткової тканини / О. П. Гусар // Укр. морфол. альманах. – 2006. – Т. 4, № 2. – С. 128.
182. Дедух Н. В. Регенерация кости при остеопорозе / Н. В. Дедух, О. А. Никольченко // Междунар. науч-практ. конф. «Остеопороз: Эпидемиология, клиника, диагностика, профилактика и лечение» Евпатория, 5-8 сентября 2006. – Проблемы остеологии. – 2006. – Т. 9, додаток. – С. 40–41.
183. Делмас П. Д. Биологические маркеры в оценке метаболизма костной ткани. В кн.: Остеопороз: Этиология, диагностика, лечение. Под ред. Б. Д. Риггз, Л. Дж.

Мелтон, Р. D. Delmas // Пер. с англ. М. – Ст-Петербург : БИНОМ, Невский диалект. – 2003. – С. 345–363.

184. Європейські рекомендації з діагностики та ведення остеопорозу у жінок в постменопаузальному періоді (Переклад статті, опубл. в “Osteoporos Int.” – 2008. – №19. – Р. 399-428) // Укр. ревматол. журнал. – 2008. – № 12. – С. 10–32.

185. Золотова-Гайдамака Н. В. Деякі особливості змін у кістковій тканині й остеocyтах в умовах зниження опорного навантаження / Н. В. Золотова-Гайдамака // Укр. морфол. альманах. – 2008. – Т. 6, № 2. – С. 107–109.

186. Лучинський М. А. Особливості формування стоматологічної патології у дітей, які проживають у різних екологічних умовах (огляд літератури) / М. А. Лучинський, О. І. Остапко, Ю. І. Лучинська // Клінічна стоматологія. – 2014. – № 1. – С. 35–41.

187. Фастовець О. О. Порівняльний аналіз вмісту кальцію та магнію в змішаній слині та зубах при різних формах стирання / О. О. Фастовець // Укр. морфол. альманах. – 2005. – Т. 3, № 4. – С. 93–96.

188. Ковальчук Л. Я. Стан мінерального обміну кісткової тканини після оперативного лікування виразки шлунка / Л. Я. Ковальчук, Ю. М. Футуйма, А. Д. Беденюк // Укр. морфол. альманах. – 2006. – Т. 4, № 1. – С. 93–97.

189. Коломиец В. В. Оценка состояния обмена кальция и синтеза оксида азота у больных с артериальной гипертензией и остеоартрозом / В. В. Коломиец, К. Ю. Симбирцева // Укр. ревматол. журнал. – 2006. – Т. 25, № 3. – С. 57–61.

190. Васько Л. В. Ультраструктура кісткових клітин в умовах опромінення та вживання солей важких металів / Л. В. Васько, Л. І. Кіптенко, О. М. Гортинська // Світ медицини та біології. – 2011. – № 4. – С. 23–26.

191. Tobias A. Cadmium exposure and distal forearm fractures / A. Tobias, E. Carl-Gustaf, H. Lennat // Journal of Bone and Mineral Reseach. – 2004. – Vol. 19, N 6. – P. 900–905.

192. Кульчицький О. К. Вікові та стресові зміни системи оксиду азоту / О. К. Кульчицький, Р. І. Потапенко, С. М. Новікова // Укр. біохім. журн. – 2010. – Т. 82, № 4 (додаток 2). – С. 22.

193. Моїсеєнко О. С. Особливості росту, будови та формоутворення кісток скелету у віковому аспекті після термічного ураження та вживання солей важких металів // Укр. морфол. альманах. – 2006. – Т. 4, № 2. – С. 59–61.
194. Березовский В. А. Ранние изменения структурно-функциональной организации костной ткани при разгрузке тазовых конечностей крыс / В. А. Березовский, Бруско А. Т. // Вісник ортопедії, травматології та протезування. – 2006. – № 4. – С. 19–22.
195. Фармакогнозія з основами біохімії рослин. Підручник. За ред. проф. В. М. Ковальова. – Харків. «Прапор». – 2007. – 703 с.
196. Лузин В. И. Применение рентгеноструктурного анализа для исследования фазового состава костного минерала / В. И. Лузин // Укр. морфол. альманах. – 2008. – Том 3, № 4. – С. 61–64.
197. Макар Б. Г. Зміни кісткової системи за умов дегідратації та впливу солей важких металів / Б. Г. Макар, Б. Ю Банул // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2007. – Т. 6, № 4. – С. 91–94.
198. Макаренко О. А. Роль стимуляторів остеогенеза в терапії остеопороза / О. А. Макаренко, А. П. Левицкий // Междунар. науч-практ. конф. «Остеопороз: Эпидемиология, клиника, диагностика, профилактика и лечение» Евпатория, 5-8 сентября 2006. – Проблемы остеологии. – Т. 9, додаток – 2006. – С. 72.
199. Макаренко О. А. Антиоксидантные свойства некоторых природных биофлавоноидов / О. А. Макаренко, А. П. Левицкий, В. И. Литвиненко, И. В. Ходаков // Вісник ОНУ. – 2010. – Т. 15, Вип. 6. : Біологія. – С. 15–20.
200. Макаренко О. А. Антипротеазная активность флавоноидов / О. А. Макаренко, А. П. Левицкий // Вісник ОНУ. – 2010. – Т. 15, Вип. 17. : Біологія. – С. 29–36.
201. Макаренко О. А. Перспективы применения биофлавоноидов для профилактики постменопаузального остеопороза / О. А. Макаренко // Фітотерапія. Часопис. – 2007. – № 4. – С. 28–33.
202. Макаренко О. А. Деструктивна роль еластази в патогенезі остеопорозу та інгібування її активності флавоноїдами / О. А. Макаренко // Мед. хімія. – 2011. – Т. 6, № 2. – С. 107–111.

203. Мірчук Б. М. Вплив аліментарної остеодистрофії на стан кісткової тканини / Б. М. Мірчук // Досягнення біології та медицини. – 2011. – № 2, Т. 18. – С. 4–7.
204. Поворознюк В. В. Роль дисліпідемії та біохімічних маркерів у формуванні вертебрального больового синдрому в жінок у постменопаузальний період залежно від мінеральної щільності кісткової тканини / В. В. Поворознюк, Т. В. Орлик, О. І. Нішкумай // Серце і судини. – 2015. – № 2. – С. 89–95.
205. Особливості метаболізму та структурно-функціонального стану кісткової тканини при D-гіповітамінозі / Г. В. Гайко, Л. І. Апуховська, А. Т. Бруско [та ін.] – Укр. мед. альманах – 2005. – Т. 3. № 2. – С. 21–26.
206. Пикалюк В. С. Модифікація методики гистологического исследования костной ткани / В. С. Пикалюк, С. А. Кудря, Д. В. Шадуро // Морфология. – 2010. – Т. IV, № 3. – С. 72–76.
207. Пикалюк В. С. Фракційний склад органічного матрикса, мінерального компонента і механіко-пластичні властивості кістки / В. С. Пикалюк // Укр. морфол. альманах. – 2008. – Том 6, № 2. – С. 149–155.
208. Поворознюк В. В. Остеопороз та біохімічні маркери метаболізму кісткової тканини / В. В. Поворознюк // Лаборат. діагностика – 2002. – № 1. – С. 53–60.
209. Поворознюк В. В. Унікальна інновація для лікування постменопаузального остеопорозу в Україні / В. В. Поворознюк // Здоров'я України. – 2007. – № 1. – С. 20–21.
210. Поворознюк В. В. Влияние орхиэктомии на показатели минеральной плотности костной ткани у самцов крыс репродуктивного возраста / В. В. Поворознюк, И. В. Гопкалова, Е. А. Креслов // Междунар. науч-практ. конф. «Остеопороз: Эпидемиология, клиника, диагностика, профилактика и лечение» Евпатория, 5–8 сентября 2006. – Проблемы остеологии – Т. 9, додаток. – 2006. – С. 91–92.
211. Романюк А. М. Особливості реакції кісток скелета при термічному ураженні та впливу солей важких металів / А. М. Романюк, О. С. Моїсеєнко, К. А. Романюк // Укр. морфол. альманах. – 2006 – Т. 4, № 2. – С. 95–97.

212. Романюк А. М. Морфологічні зміни щитоподібної залози статевонезрілих щурів в умовах дії мікроелементозів / А. М. Романюк, Р. А. Москаленко // Укр. морфол. альманах. – 2008. – Т. 6., № 1. – С. 136–137.
213. Романюк А. М. Патоморфологічні аспекти репаративної регенерації кісткової тканини в експериментальних умовах / А. М. Романюк, Я. Я. Боднар // Вісник СумДУ. Серія Медицина. – 2004. – Т. 41, № 8 – С. 49–53.
214. Григоровский В. В. Гистология, динамика и корреляция морфологических признаков поражения кости и биохимических показателей метаболизма межклеточного вещества соединительной ткани при экспериментальном травматическом остеомиелите / В. В. Григоровский, С. Магомедов // Журн. АМН України. – 2010. – Т. 7., № 2. – С. 245–259.
215. Шкала Л. В. Мікроелементи: біологічна роль у організмі людини / Л. В. Шкала // Галицький лікарський вісник. – 2009. – Т. 10., № 4. – С. 125–127.
216. Рощупкина С. В. Особенности роста, строения и формирования костей скелета под воздействием нитратов: Автореф. дис... канд. мед. наук. – Луганск, 2002. – 20 с.
217. Кузняк Н. Б. Стоматологічний статус дітей, які мешкають на нітратно забруднених територіях / Н. Б. Кузняк, О. І. Годованець // Новини стоматології. – 2010. – № 2. – С. 83–85.
218. Структурно-функціональний стан кісткової системи у хворих на генералізований пародонтит із супутнім захворюванням щитовидної залози. Мельник Н. С., Мазур І. П., Рижик В. М. [та ін.] // Архів клін. мед. – 2008. – Т. 13, № 1. – С. 31–34.
219. Федченко Н. Н. Современные аспекты структурно-функциональной организации щитовидной железы / Н. Н. Федченко, А. А. Бондаренко, В. И. Гарец // Укр. морфол. альманах. – 2008. – Т. 6., № 1. – С. 161–164.
220. Ходаков І. В. Спосіб визначення щільності кісток лабораторних тварин / І. В. Ходаков // Досягнення біології та медицини. – 2006. – № 2 (4). – С. 38–41.
221. Afzal F. Endotelial nitric oxide synthase in the control of osteoblastic mineralizing activity and bone integrity/ F. Afzal, J. Polak, L. Buttery // J. Pathol. – 2009. – V. 202, N 4. – P. 503–510.

222. An Y. H. Handbook of histology methods for bone and cartilage / Y. H. An, K. L. Martin. // NY: Humana Press. – 2007. – 587 p.
223. Bhattacharyya M. H. Cadmium osteotoxicity in experimental animals: mechanisms and relationship to human exposures / M. H. Bhattacharyya // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2009. – Vol. 238(3). – P. 258–265.
224. Clines G. A. Hypercalcemia in hematologic malignancies and in solid tumors associated with extensive localized bone destruction. In: Favus M.J., ed. Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism. 5th ed. Washington DC : American Society for Bone and Mineral Research. – 2003. – P. 251–562.
225. Gür A. The role of trace minerals in the pathogenesis of postmenopausal osteoporosis and a new effect of calcitonin / Gür A., Colpan L., Cevik R., Erdogan F., Düz M.Z. // J. Bone Miner. Metab. – 2012. – Vol. 20, № 1. – С. 39–43.
226. Kazantzis G. Cadmium, osteoporosis and calcium metabolism / G. Kazantzis // Biometals. – 2008. – Vol. 17(5). – P. 493–498.
227. Trzcinka-Ochocka M. The effects of low environmental cadmium exposure on bone density / M. Trzcinka-Ochocka, M. Jakubowski, W. Szymczak [et al.] // Environ. Res. – 2010. – Vol. 110(3). – P. 286–293.
228. Мухамбетова Л. Х. Разработка биохимических подходов к оценке влияния на организм ксенобиотиков / Л. Х. Мухамбетова // Гигиена и санитария. – 2006. – № 6. – С. 24–26.
229. Румянцев Е. В. Химические основы жизни / Е. В. Румянцев, Е. А. Антина // Химия, КолосС. – 2007. – 560 с.
230. Поворознюк В. В. Сучасні принципи діагностики, профілактики та лікування захворювань кістково-м'язової системи в людей різного віку / В. В. Поворознюк. – К. : ВПЦ “Експрес”. – 2008. – 276 с.
231. Вплив мелатоніну на ліпіди кісткової тканини дорослих щурів / Літовка І. Г., Весельський С. П., Березовський В. Я. [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2010. – Т. 82, № 4 (додаток 1). – С. 202–203.
232. Гінчицька Л. В. Особливості кальцій-фосфорного обміну в жінок 40-50 років після тотальної овариоектомії / Л. В. Гінчицька // Буковинський медичний вісник. – 2007. – Т. 11, №3. – С. 20–22.

233. Горбилєва Т. П. Цинк та мідь як токсини та мікроелементи в продуктах харчування / Т. П. Горбилєва // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2009. – Т. 18, № 4. – С. 84–87.
234. Кулемзіна Т. В. Застосування антигомотоксичних препаратів в лікуванні пацієнтів з остеоартропатією, що обумовлена хронічною інтоксикацією кадмієм / Т. В. Кулемзіна, І. В. Харлап, Є. Ю. Самора, С. С. Таран // Укр. морфол. альманах. – 2008. – Том 6, № 2. – С. 125–126.
235. Сикора В. З. Изменение остеогенеза при избыточном поступлении в организм солей тяжелых металлов / В. З. Сикора, О. С. Кононенко, М. В. Погорелов // Укр. мед. альманах. – 2010. – № 3. – С. 99–101.
236. Калінін І. В. Вплив міді на активність глутатіонзалежних ензимів у крові щурів / І. В. Калінін, М. А. Сас // Укр. біохім. журн. – 2010. – Т. 82., № 4 (додаток 1). – С. 186–187.
237. Карплюк З. Динаміка деяких мікроелементів (мідь, марганець) при порушенні функції підшлункової залози в експерименті / З. Карплюк, Л. Хананаєв // Галицький лікарський вісник. – 2005. – Т. 12, № 2. – С. 22–25.
238. Охріменко С. М. Механізми формування захисних реакцій у щурів за введення хлориду кадмію / С. М. Охріменко, М. Г. Яковенко // Укр. біохім. журн. – 2010. – Т. 82, № 4 (додаток 2). – С. 291.
239. Падалко В. І. Вплив хлориду кадмію на стан монооксигеназної системи та інтенсивність оксидативних процесів у тканинах щурів різного віку / В. І. Падалко, І. С. Падалко, О. В. Козлова // Мед. хімія. – 2009. – Т. 11., № 4. – С. 107–109.
240. Падалко В. І. Особливості індивідуальної та комбінованої дії хлориду кадмію та етанолу на активність процесів біотрансформації ксенобіотиків у печінці щурів різного віку / В. І. Падалко, О. В. Козлова, І. С. Леонова // Укр. біохім. журн. – 2010. – Т. 82, № 4 (додаток 2). – С. 292.
241. Рыбалко Л. М. Роль остеосоциированных микроэлементов в формировании остеопороза при менопаузе / Л. М. Рыбалко, С. В. Зяблицев, О. В. Синяченко // Укр. біохім. журн. – 2010. – Т. 82, № 4 (додаток 2). – С. 160–161.

242. Рясний В. М. Дослідження ефективності комплексного препарату вітаміну D₃ за умов аліментарного остеопорозу / В. М. Рясний, Л. Г. Моїсеєва // Укр. біохім. журн. – 2010. – Т. 82, № 4 (додаток 2). – С. 164.
243. Распределение микроэлементов в органах белых крыс после нагрузки тяжелыми металлами / Гончаренко М. С., Коновалова Е. О., Андрейко Г.П. [и др.] // Укр. біохім. журн. – 2010. – Т. 82, № 4 (додаток 2). – С. 239.
244. Wirth J. J. Adverse effects of low level heavy metal exposure on male reproductive function / J. J. Wirth // *Syst. Biol. Reprod. Med.* – 2010. – Vol. 56(2). – P. 147–167.
245. Перебудова кісткової тканини нижньої щелепи щурів під впливом кадмію / Дельцова О. І., Рожко М. М., Геращенко С. Б. [та ін.] // Укр. морфол. альманах. – 2006. – Т. 4, № 2. – С.129.
246. Gonick H. C. Nephrotoxicity of cadmium and lead / H. C. Gonick // *Indian Journal Medical Research.* – 2008. – N 128. – P. 335–352.
247. Arora M. Association of environmental cadmium exposure with periodontal disease in U.S. adults. / Arora M., Weuve J., Schwartz J. [et al.] // *Environ. Health Perspect.* – 2009. – N 117(5). – P. 739–744.
248. Hojima Y. Cadmium ionic inhibit procollagen C-proteinase and cupric ions inhibit procollagen N-proteinase / Y. Hojima, B. Betha, A. M. Romanic, D. J. Prockop // *Matrix Biol.* – 2004. – N 14(2): – P. 113–120.
249. Darbre P. D. Metalloestrogens: an emerging class of inorganic xenoestrogens with potential to add to the oestrogens burden of the human breast / P. D. Darbre // *J. Appl. Toxicol.* – 2006. – N 26. – P. 191–197.
250. Соколова Л. В. Кількісне визначення біологічно активних речовин у сублімованих порошках аронії, артишоку та кавуна / Л. В. Соколова // Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України. – 2013. – № 1. – С. 42–45.
251. Age Distinctions in Heavy Metals Toxicity (System Approach) / Shafran L. M., Bolshoy D. V., Loburenko A. P. // Abstracts of EUROTOX 2001, 13-16 September 2001. Military Museum, Istanbul, Turkey // *Toxicological Letters.* – 2001. – V. 123, suppl. 1. – P. 52.

252. Данилович Ю. В. c-GMP – незалежні ефекти оксиду азоту в міометрії, які можуть лежати в основі регуляції контрактильної активності / Ю. В. Данилович, Г. В. Данилович // Укр. біохім. журн. – 2010. – Т. 82, № 4 (додаток 1). – С. 126–127.
253. Хопта Н. С. Нарушение состояния костной ткани крыс в условиях кадмиоза и их коррекция экстрактом артишока / Н. С. Хопта // «Микроэлементы в медицине» – 2012. – Т.13, №2. – С. 19-26.
254. Трофименко О. М. Вплив сучасного комбінованого фітозасобу інтеллану та «Артишоку екстракт - Здоров'я» на показники перекисного окислення ліпідів при медичній реабілітації хворих на стеатоз печінки, поєднаний з хронічним некалькульозним холециститом на тлі синдрому підвищеної стомленості / О. М. Трофименко // Укр. мед. альманах. – 2011. – Т. 14, № 1. – С. 191–196.
255. Москаленко Р. А. Хімічний гомеостаз щитоподібної залози під впливом модельованого мікроелементозу / Р. А. Москаленко // Морфология. – 2009. – Т. III, № 3. – С. 79–83.
256. Швидка І. Відновлення стовпчастих клітин слизової оболонки тонкої кишки за умов кадмієвої інтоксикації / І. Швидка // Карповські читання : Матеріали III Всеукр. наук. конф. 11-14 квітня 2006, Дніпропетровськ. – Пороги. – 2006. – С. 86.
257. Асадуллаєва Н. Я. Вплив екстракту з листя артишоку польового на фетогенез самок щурів з алкогольною плацентарною дисфункцією / Н. Я. Асадуллаєва, І. М. Риженко // Укр. біофарм. журнал. – 2013. – № 6. – С. 46–48.
258. Forthofer R.N. Biostatistics: A Guide to Design, Analysis, and Discovery / R. N. Forthofer. – 2nd edition. – Amsterdam-Boston: Elsevier. – 2007. – 502 p.
259. Боднарук О. С. Злокачественная гиперкальциемия: механизмы возникновения и принципы терапии / О. С. Боднарук, О. В. Пономарева // Онкология. – 2005. – Т. 7, № 3. – С. 219–228.
260. Стокинг Дж. Р. Влияние лекарственных препаратов на функцию щитовидной железы / Дж. Р. Стокинг // Thyroid international. – 2000. – № 2. – С. 67–74.
261. Turner C. H. Variability in skeletal mass, structure, and biomechanical properties between inbred strains of rats / C. H. Turner, R. K. Roeder // J. Bone Miner. Res. – 2011. – Vol. 76. – С. 1532–1539.

262. Никогосян Л. Р. Прогнозування антенатальної загибелі плода, враховуючи наявність важких металів / Л. Р. Никогосян // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2011. – Т.23, №1. – С.79–81.
263. Структурно-функціональний стан кісткової системи у хворих на генералізований пародонтит із супутнім захворюванням щитовидної залози / Мельник Н. С., Мазур І. П., Рижик В. М. [та ін.] // Архів клін. мед. – 2008. – Т. 13, № 1. – С. 31–34.
264. Сорокін Б. В. Зміни компонентів органічного матриксу кісткової тканини щурів при відтворенні експериментального остеопорозу за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію / Б. В. Сорокін, В. О. Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини : Вісник Укр. мед. стоматол. академії. – 2013. – Т. 13, № 2. – С. 220–224.
265. Гордієнко В. В. Коригувальний вплив Поліфітолу-1 на хроноритми екскреторної функції нирок у щурів різного віку за кадмієвої інтоксикації / В. В. Гордієнко // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2010. – Т. 14-15, № 1-2. – С. 35–41.
266. Дмитруха Н. Н. Влияние кверцетина и глутаргина на показатели периферической крови и неспецифической резистентности организма крыс при кадмиевой интоксикации / Н. Н. Дмитруха // Український журнал з проблем медицини праці. – 2009. – Т. 20, № 4. – С. 52–57.
267. Криницька І. Я. Вплив комбінації карнітину хлориду та ентеросорбенту «Альгігель» на показники вільнорадикального окиснення білків та ліпідів у щурів за умови гострого алкогольного отруєння на тлі інтоксикації солями кадмію та свинцю / І. Я. Криницька, М. В. Чорна // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія : Медицина. – 2010. – Вип. 39. – С. 16–20.
268. Результати лікування остеопатій у хворих на дифузний токсичний зоб за даними ультразвукової денситометрії / Караченцев Ю. І., Гопкалова І. В., Малова Н. Г. [та ін.] // Проблеми ендокринної патології. – 2006. – № 1. – С. 3–6.
269. Сквирський О. В. Зміни мінеральної щільності кісткової тканини щурів із різними формами остеопорозу під впливом препарату СаДз і артровастатину /

- О. В. Сквирський, В. Й. Мамчур // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – № 2, Т. 21. – С. 57–60.
270. Филимоненко В. П. Тканнинноспецифічні зміни вмісту нітритів та нітратів у щурів за умов рабдоміолізу на фоні попереднього введення L-аргініну та Zn-протопорфірину / В. П. Филимоненко // Мед. хімія. – 2009. – Т. 11, № 4. – С. 114–116.
271. Залавина С. В. Многоэлементный портрет детей дошкольного возраста в условиях накопления кадмия / С. В. Залавина, А. В. Скальный, С. В. Ефимов // Микроэлементы в медицине. – 2007. – Т. 8, № 4. – С. 25–28.
272. Обоснование применения фосфорно-кальциевых препаратов в практике стоматологии / Т. В. Баглык, Е. Н. Рябоконт, Л. В. Стебляк [и др.] // Укр. морфол. альманах. – 2008. – Т. 6, № 2. – С. 175–178.
273. Кметь Т. І. Гігієнічне значення комбінованої дії нітрату натрію та хлориду кадмію з урахуванням вікових особливостей та характеру метаболізму: Дис. канд. мед. наук : 14.02.01 – Чернівці, 2006. – 156 с.
274. Громова О. А. Хофитол – стандартизований екстракт артишока. Біохімічний склад і фармакологічні ефекти / О. А. Громова, І. Ю. Торшин // Трудний пацієнт. – 2009. – Т. 7, № 4-5. – С. 24–31.
275. Інструкція для медичного застосування препарату Артишока екстракт – Здоров'я / Затверджена наказом МОЗ України 18.09.08, №528. Реєстраційне посвідчення № UA/0140/01/01.
276. Фролов В. М. Артишок посевной (*Cynara scolymus* L.): пищевое и лекарственное растение (обзор литературы) / В. М. Фролов, Т. П. Гарник, Б. П. Романюк // Укр. мед. альманах. – 2006. – Т. 9, № 3. – С. 158–163.
277. Чекман І. С. Флавоноїди – клініко-фармакологічний аспект / І. С. Чекман // Ліки України. – 2002. – № 1. – С. 5–7.
278. Антиферментные свойства биофлавоноидов / О. А. Макаренко, А. П. Левицкий, Л. Н. Россоханова [и др.] // Укр. біохім. журн. – 2010. – Т. 82, № 4 (додаток 1). – С. 207–208.

279. Juzyszyn Z. The effect of artichoke (*Cynara scolymus* L.) extract on ROS generation in HUVEC cells / Juzyszyn Z., Czerny B., Pawlik A., Drozdziak M. // *Phytother Res.* – 2008. – V 22, N 10. – P. 1159–1161.
280. Juzyszyn Z. Effect of artichoke extract (*Cynara scolymus* L.) on palmitic acid oxidation in rats / Juzyszyn Z., Czerny B., Pawlik A., Drozdziak M. // *Mol Natur Food Res.* – 2008. – V 52, N 5. – P. 853–855.
281. Kaur N. Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition / N. Kaur, A. K. Gupta // *J. Biosci.* – 2012. – V 27, N 7. – P. 403–477.
282. Sanchez-Rabaneda F. Identification of phenolic compounds in artichoke waste by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry / F. Sanchez-Rabaneda, O. Jauregui, R. M. Lamuela-Raventos [et al.] // *J. Chromatogr A.* – 2008. – V 1008, N 1. – P. 57–72.
283. Emendorfer F. Antispasmodic activity of fractions and cynaropicrin from *Cynara scolymus* on guinea-pig ileum / F. Emendorfer, F. Bellato, V. F. Noldin [et al.] // *Bio Farm Bull.* – 2005. – V 28, N 5. – P. 902–904.
284. Razic S. Investigation on bioavailability of some essential and toxic elements in medicinal herbs / S. Razic, S. Dogo, L. Slavcovic // *Nat Med (Tokyo).* – 2008. – V 62, N 3. – P. 340–344.
285. Гарник Т. П. Вітчизняний препарат артишоку колючого (*Cynara scolymus* L.) – артихол: механізми фармакологічної дії та клінічна ефективність при патології гепатобіліарної системи / Т. П. Гарник, В. М. Фролов // *Укр. мед. альманах.* – 2011. – Т. 14, № 6. – С. 65–68.
286. Azzini E. Absorption and metabolism of bioactive molecules after oral consumption of cooked edible heads of *Cynara scolymus* Lin human subject: a pilot study / E. Azzini, R. Buglanesi // *Br. J. Nutr.* – 2007. – V 97, N 5. – P. 963–969.
287. Застосування екстракту із соку свіжого листя артишоку польового в комплексній терапії фетоплацентарної недостатності у вагітних з гіпертензивним синдромом / Н. Гайструк, А. Гайструк, О Мороз. [та ін.] // *Ліки України.* – 2004. – № 11. – С. 84–85.

288. Конев Ю. В. Применение Хофитола при лечении гепатобилиарной системы у пожилых пациентов / Ю. В. Конев, И. Г. Журавлева, И. А. Турбина // Клиническая геронтология. – 2007. – Т. 13, № 1. – С. 57–60.
289. Яцык Г. В. Эффективность препарата хофитол в терапии желтух у новорожденных / Г. В. Яцык, И. А. Беляева, Е. П. Бомбардинова // Рос. весник перинатологии и педиатрии. – 2007. – Т. 52, № 2. – С. 20–22.
290. Клітинська О. В. Мікроелементний склад організму дітей, які проживають в гірському районі Закарпаття та визначення шляхів його ендогенної корекції / О. В. Клітинська, Н. В. Бутрій // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Вип. 1 (106). – С. 134–137.
291. Bellosta S. Mediterranean diet and cardioprotection: Wild artichoke inhibits metalloproteinase 9 / S. Bellosta, P. Bogani, M. Ganavesi // Mol Nutr Food Res. – 2008. – V. 67, N 5. – P. 563–567.
292. Gebhardt R. Antioxidative and protective properties of extracts from leaves of the artichoke (*Cynara scolymus* L.) against hydroperoxide-induced oxidative stress in cultured rat hepatocytes / R. Gebhardt // Toxicol Appl Pharmacol. – 2007. – V. 184, N 2. – P. 279–286.
293. Mehmetcik G. Effect of pretreatment with artichoke extract on carbon tetrachloride-induced liver injury and oxidative stress / Mehmetcik G., Ozdemirler G., Kocak-Toker N., Sevikbas U. [et al.] // Exp Toxicol Pathol. – 2008. – V. 60, N 6. – P. 475–480.
294. Денисенко С. В. Біоетичні особливості використання лабораторних тварин в експерименті / С. В. Денисенко, М. В. Денисенко, С. Б. Передера // Вісник української стоматологічної академії. – 2009. – Т. 9, Вип. 2, № 26. – С. 39–43.
295. Витяг з закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» / Морфологія. – 2010. – Т. IV, № 2. – С. 73–75.
296. Кожем'якін Ю. М. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та робіт із ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сейретдінова – К., 2002. – 155 с.
297. Пустовіт С. В. Біоетичні принципи та механізми регулювання медико-біологічних досліджень / С. В. Пустовіт // Современные проблемы токсикологии – 2010. – № 4. – С. 5–9.

298. Добреля Н. В. Значення стандартних операційних процедур в етичній експертизі біомедичних досліджень з використанням тварин / Н. В. Добреля // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2010. – Т. 16, № 3. – С. 77–80.
299. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности / Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев // Журнал АН СССР. – 1979. – Т. 247, № 6. – С. 1513–1516.
300. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідках // Експер. та клін. фізіологія та біохімія. – 2003. – № 2, Т. 22. – С. 108–109.
301. Чмиленко Ф. О. Контроль вмісту мікроелементів у слині людини / Ф. О. Чмиленко, А. В. Смітюх, Т. С. Чмиленко // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія : Медицина. – 2004. – Вип. 23. – С. 41–44.
302. Бабенко Г. О. Визначення мікроелементів і металоферментів у клінічних лабораторіях. – Київ. Здоров'я. – 1991. – 137 с.
303. Волков А. Ю. Инструментальные методы определения элементного состава биосубстратов / А. Ю. Волков, А. А. Мокроусов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2005. – №9. – С. 78–81.
304. Пыхтеева Е. Г. Изучение индукции металлотioneинов в печени мышей при внутрибрюшинном введении двухвалентных металлов / Е. Г. Пыхтеева // Современные проблемы токсикологии. – 2012. – Т. 56, № 1. – С. 20–24.
305. Трофименко О. М. Вплив комбінації фітозасобів інтеллану та артишоку екстракту Здоров'я на стан ферментативної ланки системи антиоксидантного захисту у сироватці крові хворих на стеатоз печінки, поєднаний з хронічним некалькульозним холециститом на тлі синдрому підвищеної стомленості / О. М. Трофименко // Укр. морфол. альманах. – 2011. – Т. 9, № 1. – С. 129–134.
306. Гарник Т. П. Оцінка ефективності сучасного ентеросорбенту аеросіл ("біле вугілля") та фітозасобу з артишоку колючого гепар-ПОС у хворих на хронічний вірусний гепатит С, сполучений з хронічним некалькульозним холециститом у періоді медичної реабілітації / Т. П. Гарник, Я. А. Соцька, В. М. Фролов // Фітотерапія. – 2012. – № 1. – С. 30–42.

307. Терьошин В. О. Вплив імунотропного препарату циклоферону та засобів фітотерапії на основі екстракту артишока на цитокіновий профіль крові хворих на хронічний вірусний гепатит С у періоді медичної реабілітації / В. О. Терьошин, Я. А. Соцька, І. В. Прудникова, І. А. Борзенко // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. – 2012. – Вип. 6. – С. 178–186.
308. Соцька Я. А. Ефективність препарату урсодезоксихолевої кислоти урсолізину та фітозасобу з артишоку Гепар-ПОС при лікуванні хворих на хронічний вірусний гепатит С низького ступеня активності на тлі хронічного некалькульозного холецистита та його вплив на показники системи глутатіону / Я. А. Соцька, В. М. Фролов // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. – 2011. – Вип. 6. – С. 246–263.
309. Павленко Н. Я. Вивчення впливу екстракту з листя артишоку польового на морфологію плаценти при експериментальній плацентарній дисфункції у щурів / Н. Я. Павленко, І. М. Риженко, Т. В. Деєва, О. С. Зайченко // Укр. морфол. альманах. – 2009. – Т. 7, № 2. – С. 78–80.
310. Фролов В. М. Вплив глутаргіну в комбінації з артишоком екстрактом Здоров'я та ентеросорбцією на показники мікрогемоциркуляції та ліпопероксидації у підлітків, хворих на хронічний некалькульозний холецистит / В. М. Фролов, М. О. Пересадін, Н. І. Хомутянська, В. С. Сидорова, // Укр. біофармацевтичний журнал. – 2012. – № 6. – С. 14–18.
311. Слобожан Л. И. Эффективность длительного использования стандартизованного экстракта артишока (*Synapsa scolymus*) в комплексной терапии хронического обструктивного заболевания легких II степени тяжести в фазе ремиссии / Л. И. Слобожан // Таврический медико-биологический вестник. – 2013. – Т. 16, № 1(3). – С. 160-163.