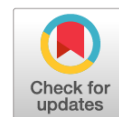


УДК 616

DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF567788>

Научная статья



## Оценка процессов остеогенеза на фоне терапии экспериментально индуцированного остеопороза

А.А. Байрамов<sup>1, 2</sup>, Н.Ш. Мамина<sup>2</sup>, Д.А. Лисовский<sup>2</sup>, Н.А. Федоров<sup>2</sup>,  
Т.Л. Каронова<sup>1</sup>, П.Д. Шабанов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup> Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

### АННОТАЦИЯ

**Актуальность.** Остеопороз представляет проблему во всем мире с важными клиническими и экономическими последствиями. Существенным вкладом в решение проблемы распространения остеопороза может стать создание препаратов на основе уникальных биологически активных соединений.

**Цель** — оценка процессов остеогенеза, по данным образования органической матрицы костной ткани, а также по оценке маркеров костного ремоделирования в сыворотке крови на этапах антиостеопорозной терапии.

**Материалы и методы.** Исследование выполнено на экспериментальной модели остеопороза с применением биохимических методов анализа маркеров остеопороза в сыворотке крови, а также атомно-абсорбционной спектроскопии и рентгеноденситометрии.

**Результаты.** По результатам исследования доказана специфическая антиостеопорозная активность нового препарата на основе солей янтарной кислоты: существенное увеличение органического компонента — суммарного коллагена в костной ткани и минерального компонента как основных элементов в костной ткани — как у молодых, так и у старых сенильных животных. Оценка динамики содержания маркеров костного ремоделирования показала высокую эффективность нового препарата при монотерапии, и в комбинации с витамином D<sub>3</sub> в активации процессов остеогенеза при экспериментальном остеопорозе.

**Заключение.** Показана эффективность предлагаемого антиостеопорозного средства, которая более выражена у сенильных крыс и обусловлена пропорциональным нарастанием органического и минерального компонентов костной ткани.

**Ключевые слова:** остеопороз; экспериментальная модель; костное ремоделирование; коллаген; маркеры остеогенеза; антиостеопорозное средство.

### Как цитировать:

Байрамов А.А., Мамина Н.Ш., Лисовский Д.А., Федоров Н.А., Каронова Т.Л., Шабанов П.Д. Оценка процессов остеогенеза на фоне терапии экспериментально индуцированного остеопороза // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2023. Т. 21. № 3. С. 273–282.  
DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF567788>

DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF567788>

Research Article

# Evaluation of osteogenesis processes against the background of experimental osteoporosis therapy

Alekber A. Bairamov<sup>1, 2</sup>, Nailya Sh. Mamina<sup>2</sup>, Dmitriy A. Lisovskiy<sup>2</sup>, Nikita A. Fedorov<sup>2</sup>,  
Tatiana L. Karonova<sup>1</sup>, Petr D. Shabanov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia;

<sup>2</sup> Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

## ABSTRACT

**BACKGROUND:** Osteoporosis is a problem all over the world with important clinical and economic consequences. A significant contribution to solving the problem of the spread of osteoporosis can be the creation of drugs based on unique biologically active compounds.

**AIM:** The aim was to evaluate the processes of osteogenesis, according to the formation of an organic matrix of bone tissue, as well as to evaluate markers of bone remodeling in blood serum at the stages of anti-osteoporosis therapy.

**MATERIALS AND METHODS:** The study was performed on an experimental model of osteoporosis using biochemical methods for analyzing markers of osteoporosis in blood serum, as well as atomic absorption spectroscopy and X-ray densitometry.

**RESULTS:** According to the results of the study, the specific anti-osteoporotic activity of the new drug based on succinic acid salts was proved: a significant increase in the organic component — the total collagen in bone tissue and the mineral component as the main elements in bone tissue in both young and old senile animals. Evaluation of the dynamics of the content of markers of bone remodeling showed the high effectiveness of the new drug in monotherapy, and in combination with vitamin D<sub>3</sub> in the activation of osteogenesis processes in experimental osteoporosis.

**CONCLUSIONS:** The effectiveness of the proposed anti-osteoporotic agent is shown, which is more pronounced in senile rats and is due to a proportional increase in the organic and mineral components of bone tissue.

**Keywords:** osteoporosis; experimental model; bone remodeling; collagen; markers of osteogenesis; anti-osteoporosis agent.

## To cite this article:

Bairamov AA, Mamina NSh, Lisovskiy DA, Fedorov NA, Karonova TL, Shabanov PD. Evaluation of osteogenesis processes against the background of experimental osteoporosis therapy. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2023;21(3):273–282. DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF567788>

Received: 25.06.2023

Accepted: 05.07.2023

Published: 29.09.2023

## АКТУАЛЬНОСТЬ

По данным Всемирной организации здравоохранения, остеопороз (ОП) сегодня — одно из наиболее распространенных заболеваний, которое наряду с инфарктом миокарда, инсультом, раком и внезапной смертью занимает ведущее место в структуре заболеваемости и смертности населения. ОП и вызываемые им переломы становятся основной причиной болезни, нетрудоспособности и смерти, и составляют огромную статью расхода в здравоохранении [29, 33, 34]. Женщины в постменопаузальный период наиболее уязвимы и примерно в 4 раза чаще подвержены заболеванию по сравнению с мужчинами [29, 33]. ОП представляет проблему во всем мире с важными клиническими и экономическими последствиями [25, 31]. Действительно, переломы, связанные с ОП, являются причинами значительного увеличения заболеваемости, инвалидности и смертности, особенно у пожилых людей, что имеет значительные последствия для расходов на здравоохранение [25, 26, 31].

Остеопороз — это системное метаболическое заболевание скелета, характеризующееся снижением массы костей и нарушениями микроархитектоники костной ткани, которое приводит к значительному увеличению хрупкости костей и возможности их переломов [19]. По данным International Osteoporosis Foundation (IOF) [28], ОП страдают около 75 млн человек в Европе, США и Японии [27, 28], и по прогнозам, к 2050 г. в связи с увеличением продолжительности жизни во всем мире, переломы костей тазобедренного сустава вследствие ОП увеличатся на 240 % у женщин и на 310 % — у мужчин. Инвалидность вследствие ОП в странах Европы по частоте превышает таковую от рака (за исключением рака легких) и сравнима с различными хроническими неинфекционными заболеваниями (ревматоидный артрит, астма и артериальная гипертензия) [32, 34, 39].

Согласно исследованиям НИИ ревматологии РАМН, в России ОП болеют 33,8 % женщин и 26,9 % мужчин старше 50 лет, у 43,3 % женщин и 44,1 % мужчин определяются признаки остеопении [1, 10]. Таким образом, ОП в России страдают 14 млн человек (10 % населения страны), у 20 млн состояние МПК соответствует остеопении, и 34 млн жителей страны имеют реальный риск остеопоротических переломов. Ожидается, что в связи с старением населения число больных ОП в России вырастет на 1/3 к 2050 г. [10]. Оценка общей тенденции в мире показала, что только за счет старения популяции земного шара частота переломов, например шейки бедра, в период с 2005 по 2050 г. должна увеличиться в два раза [26].

В последние десятилетия проблема ОП приобрела особое значение в результате увеличения в популяции людей пожилого и старческого возраста и, в частности, количества женщин в постменопаузальном периоде. Около одной трети общей продолжительности жизни женщин приходится на период постменопаузы, что увеличивает

вероятность развития как постменопаузального, так и сенильного ОП [6, 18]. В связи с увеличением числа пожилых людей это заболевание становится медико-социальной проблемой.

Недостаточную эффективность предложенных программ профилактики и лечения ОП можно объяснить более сложными механизмами его развития, чем простой дефицит кальция. Поэтому необходимо использовать для лечения и профилактики ОП такие методы и препараты, которые отвечают биологии возрастного развития и патофизиологии развития ОП. Существенным вкладом в решение проблемы распространения ОП может стать создание препаратов на основе уникальных биологически активных соединений.

Новым подходом в профилактике и лечении сенильного и постменопаузального ОП, и дефицита витамина D<sub>3</sub> в частности, является применение в лекарственной терапии комплекса кислых солей янтарной кислоты, потенциально влияющий на усвоение макро- и микроэлементов костной тканью, на биотрансформации витамина D<sub>3</sub> и повышающий биодоступность его активных форм в организме [1, 12, 13, 15, 21]. Из природных субстратов-метаболитов кислые соли сукцината служат наиболее сильными модуляторами орфановых рецепторов, кальциевых каналов L-типа, активируют аккумуляции Ca<sup>2+</sup> внутри клетки эндоплазматическим и саркоплазматическим ретикуломом и митохондриями, активируют лимитирующий этап в метаболизме холестерина — вход в митохондрий и последующую биотрансформацию в активные формы стероидов [11, 12, 15, 37]. В экспериментальном исследовании сукцинат-содержащий комплексный препарат повышал индекс массы костной ткани, увеличивал синтез эстрогенов и андрогенов в условиях гормонального дефицита [13, 16, 21]. Ожидаемый результат от внедрения технологии — эффективная терапия в профилактике и лечении ОП дефицита витамина D<sub>3</sub> и, соответственно, снижение количества опорно-двигательных, эндокринных и сердечно-сосудистых заболеваний, уменьшение риска инвалидизации и преждевременной смерти [7, 8, 13, 12, 20].

*Цель работы* — исследование фармакологических свойств нового лекарственного препарата в экспериментальной модели ОП у самок крыс разного возраста в хроническом опыте продолжительностью 30 дней.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперимент взято 40 половозрелых самок крыс линии Вистар, для которых в соответствии с задачей исследования была создана экспериментальная модель.

Метод создания экспериментальной модели ОП описан в ряде исследований [1, 9, 22]. Суть метода заключается в двустороннем хирургическом удалении яичников у самок крыс, с последующим двукратным введением преднизолона. Для эксперимента использованы интактные

самки крыс линии Вистар 4–6-месячного (молодого) возраста весом 240–260 г и 12–14-месячного (сенильного) возраста весом 360–420 г. Двусторонняя овариэктомия проведена в соответствии с рекомендациями, изложенными в руководстве Бунока (1968). Животных наркотизировали эфиром и фиксировали на операционном столе в положении на животе. Шерсть на спине от тазовой области до реберной дуги выстригали, кожу обрабатывали спиртом и разбавленным спиртовым раствором йода. Скальпелем делали продольный разрез длиной 1,5–2 см по средней линии спины. Передвигая разрез, попеременно, налево и направо делали прокол в задней части брюшной полости. Найдя правый или левый рог матки, выводили его через прокол наружу, находили яичник и электрокаутером отсекали его от рога матки. Аналогично удаляли и второй яичник. Проколы брюшины и надрез спины обрабатывали стрептоцидом. Ушивали спинной разрез и шов обрабатывали 5 % йодной настойкой. После операции животных помещали в чистую клетку, в течение первых 4–5 дней проводили ежедневную обработку раны дезинфицирующими средствами. Заживление раны произошло на 7–9-й день. Через 3 нед. после операции самкам крыс вводили раствор преднизолона — внутривенно в дозе 25 мг/кг. Второе введение с интервалом 15 дней. Для оценки выраженности ОП использовали методику прижизненной валидации этой патологии по определению маркеров костного ремоделирования в крови [2].

**Изучение органического компонента костной ткани.** Состояние обмена коллагена в костной ткани оценивали по содержанию в гомогенате эпифиза бедренной кости суммарного коллагена, рассчитанного по количеству гидроксипролина [5, 23].

**Изучение минерального компонента костной ткани.** Элементный анализ костной ткани бедра выполнен с помощью атомно-адсорбционной спектрометрии (спектрометр фирмы Varian). Маркеры костного

ремоделирования — остеокальцин (ОК), склеростин (Skl), остеопротегерин (OPG), фактора роста фибробластов-23 (FGF23) и лиганд активатора ядерного фактора каппа- $\beta$  (RANKL) — в сыворотке крови при ОП определяли с помощью ИФА-наборов для иммуноферментного анализа.

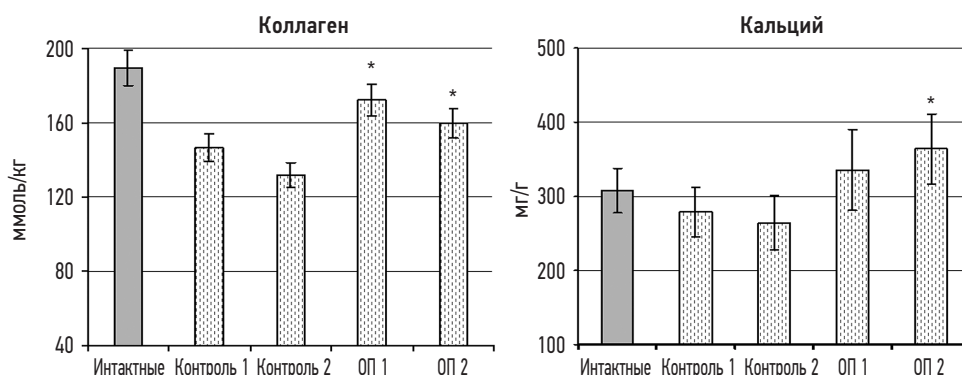
Объектом исследования служил создаваемый лекарственный препарат на основе солей янтарной кислоты, средство для лечения ОП (далее — препарат ХЗ, патент на изобретение RU № 2582973) [17]. Данное исследование входит в комплекс доклинических исследований, необходимых для регистрации продукта, и направлено на установление свойства тестируемого объекта при многократном пероральном введении в фиксированной дозе (62,5 мг/кг). Исследование проводилось в соответствии со стандартами лабораторных исследований GLP [14]. Использование данного подхода позволило максимально уменьшить количество животных в эксперименте, провести исследование в соответствии с гуманными принципами обращения с животными и всесторонне исследовать влияние препарата на основные функциональные системы и органы подопытных животных.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Содержание коллагена и кальция в костной ткани у самок крыс с экспериментальным остеопорозом

Для изучения процессов костного ремоделирования, определения развития и степени ОП и возможности его коррекции использовали метод рентгенденситометрии, измеряли весовые характеристики и содержание макроэлементов, в том числе  $\text{Ca}^{2+}$ , методом атомно-адсорбционной спектроскопии, и биохимический метод определения коллагена, рассчитанный по количеству гидроксипролина в гомогенате бедренной кости.

Данные, представленные на рис. 1, показывают изменения состава костной ткани после экспериментального



**Рис. 1.** Содержание коллагена и кальция в губчатой костной ткани у самок крыс с экспериментальным остеопорозом на фоне терапии антиостеопорозным препаратом. ОП1 — опытная группа 4–6-месячных молодых самок, получавших антиостеопорозное средство (62,5 мг/кг); ОП2 — опытная группа 12–14-месячных самок, получавших антиостеопорозное средство (62,5 мг/кг). \* $p < 0,05$ , различие значимо по сравнению с контролем и 12–14-месячными крысами

**Fig. 1.** The content of collagen and calcium in spongy bone tissue in female rats with experimental osteoporosis on the background of anti-osteoporosis drug therapy. OP1 is an experimental group of 4–6-month-old young females receiving an anti-osteoporotic agent (62.5 mg/kg); OP2 is an experimental group of 12–14-month-old females receiving an anti-osteoporotic agent (62.5 mg/kg). \* $p < 0.05$ , the difference is significant compared to the control and 12–14-month-old rats

индигирования ОП. У моделированных животных сенильного возраста (ОП2) отмечается достоверное снижение содержания кальция и коллагена, основных показателей органического и минерального компонентов костной ткани. При этом снижение кальция у молодых крыс (ОП1) было недостоверным по сравнению с интактным контролем, вероятно, ввиду противодействия сильных компенсаторных механизмов кальциевого гомеостаза костной ткани.

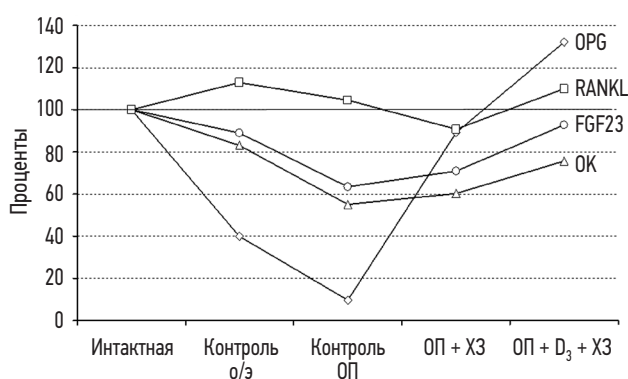
Изменение содержания коллагена позволяет судить о характере изменений в белковом матриксе костной ткани. Состояние обмена коллагена в костной ткани оценивали по содержанию в гомогенате эпифиза бедренной кости суммарного коллагена, рассчитанного по количеству гидроксипролина (рис. 1). На ускорение синтеза коллагена указывает увеличение содержания суммарного коллагена в костной ткани по сравнению с контрольной группой. Содержание оксипролина в костной ткани животных опытных групп после терапии препаратом ХЗ менялось в разном степени. У молодых крыс с экспериментальным ОП препарат ХЗ значимо увеличивал содержание оксипролина (на 17,5 %,  $p < 0,05$ ), хотя и не достигал значений интактной группы, возможно из-за кратковременности назначения и особенностей метаболизма костной ткани у молодых крыс, что предполагает более длительное назначение препаратов для восстановления и завершения костного ремоделирования. У сенильных самок (Контроль 2) снижение коллагена после формирования ОП было более выраженным и назначение препарата оказывало более значимое терапевтическое действие — рост концентрации оксипролина составил 21,2 % ( $p < 0,05$ ).

Из приведенных данных видно, что эффективность предлагаемого антиостеопорозного средства ХЗ достаточна для увеличения белкового матрикса костной ткани и восстановления органического компонента костной ткани до приемлемого уровня по сравнению с контрольной группой. При этом препарат ХЗ более мягко увеличивает содержание кальция в костной ткани, без явной кальциевой перегрузки, которая может увеличивать ломкость костной ткани.

Таким образом, 30-дневное пероральное назначение препарата ХЗ значимо увеличивало содержание суммарного коллагена в костной ткани по сравнению с контрольной группой как у старых, так и у молодых крыс. При этом интенсивность синтеза коллагена более выражена у сенильных крыс.

#### Оценка маркеров костного ремоделирования в периферической крови

В сыворотке крови самок крыс с экспериментально индуцированным ОП были исследованы маркеры костного ремоделирования, отражающие процессы остеогенеза и резорбции костной ткани — ОК, Skl, OPG, FGF23 и RANKL.



**Рис. 2.** Динамика содержания маркеров остеопороза ОК, OPG, FGF23 и RANKL в сыворотке крови на этапах формирования экспериментальной модели остеопороза и его фармакотерапии препаратом ХЗ и витамином D<sub>3</sub>. Данные интактных крыс приняты за 100 %. Здесь и далее: о/э — овариэктомия; ОП — остеопороз; ОП + ХЗ — группа, получавшая препарат ХЗ; ОП + D<sub>3</sub> + ХЗ — группа, получавшая препарат ХЗ и витамин D<sub>3</sub>

**Fig. 2.** Dynamics of the content of markers of osteoporosis OK, OPG, FGF 23 and RANKL in blood serum at the stages of formation of an experimental model of osteoporosis and its pharmacotherapy with X3 and vitamin D<sub>3</sub>. The data of intact rats were taken as 100%. Here and further: o/e — ovariectomy; ОП — osteoporosis; ОП + ХЗ — the group receiving the drug ХЗ; ОП + D<sub>3</sub> + ХЗ — the group receiving the drug ХЗ and vitamin D<sub>3</sub>

Костное ремоделирование представляет собой непрерывный процесс, посредством которого происходит обновление кости с целью сохранения ее прочности и минерального гомеостаза, при этом формирование и резорбция тесно связаны между собой. В процессе ремоделирования взамен старой костной ткани образуется новая. Цикл ремоделирования костной ткани составляет 5–6 мес. и изначально запускается остеобластами за счет синтеза RANKL и OPG. RANKL, связываясь с RANK-рецепторами остеокластов и их предшественниками, стимулирует их дифференцировку и активность, тогда как OPG блокирует RANK-рецепторы, ингибируя функцию остеокластов [38].

Как видно из рис. 2, концентрация лигандов рецептора RANKL при формировании ОП повышается, возможно, как компенсаторная реакция на активацию резорбции костной ткани, соответственно в большем количестве попадает в циркулирующую кровь. В дальнейшем на этапе коррекции экспериментального ОП содержание RANKL в крови уменьшается, что свидетельствует о снижении его выработки остеобластами, в связи с активацией остеокластогенеза.

Важная роль в синтезе костного матрикса принадлежит ОК. ОК — это белок, вырабатываемый остеобластами, способный связывать кальций и стабилизировать четвертичную структуру коллагена, контролируя сборку костного матрикса — остеона. Уровень ОК по мере формирования ОП снижается, и снижение его концентрации в крови отражает уменьшение выработки коллагена остеобластами (рис. 2). Назначение антиостеопорозного препарата ХЗ и в комбинации с витамином D<sub>3</sub> приводит



к значимому росту концентрации ОК в крови, что свидетельствует об усилении остеогенеза, остеобластогенеза. На фоне терапии препаратов ХЗ также снижается концентрация RANKL в крови, что свидетельствует об активации остеобластов и снижении необходимости потенциации остеобластов за счет синтеза RANKL.

Важным является динамика OPG. При костном ремоделировании OPG, в свою очередь, блокирует RANK-рецепторы, ингибируя функцию остеокластов [38]. Ингибируя связывание RANK с RANK-лигандом, OPG тем самым подавляет мобилизацию, пролиферацию и активацию остеокластов, поэтому увеличение синтеза RANKL приводит к резорбции костной ткани и, следовательно, к потере костной массы. Как видно из рис. 2, снижение OPG наиболее выражено при формировании ОП, когда наиболее выражена резорбция костной ткани из-за активации остеокластов. Отмечается достоверное и многократное падение уровня OPG. Необходимо отметить, более резкое снижение OPG происходит сразу после овариэктомии, что свидетельствует о гормон-зависимом характере этого процесса. Назначение препарата ХЗ восстанавливает исходный уровень OPG в крови, а комбинация ХЗ с витамином D<sub>3</sub> вызывает значительное достоверное повышение концентрации OPG по сравнению с интактной группой.

Важным показателем, характеризующим остеогенез, является FGF-23, который экспрессируется преимущественно в костной ткани и синтезируется остеоцитами. Его основная роль сводится к снижению уровня сывороточного фосфата [4]. FGF-23 регулируют уровень сывороточного фосфата и активность витамина D. Поскольку витамин D стимулирует канальцевую реабсорбцию фосфатов, сокращение его концентрации в крови приводит к подавлению реабсорбции и снижению уровня фосфатов крови. Данные рис. 2 свидетельствуют, что снижение

уровня FGF-23 коррелирует со снижением содержания Ca и P в крови [1].

Активные формы витамина D<sub>3</sub> повышают экспрессию гена *FGF-23*, формируя тем самым отрицательную обратную связь в регуляции канальцевой реабсорбции фосфатов. В группе с ОП с комбинированной терапией ХЗ и D<sub>3</sub> наблюдается более значимый рост концентрации FGF-23 в крови, чем при монотерапии с ХЗ (рис. 2). В свою очередь, повышение уровня FGF-23 приводит к снижению уровня активной формы витамина D в крови [24].

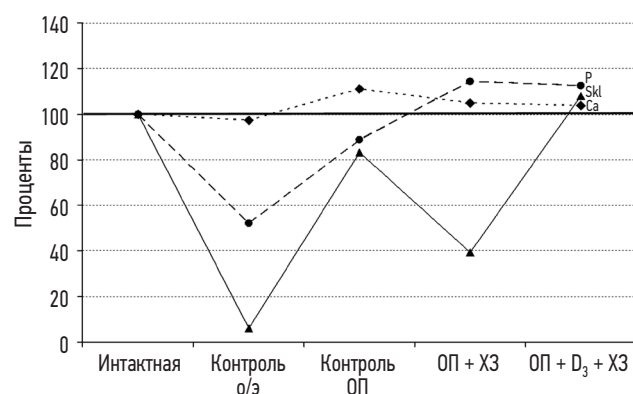
Склеростин — компонент семейства гликопротеинов, экспрессируется в остеоцитах и некоторых хондроцитах, ингибирует образование костей остеобластами. На поверхности остеоклада Skl связывается с корцепторами, способствует прерыванию Wnt-сигналикации, замедляя процесс остеобластогенеза и формирование костной ткани [30].

При формировании ОП повышается уровень Skl, а после назначения препарата ХЗ происходит падение его уровня. Комбинированная терапия ХЗ с витамином D<sub>3</sub> нормализует уровень Skl. Таким образом, Skl, играющий важную роль в метаболизме костной ткани, регулирует активность остеобластов с помощью системы отрицательной обратной связи [3]. При замедлении функций Skl снижается резорбция кости и происходит стимуляция повторного роста костной ткани (рис. 3).

Экспрессия Skl в остеоцитах в значительной степени регулируется гормонами, влияющими на метаболизм костной ткани: паратиреоидным гормоном, кальцитонином и глюкокортикоидами [36]. Показано, что уровень Skl в сыворотке крови обратно пропорционален уровню эстрогенов и достоверно высок у женщин в постменопаузе [35].

Данные, приведенные на рис. 3, свидетельствуют о зависимости динамики уровня Skl от двусторонней овариэктомии, после которой происходит его резкое снижение и последующий рост по мере формирования ОП, что коррелирует с динамикой уровня эстрогенов в крови. Уровень фосфора также отражает динамику ОП и его фармакотерапию — снижение, рост и последующую нормализацию P и Ca до уровня интактной группы. Такая динамика отражает эффективность проводимой антиостеопорозной терапии. Необходимо отметить, что на уровень P в периферической крови влияет не только интенсивность резорбции костной ткани, но и взаимодействие витамина D<sub>3</sub> с экспрессией FGF-23, формируя тем самым отрицательную обратную связь в регуляции канальцевой реабсорбции фосфатов.

Таким образом, назначение антиостеопорозного препарата ХЗ по схеме монотерапии и в комбинации с витамином D<sub>3</sub> приводит к значимому росту концентрации маркеров костного ремоделирования в сыворотке крови, что свидетельствует об усилении остеогенеза и остеобластогенеза.



**Рис. 3.** Динамика склеростина (Skl) и ионов Ca и P в сыворотке крови на этапах формирования экспериментальной модели остеопороза и его фармакотерапии препаратом ХЗ и витамином D<sub>3</sub>. Данные интактных крыс приняты за 100 %

**Fig. 3.** Dynamics of sclerostin (Skl) and Ca and P ions in blood serum at the stages of formation of an experimental model of osteoporosis and its pharmacotherapy with X3 and vitamin D<sub>3</sub>. The data of intact rats were taken as 100%

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разрабатываемый препарат ХЗ в отличие от других испытанных препаратов обеспечил повышение эффективности профилактики и лечения постменопаузального ОП на экспериментальной модели патологии. Использование кислых солей природного конформера солей янтарной кислоты в составе нового препарата вследствие увеличения биодоступности самой янтарной кислоты обеспечивает действие на сигнальные системы, биодоступности и усвоения макроэлементов (Ca, Zn, Mg) из состава препарата. При 30-кратном введении в течение 30 дней в терапевтической дозе препарат оказывает выраженный антиостеопорозный эффект.

Костное ремоделирование — это процесс обновления кости с целью сохранения ее прочности и минерального гомеостаза. Реконструкция включает непрерывное удаление дискретных участков старой кости, замену этих участков вновь синтезированной белковой матрицей с последующей ее минерализацией. Данные настоящего исследования, оценивающие процессы костного ремоделирования при ОП и на фоне антиостеопорозной терапии, показывают эффективность препарата ХЗ, которая значительно усиливается в комбинации с витамином D<sub>3</sub>.

Динамика исследуемых нами маркеров костного ремоделирования в сыворотке крови показала, что изменение этих маркеров отражает процессы остеокласто- и остеобластогенеза, определяемых другими методами, в частности в отношении концентрации макроэлементов и коллагена 1-го типа в костной ткани. Формирование ОП и его последующая фармакотерапия антиостеопорозным препаратом ХЗ и в комбинации с витамином D<sub>3</sub> приводит к значимому изменению уровня показателей остеобластогенеза — ОК, OPG — в крови, что свидетельствует о потенциации процессов остеогенеза, остеобластогенеза.

На фоне терапии препаратом ХЗ отмечали снижение концентрации RANKL и значительное увеличение уровня OPG в сыворотке крови, что свидетельствует об активации остеобластов и снижении потенциации остеокластов за счет снижения синтеза RANKL. Значительное снижение OPG происходит при формировании ОП, когда наиболее выражена резорбция костной ткани из-за активации остеокластов. Отмечается достоверное и многократное падение уровня OPG сразу после овариэктомии, что свидетельствует о гормонозависимом характере этого процесса.

Таким образом, назначение антиостеопорозного препарата ХЗ в виде монотерапии и в комбинации с витамином D<sub>3</sub> приводит к значимому росту концентрации маркеров костного ремоделирования в сыворотке крови, что свидетельствует об усилении остеогенеза, остеобластогенеза. Предлагаемое антиостеопорозное средство ХЗ может способствовать более эффективному лечению и профилактике возрастного и постменопаузального ОП и ОП молодого организма. Основываясь на полученных данных, можно предположить, что разрабатываемая технология

лечения ОП может оказаться более эффективной, чем принятые в настоящее время схемы, связанные с перегрузкой организма кальцием, когда увеличение плотности костной ткани в значительной степени обусловлено не обогащением органической компоненты кальцием, а довольно резким возрастанием минерализации и последующей хрупкости костной ткани. При избранном способе лечения будет уменьшена вероятность риска инвалидизирующих переломов, а соответственно, снижены финансовые затраты на профилактику, лечение и поддержание жизнедеятельности пациенток, страдающих постменопаузальным ОП.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Вклад авторов.** Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. Личный вклад каждого автора: Н.Ш. Мамина, Д.А. Лисовский, Н.А. Федоров, Т.Л. Каронова — написание статьи, анализ данных; А.А. Байрамов, П.Д. Шабанов — редактирование статьи, разработка общей концепции.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России на 2022–2025 гг. «Поиск молекулярных мишеней для фармакологического воздействия при аддитивных и нейроэндокринных нарушений и создание новых фармакологически активных веществ, действующих на рецепторы ЦНС» (FGWG-2022-0004).

**Этический комитет.** Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом ФГБНУ «ИЗМ (протокол № 6 от 09 июня 2022 г).

## ADDITIONAL INFORMATION

**Authors' contribution.** Thereby, all authors made a substantial contribution to the conception of the study, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the article, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the study. The contribution of each author: N.Sh. Mamina, D.A. Lisovskiy, N.A. Fedorov, T.L. Karonova — manuscript drafting, writing and pilot data analyses; A.A. Bairamov, P.D. Shabanov — paper reconceptualization and general concept discussion.

**Competing interests.** The authors declare that they have no competing interests.

**Funding source.** The work was carried out within the framework of the state task of the Ministry of Education and Science of Russia FGWG-2022-0004 for 2022-2025 "Search of molecular targets for pharmacological action in addictive and neuroendocrine disorders and the creation of new pharmacologically active substances acting on CNS receptors".

**Ethics approval.** The present study protocol was approved by the local Ethics Committee of the Institute of Experimental Medicine (09/06/2022, protocol No. 6).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Байрамов А.А., Маевский Е.И., Шабанов П.Д. Коррекция костного ремоделирования при экспериментальном остеопорозе // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2019. Т. 17, № 4. С. 43–50. DOI: 10.17816/RCF17443-50
2. Байрамов А.А., Мамина Н.Ш., Каронова Т.Л., Шабанов П.Д. Возможности прижизненной валидации модели экспериментального остеопороза // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2020. Т. 18, № 4. С. 365–367. DOI: 10.7816/RCF184365-367
3. Гребенникова Т.А., Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я., Мельниченко Г.А. Канонический сигнальный путь Wnt/ $\beta$ -катенин: от истории открытия до клинического применения // *Терапевтический архив*. 2016. Т. 88, № 10. С. 74–81. DOI: 10.17116/terarkh20168874-81
4. Добронравов В.А. Современный взгляд на патофизиологию вторичного гиперпаратиреоза: роль фактора роста фибробластов 23 и Klotho // *Нефрология*. 2011. Т. 15, № 4. С. 11–20. DOI: 10.24884/1561-6274-2011-15-4-11-20
5. Замараева Т.В. Метод определения содержания коллагеновых белков по оксипролину. Современные методы в биохимии / под ред. В.Н. Ореховича. Москва: Медицина, 1977. С. 262–264.
6. Кеттайл В.М., Арки Р.А. Патофизиология эндокринной системы / под ред. Ю.В. Наточина, Н.А. Смирнова; пер. с англ. М.Г. Королевой, Е.В. Кучинской. Москва: Бином, 2022. 335 с.
7. Котельников Г.П., Булгаков С.В. Остеопороз. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 504 с.
8. Кроненберг Г.М., Меламед Ш., Полонски К.С., Ларсен П.Р. Эндокринология по Вильямсону. Репродуктивная эндокринология / пер. с англ. Москва: Рид Элсивер, 2011. 410 с.
9. Левицкий А.П., Макаренко О.А., Денга О.В., и др. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза: Методические рекомендации. Киев: Авиценна, 2005. С. 31–38.
10. Лесняк О.М. Аудит состояния проблемы остеопороза в Российской Федерации // *Профилактическая медицина*. 2011. Т. 14, № 2. С. 7–10.
11. Маевский Е.И., Гришина Е.В., Хаустова Я.В., и др. Вновь о препаратах, содержащих сукцинат // *Гастроэнтерология Санкт-Петербурга*. 2017. № 1. С. 91–92.
12. Маевский Е.И., Рощенфельд А.С., Гришина Е.В., Кондрашова М.Н. Коррекция метаболического ацидоза путем поддержания функций митохондрий (монография). Пушкино: ИТЭБ РАН, 2001. 155 с.
13. Маевский Е.И., Учитель М.Л., Байрамов А.А., и др. Коррекция гормональной активности субстратными композициями у мужчин и женщин // *Гастроэнтерология Санкт-Петербурга*. 2017. № 2–3. С. 55–56.
14. ГОСТ 33044–2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики».
15. Митохондриальные процессы во временной организации жизнедеятельности / под ред. М.Н. Кондрашовой, В.В. Дынника, Ю.Г. Каминский, и др. Пушкино, 1978. 182 с.
16. Янтарная кислота в медицине, пищевой промышленности, сельском хозяйстве / под ред. М.Н. Кондрашовой, Ю.Г. Каминского, Е.И. Маевского. Пушкино: Институт теоретической и экспериментальной терапии, 1996. 300 с.
17. Патент на изобретение РФ № 2582973/ 27.04.2016. Байрамов А.А., Шабанов П.Д., Маевский Е.И., и др. Антиостеопорозное средство.
18. Поворознюк В.В., Григорьева Н.В. Менопауза и остеопороз. Киев: Здоровье, 2004. 356 с.
19. Риггз Б.Л., Мелтон Д. Остеопороз. Этиология, диагностика, лечение. Москва: Бином, 2000. С. 309–313.
20. Ходжсон С. Клиника Мэйо об остеопорозе / пер. с англ. Москва: Астрель, 2007. 237 с.
21. Терапевтическое действие янтарной кислоты / под ред. М.Н. Кондрашовой. Пушкино: Научный центр биологических исследований АН СССР, 1976. 255 с.
22. Фролькис В.В., Поворознюк В.В., Евтушенко О.А., Григорьева Н.В. Экспериментальный остеопороз // *Doctor*. 2003. № 6. С. 48–52.
23. Шараев П.Н. Метод определения свободного и связанного оксипролина в сыворотке крови // *Лабораторное дело*. 1981. № 5. С. 283–285.
24. Шутев Е.В. Значение фактора роста фибробластов-23 у больных хронической болезнью почек — обзор современных исследований // *Лечащий врач*. 2012. № 8. С. 35–42.
25. Bolland M.J., Grey A.B., Gamble G.D., Reid I.R. Effect of osteoporosis treatment on mortality: a meta-analysis // *J Clin Endocrinol Metab*. 2010. Vol. 95, No. 3. P. 1174–1181. DOI: 10.1210/jc.2009-0852
26. Cauley J.A., Thompson D.E., Ensrud K.C., et al. Risk of mortality following clinical fractures // *Osteoporosis Int*. 2000. Vol. 11. P. 556–561. DOI: 10.1007/s001980070075
27. EFFO, NOF. Who are candidates for prevention and treatment for osteoporosis? // *Osteoporosis Int*. 1997. Vol. 7. P. 1–6. DOI: 10.1007/BF01623453
28. IOF. Annual report. 2010. 18 p.
29. Kanis J.A., WHO Scientific Group. Assessment of osteoporosis at the primary health-care level technical report Sheffield. UK: WHO Collaborating Centre, University of Sheffield, 2008.
30. Kneissel M. The promise of sclerostin inhibition for the treatment of osteoporosis // *IBMS BoneKEy*. 2009. Vol. 6, No. 7. P. 259–264. DOI: 10.1138/20090388
31. MacLean C., Newberry S., Maglione M., et al. Systematic review: comparative effectiveness of treatments to prevent fractures in men and women with low bone density or osteoporosis // *Ann Intern Med*. 2007. Vol. 148. P. 197–213. DOI: 10.7326/0003-4819-148-3-200802050-00198
32. Bonnik S.L., Harris S.T., Kendler D.L., et al. Management of osteoporosis in postmenopausal women: 2010 position statement of the North American Menopause Society // *Menopause*. 2010. Vol. 17, No. 1. P. 25–54. DOI: 10.1097/gme.0b013e3181c617e6
33. NOF. Disease statistics. 2004.
34. NOF. Advocacy news and updates. American's bone health: The state of osteoporosis and low bone mass. 2011.
35. Silverman S.L. Sclerostin // *J Osteoporosis*. 2010. Vol. 2010. ID 941419. DOI: 10.4061/2010/941419
36. Sims N.A., Chia L.Y. Regulation of sclerostin expression by paracrine and endocrine factors // *Clin Rev Bone Miner Metab*. 2012. Vol. 10. P. 98–107. DOI: 10.1007/s12018-011-9121-7
37. Vasilieva A.A., Simonova M.A., Baimov A.A., et al. Correction of the functional state of female rats after unilateral ovariectomy using a succinate containing composition // *Cardiometry*. 2017. No. 10. P. 86–92. DOI: 10.12710/cardiometry.2017.8692
38. Vega D., Maalouf N.M., Sakhaee K. The role of receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B (RANK)/RANK ligand/osteoprotegerin: clinical implications // *J Clin Endocrinol Metab*. 2007. Vol. 92, No. 12. P. 4514–4521. DOI: 10.1210/jc.2007-0646
39. WHO. FRAX® WHO fracture risk assessment tool: calculation tool. 2011.



## REFERENCES

1. Bairamov AA, Maevsky EI, Shabanov PD. Correction of bone remodeling in experimental osteoporosis. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2019;17(4):43–50. (In Russ.) DOI: 10.17816/RCF17443-50
2. Bairamov AA, Mamina NS, Karonova TL, Shabanov PD. Possibilities of in vivo validation of a model of experimental osteoporosis. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2020;18(4):365–367. (In Russ.) DOI: 10.7816/RCF184365-367
3. Grebennikova TA, Belaya ZE, Rozhinskaya LY, Melnichenko GA. The canonical Wnt/ $\beta$ -catenin pathway: From the history of its discovery to clinical application. *Therapeutic archive*. 2016;88(10):74–81. (In Russ.) DOI: 10.17116/terarkh201688674-81
4. Dobronravov VA. Current view on the pathophysiology of secondary hyperparathyroidism: role of fibroblast growth factor 23 and klotho. *Nephrology (Saint-Petersburg)*. 2011;15(4):11–20. (In Russ.) DOI: 10.24884/1561-6274-2011-15-4-11-20
5. Zamaraeva TV. Metod opredeleniya soderzhaniya kollagenovykh belkov po oksiprolinu. Ed. by V.N. Orekhovich. *Sovremennye metody v biokhimi*. Moscow: Meditsina, 1977. P. 262–264. (In Russ.)
6. Kettaïl VM, Arki RA. *Patofiziologiya ehndokrinnoi sistemy*. Ed. by Yu.V. Natochin, N.A. Smirnov; transl. from eng. M.G. Koroleva, E.V. Kuchinskii. Moscow: Binom, 2022. 335 p. (In Russ.)
7. Kotelnikov GP, Bulgakov SV. *Osteoporoz*. Moscow: GEOTAR-Media, 2010. 504 p. (In Russ.)
8. Kronenberg GM, Melamed SH, Polonski KS, Larsen PR. *Ehndokrinologiya po Vil'yamsonu. Reproktivnaya ehndokrinologiya*. Moscow: Rid Elsevier. 2011. 410 p. (In Russ.)
9. Levitskii AP, Makarenko OA, Den'ga OV, et al. *Ehksperimental'nye metody issledovaniya stimulyatorov osteogeneza: Metodicheskie rekomendatsii*. Kyiv: Avitsenna, 2005. P. 31–38. (In Russ.)
10. Lesniak OM. Osteoporosis audit in the Russian Federation. *The Russian Journal of Preventive Medicine*. 2011;14(2):7–10. (In Russ.)
11. Maevskii EI, Grishina EV, Khaustova YaV, et al. Vnov' o preparatakh, soderzhashchikh suksinat. *Gastroehnterologiya Sankt-Peterburga*. 2017;(1):91–92. (In Russ.)
12. Maevskii EI, Roshchenfel'd AS, Grishina EV, Kondrashova MN. *Korreksiya metabolicheskogo atsidoza putem podderzhaniya funktsii mitokhondrii (monografiya)*. Pushino: ITEHB RAN, 2001. 155 p. (In Russ.)
13. Maevskii EI, Uchitel' ML, Bairamov AA, et al. Korrektsiya gormonal'noi aktivnosti substratnymi kompozitsiyami u muzhchin i zhenshchin. *Gastroehnterologiya Sankt-Peterburga*. 2017;(2–3): 55–56. (In Russ.)
14. GOST 33044–2014 "Printsipy nadlezhashchei laboratornoi praktiki". (In Russ.)
15. Kondrashova MN, Dynnik VV, Kaminskii YuG, et al editors. *Mitokhondrial'nye protsessy vo vremennoi organizatsii zhiznedeyatel'nosti*. Pushchino, 1978. 182 p. (In Russ.)
16. Kondrashova MN, Kaminskii YuG, Maevskogo EI, editors. *Yantarnaya kislota v meditsine, pishchevoi promyshlennosti, sel'skom khozyaistve*. Pushchino: Institut teoreticheskoi i ehksperimental'noi terapii, 1996. 300 p. (In Russ.)
17. Patent RU № 2582973/ 2016.04.27. Bairamov AA, Shabanov PD, Maevskii EI, et al. *Antiosteoporoznoe sredstvo*. (In Russ.)
18. Povoroznyuk VV, Grigor'eva NV. *Menopauza i osteoporoz*. Kyiv: Zdorov'e, 2004. 356 p. (In Russ.)
19. Riggz BL, Melton D. Osteoporoz. *Ehtologiya, diagnostika, lechenie*. Moscow: Binom, 2000. P. 309–313. (In Russ.)
20. Khodzhson S. *Klinika Mehio ob Osteoporoze*. Moscow: Astrel', 2007. 237 p. (In Russ.)
21. Kondrashova MN, editor. *Terapevticheskoe deistvie yantarnoi kisloty*. Pushchino: Nauchnyi tsentr biologicheskikh issledovani AN SSSR, 1976. 255 p. (In Russ.)
22. Frol'kis VV, Povoroznyuk VV, Evtushenko OA, Grigor'eva NV. Ehksperimental'nyi osteoporoz. *Doctor*. 2003;(6):48–52. (In Russ.)
23. Sharaev PN. Metod opredeleniya svobodnogo i svyazannogo oksiprolina v syvorotke krovi. *Laboratornoe delo*. 1981;(5):283–285. (In Russ.)
24. Shutov EV. Value of the factor of growth in the fibroblasts FGF-23 in patients with chronic renal disease. *Survey. LVrach*. 2012;(8): 35–42. (In Russ.)
25. Bolland MJ, Grey AB, Gamble GD, Reid IR. Effect of osteoporosis treatment on mortality: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(3):1174–1181. DOI: 10.1210/jc.2009-0852
26. Cauley JA, Thompson DE, Ensrud KC, et al. Risk of mortality following clinical fractures. *Osteoporosis Int*. 2000;11:556–561. DOI: 10.1007/s001980070075
27. EFFO, NOF. Who are candidates for prevention and treatment for osteoporosis? *Osteoporos Int*. 1997;7:1–6. DOI: 10.1007/BF01623453
28. IOF. *Annual report*. 2010. 18 p.
29. Kanis JA, WHO Scientific Group. *Assessment of osteoporosis at the primary health-care level technical report Sheffield*. UK: WHO Collaborating Centre, University of Sheffield, 2008.
30. Kneissel M. The promise of sclerostin inhibition for the treatment of osteoporosis. *IBMS BoneKEy*. 2009;6(7):259–264. DOI: 10.1138/20090388
31. MacLean C, Newberry S, Maglione M, et al. Systematic review: comparative effectiveness of treatments to prevent fractures in men and women with low bone density or osteoporosis. *Ann Intern Med*. 2007;148:197–213. DOI: 10.7326/0003-4819-148-3-200802050-00198
32. Bonnik SL, Harris ST, Kendler DL, et al. Management of osteoporosis in postmenopausal women: 2010 position statement of the north american menopause society. *Menopause*. 2010;17(1):25–54. DOI: 10.1097/gme.0b013e3181c617e6
33. NOF. *Disease statistics*. 2004.
34. NOF. *Advocacy news and updates. American's bone health: The state of osteoporosis and low bone mass*. 2011.
35. Silverman SL. Sclerostin. *J Osteoporos*. 2010;2010:941419. DOI: 10.4061/2010/941419
36. Sims NA, Chia LY. Regulation of sclerostin expression by paracrine and endocrine factors. *Clin Rev Bone Miner Metab*. 2012;10:98–107. DOI: 10.1007/s12018-011-9121-7
37. Vasilieva AA, Simonova MA, Bairamov AA, et al. Correction of the functional state of female rats after unilateral ovariectomy using a succinate containing composition. *Cardiometry*. 2017;(10):86–92. DOI: 10.12710/cardiometry.2017.8692
38. Vega D, Maalouf NM, Sakhaee K. The role of receptor activator of nuclear factor-kappaB (RANK)/RANK ligand/osteoprotegerin: clinical implications. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(12):4514–4521. DOI: 10.1210/jc.2007-0646
39. WHO. *FRAX® WHO fracture risk assessment tool: calculation tool*. 2011.

## ОБ АВТОРАХ

**\*Алекбер Азизович Байрамов**, д-р мед. наук, вед. научн. сотр. Института эндокринологии; вед. научн. сотр. отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова; адрес: Россия, 197022, ул. Академика Павлова, д. 12; ORCID: 0000-0002-0673-8722; eLibrary SPIN: 9802-9988; e-mail: alekber@mail.ru

**Наиля Шамилевна Мамина**, аспирант.  
E-mail: nelya-mamina@yandex.ru

**Дмитрий Александрович Лисовский**, аспирант.  
ORCID: 0009-0006-0652-2864; eLibrary SPIN: 8261-4465; e-mail: lisovskiy\_d\_med@mail.ru

**Никита Алексеевич Федоров**, лаборант.  
E-mail: 1701221@mail.ru

**Татьяна Леонидовна Каронова**, д-р мед. наук, заведующая лабораторией;  
ORCID: 0000-0002-1547-0123; eLibrary SPIN: 3337-4071; e-mail: karonova@mail.ru

**Петр Дмитриевич Шабанов**, д-р мед. наук, профессор, заведующий отделом нейрофармакологии им. С.В. Аничкова; ORCID: 0000-0003-1464-1127; eLibrary SPIN: 8974-7477; e-mail: pdshabanov@mail.ru

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

## AUTHORS' INFO

**\*Alekber A. Bairamov**, Dr. Med. Sci. (Pharmacology), leading research associate, Institute of Endocrinology; leading research associate, Department of Neuropharmacology; address: 12 Akademika Pavlova st., Saint Petersburg, 197022, Russia; ORCID: 0000-0002-0673-8722; eLibrary SPIN: 9802-9988; e-mail: alekber@mail.ru

**Nailya Sh. Mamina**, postgraduate student.  
E-mail: nelya-mamina@yandex.ru

**Dmitriy Lisovskiy**, postgraduate student.  
ORCID: 0009-0006-0652-2864; eLibrary SPIN: 8261-4465; e-mail: lisovskiy\_d\_med@mail.ru

**Nikita A. Fedorov**, laboratory assistant.  
E-mail: 1701221@mail.ru

**Tatiana L. Karonova**, Dr. Med. Sci. (Endocrinology), head of the Laboratory of Clinical Endocrinology; ORCID: 0000-0002-1547-0123; eLibrary SPIN: 3337-4071; e-mail: karonova@mail.ru

**Petr D. Shabanov**, Dr. Med. Sci. (Pharmacology), professor and head, Department of Neuropharmacology; ORCID: 0000-0003-1464-1127; eLibrary SPIN: 8974-7477; e-mail: pdshabanov@mail.ru