

# Вплив двох варіантів дозованої аліментарної депривації на неорганічний та органічний матрикс кісткової тканини молодих щурів

І.Г. Літовка<sup>1</sup>, С.П. Весельський<sup>2</sup>, С. Магомедов<sup>3</sup>, К.П. Богомолець<sup>4</sup>, Р.В. Янко<sup>1</sup>, В.Я. Березовський<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України; <sup>2</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка; <sup>3</sup>Інститут травматології та ортопедії НАМН України;

<sup>4</sup>Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця; e-mail: litir@biph.kiev.ua

*Вивчено роздільний вплив 30%-го обмеження харчування та періодичного добового голодування (через кожні 2 доби) на неорганічний та органічний матрикс кісткової тканини 3-місячних щурів-самців лінії Вістар. Всі результати порівнювали з контрольною групою (віварний раціон). Виявлено тенденцію до зниження концентрації кальцію і магнію у діафізах стегнової кістки щурів обох дослідних груп. Вміст фосфору у кістковій тканині щурів за умов 28-добового обмеження харчування вірогідно знизився на 26,1%. Активність лужної фосфатази у них знизилася на 37,3% у сироватці крові і на 31,1% у кістковій тканині. При періодичному добовому голодуванні цей показник знижувався на 36,7% в сироватці крові і на 30,2% у кістковій тканині. Активність кислої фосфатази в сироватці крові знизилася у щурів обох груп на 36,2 і 37,5%, а в кістковій тканині на 47,4 і 37,7% відповідно. Концентрація глікозаміногліканів зросла на 101,7% в сироватці крові щурів за умов обмеження харчування і на 35,6% у разі періодичного голодування. Виявлено вірогідне зниження концентрації уронових кислот у кістковій тканині щурів за умов обмеженого харчування. В обох дослідних групах зростала концентрація вільних амінокислот, лізину, цистину, аланіну і метионіну, які безпосередньо беруть участь у синтезі колагену кісткової тканини. Таким чином, 30%-ве обмеження харчування і періодичне добове голодування в ранньому онтогенезі (період статевого дозрівання) призводять до несприятливих змін біохімічних маркерів метаболізму неорганічного і органічного матриксу та інгібують ремоделювання кісткової тканини.*

*Ключові слова:* кісткова тканина; маркери ремоделювання кісткової тканини; дефіцит харчування.

## ВСТУП

Під час формування скелета збалансований раціон харчування забезпечує умови його фізіологічного розвитку. Частковий чи повний дефіцит однієї зі складових раціону може спричинити виникнення аномального розвитку кісткової тканини [1]. При цьому виникають порушення щільності, міцності, зміни показників неорганічного та органічного матриксу [2–4]. Вплив дефіциту раціону на кісткову тканину добре вивчений у дорослих гризунів. Набагато менше відомо про те як він впливає на неорганічний та органічний матрикс у молодих, швидко

зростаючих тварин. Повноцінний раціон під час формування скелета може бути ключовим фактором у досягненні оптимальної структури та маси кістки, тим самим знижуючи ризик переломів і частоту остеопорозу в зрілому віці. У класичних експериментах [4] при обмеженні калорійності раціону і маси їжі на 30–40% виявлено підвищену крихкість стегнових кісток щурів. Інші дослідники за умов 4-місячного обмеження калорійності раціону на 40% спостерігали зниження синтезу колагену сполучної тканини і прискорення його руйнування у молодих щурів [5]. Обмеження калорійності

© І.Г. Літовка, С.П. Весельський, С. Магомедов, К.П. Богомолець, Р.В. Янко, В.Я. Березовський

раціону на 50% призводило до зменшення об'єму ростової пластинки кісткової тканини молодих щурів, її загальної площі і висоти, зниження маси та щільності трабекулярної і кортикальної кістки. Проте обмеження раціону харчування не впливало на експресію гена колагену першого типу (Colla1), фактора транскрипції, пов'язаного з Runt 2 (Runx2) [3]. Втрата маси при щоденному обмеженні калорійності раціону не завжди призводить до зниження кісткової маси і до негативних змін маркерів метаболізму кісткової тканини [6]. Деякі контрольовані раціони з обмеженого харчування супроводжувалися зниженням концентрації остеокальцину, активності кісткової лужної фосфатази, що призводило до збільшення маркерів резорбції, а саме вмісту С-термінального тепептиду колагену I типу (СТХ) [1]. Вплив поживних речовин може бути опосередкованим і непрямим. Більше того, залежність між вмістом поживних речовин і станом кісткової тканини може бути тимчасовою і відрізнятись від довгострокових впливів. Нова дієтична терапія, що триває зазвичай від 16 до 48 год, насамперед, сприяє зниженню маси тіла [7]. Проте її реальний вплив на стан кісткової тканини остаточно не з'ясований, а деякі дослідження повідомляють навіть про негативний ефект [8]. Незбалансоване харчування, а саме дефіцит у раціоні білків, жирів, вуглеводів, вітамінів, мінеральних компонентів і мікроелементів, може призвести до аномального розвитку неорганічного та органічного матриксу кісткової тканини.

Метою нашої роботи було вивчення впливу різних варіацій дозованої аліментарної депривації на неорганічний та органічний матрикс кісткової тканини молодих щурів.

## МЕТОДИКА

Протягом 28 днів досліджували вплив дозованої аліментарної депривації на неорганічний та органічний матрикс кісткової тканини 34 молодих щурів-самців лінії Вістар (3 міс на

початок експерименту, що відповідає пубертатному періоду) [9]. На відміну від самиць їх стан кісткової тканини не залежить від періодичних гормональних варіацій. Тварин було поділено на 3 групи. До I контрольної групи ввійшло 10 тварин, які перебували на стандартному раціоні віварію (6 г корму на добу з розрахунку споживання на 100 г маси тіла) з фізіологічним вмістом кальцію в продуктах харчування. Тваринам II групи щодобово обмежували харчовий раціон за масою на 30%. Щури III групи періодично (через кожні 2 доби) голодували (100% обмеження енергії, нульова кількість калорій). Всі тварини знаходилися під наглядом ветеринарного лікаря у стандартних умовах акредитованого віварію Інституту фізіології ім.О.О. Богомольця НАН України із дотриманням загальних принципів біоетики відповідно до міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) при природному циклі світ/темрява. Щури мали вільний доступ до води.

У сироватці крові визначали показник формування кісткової тканини активність лужної фосфатази (ЛФ, КФ 3.1.3.1, «Лахема», Чехія) і її кістковий ізофермент та резорбції – загальну каталітичну активність кислої фосфатази (КФ, КФ 3.1.3.2) та тартратрезистентної кислої фосфатази (ТРКФ, “BioSystems”, Іспанія), концентрацію глікозаміногліканів [10]. В екстракті кісткової тканини (діафіз стегнових кісток) досліджували концентрацію кальцію, фосфору, магнію (біохімічний аналізатор «Pentra 400», Франція), вміст уронових кислот [11], гіалуронідазну активність [12], ліпідний та амінокислотний склад методом тонкошарової хроматографії [13, 14].

Статистичну обробку результатів досліджень здійснено за допомогою пакета програмного забезпечення Statistica 6.0 (StatSoft, Tulsa, США). Нормальність розподілу аналізували за допомогою тесту Шапіро–Вілка.

Визначено середні значення отриманих показників ( $x$ ) із стандартними відхиленнями (SD). Вірогідність різниці між контрольними і дослідними зразками оцінювали за критерієм  $t$  Стьюдента. При  $P < 0,05$  зміни вважали статистично значущими.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Концентрація кальцію і магнію, основних мінеральних компонентів кісткової тканини, виявляла тенденцію до зниження у щурів обох дослідних груп порівняно з контрольними значеннями. Вміст фосфору знизився на 26,1% ( $P < 0,05$ ) порівняно з контролем після обмеження харчового раціону на 30%, тоді як після періодичного добового голодування він мав лише тенденцію до зниження (рис. 1). Моніторинг співвідношення вмісту кальцію і магнію (Ca/Mg) та кальцію і фосфору (Ca/P) допомагає виявити зміни, які відбуваються в кістковій тканині в нормі і після впливу дозованої аліментарної депривації. Співвідношення Ca/Mg мало тенденцію до зростання на 92,6 і 26,5% відповідно у щурів II і III групи, а Ca/P на 3,01 і 11,8% порівняно з контролем за тих самих умов експерименту. Зростання співвідношення Ca/P свідчить про відносне збільшення аморфної (лабільної) складової щодо кристалічної фракції кісткової тканини і можливу підвищену втра-

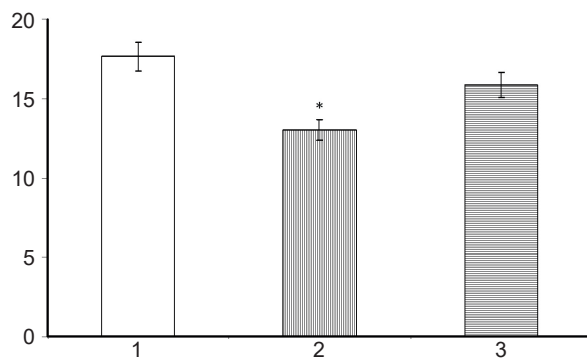


Рис. 1. Концентрація фосфору у кістковій тканині щурів 3-місячного віку: 1 – контрольна група, 2 – після 28-добового обмеження харчування на 30%, 3 – періодичне голодування, \* $P < 0,05$

ту цих елементів при обох варіантах дозованої аліментарної депривації. Це може призводити до порушення стереохімічної відповідності між компонентами кристалів гідроксіапатиту та зниження енергії їх взаємодії з органічним матриксом. Відсутність значущих змін концентрації мінеральних речовин у кістковій тканині, ймовірно, пов'язано з відносно коротким терміном обмеження харчування або розвитком стресової реакції на недоїдання, яка супроводжується виділенням адаптивних гормонів.

Дослідження показників органічного матриксу показало, що активність ЛФ у сироватці крові щурів II групи вірогідно знизилася на 37,3%, а в кістковій тканині – на 31% порівняно з контрольними значеннями (рис. 2, а, б). При періодичному добовому

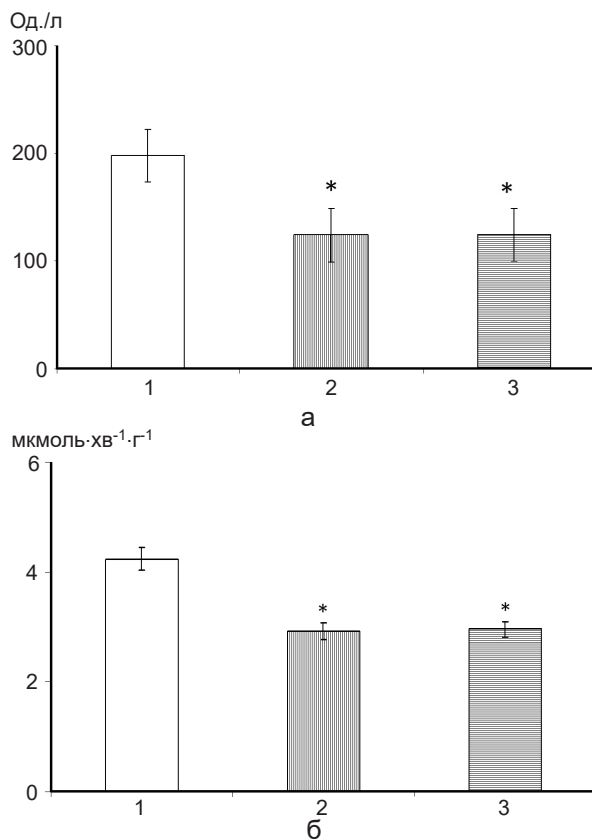


Рис. 2. Активність лужної фосфатази у сироватці крові (а) та кістковій тканині (б) щурів 3-місячного віку: 1 – контрольна група, 2 – після 28-добового обмеження харчування на 30%, 3 – періодичне голодування, \* $P < 0,05$

голодуванні вона знизилася на 36,7% ( $P < 0,95$ ) у сироватці крові, а в кістковій тканині на 30% ( $P < 0,95$ ) відносно контролю (див. рис. 2, а, б). Тобто обидва режими обмеження харчування створюють передумови гальмування процесів остеогенезу у молодих щурів.

Активність КФ у сироватці крові вірогідно знизилася у щурів II і III групи на 36 і 37% відповідно, а в кістковій тканині на 45 і 36% відносно контролю. Активність ТРКФ вірогідно знизилася на 26% (II група) і на 31% (III група; рис. 3, а, б). Співвідношення активності ЛФ до КФ (ЛФ/КФ) та ЛФ до ТРКФ (ЛФ/ТРКФ) у сироватці крові контрольних молодих щурів становило 6,39 та 11,72 відповідно. Після моделювання обмеження харчового раціону на 30% співвідношення ЛФ/КФ сягало значень 6,63, а ЛФ/ТРКФ – 10,76. У щурів із модельованим періодичним добовим голодуванням індекс ЛФ/КФ був 6,89, а ЛФ/ТРКФ – 12,51. У кістковій тканині значення ЛФ/КФ у тварин II групи зросло у 1,3 раза, а III групи майже не відрізнялося від контролю. Якщо у контрольних молодих щурів індекс ЛФ/КФ сягав 46,6, то при обмеженні харчового раціону на 30% він становив 60,6, а при періодичному добовому голодуванні – 43,8. Це може свідчити, що в молодому віці дефіцит харчування у будь-якому із досліджуваних варіантів стане причиною порушення фізіологічної інтенсивності ремоделювання кісткової тканини.

Концентрація глікозаміногліканів у сироватці крові щурів II групи зросла на 101,7% і на 35,6% у тварин III групи ( $P < 0,05$ ; рис. 4). Гіалуронидазна активність у сироватці крові тварин обох груп мала тенденцію до підвищення, що може вказувати на інтенсифікацію темпів резорбції кісткової тканини. Концентрація уронових кислот у кістковій тканині після моделювання обмеження харчового раціону та періодичного голодування знижувалась, але вірогідно тільки у щурів II групи на 26% порівняно з контролем (рис. 5).

Концентрація загальних ліпідів у кістковій тканині щурів контрольної групи становила  $102,8 \pm 3,61$  мг/г сирової маси кістки. Ліпідні фракції розподілялися у стегновій кістці таким чином: 29,2% припадало на загальні фосfolіпіди, 22,9% – на загальний холестерин, 27,7% – на вільні жирні кислоти і 23,0% – на тригліцериди. Співвідношення між цими фракціями в загальному пулі становило 0,29:0,23:0,28:0,23. Після обмеження харчового раціону на 30% концентрація загального холестерину зросла на 15%, а вільного на 29% ( $P < 0,05$ ). У щурів III групи ліпідні фракції не змінювалися відносно контролю (таблиця).

При дослідженні складу вільних амінокислот кісткової тканини молодих щурів після обмеження харчового раціону на 30% спостерігали вірогідне зростання концент-

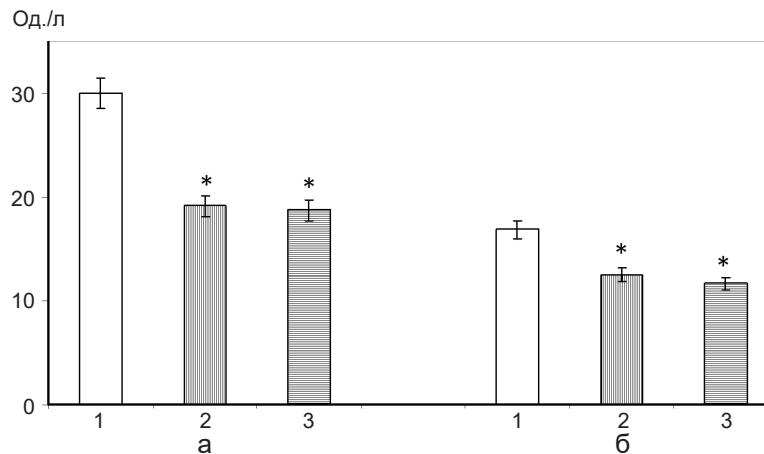


Рис. 3. Активність кислоти (а) і тартратрезистентної (б) кислоти фосфатази у сироватці крові щурів 3-місячного віку: 1 – контрольна група, 2 – після 28-добового обмеження харчування на 30%, 3 – періодичне голодування, \* $P < 0,05$

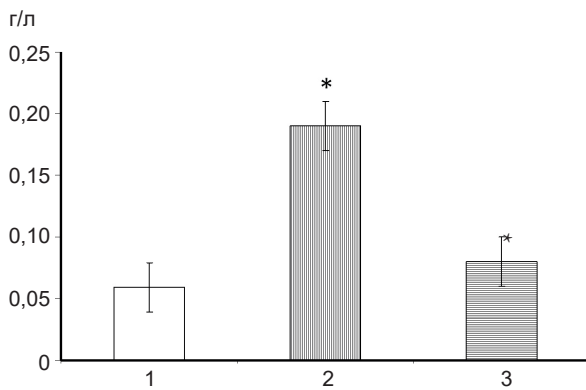


Рис. 4. Концентрація глікозаміногліканів у сироватці крові щурів 3-місячного віку: 1 – контрольна група, 2 – після 28-добового обмеження харчування на 30%, 3 – періодичне голодування, \*P < 0,05

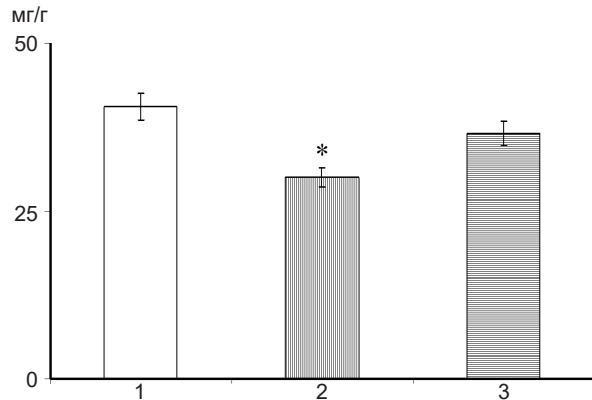


Рис. 5. Концентрація уронових кислот у кістковій тканині щурів 3-місячного віку: 1 – контрольна група, 2 – після 28-добового обмеження харчування на 30%, 3 – періодичне голодування, \*P < 0,05

рації цистеїну і цистину на 35%, орнітину і глюкозаміну на 68%, лізину і аспарагіну на 21%, аланіну і глутаміну на 42%, тирозину і глутамінової кислоти на 14% відносно контрольних значень. У тварин III групи підвищилися концентрації цистеїну і цистину на 37%, гліцину і метіоніну на 48%, аланіну і глутаміну на 38% (P < 0,05). Вміст фенілаланіну достовірно знизився на 33% порівняно з контролем.

Умови і повноцінність харчування безпосередньо впливають на структуру, метаболізм та функцію кісткової тканини молодих тварин, що найбільш активно реалізується у період їх інтенсивного росту [2, 15]. Маркери кісткового метаболізму якнайкраще відобра-

жають варіації процесу ремоделювання кісткової тканини під час пубертатного росту та дозрівання організму [16]. У 30-тижневих мишей з обмеженням харчового раціону на 30% протягом 9 тиж виявили нижчу мінеральну щільність і міцність кісток, зниження маси кортикальних і дистальних відділів стегнової кістки. При цьому вміст лептину і інсуліно-подібного фактора росту 1 у сироватці були знижені. Щоденне обмеження харчового раціону призводило до зниження показників формування кістки, а саме концентрації остеокальцину, активності кісткової ЛФ та підвищення вмісту маркера резорбції кістки С-термінального телопептиду колагену I типу [1]. У дослідженнях на 5-6-тижневих щурах,

**Вміст мг/г сирової кісткової тканини ліпідних фракцій у кістковій тканині молодих щурів лінії Вістар (x ± SD)**

Показники	Контроль (n = 10)	30%-ве обмеження харчування (n = 12)	%	Періодичне голодування (n = 12)	%
Фосфоліпіди	29,16 ± 1,90	29,32 ± 1,23	+0,2	30,16 ± 1,53	+3,4
Холестерин					
ефіри	10,84 ± 0,71	10,61 ± 0,66	-2,1	11,34 ± 0,64	+4,2
вільний	12,1 ± 0,90	15,65 ± 0,94*	+29,3	12,09 ± 0,65	-0,1
загальний	22,9 ± 1,12	26,24 ± 1,15*	+14,6	23,43 ± 0,85	+2,3
Вільні жирні кислоти	27,69 ± 0,87	28,26 ± 1,48	+2,1	27,44 ± 1,19	-0,9
Тригліцериди	23,03 ± 0,97	20,44 ± 1,16	-29,6	20,94 ± 1,42	-9,1
Загальні ліпіди	102,78 ± 3,61	107,12 ± 4,47	+4,2	101,84 ± 4,83	-0,9

яких піддавали голодуванню, спостерігали зниження кісткової щільності, негативний вплив на м'язи [1, 8].

Отримані нами результати акцентують увагу на тому, що 30%-ве обмеження раціону харчування або періодичне добове голодування односпрямовано змінює вміст біохімічних маркерів фізіологічного ремоделювання кісткової тканини молодих щурів. Про це свідчить зниження активності ЛФ, КФ і ТРКФ. Ці результати узгоджуються з даними про ключову роль остеобластів у дозріванні остеокластів та активації резорбції кісткової тканини [17].

Баланс між резорбцією та формуванням кісткової тканини порушується не тільки при таких патологічних станах, як остеопороз або остеопетроз [18], а і у фізіологічних умовах, наприклад, під час росту скелета у дітей [19]. У фізіологічних умовах колаген кісткової тканини переважно знаходиться в складі фібрил, згрупованих у волокна. З цих волокон за участю протеогліканів створюється єдиний мінерально-органічний комплекс – глікозаміноглікани-колаген-гідроксіапатит. Молекули глікозаміногліканів створюють поперечні зшивання (зшивки) волокон колагену, утворюючи органічну мережу, в кутах якої фіксуються кристали гідроксіапатиту. Зростання концентрації глікозаміногліканів у сироватці крові на 101,7% у тварин за умов 30%-го обмеження харчового раціону і на 35,6% у разі періодичного добового голодування може свідчити про одночасну інтенсифікацію деструкції колагену, тобто про руйнівні зміни органічного матриксу кісткової тканини. Це можна розглядати як один із механізмів компенсації несприятливого впливу дефіциту харчування, спрямованих на збереження фізіологічного балансу елементів формування та резорбції кісткової тканини в організмі.

Значну роль у трофічних процесах кісткової тканини відіграють складові білкового метаболізму – амінокислоти. Дозована аліментарна депривація впливає на їх склад, у

тому числі лізину, цистину, аланіну і метіоніну, які безпосередньо беруть участь у синтезі колагену і метаболізмі кісткової тканини. За умов 30%-го обмеження харчового раціону та періодичного добового голодування спостерігали їх вірогідне зростання, що може говорити про пригнічення синтезу колагену органічного матриксу кісткової тканини. Отримані нами результати узгоджуються з наведеними вище даними щодо визначення концентрації глікозаміногліканів, уранових кислот та свідчать про негативний вплив на молодих тварин обох режимів обмеження харчування.

Кісткова тканина, при уявній міцності і надійності, дуже чутлива до впливу зовнішніх факторів. У період як зростання кісткової маси, так і її інволюції важливу роль відіграє повноцінне харчування з достатньою кількістю всіх його компонентів. Фактичне харчування населення України нераціональне, незбалансоване, полідефіцитне, в основному за рахунок вираженого дефіциту білків, вітамінів і мінералів [20]. Неповноцінність харчування в ранньому віці може бути предиктором розвитку дефектів мінералізації органічного матриксу на наступних етапах онтогенезу. Дозована аліментарна деривація сприяє зниженню мінеральних компонентів, вкрай необхідних для ремоделювання кісткової тканини саме в молодому віці. За умов наших досліджень виявлено тенденцію до зниження концентрації кальцію і магнію у щурів обох дослідних груп порівняно з контрольними значеннями. Вміст фосфору вірогідно знизився на 26,1% порівняно з контролем після обмеження харчового раціону на 30%. У разі дозованої аліментарної депривації створюються умови, за яких процес ремоделювання переходить на новий рівень, що викликає ланцюг залежних від тривалості та амплітуди впливу адаптаційних реакцій. У результаті – формується нова, більш відповідна ситуації функціональна система. Однак досягнутий результат може бути недостатнім для забезпечення повного пристосування ор-

ганізму до нових умов або адаптація може досягатися ціною значного напруження і часткового виснаження механізмів регуляції. Таким чином, отримані нами результати досліджень впливу двох варіантів дозованої аліментарної депривації свідчать, що процеси деградації кісткової тканини у молодих щурів починаються з порушень фізіологічного стану органічного матриксу, а не з демінералізації дефінітивних форм кісткової тканини. Дозована аліментарна депривація будь-то 30%-го обмеження харчового раціону або періодичне голодування в ранньому онтогенезі (пубертатний період) призводить до несприятливих змін маркерів метаболізму органічного матриксу та гальмує ремоделювання кісткової тканини. Про це свідчить зниження активності ЛФ, КФ та ТРКФ, зростання концентрації глікоамінігліканів, вільних амінокислот, що беруть участь у синтезі колагену і метаболізм кісткової тканини.

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.*

**И.Г. Литовка, С.П. Весельский, С. Магомедов, Е.П. Богомолец, Р.В. Янко, В.А. Березовский**

#### **ВЛИЯНИЕ ДВУХ ВАРИАНТОВ ДОЗИРОВАННОЙ АЛИМЕНТАРНОЙ ДЕПРИВАЦИИ НА НЕОРГАНИЧЕСКИЙ И ОРГАНИЧЕСКИЙ МАТРИКС КОСТНОЙ ТКАНИ МОЛОДЫХ КРЫС**

Изучали влияние 30%-го ограничения питания и периодического голодания (через каждые 2 дня) на неорганический и органический костный матрикс 3-месячных крыс-самцов линии Вистар. Все результаты сравнивали с контрольной группой (виварный рацион). Выявили тенденцию к снижению концентрации кальция и магния в диафизах бедренной кости у крыс обеих экспериментальных групп. Содержание фосфора в костной ткани крыс после 28-суточного ограничения питания достоверно снижалось на 26,1%. Активность щелочной фосфатазы у них снизилась на 37,3% в сыворотке крови и

на 31,1% в костной ткани. При периодическом суточном голодании этот показатель снижался на 36,7% в сыворотке крови и на 30,2% в костной ткани. Активность кислой фосфатазы в сыворотке крови снизилась у крыс обеих групп на 36,2 и 37,5%, а в костной ткани на 47,4 и 37,7% соответственно. Концентрация гликозаминогликанов достоверно повысилась на 101,7% в сыворотке крови крыс после ограничения питания и на 35,6% после периодического суточного голодания. Обнаружено достоверное снижение концентрации уронических кислот в костной ткани крыс после ограничения питания. Было показано, что дозированная алиментарная депривация влияет на свободные аминокислоты костной ткани, включая лизин, цистин, аланин и метионин, которые непосредственно участвуют в синтезе коллагена костной ткани. Увеличение концентрации свободных аминокислот наблюдалось в условиях ограничения питания и периодического суточного голодания. Таким образом, 30%-е ограничение питания и периодическое суточное голодание в раннем онтогенезе (период полового созревания) приводят к неблагоприятным изменениям биохимических маркеров метаболизма неорганического и органического матрикса и ингибируют ремоделирование костной ткани. Ключевые слова: костная ткань; маркеры ремоделирования костной ткани; дефицит питания.

**I.G. Litovka<sup>1</sup>, S.P. Vesselsky<sup>2</sup>, S.Magomedov<sup>3</sup>, C.P. Bogomolets<sup>4</sup>, R.V. Yanko<sup>1</sup>, V.Ya. Berезovsky<sup>1</sup>**

#### **INFLUENCE OF TWO OPTIONS OF DOSED ALIMENTARY DEPRIVATION ON THE INORGANIC AND ORGANIC BONE TISSUE MATRIX IN YOUNG RATS**

The effect of 28-day 30% restriction of nutrition and periodic fasting (after every 2 days) on inorganic and organic bone tissue of 3-month-old Wistar male rats was studied. All results were compared with the control group (digestive diet). The tendency to a decrease the concentration of calcium and magnesium in the diaphysis of the femur in rats of both experimental groups was revealed. The content of phosphorus in the bone tissue of rats under the 28-day 30% restriction of nutrition probably decreased by 26.1%. Alkaline phosphatase activity decreased by 37.3% in serum and by 31.1% in bone tissue. During the period of daily fasting, this indicator decreased by 36.7% in serum and by 30.2% in bone tissue. The activity of acid phosphatase in serum decreased in rats of both groups by 36.2 and 37.5%, and in bone tissue by 47.4 and 37.7%, respectively. The concentration of glycosaminoglycans increased by 101.7% in the serum of rats under a 28-day 30% restriction of nutrition and by 35.6% under conditions of periodic fasting. A significant decrease in the concentration of uronic acids in the bone tissue of rats was found under conditions of 28-day 30% restriction of nutrition. In both experimental groups the concentration of free amino acids, lysine, cystine, alanine and methionine, which are directly involved in the synthesis of bone collagen, increased. Thus, under 30% restriction of

nutrition and periodic starvation in early ontogeny (puberty) lead to adverse changes in biochemical markers of metabolism of inorganic and organic matrix and inhibit bone remodeling. Keywords: bone tissue; markers of bone remodeling; dietary restriction.

<sup>1</sup>*Bogomolets Institute of Physiology National Academy of Sciences of Ukraine;*

<sup>2</sup>*Taras Shevchenko Kyiv National University;*

<sup>3</sup>*The Institute of Traumatology and Orthopaedics of NAMSU of Ukraine;*

<sup>4</sup>*Bogomolets National Medical University;*  
e-mail: litir@biph.kiev.ua

## REFERENCES

- Villareal DT, Fontana L, Das SK, et.al. Effect of two-year caloric restriction on bone metabolism and bone mineral density in non-obese younger adults: a randomized clinical trial. *J Bone Mineral Res.* 2016;31(1):40-51.
- Zibellini J, Seimon RV, Lee CM, et al. Does diet-induced weight loss lead to bone loss in overweight or obese adults? A systematic review and meta-analysis of clinical trials. *J Bone Mineral Res.* 2015;30(12): 2168-78.
- Guedes PMSG, Zamarioli A, Botega II, et.al. Undernutrition impairs the quality of growth plate and trabecular and cortical bones in growing rats. *Acta Cir b Bras.* 2019;34(3):e201900301.
- McCay CM, Maynard LA, Sperling G, Osgood HS. Nutritional requirements during the latter half of life: one figure. *J Nutrition.* 1941;21(Issue 1):45-60.
- Reeve J. PTH: a future role in manage men to fosteoporosis? *J Bone Mineralres.* 1996;11(4):440-5.
- Pop LC, Sukumar D, Tomaino K. Moderate weight loss in obese and overweight men preserves bone quality. *Am J Clin Nutrition.* 2015;101(3):659-67.
- Mattson MP, Longo VD, Harvie M. Impact of intermittent fasting on health and disease processes. *Ageing Res Rev.* 2017;39:46-58.
- Hisatomi Y, Kugino K. Changes in bone density and bone quality caused by single fasting for 96 hours in rats. *Peer J.* 2019;6: e6161.
- Povoroznyuk VV, Hopkalova IV, Grigorieva NV. Features of changes in bone mineral density in white Wistar rats depending on age and sex. *Probl Aging and Longevity.* 2011;20(4):391-401. [Russian].
- Klyatskin SA, Lifshitz RI. Determination of glycosaminoglycans by ortsin method in patients' blood. *Lab Work.* 1989;10:51-3. [Russian].
- Leontiev VK, Petrovich YA. Biochemical methods in clinical and experimental dentistry. Omsk. 1976. [Russian].
- Sharaev PN, Strelkov NS, Guncha VV, Sosulina LL. Determination of hyaluronidase activity in biological fluids. *Clin Lab Diagnost.* 1996;3:21-2. [Russian].
- Veselskiy SP, Lyaschenko PS, Kostenko SI, et.al. Way of sample preparation of bioliquids detecting in lipids determination. *Pryroda. Ukrainian Patent 33564A,* 2001, Feb.
- Kaznacheeva AI, Zlydnev NZ. The content of free aminoacids in healthy blood plasma, erythrocytes and urine. *Lab Work.*1976;8:479-80. [Russian].
- Zainabadi K, Liu CJ, Caldwell ALM, Guarente L. SIRT1 is a positive regulator of in vivo bone mass and a therapeutic target for osteoporosis. *PLoS One.* 2017;12(9):1-12.
- Sørensen KU, Kruger MC, Hansen-Møller J, Poulsen HD. Bone biochemical markers for assessment of bone responses to differentiated phosphorus supply in growing-finishing pigs. *J Animal Sci.* 2018;96(11):4693-703.
- Wada T, Nakashima T, Hiroshi N, Penninger JM. RANKL-RANK signaling in osteoclastogenesis and bone disease. *Trends Mol Med.* 2006;12(1):17-25.
- Kenkre JS, Bassett JHD. The bone remodelling cycle. *Ann Clin Biochem.* 2018;55:308-27.
- Henriksen K, Bollerslev J, Everts V, Karsdal MA. Osteoclast activity and subtypes as a function of physiology and pathology. Implications for future treatments of osteoporosis. *Endocrin Rev.* 2011;32(1):31-63.
- Shlikova VO, Levanda OM. Income, nutritional conditions, and life span of the population: A comparative analysis of Ukraine and EU. *Countries Demography and Soc Econ.* 2018;1(32):140-52.

*Матеріал надійшов  
до редакції 03.10.2019*