

А.П. Левицкий, чл.-корр. УААН, О.А. Макаренко, к.б.н., В.Н. Гороховский, к.м.н.

ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ АДАПТОГЕНОВ И ЦИТРАТА КАЛЬЦИЯ ПРИ ФТОРИСТОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Институт стоматологии АМН Украины, г. Одесса

Пристальное внимание к различным аспектам биологического влияния фтора на организм обусловлено широким распространением этого галогена в природе и его способностью активно включаться в процессы обмена. Токсическое влияние высоких доз фтора и его соединений проявляется торможением синтеза белка, изменением активности ферментов и нарушением обменных процессов, снижением неспецифической резистентности организма, нарушением процессов минерализации и кровообращения. Поэтому алиментарный избыток фтора можно рассматривать как хроническую интоксикацию [1, 2].

В Украине существует ряд регионов с содержанием фтора в питьевой воде, превышающим предельно допустимые нормы: пгт. Тарутино и Арциз в Одесской обл., пгт. Сосновка и Топорив во Львовской обл., Карловка в Полтавской обл. Поскольку вода в этих районах не подвергается централизованной очистке, население поколения за поколением получает высокие дозы фтора, что негативно отражается на здоровье [3]. Изложенное диктует необходимость поиска препаратов, способных снижать токсическое действие фтора. Идеальными в этом отношении являются адаптогены растительного происхождения. Будучи продуктом активной функциональной деятельности живых систем, адаптогены выполняют роль индуктора приспособления организма к хронической интоксикации [4].

Целью работы явилось исследование антитоксических эффектов адаптогенов, а также их влияния на метаболизм в костной ткани при

моделировании фтористой интоксикации на крысах. В исследование включили биотрит-С и ЕКСО, а также цитрат кальция (кальцит), разработанные в Институте стоматологии и разрешенные к применению МЗ Украины. Биотрит-С выделяют из проростков пшеницы с добавлением аскорбиновой кислоты. Антитоксические свойства биотрита установлены по отношению к гексеналу, стрихнину, нитратам, CCl_4 , бензолам [5]. Известны также свойства аскорбиновой кислоты, входящей в состав препарата, снижать токсические эффекты фтора. В настоящее время хорошо изучены остеотропные свойства препарата ЕКСО, который получают из соевых бобов [6]. Кальцит представляет собой наиболее биодоступную форму кальция, ионы которого способны связывать ионы фтора в нерастворимый фтористый кальций, предотвращая тем самым абсорбцию избыточных доз фтора. Кальций может также конкурировать с ионами фтора за образование апатитов костной ткани [7].

Материалы и методы

Первый эксперимент проведен на 27 одномесячных крысах-самках линии Вистар массой 54 ± 7 г. Фтористую интоксикацию воспроизводили путем введения в питьевую воду фторида натрия (NaF) в дозе 10 мг фтора на 1 кг массы. Крыс разделили на группы: 1 — интактный контроль; 2 — фтористая интоксикация; 3 — опытная группа, крысы которой получали на фоне NaF цитрат кальция в дозе 400 мг/кг. Препараты вводили внутривентрикулярно ежедневно в виде водной суспензии.

Второй эксперимент проведен на крысах-самках возрастом 2 мес

(масса 100 ± 5 г). Все животные (40 особей) разделены на 4 группы: 1 — интактный контроль; 2 — фтористая интоксикация; 3 — опытная группа, крысы которой на фоне NaF получали биотрит-С в дозе 300 мг/кг; 4 — опытная группа, крысы которой получали NaF и ЕКСО в дозе 300 мг/кг.

Через 30 дней животных выводили из экспериментов под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг), получали сыворотку крови и выделяли бедренную кость. Гомогенаты костей готовили на цитратном буфере (рН 6,1) из расчета 75 мг/мл. В гомогенатах определяли общую протеолитическую активность (ОПА) по гидролизу казеина при рН 7,6, активность эластазы по гидролизу ВОС-L-аланин-нитрофенолового эфира, активность кислой и щелочной фосфатаз по гидролизу паранитрофенилфосфата [8]. В сыворотке крови определяли активность трансаминаз АЛТ и АСТ [9], ОПА [8], активность щелочной фосфатазы [8] и содержание ингибитора трипсина (ИТ) [10]. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью t-критерия Стьюдента [11].

Результаты и обсуждение

Как видно из представленных в табл. 1 и 2 данных, длительное поступление фтора с питьевой водой приводит к достоверному повышению активности АЛТ и АСТ, которое может свидетельствовать о нарушении функции печени вследствие токсического влияния фтора. Подтверждением этому является также достоверное увеличение активности щелочной фосфатазы (ЩФ) в сыворотке крови крыс, которым моделировали фтористую интоксикацию. Об интенсификации воспалительных процессов в организме крыс, подвергшихся фтористой интоксикации, свидетельствует достоверное повышение ОПА в сыворотке крови крыс обеих возрастных групп. Содержание ИТ при этом существенно не изменилось. Несмотря на это, соотношение ИТ/ОПА, характеризующее уровень неспецифической резистентности, снизилось почти в два раза (с 0,67 до 0,33).

Профилактическое введение цитрата кальция или растительных адаптогенов в различной степени предотвращало изменения в сыворотке крови, индуцированные фтористой интоксикацией. Как показало

но в табл. 1, под воздействием кальция на фоне фтористой интоксикации достоверно снижается активность АЛТ и ОПА. При этом активность ЩФ в сыворотке крови крыс, получавших кальцит, сохранялась высокой, а активность АСТ занимала промежуточное положение между значениями у интактных крыс с интоксикацией без профилактики. Коэффициент ИТ/ОПА в этой группе крыс был на высоком уровне.

По данным табл. 2 можно заключить, что наиболее выраженным антитоксическим действием обладает биотрит-С, поскольку его применение способствовало достоверному снижению активности АЛТ, АСТ и ЩФ до уровня, зарегистрированного у интактных крыс. Уровень ОПА в 3 группе животных, получавших биотрит-С, имел лишь тенденцию к снижению, а содержание ИТ было самым высоким.

После введения крысам препарата ЕКСО в сыворотке крови отмечено достоверное снижение только

активности ЩФ, активность трансаминаз проявила тенденцию к уменьшению ($0,05 < p_1 < 0,1$), а ОПА и содержание ИТ не изменились. Несмотря на это, можно говорить об антитоксическом действии ЕКСО, поскольку все изучаемые показатели в сыворотке крови, за исключением ОПА, после применения препарата соответствовали уровню у интактных животных (табл. 2).

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о наличии антитоксических свойств по отношению к избыточным дозам фтора у всех изучаемых препаратов с определенным преимуществом биотрита-С.

Чувствительны к избытку фтора минерализованные ткани, изменения в которых также являются симптомами хронической интоксикации этим элементом. Исходя из того, что в основе метаболизма костной ткани лежит минеральный обмен и протеолиз, мы сочли необходимым изучить влияние фторидов

на активность протеолитических ферментов и фосфатаз в костной ткани, а также возможность коррекции нарушений с помощью растительных адаптогенов и кальция. Результаты исследования этих ферментов обобщены в табл. 3 (1-месячные крысы) и табл. 4 (2-месячные крысы).

Фторидная интоксикация вызвала значительные изменения в системе протеолиза костной ткани как 1-, так и 2-месячных животных: снижалась ОПА, которая имеет прямое отношение к биосинтезу коллагена, и повышалась активность эластазы, разрушающей коллаген [12]. Длительное введение крысам фтора оказывает неравнозначное влияние на протеазы костной ткани. Так, если у 2-месячных животных под влиянием фторидов ОПА снижалась в 3,2 раза, а активность эластазы повышалась незначительно, то у 1-месячных крыс ОПА уменьшалась всего в 1,6 раза, но активность эластазы при этом увеличивалась в

Таблица 1

Показатели сыворотки крови 1-месячных крыс при фтористой интоксикации и ее профилактике препаратами

Группы животных	АЛТ, мккат/л	АСТ, мккат/л	ЩФ, мкат/л	ОПА, нкат/л	ИТ, г/л	ИТ/ОПА
Интактные	$0,38 \pm 0,02$	$0,27 \pm 0,02$	$0,93 \pm 0,06$	$1,04 \pm 0,25$	$0,70 \pm 0,02$	0,67
NaF	$0,50 \pm 0,05$ $p < 0,05$	$0,40 \pm 0,05$ $p < 0,05$	$1,53 \pm 0,20$ $p < 0,02$	$2,00 \pm 0,22$ $p < 0,02$	$0,67 \pm 0,05$ $p > 0,3$	0,33
NaF + кальцит	$0,36 \pm 0,04$ $p > 0,6$ $p_1 < 0,05$	$0,33 \pm 0,03$ $p > 0,2$ $p_1 > 0,2$	$1,27 \pm 0,15$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,3$	$1,29 \pm 0,11$ $p > 0,4$ $p_1 < 0,02$	$0,67 \pm 0,05$ $p > 0,5$ $p_1 > 0,9$	0,52

Примечания: в этой и последующих таблицах 1. p - достоверность отличий по отношению к показателям в интактной группе; 2. p_1 - достоверность отличий по отношению к группе фтористой интоксикации.

Таблица 2

Показатели сыворотки крови 2-месячных крыс при фтористой интоксикации и ее профилактике препаратами

Группы животных	АЛТ, мккат/л	АСТ, мккат/л	ЩФ, мкат/л	ОПА, нкат/л	ИТ, г/л	ИТ/ОПА
Интактные	$0,38 \pm 0,02$	$0,27 \pm 0,02$	$0,93 \pm 0,06$	$1,04 \pm 0,25$	$0,70 \pm 0,02$	0,67
NaF	$0,50 \pm 0,05$ $p < 0,05$	$0,40 \pm 0,05$ $p < 0,05$	$1,53 \pm 0,20$ $p < 0,02$	$2,00 \pm 0,22$ $p < 0,02$	$0,67 \pm 0,05$ $p > 0,3$	0,33
NaF + кальцит	$0,33 \pm 0,04$ $p > 0,25$ $p_1 < 0,02$	$0,24 \pm 0,02$ $p > 0,3$ $p_1 < 0,01$	$0,98 \pm 0,07$ $p > 0,6$ $p_1 < 0,001$	$1,48 \pm 0,16$ $p > 0,2$ $0,05 < p_1 < 0,1$	$0,80 \pm 0,06$ $p > 0,2$ $p_1 > 0,1$	0,54
NaF + ЕКСО	$0,39 \pm 0,03$ $p > 0,7$ $0,05 < p_1 < 0,1$	$0,29 \pm 0,03$ $p > 0,6$ $0,05 < p_1 < 0,1$	$1,04 \pm 0,13$ $p > 0,4$ $p_1 < 0,05$	$2,04 \pm 0,13$ $p < 0,01$ $p_1 > 0,6$	$0,77 \pm 0,05$ $p > 0,2$ $p_1 > 0,5$	0,37

1,9 раза. Полученные данные могут свидетельствовать о том, что у 1-месячных крыс избыток фтора вызывал усиление резорбции, а у 2-месячных — этот элемент в большей степени негативно влиял на формирование костной ткани.

Использование адаптогенов биотрита-С и ЕКСО, а также кальция полностью предотвращало снижение ОПА и рост активности эластазы в костной ткани крыс. Уровень этих показателей в опытных группах, получавших профилактические препараты, соответствовал интактным животным и был достоверно ниже, чем у крыс, подвергшихся фтористой интоксикации.

Более выражено нарушение в системе синтез — гидролиз коллагена костной ткани отражает коэффициент, рассчитанный по соотношению ОПА к активности эластазы (ОПА/Э). Фтористая интоксикация привела к снижению ОПА/Э в 3,9

раза у 2-месячных крыс и в 3 раза у 1-месячных. При введении крысам кальция значения ОПА/Э занимали промежуточное положение между интактной группой и группой, которой моделировали фтористую интоксикацию (табл. 3). Профилактика растительными адаптогенами не только предотвращала падение этого коэффициента, но его значения у крыс, получавших биотрит-С или ЕКСО, были выше, чем у интактных (табл. 4).

Длительное поступление избытка фтора негативно отражалось и на щелочной и кислой фосфатазах в костной ткани, активности которых характеризуют физиологическую активность остеобластов и остеокластов, соответственно. Активность ЩФ при фтористой интоксикации достоверно повышалась в костной ткани как 2-месячных, так и 1-месячных крыс. Это можно объяснить компенсаторной реакцией костной

ткани на поступающий избыток фтора. Профилактическое введение растительных адаптогенов или кальция предотвращало повышение костной ЩФ. Длительное введение фтора не оказало выраженного влияния на активность КФ в костной ткани. При этом профилактика фтористой интоксикации всеми изучаемыми препаратами привела к достоверному снижению активности КФ, что свидетельствует о торможении под влиянием биотрита-С, ЕКСО и кальция физиологической активности остеокластов и, следовательно, резорбции костной ткани. Колебания коэффициента ЩФ/КФ были несущественными во всех наблюдаемых группах (табл. 3, 4).

Установленные нами антиоксидантные эффекты биотрита-С и ЕКСО связаны, скорее всего, с наличием биофлавоноидов в препаратах. Известно, что эти соединения оказывают влияние на функционирова-

Таблица 3

Влияние фтористой интоксикации и профилактики препаратами на активность протеолитических ферментов и фосфатаз в костной ткани 1-месячных крыс

Группы животных	ОПА, нкат/кг	Активность эластазы, мккат/кг	ОПА/Э	Активность ЩФ, мккат/кг	Активность КФ, мккат/кг	ЩФ/КФ
Интактные	278,9 ± 28,3	0,27 ± 0,02	97,2	66,7 ± 9,0	5,3 ± 0,5	12,6
NaF	173,3 ± 23,9 p < 0,02	5,38 ± 0,46 p < 0,001	32,2	99,0 ± 9,3 p < 0,02	7,0 ± 0,9 p > 0,1	14,1
NaF + кальцит	246,7 ± 18,5 p > 0,3 p ₁ < 0,05	3,30 ± 0,32 p > 0,25 p ₁ < 0,002	74,8	72,1 ± 7,2 p > 0,6 p ₁ < 0,02	4,4 ± 0,5 p > 0,2 p ₁ < 0,002	16,4

Таблица 4

Влияние фтористой интоксикации и профилактики препаратами на активность протеолитических ферментов и фосфатаз в костной ткани 2-месячных крыс

Группы животных	ОПА, нкат/кг	Активность эластазы, мккат/кг	ОПА/Э	Активность ЩФ, мккат/кг	Активность КФ, мккат/кг	ЩФ/КФ
Интактные	121,7 ± 2,8	1,58 ± 0,18	77,0	25,9 ± 3,8	4,9 ± 0,3	5,3
NaF	38,4 ± 2,4 p < 0,001	1,96 ± 0,17 p > 0,1	19,6	39,3 ± 3,2 p < 0,02	6,1 ± 0,2 p >	6,4
NaF + биотрит-С	131,9 ± 8,7 p > 0,3 p ₁ < 0,001	1,40 ± 0,09 p > 0,4 p ₁ < 0,01	94,2	22,1 ± 1,8 p > 0,4 p ₁ < 0,001	3,9 ± 0,5 p > 0,1 p ₁ < 0,002	5,7
NaF + ЕКСО	106,4 ± 6,3 p > 0,5 p ₁ < 0,001	1,20 ± 0,16 p > 0,1 p ₁ < 0,05	88,7	27,4 ± 4,3 p > 0,8 p ₁ < 0,01	4,5 ± 0,3 p > 0,2 p ₁ < 0,02	6,1

ние системы цито-хрома Р-450, которая обеспечивает обезвреживание токсических веществ и биотрансформацию лекарств. Некоторые представители биофлаваноидов способны ингибировать цитохром Р-450 и одновременно повышать активность глутатион-S-трансферазы и УДФ-глюкуронилтрансферазы, чем и обеспечивают, наряду с активацией антирадикальной защиты, антиоксидантный эффект [13]. Профилактическое действие кальцита связано со способностью ионов кальция связывать ионы фтора в нерастворимую соль, предотвращая тем самым абсорбцию фтора в организме [7].

Выводы.

1. Алиментарный избыток фтора в дозе 10 мг/кг в течение 30 дней существенно изменяет биохимические показатели сыворотки крови крыс, оказывая токсическое и провоспалительное действие, а также негативно влияя на неспецифическую резистентность.
2. Фтористая интоксикация приводит к нарушению белкового и минерального обмена в костной ткани экспериментальных животных, о чем свидетельствует повышение активности фосфатаз, лейкоцитарной эластазы и снижение активности коллагенообразующих протеаз.
3. Препараты растительных адаптогенов, особенно биотрит-С, и, в меньшей степени, цитрат кальция позволяют предотвратить нарушения в сыворотке крови и костной ткани животных.
4. Результаты экспериментального изучения антиоксидантного и остеотропного действия препаратов позволяют рекомендовать биотрит-С, ЕКСО и кальцит для профилактического применения в районах с повышенным содержанием фтора в питьевой воде.

ЛИТЕРАТУРА

1. Николишин А.К. Современный взгляд на состояние твердых тканей зуба при различной степени флюороза // Укр. стомат. альманах. — 2002. — № 6. — С. 52 — 54.
2. Улитовский С.П. Проблемы флюоризации и флюороза // Пародонтология. — 2004. — № 1 (30). — С. 52 — 54.
3. Гороховский В.Н. Лечебно-профилактическое действие комплекса адаптогенных препаратов на стоматологический статус у детей в зоне эндемического флюороза/ Автореф. дис. ...канд. мед. наук. — Одесса, 2001. — 20 с.
4. Левицкий А.П. Функциональная классификация адаптогенов // Вісник фармакології та фармації — 2007. — № 2. — С.32 — 36.
5. Левицкий А.П., Макаренко О.А., Соловйова В.П. и др. Адаптоген Биотрит-С как экологичный антидот. / Матер. VII Україн. біохім. з'їзду. — Київ, 1997. — Ч.3. — С.126 — 127.
6. Левицкий А.П., Макаренко О.А., Россаханова Л.Н., Лерфина Н.Ю. Остеотропная активность соевого препарата "ЕКСО" // Вісник стоматології. — 2000. — № 4. — С.5 — 9.
7. Чекман И., Казак Л. Препараты кальция: фармакодинамическая активность // Вісник фармакології та фармації. — 2004. — № 3. — С. 26 — 28.
8. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза. Методические рекомендации. — Киев: "Авиценна", 2005. — С. 31 — 38.
9. Горячковский А.М. Клиническая биохимия: Справочное пособие (изд. 2-ое). — Одесса: Астропринт, 1998. — 388 с.
10. Адамовская В.Г., Левицкий А.П., Вовчук С.В. Взаимосвязь между уровнем протеиназ, их ингибированием и хозяйственно-полезными признаками зерна пшеницы // Научно-техн. бюлл. ВСГИ. — 1980. — № 3 (37). — С. 25 — 30.
11. Сернов Л.Н., Гацура В.В. Элементы экспериментальной фармакологии. — М., 2000. — С. 117 — 119.
12. Левицкий А.П., Макаренко О.А., Дюдина И.А., Зеленина Ю.В. Влияние соевых изофлавонов на протеолиз в костной ткани при экспериментальном остеопорозе / Труды Всероссийской конференции "Проблемы медицинской энзимологии". — М., 2002. — С. 139 — 140.
13. Шабров А.В., Дадали В.А., Макаров В.Г. Биохимические основы действия микрокомпонентов пищи / Под ред. Дадали В.А. — М.: Аввалон, 2003. — 184 с.

А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, В.Н. Гороховский

ПРОФИЛАКТИЧНА ДІЯ РОСЛИННИХ АДАПТОГЕНІВ І ЦИТРАТА КАЛЬЦІЮ ПРИ ФТОРИСТІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ

Щурам лінії Вістар 30 днів вводили з питною водою фтористий натрій в дозі 10 мг F/кг. В сироватці крові щурів встановлено підвищення активності трансаминаз, лужної фосфатази, протеаз, а також зменшення коефіцієнта ІТ/ОПА, що свідчить про зниження неспецифічної резистентності організму. Відмічені також порушення процесу ремоделювання кісткової тканини тварин у бік посилення резорбції. Токсичним і остеорезорбційним ефектам фтору запобігають рослинні адаптогени "Біотрит-С" або "ЕКСО", а також цитрат кальцію. Пропонують ці препарати для застосування в ендемічних зонах флюорозу.

A.P. Levitsky, O.A. Makarenko, V.N. Gorokhivsky

THE PROPHYLACTIC ACTION OF PLANT ADAPTOGENS AND CALCIUM CITRATE AT FLUORINE INTOXICATION

The sodium fluoride in the dose 10 mg F/kg was introduced with table water into rats of line Vistar during 30 days. In the blood serum the increase of activity of transaminase, alkaline phosphatase, proteases, and the reduction of coefficient IT/TPA, speaking of decrease of nonspecific resistance of the organism, were determined. The impairments in the process of remodeling of animale osseous tissue to the intensity of resorption were revealed. The toxic and osteoresorptive effects of the fluorine can be prevented with the preparations "Biotritis-C" or "EXSO", as well as calcium citrate. The held investigation allows recommending these preparations for the use in endemic zones of fluorosis.