

УДК 599.323: 612.062: 631.811.4:616.71-007.234

doi 10.18524/2077-1746.2020.1(46).205837

О. А. Макаренко, д.б.н., завідувач кафедри

Г. В. Майкова, к.б.н., доцент

Н. А. Кириленко, к.б.н., доцент

Л. В. Еберле, к.б.н., біолог

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, кафедра фізіології людини і тварин,

вул. Дворянська 2, Одеса, 65082, Україна, e-mail: makolga29@gmail.com

ОБМІН РІЗНИХ ФОРМ КАЛЬЦІЮ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ З ПРЕДНІЗОЛОНОВИМ ОСТЕОПОРОЗОМ

Проведено аналіз складу раковин рапани необроблених та оброблених лимонною кислотою. Досліджено обмін кальцію в організмі щурів з преднізолоновим остеопорозом за профілактичного вживання різних форм кальцію. Визначено, що за умов вживання цитрату кальцію при преднізолоновому остеопорозі покращувався стан кісткової системи.

Ключові слова: остеопороз, цитрат кальцію, карбонат кальцію, рапана.

Глюкокортикоїди володіють високою біологічною активністю, що дозволяє використовувати їх при ревматичних та інфекційних захворюваннях, при бронхіальній астмі та інших важких клінічних ситуаціях. Будучи препаратами з високою терапевтичною активністю, які дозволяють швидко досягти позитивної динаміки стану пацієнта, вони викликають численні небажані реакції. При системній терапії глюкокортикоїдами у фармакологічних дозах небажані реакції можуть включати зміни з боку багатьох органів і систем. Ризик їх появи, як правило, підвищується зі збільшенням доз і тривалості застосування глюкокортикоїдів. Одним з істотних небажаних ефектів є вплив на кальцієвий метаболізм і кісткову тканину. Глюкокортикоїд-індукований остеопороз відноситься до найбільш частого варіанту вторинного остеопорозу [5, 8].

Глюкокортикоїди знижують абсорбцію кальцію в кишечнику і збільшують екскрецію нирками. Також вони викликають пригнічення синтезу статевих гормонів, які впливають на локальні регулятори, що збільшують резорбцію кісткової тканини [5].

Тому для зниження остеопенічного стану, а також для зменшення ризиків остеопоротичних переломів у пацієнтів, що знаходяться на тривалій глюкокортикоїдній терапії, необхідний додатковий прийом препаратів, що містять кальцій.

Перспективним, на наш погляд, є використання як джерела кальцію раковин промислових гідробіонтів, які складають близько 72% від маси молюска та від-

носяться до відходів виробництва охолодженого і мороженого м'яса молюсків, зокрема рапани (*Rapana Venosa* (Valenciennes, 1846)) – брюхоногого молюску, який мешкає в Чорному і Азовському морях.

Кальцій з природних джерел (раковин молюсків, яєчної шкаралупи кісток тварин та ін.) представлений в переважній більшості карбонатом. В такій формі він найчастіше використовується у вітамінно-мінеральних комплексах, так як є лідером за вмістом елементарного кальцію. Однак, засвоєння кальцію з цієї солі безпосередньо залежить від кислотності (рН) шлункового соку, яка іноді може бути зниженою. Тому для препаратів, що містять кальцій використовують також цитрат кальцію, який отримують у процесі реакції карбонату кальцію з лимонною кислотою [9].

Метою роботи було порівняльне дослідження ефективності засвоєння у організмі щурів кальцію з раковин рапани (карбонату) або раковин, оброблених лимонною кислотою (цитрату) на тлі тривалого прийому преднізолону.

Матеріали та методи досліджень

Дослідження проводили на кафедрі фізіології людини і тварин ОНУ імені І. І. Мечникова на 24 лабораторних білих безпородних щурах-самках, віком 7 місяців, масою 180–230 г. В ході дослідження було сформовано чотири групи тварин: перша група (n=6) – інтактні тварини; друга група (n=6) – тварини, яким формували преднізолоновий остеопороз; третя група (n=6) – тварини, які на тлі преднізолонового остеопорозу отримували цитрат кальцію у дозі 300 мг/кг, четверта група (n=6) – тварини, які на тлі преднізолонового остеопорозу отримували карбонат кальцію у дозі 300 мг/кг. Преднізолоновий остеопороз моделювали пероральним введенням преднізолону у дозі 5 мг/кг впродовж 2 місяців [6]. Дозу препаратів кальцію розраховували виходячи з добової норми кальцію для людини з урахуванням коефіцієнту міжвидового переносу доз для щурів [1] та урахуванням кількості кальцію та його засвоєння. Карбонат кальцію отримували механічним подрібненням раковин рапани, розмір часток становив <0,5 мм після просівання скрізь сито. Цитрат кальцію отримували додаванням розчину лимонної кислоти до порошку з раковин рапани у співвідношенні 2:1.

Через два місяці дослідження тварин розміщували в метаболічні камери для добового збору сечі, калу і залишків корму, в яких визначали вміст кальцію (середній за три доби на одну тварину) [2]. У раковинах рапани проводили визначення вмісту цинку, свинцю і кадмію методом непом'яної атомної абсорбційної фотометрії на AAS ZEnit 650P фірми Analytik Jena [4], кальцію – методом титрування з мурексидом, фосфору – спектрофотометрично на DR6000 фірми HACH LANGE [3].

Щурів виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом. У тварин визначали мінеральну щільність, вміст кальцію та активність лужної та кислої фосфатаз стегнової кістки за загально прийнятими методиками (на спектро-

фотометрі UV-mini-1240 фірми Shimadzu) [3, 7]. Показники представлені у вигляді середнього значення та похибки, вірогідність визначали U-критерієм Манна-Уїтні.

Результати досліджень та їх обговорення

Першим етапом дослідної роботи було дослідження складу обробленого лимонною кислотою та необробленого порошку з раковин Чорноморської рапани, яку збирали на скельній гряді в літній період 2018 року в Одеській затоці у районі Малого Фонтану в 50 м від берега на глибині 5–7 м.

Як видно з наведених в табл. 1 даних, вміст усіх досліджених компонентів у кілька разів перевищує у карбонатній, ніж у цитратній формі: кальцію – у 3,5 рази, фосфору – у 13,6 разів, цинку – у 2,1 рази, свинцю – у 3 рази та кадмію – більш ніж у 80 разів.

Таблиця 1

Склад деяких важливих елементів і важких металів у оброблених лимонною кислотою та необроблених раковинах рапани

Показники	Кальцій, г/кг	Фосфор, мг/кг	Цинк, мг/кг	Свинець, мг/кг	Кадмій, мг/кг
Необроблені раковини рапани (карбонат кальцію)	387	92,5	3,11	0,66	0,083
Оброблені лимонною кислотою раковини рапани (цитрат кальцію)	111	6,8	1,46	0,22	< 0,01

Отже, оброблені лимонною кислотою раковини рапан (цитратна форма) програють необробленій формі (карбонатна форма) за вмістом всіх макроелементів, але зниження важких металів – кадмію та свинцю до допустимих значень (для свинця – 0,5 мг/кг, для кадмію – 0,05 мг/кг), робить цитрат більш безпечним для вживання.

Наступним етапом дослідження було визначення кількості кальцію, що отримано щурами з їжею або з додатковим введенням в складі препаратів (табл. 2). За добу щури інтактної групи отримували стандартний раціон, в складі якого знаходилось 5,20 мг кальцію на кожні 100 г ваги щура. Друга група щурів, яким моделювали преднізолоновий остеопороз, з їжею споживала 5,92 мг кальцію на 100 г ваги ($p \leq 0,05$), що пов'язано з більшою кількістю спожитого тваринами корму. В організм щурів третьої групи, що на тлі остеопорозу вживали цитрат кальцію, надходило на 31,4 % ($p \leq 0,05$), а щурів четвертої групи, що вживали карбонат – на 184,5 % ($p \leq 0,05$) кальцію більше, ніж у щурів на тлі введення преднізолону (табл. 2).

В ході дослідження було показано підвищення ниркової екскреції кальцію під тривалим впливом преднізолону. Так, у тварин другої групи з сечею виводилось на 55,1 % ($p \leq 0,05$) кальцію більше, ніж у тварин інтактної групи. Ниркова екскреція кальцію у щурів, що додатково отримували кальцій у вигляді

ді цитрату на тлі преднізолону, вірогідно зменшилась (19,8 %), але одночасно зберіглася високою по відношенню до показника у інтактній групі. Введення карбонату кальцію щурам з преднізолоновим остеопорозом сприяло більш вираженому гальмуванню екскреції кальцію з сечею – рівень цього показника знизився на 23,1 % ($p \leq 0,05$) і не досягнув значень норми, які зареєстровані у інтактних тварин (табл. 2).

Таблиця 2

Обмін кальцію в організмі щурів з преднізолоновим остеопорозом

Показники	Інтактна група (n=6)	Преднізолоновий остеопороз (n=6)	Преднізолоновий остеопороз + цитрат кальцію (n=6)	Преднізолоновий остеопороз + карбонат кальцію (n=6)
Кількість введеного кальцію, мг	5,20±0,18	5,92±0,21*	7,78±0,1**	16,84±0,41**
Кількість виведеного кальцію з сечею, мг	0,78±0,04	1,21±0,09*	0,97±0,03**	0,93±0,06#
Кількість виведеного кальцію з калом, мг	0,43±0,02	2,21±0,12*	2,12±0,09*	2,27±0,1*
Загальна кількість виведеного кальцію, мг	1,22±0,08	3,47±0,11*	3,09±0,12**	3,21±0,2**
Кальцій, що затримався в організмі, мг	3,98±0,1	2,45±0,12*	4,69±0,16**	13,63±0,36**

Примітка: * – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками інтактної групи, $p \leq 0,05$; # – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками щурів з преднізолоновим остеопорозом, $p \leq 0,05$

За тривалого введення преднізолону встановлені більш значні втрати кальцію з калом щурів, у тварин другої групи цей показник збільшився в середньому в 5 разів ($p \leq 0,05$). Профілактичне введення кальцію в вигляді цитрату або карбонату, у третьої та четвертої групах відповідно, суттєво не впливало на підвищене виведення кальцію (табл. 2).

На тлі введення преднізолону, завдяки посиленій екскреції кальцію з сечею та калом, спостерігалось зменшення кількості засвоєного організмом кальцію у цих щурів на 38,4 % ($p \leq 0,05$). Навпаки, після додаткового вживання цитрату кальцію та карбонату кальцію щурами третьої або четвертої груп цей показник зріс і був більшим на 17,8 % ($p \leq 0,05$) та на 242,5 % ($p \leq 0,05$) щодо такого у інтактних тварин (табл. 2).

Але кальцій, що залишився в організмі, не завжди використовується в обміні.

Основна маса кальцію знаходиться в кістковій тканині, яка відіграє роль депо для циркулюючих з кровотоком іонів кальцію. Тому наступним етапом роботи було дослідження стану кісткової системи тварин.

Як видно з представлених даних, у щурів, які отримували преднізолон, спостерігається тенденція до зниження мінеральної щільності стегнової кістки та суттєве зниження вмісту іонізованого кальцію в стегновій кістці на 27,8 % ($p \leq 0,05$) (табл. 3).

Таблиця 3

Мінеральна щільність, вміст кальцію та активність лужної (ЛФ) та кислої фосфатази (КФ) в стегновій кістці щурів з преднізолоновим остеопорозом при вживанні різних форм кальцію

Показники	Інтактна група (n=6)	Преднізолоновий остеопороз (n=6)	Преднізолоновий остеопороз + цитрат кальцію (n=6)	Преднізолоновий остеопороз + карбонат кальцію (n=6)
Мінеральна щільність, мг/мм ³	1,502±0,021	1,445±0,026	1,609±0,015*#	1,548±0,022#
Вміст кальцію в стегновій кістці, ммоль/г	1,912±0,051	1,381±0,092*	2,054±0,082#	1,620±0,035*
Активність ЛФ в стегновій кістці, мк кат/кг	24,52±1,13	8,80±1,32*	12,03±0,92*#	9,02±1,32*#
Активність КФ в стегновій кістці, мк кат/кг	2,17±0,24	3,92±0,24*	2,80±0,25#	3,01±0,12*#

Примітка: * – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками інтактної групи, $p \leq 0,05$; # – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками щурів з преднізолоновим остеопорозом, $p \leq 0,05$

Додаткове введення джерел кальцію сприяло покращенню обох показників. Так, мінеральна щільність стегнової кістки тварин, які отримували на тлі преднізолону цитрату кальцію, збільшилась на 11,3 % по відношенню до показника другої групи ($p \leq 0,05$) та на 7,1 % відносно інтактних щурів ($p \leq 0,05$).

Швидше за все, збільшення щільності стегнової кістки щурів, які отримували препарати кальцію, здійснювалось завдяки включенню цього основного макроелемента до кісткової тканини. Вміст іонізованого кальцію в стегнової кістки щурів, які отримували цитрат кальцію, зріс на 48,7 % в порівнянні з показником у тварин другої групи ($p \leq 0,05$) та відповідав нормальним значенням (табл. 3). У тварин, що вживали карбонат, вміст кальцію в стегновій кістці по відношенню до здорових тварин інтактної групи був на 15,3 % ($p \leq 0,05$) нижчим, але по відношенню до щурів з остеопорозом вищим на 17,3 % ($p \leq 0,05$) (табл. 3).

Втрата кістковою тканиною кальцію може бути наслідком зниження остеогенезу або підвищення кісткової резорбції. В дослідженні у тварин з модельованим остеопорозом зареєстровані зміни активності кісткових фосфатаз: активність лужної фосфатази (ЛФ) в стегновій кістці, яку можна вважати маркером остеогенезу, була знижена в 2,8 рази, а активність кислої фосфатази (КФ) – підвищена в 1,8 разів, що вказує на уповільнення процесів кісткової резорбції (табл. 3). Тобто тривале введення преднізолону викликало зменшення інтенсивності остеогенезу з одночасним підвищенням резорбції кісткової тканини.

Додаткове введення щурам цитрату кальцію на тлі преднізолону привело до збільшення активності кісткової ЛФ на 36,7 % ($p \leq 0,05$), а значить й інтенсивності остеогенезу, незважаючи на те, що цей показник зберігався вдвічі нижчим, ніж рівень у інтактних тварин. Приблизно так само підвищувалась активність ЛФ в кістковій тканині щурів, які отримували кальцій у вигляді карбонату.

Профілактичне введення цитрату сприяло гальмуванню активності кісткової КФ на 28,6 % ($p \leq 0,05$) та нормалізувало цей показник. При цьому, введення карбонату кальцію також змінювало активність КФ, але менш значно та зберігало його на високому рівні ($p \leq 0,05$) порівняно зі значеннями у інтактних тварин.

Посилене виведення кальцію під впливом преднізолону може здійснюватися за рахунок активації процесів резорбції кісткової тканини за участю КФ і зниження інтенсивності остеогенезу за допомогою ЛФ, а значить і включення кальцію в склад гідроксиапатиту кісткової тканини. Підтвердженням цього є встановлення в дослідженні суттєвого зменшення іонізованого кальцію в кістковій тканині, а також мінеральної щільності стегнової кістки у щурів, які тривало отримували преднізолон.

Порівняльне дослідження профілактичного введення карбонату та цитрату кальцію з раковин рапан, виявило певні переваги впливу цитрату кальцію на організм щурів. Так, незважаючи на те, що при вживанні цитрату щури отримували у 3,5 рази кальцію менш, ніж з карбонатом, за допомогою першого було досягнуто більш ефективного зниження екскреції кальцію з сечею та пригнічення активності кісткової КФ на тлі значної активації остеогенезу та включення кальцію до складу гідроксиапатиту кісткової тканини, а також більш виражене підвищення мінеральної щільності стегнової кістки щурів, яким тривало вводили преднізолон.

За профілактичного вживання цитрату кальцію щурами кількість кальцію в їх організмі була менше в 2,9 рази, ніж за вживання карбонату, але цей кальцій мав більш позитивний вплив на стан кісткової системи щурів з остеопорозом, що, можливо, зумовлено більш високою біодоступністю цієї форми кальцію, а також – вираженою здатністю цитрату регулювати метаболізм, а саме гальмувати деструктивні процеси в кістковій тканині, які індуковані преднізолоном. Крім того, при однаковій дозі введення обох форм кальцію (300 мг / кг) у щу-

рів, які отримували карбонат, зберігався підвищений рівень кальцію, що може мати негативні наслідки для функціонування нирок, печінки та серцево-судинної системи. Важливим висновком дослідження є факт істотного зниження рівня важких металів в процесі обробки раковини рапани лимонною кислотою.

Проведене дослідження показує перспективність використання як джерела кальцію раковин моллюсків, а також розробки ефективних препаратів за допомогою обробки сировини лимонною кислотою для отримання цитратної форми кальцію, яка є більш біодоступною та ефективною при порушеннях метаболізму кісткової тканини і посиленої втрати кальцію організмом.

Висновки

1. Оброблений лимонною кислотою порошок з раковин рапани Одеської затоки, на відміну від необробленого, вміщував у 3,5 рази менше кальцію, у 13,6 разів – фосфору, у 2,1 рази – цинку, у 3 рази – свинцю та більш ніж у 80 разів – кадмію.

2. Профілактичний прийом карбонату та цитрату кальцію, отриманих з раковин рапани, у щурів з преднізолоновим остеопорозом призводив до незначного зменшення кількості виведеного кальцію та до збільшення кальцію, що залишався в організмі відповідно на 242,5 % ($p \leq 0,05$) та на 17,8 % ($p \leq 0,05$) щодо такого у інтактних тварин.

3. Додавання цитрату та карбонату кальцію, отриманих з раковин рапани, до їжі щурів з преднізолоновим остеопорозом призводило до збільшення вмісту кальцію у стегновій кістці щурів відповідно на 33 % та 15%, а також до нормалізації показників мінеральної щільності стегнової кістки.

4. Профілактичний прийом цитрату кальцію, отриманого з раковин рапани, призводив до підвищення активності лужної фосфатази (маркера остеогенезу) та зниження активності кислої фосфатази (маркера кісткової резорбції) в більшому ступені, ніж карбонат кальцію відносно тварин з преднізолоновим остеопорозом.

Стаття надійшла до редакції 04.04.2020

Список використаної літератури

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації / Під ред. О. В. Стефанова. – Київ: Авіцена, 2001. – 528 с.
2. Левицький А. П. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза. Метод. рекомендации / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, О. В. Деньга. – Киев: ГФЦ МЗ Украины, 2005. – 50 с.
3. Левицкий А. П. Методы экспериментальной стоматологии. Учебное пособие / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, С. А. Демьяненко. – Симферополь: ООО «Изд-во Тарпан», 2018. – 78 с.
4. Масленко С. Н. Аналітична хімія і методи аналізу / С. Н. Масленко, В. В. Величко, Н. М. Великонська, В. В. Перескока. – Дніпропетровськ: НМетАУ, 2011. – 162 с.

5. Поворознюк В. В. Менопауза и костно-мышечная система / В. В. Поворознюк, Н. В. Григорьева. – К.: Книга плюс, 2004. – 512 с.
6. Фролькис В. В. Экспериментальный остеопороз / В. В. Фролькис, В. В. Поворознюк, О. Е. Евтушенко, Н. В. Григорьева // Doctor. – 2003. – № 6. – С. 48–52.
7. Ходаков І. В. Спосіб визначення щільності кісток лабораторних тварин / І. В. Ходаков // Досягнення біології та медицини. – 2004. – № 2 (4). – С. 38–41.
8. Canalis E. Mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis / E. Canalis // Curr. Opin Rheumatol. – 2003. – Vol. 15. – P. 454–457.
9. Heller H. J. Pharmacokinetic and pharmacodynamic comparison of two calcium supplements in postmenopausal women / H. J. Heller // Journal of Clinical Pharmacology. – 2000. – Vol. 40. – P. 1237–1244.

O. A. Makarenko, H. V. Maikova, N. A. Kirilenko, L. V. Eberle

Odesa Mechnykov National University, Department of Human and Animal Physiology

2, Dvorianska str., Odesa, 65082, Ukraine, e-mail makolga29@gmail.com

EXCHANGE OF VARIOUS CALCIUM FORMS IN ORGANISM OF RATS WITH PREDNISOLONE OSTEOPOROSIS

Abstract

Relevance. In order to reduce osteopenic condition, as well as risks of osteoporotic fractures in patients who are on long glucocorticoid therapy, additional intake of calcium-containing medications is required. Application of preparations of natural origin for prevention of osteoporosis and increase of treatment efficiency is relevant, with mollusc shells being likely to be considered as promising raw material for production of calcium-containing medications.

The aim of the work was to carry out comparative research of efficiency of metabolising in organisms of rats calcium obtained from Rapana shells (carbonate) or shells treated with citric acid (citrate) at the background of long-terms intake of prednisolone.

Materials and methods. The research was performed on white rats of outbred breeding, which for two months were modelled prednisolone (5 mg/kg) osteoporosis with addition to the diet of non-treated (calcium carbonate) and treated with citric acid (calcium citrate) crashed Rapana shells for prophylaxis. Rapana shells were analysed for content of zinc, lead and cadmium by method of flameless atomic absorption photometry, of calcium – by method of titration with murexide, of phosphorus – spectrophotometrically. The research also included determination of day amount of calcium obtained by a rat organism and excreted with urine and feces. In femur of rats bone mineral density, content of calcium and activity of phosphatases were determined.

Results and conclusions. Comparative study of preventive introduction of calcium carbonate and citrate from Rapana shells found certain advantages of impact of calcium citrate on rat organism. Thus, in spite of the fact that when given citrate, rats received 3.5 times less calcium than with carbonate, the former contributed to achievement of more efficient reduction of calcium excretion with urine and inhibition of

bone AP activity at the background of considerable activation of osteogenesis and inclusion of calcium into composition of bone tissue hydroxyapatite, as well as more expressed increase of mineral density of femur of rats which experienced long-term introduction of prednisolone.

In case of preventive intake of calcium citrate by rats the amount of calcium in their organism was 2.9 times lower than in case of carbonate intake, but that calcium had more positive effect on the condition of bone system of rats with osteoporosis, which might be explained by higher bioaccessibility of the said form of calcium, as well as expressed ability of citrate to regulate metabolism, namely to slow down prednisolone-induced destructive processes in bone tissue. Moreover, with equal introduced dose of both forms of calcium (300 mg/kg), rats which received carbonate preserved a higher level of calcium, which can have negative consequences for functioning of kidneys, liver and cardiovascular system. An important conclusion of the research is the fact of considerable reduction of the level of heavy metals in the process of treating Rapana shell with citric acid.

Key words: osteoporosis; calcium citrate; calcium carbonate; Rapana.

References

1. Stefanov O. V. (2001) *Docs Methodical recommendations* [Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv. Metodychni rekomendatsii], Kyiv, Avitsena, 528 p.
2. Levitskiy A. P., Makarenko O. A., Denga O. V. (2005) *Experimental methods for the study of stimulants of osteogenesis. Method. recommendations* [Eksperimentalnyie metody issledovaniya stimulyatorov osteogeneza. Metod. Rekomendatsii], Kiev, GFTs MZ Ukrainyi, 50 p.
3. Levitskiy A. P., Makarenko O. A., Demyanenko S. A. (2018) *Methods of experimental dentistry. Textbook* [Metody eksperimentalnoy stomatologii. Uchebnoe posobie], Simferopol, OOO «Izd-vo Tarpan», 78 p.
4. Maslenko S. N., Velychko V. V., Velykonska N. M., Pereskoka V. V. (2011) *Analytical chemistry and methods of analysis* [Analitychna khimiia i metody analizu], Dnipropetrovsk, NMetAU, 162 p.
5. Povoroznyuk V. V., Grigoreva N. V. *Menopause and musculoskeletal system* [Menopauza i kostno-myishechnaya Sistema], Kiev, Kniga plyus, 512 p.
6. Frolkis V. V., Povoroznyuk V. V., Evtushenko O. E., Grigoreva N. V. (2003) "Experimental osteoporosis" ["Eksperimentalnyi osteoporoz"], *Doctor*, 6, pp.48-52.
7. Khodakov I. V. (2004) "The way of identification of laboratory creatures" ["Sposib vyznachennia shchilnosti kistok laboratornykh tvaryn"], *Dosiahnennia biolohii ta medytsyny*, 2 (4), pp 38–41.
8. Canalis E. (2003) Mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis, *Curr. Opin Rheumatol*, 15, pp 454-457.
9. Heller H. J. (2000) Pharmacokinetic and pharmacodynamic comparison of two calcium supplements in postmenopausal women, *Journal of Clinical Pharmacology*, 40, pp 1237-1244.