

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОСТЕОГЕНЕЗА ПРИ МЕДИКАМЕНТОЗНОЙ ТЕРАПИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОСТЕОПОРОЗА

Лисовский Д. А.¹, Мамина Н. Ш.¹, Дробленков А. В.¹,
Байрамов А. А.^{1,2}, Бобков П. С.¹, Фёдоров Н. А.²,
Каронова Т. Л.², Шабанов П. Д.¹

Контактная информация:

Лисовский Дмитрий Александрович,
ФГБНУ «ИЭМ»,
ул. Академика Павлова, д. 12,
Санкт-Петербург, Россия, 197022.
E-mail: lisovskiy_d_med@mail.ru

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

² Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр имени
В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской
Федерации, Санкт-Петербург

Статья поступила в редакцию
18.10.2023 и принята к печати 23.11.2023.

Резюме

Актуальность. Остеопороз представляет собой клинко-экономическую проблему мирового масштаба. Существенным вкладом в решение проблемы эффективного лечения остеопороза может стать создание препаратов на основе уникальных биологически активных соединений. **Целью** исследования явилось морфологическое обоснование экспериментальной модели остеопороза и комплексная (многофакторная) оценка эффективности его медикаментозной терапии. **Материалы и методы.** Исследование выполнено на 40 половозрелых самках крыс Вистар, которые составили 6 групп. У животных четырех опытных групп (по 6 особей в каждой) формировали модель остеопороза: первую и вторую группу (соответственно) составили крысы молодого возраста, третью и четвертую — старого. Животным второй и четвертой групп вводили препарат, апробируемый на способность активировать процесс остеосинтеза. Крысы пятой и шестой групп (молодые и старые, по 8 особей в каждой), подвергнутые ложной операции, служили контролями. В результате применения гистоморфометрического метода и атомно-абсорбционной спектроскопии в диафизах бедренных костей устанавливали толщину слоев компактного вещества, число костных пластинок и остеоцитов, а также количество коллагена, кальция и фосфора. При помощи иммуноферментного анализа в сыворотке крови устанавливали маркеры костного ремоделирования — остеокальцина, склеростина, остеопротегерина, фактора роста фибробластов-23 и лиганда активатора ядерного фактора каппа-β (RANKL). Статистическую обработку данных проводили с использованием программы GraphPad PRISM (USA) определения медианы, верхнего и нижнего квартилей. Различия считали значимыми при $p < 0,01$. **Результаты.** Моделирование остеопороза индуцирует атрофическое истончение компактного вещества, снижение числа остеоцитов и костных пластинок в диафизах бедренных костей, уменьшение в них содержания коллагена, кальция и фосфора, снижение концентрации остеокальцина, склеростина, фактора роста фибробластов, остеопротегерина и увеличение концентрации RANKL в плазме крови, более выраженные у старых животных. В результате использования препарата ХЗ для терапии остеопороза выявлены: значительное увеличение толщины компактного вещества, количества остеоцитов и костных пластинок в диафизах, содержания в них коллагена, кальция и фосфора, увеличение концентрации биохимических маркеров остеосинтеза, слабо выраженный дисбаланс RANKL. Увеличение содержания в плазме маркеров кост-

ного ремоделирования было наиболее выраженным при комбинации препарата ХЗ с витамином ДЗ.

Заключение. 1. Использованный эндокринно-хирургический способ моделирования остеопороза приводит к выраженным дегенеративным изменениям остеоцитов и их производных во всех отделах компактного вещества кости, а также вызывает значительные нарушения минерального состава и дисбаланс маркеров костного ремоделирования, более выраженные у сенильных крыс. 2. Тестируемый препарат ХЗ, использованный для терапии остеопороза, обладает высокой степенью эффективности, поскольку стимулирует регенераторный остеогенез, восстанавливает нарушенное строение элементов костной ткани, ее органических и минеральных компонентов. 3. Восстановительный эффект препарата более выражен у сенильных крыс.

Ключевые слова: антиостеопорозное средство, коллаген, костное ремоделирование, костные пластинки, маркеры остеогенеза, остеопороз, остеоциты.

Для цитирования: Лисовский Д.А., Мамина Н.Ш., Дробленков А.В. и др. Морфологическая и биохимическая характеристика остеогенеза при медикаментозной терапии экспериментального остеопороза. Трансляционная медицина. 2023;10(6):535-548. DOI: 10.18705/2311-4495-2023-10-6-535-548. EDN: LOUQMK

MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF OSTEOGENESIS DURING DRUG THERAPY OF EXPERIMENTAL OSTEOPOROSIS

Dmitriy A. Lisovsky¹, Nailya Sh. Mamina¹, Andrey V. Drobленkov¹, Alekber A. Bairamov^{1,2}, Pavel S. Bobkov¹, Nikita A. Fedorov¹, Tatiana L. Karonova², Petr D. Shabanov¹

¹ Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

² Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:

Dmitriy A. Lisovsky,
Institute of Experimental Medicine,
Akademika Pavlova str., 12,
Saint Petersburg, Russia, 197022.
E-mail: lisovskiy_d_med@mail.ru

Received 18 October 2023; accepted
23 November 2023.

Abstract

Relevance. Osteoporosis is a clinical and economic problem on a global scale. A significant contribution to solving the problem of effective treatment of osteoporosis can be the creation of drugs based on unique biologically active compounds. The **aim** of the study was the morphological substantiation of the experimental model of osteoporosis and a comprehensive (multifactorial) assessment of the effectiveness of its drug therapy. **Materials and methods.** The study was carried out on 40 mature female Wistar rats, which comprised 6 groups. A model of osteoporosis was formed in animals of four experimental groups (6 animals in each): the first and second groups (respectively) consisted of young rats, the third and fourth — old ones. Animals of the second and fourth groups were injected with a drug tested for its ability to activate the process of osteosynthesis. Rats of the fifth and sixth groups (young and old, 8 animals each), subjected to sham surgery, served as controls. As a result of the use of the histo-morphometric method and atomic absorption spectroscopy in the diaphysis of the femur, the thickness of the layers of the compact substance, the number of bone plates and osteocytes, as well as the amount of collagen, calcium and phosphorus were determined. Using enzyme immunoassay, bone remodeling markers — osteocalcin, sclerostin, osteoprotegerin, fibroblast growth factor-23 and nuclear factor kappa- β activator ligand (RANKL) — were determined in the blood serum. Statistical processing of the data was carried out using the GraphPad PRISM (USA) program to determine the median, upper and lower quartiles.

Differences were considered significant at $p < 0.01$. **Results.** Modeling of osteoporosis induces atrophic thinning of the compact substance, a decrease in the number of osteocytes and bone plates in the diaphysis of the femur, a decrease in the content of collagen, calcium and phosphorus in them, a decrease in the concentration of osteocalcin, sclerostin, fibroblast growth factor, osteoprotegerin and an increase in the concentration of RANKL in the blood plasma, more pronounced in old animals. As a result of the use of the drug X3 for the treatment of osteoporosis, the following were revealed: a significant increase in the thickness of the compact substance, the number of osteocytes and bone plates in the diaphysis, the content of collagen, calcium and phosphorus in them, an increase in the concentration of biochemical markers of osteosynthesis, and a mild imbalance of RANKL. The increase in plasma levels of markers of bone remodeling was most pronounced when the drug X3 was combined with vitamin D3. **Conclusion.** 1. The used surgical-endocrine method of modeling osteoporosis leads to pronounced degenerative changes in osteocytes and their derivatives in all parts of the compact bone substance, and also causes significant disturbances in the mineral composition and an imbalance of bone remodeling markers, more pronounced in senile rats. 2. The tested drug X3, used for the treatment of osteoporosis, has a high degree of effectiveness, since it stimulates regenerative osteogenesis, restores the damaged structure of bone tissue elements, its organic and mineral components. 3. The restorative effect of the drug is more pronounced in senile rats.

Key words: anti-osteoporotic agent, bone plates, bone remodeling, collagen, osteocytes, osteogenesis markers, osteoporosis.

For citation: Lisovsky DA, Mamina NS, Droblenkov AV, et al. Morphological and biochemical characteristics of osteogenesis during drug therapy of experimental osteoporosis. Translyatsionnaya meditsina=Translational Medicine. 2023;10(6):535-548 (In Russ.) DOI: 10.18705/2311-4495-2023-10-6-535-548. EDN: LOUQMK

Список сокращений: ВОЗ — Всемирная организация здравоохранения, ИФА — иммуноферментный анализ, ОК — остеокальцин, ОП — остеопороз, FGF23 — фактор роста фибробластов-23, IOF — International Osteoporosis Foundation, OPG — остеопротегерин, RANKL — лиганд активатора ядерного фактора каппа- β , Skl — склеростин.

Введение

Остеопороз (ОП) представляет собой проблему во всем мире с важными клиническими и экономическими последствиями [1, 2]. Действительно, переломы, связанные с остеопорозом, являются причиной значительного роста заболеваемости, инвалидности и смертности, особенно у пожилых людей, что существенно увеличивает расходы на здравоохранение [1–3].

По данным ВОЗ, 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 являются основной причиной болезни, нетрудоспособности и смерти и составляют огромную статью расходов в здравоохранении [4–6]. Женщины в постме-

нопаузальный период наиболее уязвимы и чаще подвержены остеопорозу по сравнению с мужчинами — 80 % из всех пациентов с ОП составляют женщины [4, 5].

ОП — 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 [7]. По данным International Osteoporosis Foundation (IOF) [8], ОП страдают около 75 млн человек в Европе, США и Японии [8, 9]. По прогнозам IOF, к 2050 году в связи с увеличением продолжительности жизни во всем мире, число случаев перелома костей тазобедренного сустава вследствие ОП увеличится 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 инвалидностью от хронических неинфекционных заболеваний (ревматоидный артрит, астма и артериальная гипертензия) [6, 10, 11].

Согласно исследованиям НИИ ревматологии РАМН, в России ОП имеют 33,8 % женщин и 26,9 % мужчин старше 50 лет, у 43,3 % женщин и 44,1 % мужчин определяются признаки остеопении [12, 13]. 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 постарением населения число больных ОП в России вырастет на 1/3 к 2050 году [12]. 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 гг. должна увеличиться в два раза [3].

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 остеопороза [14, 15]. В связи с ростом числа пожилых людей, это заболевание становится медико-социальной проблемой.

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

Новым подходом в профилактике и лечении сенильного и постменопаузального остеопороза и дефицита витамина D_3 в частности, является применение в лекарственной терапии комплекса кислых солей янтарной кислоты, потенциально влияющего на усвоение макро- и микроэлементов костной ткани, на биотрансформацию витамина D_3 и повышающего биодоступность его активных форм в организме [12, 16–19]. Из природных субстратов-метаболитов кислые соли сукцината являются наиболее сильными модуляторами орфанных рецепторов, кальциевых каналов L-типа, активируют аккумуляции Ca^{2+} внутри клетки эндоплазматическим и саркоплазматическим ретикуломом и митохондриями, активируют лимитирующий этап в метаболизме холестерина — вход в митохондрий и последующую биотрансформацию в активные формы стероидов [16, 18, 20, 21]. В экспериментальном исследовании сукцинат-содержащий комплексный препарат повышал индекс массы костной ткани, увеличивал синтез эстрогенов и андрогенов в условиях гормональ-

ного дефицита [17, 19, 22]. Ожидаемый результат от внедрения технологии — эффективная терапия в профилактике и лечении ОП, дефицита витамина D_3 и, соответственно, снижение количества опорно-двигательных, эндокринных и кардиоваскулярных заболеваний, уменьшение риска инвалидизации и преждевременной смерти [16, 17, 23–25].

Вместе с тем в литературе отсутствует системное представление о дегенеративных изменениях элементов костной ткани при моделировании остеопороза и степени обратимости этих изменений при заместительной терапии.

Таким образом, целью данной работы являлось морфологическое обоснование экспериментальной модели остеопороза и комплексная (многофакторная) оценка эффективности его медикаментозной терапии у самок крыс разного возраста в хроническом опыте продолжительностью 30 дней.

Материалы и методы

Исследование выполнено на 40 половозрелых самках крыс Вистар, которые составили 6 групп. У животных четырех опытных групп (по 6 особей в каждой) согласно «Правилам лабораторной практики в Российской Федерации» (приказ МЗ РФ от 2003 г. № 267) формировали модель остеопороза. Первую и вторую группы (соответственно) составили крысы 4-6-месячного (молодого) возраста массой 240–260 г, третью и четвертую — 12-14-месячного (сенильного) возраста массой 360–420 г. Животным второй и четвертой групп после экспериментального формирования остеопороза вводили препарат, апробируемый на способность активировать процесс остеосинтеза. Крысы пятой и шестой групп (молодые и старые, по 8 особей в каждой), подвергнутые ложной операции, служили контролями.

Метод создания экспериментальной модели остеопороза, использованный в настоящем исследовании, описан в ряде работ [1, 12, 26, 27]. Суть метода заключается в двустороннем хирургическом удалении яичников у самок крыс, с последующим двукратным введением преднизолона. Двусторонняя овариэктомия проведена в соответствии с рекомендациями, изложенными в руководстве Бунока (1968 г.). 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, поочередно,

налево и направо, делали прокол в задней части брюшной полости. Правый или левый рог матки выводили через прокол наружу, затем находили яичник и электрокаутером отсекали его от рога матки. Аналогичным образом 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 происходило на 7–9 день. Через 3 недели после операции самкам крыс внутрибрюшинно вводили раствор преднизолона в дозе 25 мг/кг. Второе введение преднизолона аналогичным способом и в аналогичной дозировке осуществляли через 15 дней. Для оценки выраженности остеопороза использовали методику прижизненной валидации этой патологии по определению маркеров костного ремоделирования в крови [28].

По окончании эксперимента у молодых декапитированных животных были извлечены и исследованы правые и левые бедренные кости при помощи гистоморфологических методов. Декальцинацию костей после их предварительной фиксации в формалине осуществляли, погружая их в смесь 8% соляной и 10% муравьиной кислот согласно принятому протоколу [29].

Продольные срезы средней части диафиза правой и левой бедренной кости ($n = 8$) толщиной 4 мкм окрашивали гематоксилином Майера и эозином. Толщину трех частей компактного вещества диафиза — остеоидного слоя, слоев наружных и внутренних общих костных пластинок, а также количество костных пластинок остеоидного слоя измеряли в каждом срезе пять раз с пошаговым интервалом 50 мкм (n , общее число подсчетов = 40). Количество остеоцитов подсчитывали в остеоидном слое на площади каждого среза, равной 0,5 мм².

Состояние обмена коллагена в костной ткани оценивали методом атомно-абсорбционной спектроскопии по содержанию в гомогенате эпифиза бедренной кости суммарного коллагена, рассчитанного по количеству гидроксипролина [30, 31]. Изучение минерального компонента костной ткани выполнено с помощью атомно-адсорбционной спектроскопии (спектрометр фирмы Varian). Маркеры костного ремоделирования (остеокальцин (ОК), склеростина, остеопротегерина (OPG), фактора роста фибробластов-23 (FGF23) и лиганда активатора ядерного фактора каппа-β (*RANKL*) в сыворотке крови при остеопорозе определяли с помощью ИФА-наборов для иммуноферментного анализа.

Объектом исследования являлся создаваемый лекарственный препарат на основе солей янтарной кислоты, средство для лечения остеопороза (далее — препарат ХЗ, патент на изобретение RU 2582973C1) [32]. 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 с требованиями к лабораторным исследованиям стандарта GLP [33].

При использовании пакета статистической программы GraphPad PRISM 6.0 (GraphPad Software, USA) было установлено, что распределение параметров каждого вариационного ряда было отличным от нормального. Поэтому для установления достоверности различий величин вычисляли их медиану, верхний и нижний квартили, которые сравнивали, используя непараметрический критерий Манна-Уитни. Различия считали значимыми при $p < 0,01$.

Результаты исследования и обсуждение

1. Установление гистоморфологических изменений элементов костной ткани диафизов бедренных костей при остеопорозе и после заместительной терапии

Слои компактного вещества кости и составляющие их костные пластинки в продольно срезанных диафизах бедренных костей у контрольных крыс были ориентированы преимущественно правильным прямолинейным образом.

В результате моделирования остеопороза в компактном веществе диафизов бедренных костей происходило уменьшение размеров и сморщивание остеоцитов, уменьшение размеров и деформация компонентов остеонов, истончение слоев компактного вещества, уменьшение числа костных пластинок и остеоцитов в остеоидном слое (рис. 1, табл. 1 и 2). При этом дегенеративно измененные костные пластинки и слои компактного вещества кости сохранили продольную упорядоченную архитектуру.

После моделирования остеопороза и воздействия препарата ХЗ наблюдалось восстановление размеров и формы как остеоцитов, так и остеонов, определяемых визуально, расширение слоев компактного вещества, увеличение числа костных пластинок и остеоцитов до значений, значительно превышающих соответствующие параметры у контрольных крыс. Вместе с тем многие костные пластинки и слои кости были расположены иррегулярно.

Таким образом, моделирование остеопороза эндокринно-хирургическим способом индуци-

рует выраженные дегенеративные изменения остеоцитов и их производных во всех отделах компактного вещества кости. Использование при остеопорозе тестируемого препарата ХЗ стиму-

лирует регенераторный остеогенез, восстанавливает исходное строение элементов костной ткани, однако нарушает ее архитектуру.

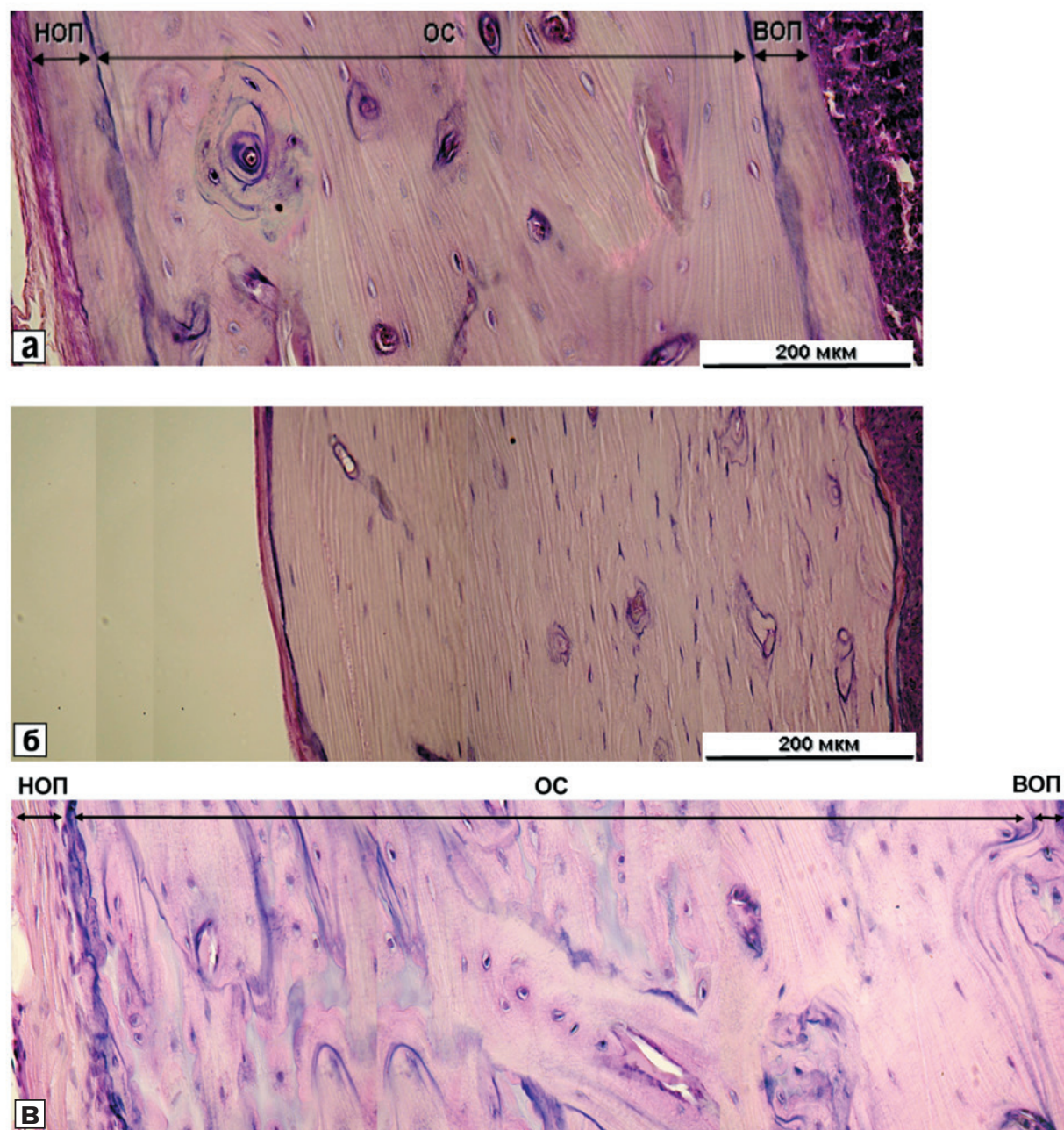


Рис. 1. Строение средней части диафиза бедренной кости в продольном сечении:

а — контроль, б — после моделирования остеопороза, в — после остеопороза и терапии препаратом ХЗ. Обозначения компонентов компактного вещества кости: НОП — наружные общие пластинки, ОС — остеоидный слой, ВОП — внутренние общие пластинки. Окрашивание декальцинированной кости гематоксилином Майера и эозином; ок. x10, об. 40

Figure 1. Structure of the midshaft of the femur in longitudinal section:

а — control, б — after modeling osteoporosis, в — after osteoporosis and treatment with drug ХЗ. Designations of bone compact substance components: NOF — outer cortical plates, OS — osteoid layer, ICP — inner cortical plates. Staining of decalcified bone with Mayer's hematoxylin and eosin; mag. x10, obj. 40

Таблица 1. Толщина компактного вещества диафиза бедренной кости при остеопорозе и после терапии производным янтарной кислоты у крыс (25 %/Med/75 %)

Table 1. Thickness of the compact substance of the femur diaphysis in osteoporotic rats and after treatment with amber acid derivative (25 %/Med/75 %)

Параметры Способ воздействия	Толщина (мкм)		
	наружных общих пластинок	остеоидного слоя	внутренних общих пластинок
Нет (интактные крысы)	55,6 / 61,1 / 72,2	638,9 / 672,2 / 694,4	55,5 / 61,0 / 64,8
Остеопороз	35,1 / 41,0 / 48,0*	392,7 / 431,9 / 461,8*	30,6 / 37,6 / 43,7*
Остеопороз и лечение	87,6 / 93,3 / 104,2**	947,5 / 986,9 / 1004,0**	77,7 / 87,7 / 93,1**

Примечание: * — различия с параметрами у контрольных животных значимы (P value < 0,0001); ** — различия с параметрами у опытных крыс значимы (P value < 0,0001); количество подсчетов (n) = 40.

Note: * — differences from parameters in control animals are significant (P value < 0.0001); ** — differences from parameters in experimental rats are significant (P value < 0.0001); number of measurements (n) = 40.

Таблица 2. Количественные параметры остеоидного слоя диафиза бедренной кости при остеопорозе и после терапии производным янтарной кислоты у крыс (25 %/Med/75 %)

Table 2. Quantitative Parameters of the Osteoid Layer of the Femur Diaphysis in Osteoporotic Rats and After Treatment with Amber Acid Derivative (25 %/Med/75 %)

Параметры Способ воздействия	Количество	
	костных пластинок (число подсчетов n = 40)	остеоцитов (число подсчетов n = 8)
Нет (интактные крысы)	28,3 / 30,1 / 32,4	46,7 / 52,5 / 57,2
Остеопороз	18,9 / 20,0 / 21,2*	21,2 / 25,1 / 26,7*
Остеопороз и лечение	33,0 / 34,3 / 35,1**	86,1 / 90,0 / 93,3**

Примечание: * — различия с параметрами у контрольных животных значимы (P value < 0,0001); ** — различия с параметрами у опытных крыс значимы (P value < 0,0001).

Note: * — differences from parameters in control animals are significant (P value < 0.0001); ** — differences from parameters in experimental rats are significant (P value < 0.0001).

2. Содержание коллагена и кальция в диафизах костей у самок крыс с экспериментальным остеопорозом

При ОП у 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 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 диафиза бедренной кости суммарного коллагена, рассчитанному по количеству гидроксипролина (рис. 2). 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 разной степе-

ни. У молодых крыс с экспериментальным остеопорозом препарат ХЗ значительно 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 (control 2) снижение коллагена после формирования остеопороза было более выраженным, и назначение препарата оказывало более значимое терапевтическое действие — рост концентрации оксипролина составил 21, 2 % ($p < 0,05$).

Следовательно, эффективность предлагаемого антиостеопорозного средства ХЗ достаточна для увеличения белкового матрикса костной ткани и восстановления органической компоненты 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 ее ломкость.

Таким образом, 30-дневное пероральное назначение препарата ХЗ значительно увеличивало содержа-

ние суммарного коллагена в костной ткани по сравнению с контрольной группой, как у старых, так и молодых крыс. При этом интенсивность синтеза коллагена более выражена у сенильных крыс.

3. Оценка маркеров костного ремоделирования в периферической крови

Костное ремоделирование представляет собой непрерывный процесс, посредством которого происходит обновление кости с целью сохранения ее прочности и минерального гомеостаза, при этом формирование и резорбция являются тесно связанными процессами. В процессе ремоделирования взамен старой костной ткани образуется новая ткань. Цикл ремоделирования костной ткани составляет 5-6 месяцев 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 [34].

Как видно из рисунка 3, лиганды рецептора RANKL при формировании остеопороза повышаются, возможно, как компенсаторная реакция

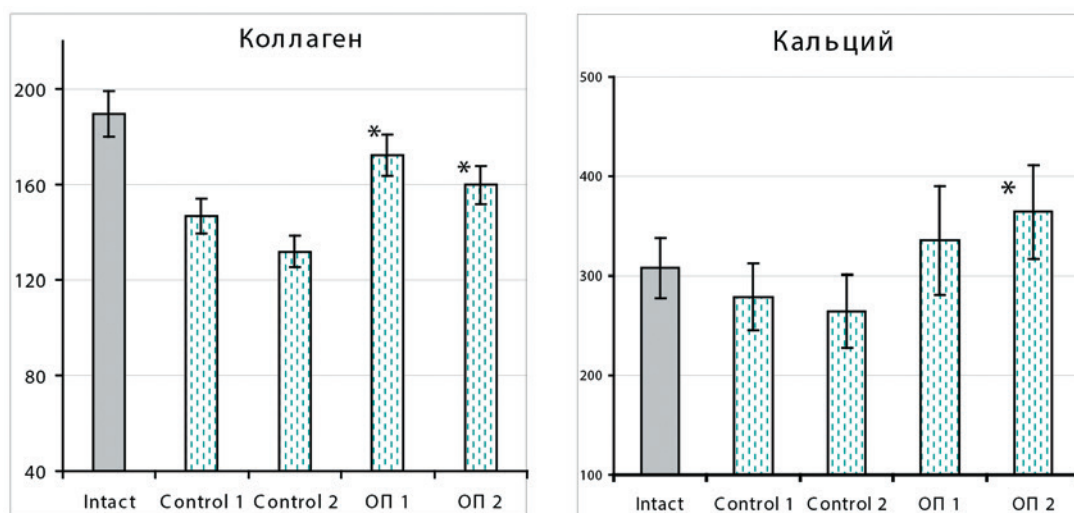


Рис. 2. Содержание коллагена (в ммоль/кг) и кальция (в мг/г) в диафизе самок крыс с экспериментальным остеопорозом на фоне терапии антиостеопорозным препаратом

Примечание: 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 параметрами контрольной группы и 12-14-месячных крыс.

Figure 2. Collagen content (in mmol/kg) and calcium content (in mg/g) in the diaphysis of female rats with experimental osteoporosis treated with an anti-osteoporosis drug

Note: EP1 — experimental group of 4-6-month-old young females receiving the anti-osteoporosis agent (62.5 mg/kg). EP2 — experimental group of 12-14-month-old females receiving the anti-osteoporosis agent (62.5 mg/kg). * — $p < 0.05$, the difference is significant compared to the control and 12-14-month-old rats.

на активацию резорбции костной ткани, соответственно, в большем количестве попадают 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 остеокальцину. ОК — это белок, вырабатываемый остеобластами, способный связывать кальций и стабилизировать четвертичную структуру коллагена, контролируя сборку костного матрикса — остеона. Как видно из рисунка, уровень ОК по мере формирования остеопороза снижается и снижение его концентрации в крови отражает снижение выработки коллагена остеобластами. Назначение антиостеопорозного препарата ХЗ и в комбинации с витамином ДЗ приводит к значимому росту концентрации ОК в крови, что свидетельствует об усилении остеогенеза, остеобластогенеза. На фоне терапии препаратом ХЗ снижается и концентрация RANKL в крови, что также свидетельствует об активации остеобластов и снижении необходимости потенциации остеобластов за счет синтеза RANKL.

Также очень важной является динамика остеопротегерина. При костном ремоделировании OPG, в свою очередь, блокирует RANK-рецепторы, ингибируя функцию остеокластов [34–38]. 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 рисунка 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, что более резкое снижение OPG происходит сразу после овариоэктомии, что свидетельствует о гормон-зависимом характере этого процесса. Назначение препарата ХЗ восстанавливает исходный уровень OPG в крови, а комбинация ХЗ с витамином ДЗ вызывает значительное достоверное повышение концентрации OPG по сравнению с интактной группой.

Важным показателем, характеризующим остеогенез, является FGF-23, который экспрессируется

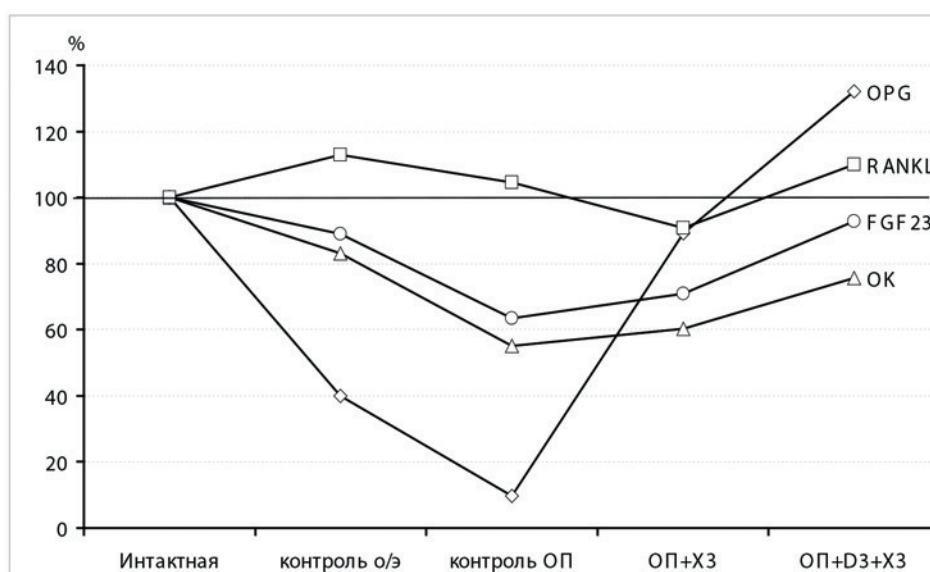


Рис. 3. Изменения содержания маркеров остеопороза ОК, OPG, FGF23 и RANKL в сыворотке крови на этапах формирования экспериментальной модели остеопороза и его фармакотерапии препаратом ХЗ и витамином ДЗ. Данные интактных крыс приняты за 100 %

Сокращения (здесь и далее): о/э — овариоэктомия; ОП — остеопороз; ОП+ХЗ — группа, получавшая препарат ХЗ; ОП+ХЗ+ДЗ — группа, получавшая препарат ХЗ и витамин ДЗ.

Figure 3. Changes in the levels of osteoporosis markers OK, OPG, FGF23, and RANKL in the blood serum at the stages of experimental osteoporosis model formation and its pharmacotherapy with drug X3 and vitamin D3. Data from intact rats are taken as 100 %

Abbreviations used here and throughout: o/e — ovariectomy; OP — osteoporosis; OP+X3 — group receiving drug X3; OP+X3+D3 — group receiving drug X3 and vitamin D3.

преимущественно в костной ткани и синтезируется остеocytes. Его основная роль сводится к снижению уровня сывороточного фосфата [35]. FGF-23 регулирует уровень сывороточного фосфата и активность витамина Д. Поскольку витамин Д стимулирует канальцевую реабсорбцию фосфатов, снижение его концентрации в крови приводит к подавлению реабсорбции и снижению уровня фосфатов крови. Данные рисунка 2 свидетельствуют, что снижение уровня FGF-23 коррелирует со снижением содержания Са и Р в крови [12].

Активные формы витамина Д3 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 Д3 наблюдается более значимый рост концентрации FGF-23 в крови, чем при монотерапии с ХЗ (рис. 3). В свою очередь, повышение уровня FGF-23 приводит к снижению уровня активной формы витамина Д в крови [36].

Склеростин является компонентом семейства гликопротеинов, экспрессируется в остеocytes и некоторых хондроцитах, он ингибирует образование костей остеoblastами. На поверхности остеocytes Skl связывается с корцепторами, способствует прерыванию Wnt-сигналикации, замед-

ляя процесс остеобластогенеза и формирование костной ткани [30–37].

Как видно из рисунка 4, при формировании ОП повышается уровень Skl, а после назначения препаратов ХЗ происходит падение его уровня. Комбинированная терапия ХЗ с витамином Д3 нормализует уровень Skl. Таким образом, Skl, который играет важную роль в метаболизме костной ткани, регулирует активность остеoblastов с помощью системы отрицательной обратной связи [38]. При замедлении функций Skl снижается резорбция кости и происходит стимуляция повторного роста костной ткани.

Надо сказать, что экспрессия Skl в остеocytes в значительной степени регулируется гормонами, влияющими на метаболизм костной ткани: паратиреоидным гормоном, кальцитонином и глюкокортикоидами. Показано [39], что уровень Skl в сыворотке крови обратно пропорционален уровню эстрогенов и достоверно высок у женщин в постменопаузе.

Данные, приведенные на рисунке, свидетельствуют о зависимости динамики уровня Skl от двусторонней овариэктомии, после которой происходит его резкое снижение и последующий рост по мере формирования ОП, он коррелирует с динамикой уровня эстрогенов в крови. Уровень

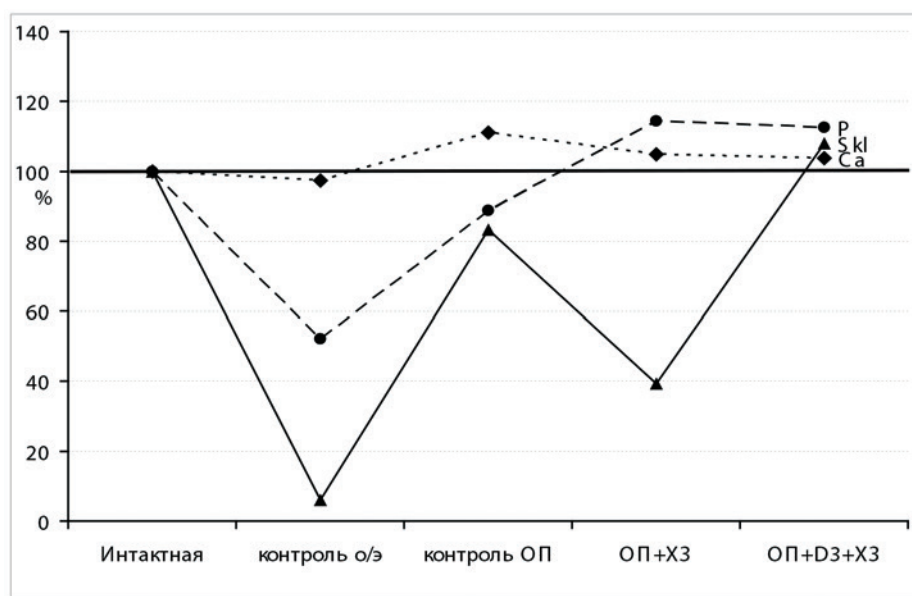


Рис. 4. Изменения склеростина (Skl), ионов Са и Р в сыворотке крови на этапах формирования экспериментальной модели остеопороза и его фармакотерапии препаратом ХЗ и витамином Д3. Данные интактных крыс приняты за 100 %

Figure 4. Changes in sclerostin (Skl), calcium (Ca), and phosphorus (P) levels in the blood serum at the stages of experimental osteoporosis model formation and its pharmacotherapy with drug X3 and vitamin D3. Data from intact rats are taken as 100 %

фосфора также отражает динамику ОП и его фармакотерапию — снижение при остеопорозе, рост и последующую нормализацию Р и Са до уровня интактной группы. Такая динамика отражает эффективность проводимой антиостеопорозной терапии. Необходимо отметить, что на уровень Р в периферической крови влияет не только интенсивность резорбции костной ткани, но и взаимодействие витамина ДЗ 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 ДЗ приводит к значимому росту концентрации маркеров костного ремоделирования в сыворотке крови, что свидетельствует об усилении остеогенеза, остеобластогенеза.

Заключение

Разрабатываемый препарат ХЗ, в отличие от других испытанных соединений, обеспечил повышение эффективности профилактики и лечения постменопаузального остеопороза 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, биодоступность и усвоение макроэлементов (Са, Zn, Mg) из его состава. Препарат оказался достаточно эффективным для того, чтобы при 30-кратном введении в течение 30 дней в терапевтической дозе оказать 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 ДЗ.

Динамика исследуемых нами маркеров костного ремоделирования в сыворотке крови показала, что она отражает процессы остеокласто- и остеобластогенеза, выявляемые другими методами, в частности, определение концентрации макроэлементов и коллагена 1 типа в костной ткани. Формирование ОП и его последующая фармакотерапия антиостеопорозным препаратом ХЗ в комбинации с витамином ДЗ приводит к значимому измене-

нию 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 ДЗ приводит к значимому росту концентрации маркеров костного ремоделирования в сыворотке крови, что свидетельствует об усилении остеогенеза, остеобластогенеза.

В заключение данного исследования можно сказать, что предлагаемое антиостеопорозное средство ХЗ может способствовать более эффективному лечению и профилактике возрастного и постменопаузального остеопороза и остеопороза молодого организма. Основываясь на полученных данных, можно предположить, что разрабатываемая технология лечения остеопороза может оказаться более эффективной, чем принятые в настоящее время схемы, которые связаны 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 остеопорозом.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Bolland MJ, Grey AB, Gamble GD, Reid IR. Effect of osteoporosis treatment on mortality: a meta-analysis // J Clin Endocrinol Metab. 2010. No 95. P. 1174–1181.
2. 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. No 148. P. 197–213.

3. Cauley JA, Thompson DE, Ensrud KC, et al. Risk of mortality following clinical fractures // *Osteoporosis Int.* 2000. No 11. P. 556–561.

4. Kanis JA. World Health Organization Scientific Group. Assessment of Osteoporosis at the Primary Health-Care Level Technical Report Sheffield. UK: WHO Collaborating Centre, University of Sheffield; 2008.

5. National Osteoporosis Foundation 2004. Disease statistics.

6. National Osteoporosis Foundation. Advocacy News & Updates. American's Bone Health: The State of Osteoporosis and Low Bone Mass. Accessed April 18. 2011.

7. Riggz BL, Melton D. Osteoporosis. Etiology, diagnosis, treatment. CJSB Binom Publishing House. M. 2000. P. 309–313. In Russian [Риггз Б.Л., Мелтон Д. Остеопороз. Этиология, диагностика, лечение. ЗАО «Издательство Бином». М. 2000. С. 309–313].

8. International Osteoporosis Foundation. 2010.

9. EFFE and NOF. Who are candidates for prevention and treatment for osteoporosis? // *Osteoporosis Int.* 1997. No 7. P. 1–32.

10. Management of Osteoporosis in Postmenopausal Women: 2010 Position Statement of The North American Menopause Society // *Menopause.* 2010. Vol.17. No 1. P. 25–54.

11. WHO. FRAX® WHO fracture risk assessment tool: calculation tool. Accessed February 14. 2011.

12. Bairamov AA, Maevskij EI, Shabanov PD. Correction of bone remodeling in experimental osteoporosis. Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy. 2019;17(4):43–50. doi.org/ 10.17816/RCF17443-50. In Russian [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].

13. Lesnyak OM. Audit of the state of the problem of osteoporosis in the Russian Federation // *Preventive medicine.* 2011;(2):7–10. In Russian [Лесняк О.М. Аудит состояния проблемы остеопороза в Российской Федерации // *Профилактическая медицина.* 2011. № 2. С. 7–10].

14. Cattail VM, Arki RA. Pathophysiology of the endocrine system. M. Binomi. 2010. 335 p. In Russian [Кеттайл В.М., Арки Р.А. Патопфизиология эндокринной системы. Перевод с англ. М.: Бином. 2010. 335 с.].

15. Povoroznyuk VV, Grigor'eva NV. Menopause and osteoporosis. K.: Health, 2004. 356 p. In Russian [Поворознюк В.В., Григорьева Н.В. Менопауза и остеопороз. К.: Здоровье, 2004. 356 с.].

16. Maevskij EI, Roshchenfel'd AS, Grishina EV, Kondrashova MN. Correction of metabolic acidosis by

maintaining the functions of mitochondria. (monograph). Pushino, ITEB RAS, 2001. 155 p. In Russian [Маевский Е.И., Рощенфельд А.С., Гришина Е.В., Кондрашова М.Н. Коррекция метаболического ацидоза путем поддержания функций митохондрий: монография. Пушино, ИТЭБ РАН. 2001. 155 с.].

17. Maevskij EI, Uchitel' ML, Bajramov AA, et al. Correction of hormonal activity with substrate compositions in men and women // *Gastroenterology of St. Petersburg.* 2017;(2–3):55–56. In Russian [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].

18. Mitochondrial processes in the temporal organization of life. Edited by M. N. Kondrashova, V. V. Dynnik, Yu. G. Kaminskij, et al. Pushchino, 1978. 182 p. In Russian [Митохондриальные процессы во временной организации жизнедеятельности: Сб. / Под ред. М. Н. Кондрашовой, В. В. Дынника, Ю. Г. Каминского и др. Пушино, 1978. 182 с.].

19. Therapeutic effect of succinic acid. Sb. Edited by M. N. Kondrashova. Pushchino, 1976. 255 p. In Russian [Терапевтическое действие янтарной кислоты: Сб. / Под ред. М. Н. Кондрашовой. Пушино, 1976. 255 с.].

20. Maevskij EI, Grishina EV, Haustova YaV, et al. Again about preparations containing succinate // *Gastroenterology of St. Petersburg.* 2017;(1):91–92. In Russian [Маевский Е.И., Гришина Е.В., Хаустова Я.В. и др. Вновь о препаратах, содержащих сукцинат // *Гастроэнтерология Санкт-Петербурга.* 2017. № 1. С. 91–92].

21. 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. No 10. P. 86–92. DOI: 0.12710/cardiometry.2017.8692.

22. Succinic acid in medicine, food industry, agriculture. Sb. Edited by M. N. Kondrashova, Yu. G. Kaminskij, E. I. Maevskij. Pushchino, 1996. 300 p. In Russian [Янтарная кислота в медицине, пищевой промышленности, сельском хозяйстве: Сб. / Под ред. М. Н. Кондрашовой, Ю. Г. Каминского, Е. И. Маевского. Пушино, 1996. 300 с.].

23. Kotelnikov GP, Bulgakov SV. Osteoporosis. M. GEOTAR Mediz. 2010. 504 p. In Russian [Котельников Г.П., Булгаков С.В. Остеопороз. М.: ГЕОТАР-Медиз. 2010. 504 с.].

24. Kronenberg GM, Melmed SH, Polonski KS, Larsen PR. Endocrinology according to Williamson. Reproductive endocrinology. M. Reid Elsiever. 2011. 410 p. In Russian [Кроненберг Г.М., Мелмед Ш., Полонски К.С., Ларсен П.Р. Эндокринология по Вильямсону. Репродуктивная эндокринология. Перевод с англ. М.: Рид Элсивер. 2011. 410 с.].

25. Hodzhkin S. Mayo Clinic on Osteoporosis. M.: Astrel. 2007. 237 p. In Russian [Ходжкин С. Клиника Мэйо об Остеопорозе. Перевод с англ. М.: Астрель. 2007. 237 с.].
26. Levitskiy AP, Makarenko OA, Den'ga OV, et al. Eksperimental'nye metody issledovaniya stimulyatorov osteogeneza: metodicheskie rekomendatsii. Kiev: Avitsenna; 2005. P. 31–38. In Russian [Левицкий А.П., Макаренко О.А., Денга О.В. и др. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза: Методические рекомендации. Киев: Авиценна, 2005. С. 31–38].
27. Frol'kis V, Povoroznyuk V, Evtushenko O, Grigorieva N. Eksperimental'nyy osteoporoz. Doctor. 2003;(6):48–52. In Russian [Фролькис В.В., Поворозняк В.В., Евшенко О.А., Григорьева Н.В. Экспериментальный остеопороз // Doctor. 2003. № 6. С. 48–52].
28. Bairamov AA, Mamina NSh, 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 Russian [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.
29. Zamaraeva TV. Method for determining the content of collagen proteins by hydroxyproline // Modern methods in biochemistry. M.: Medicine, 1977. С. 262–264. In Russian [Замараева Т.В. Метод определения содержания коллагеновых белков по оксипролину // Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977. С. 262–264].
30. Bertchenko GN, Lipkin SM. Features of Bone Tissue Research. In: Microscopic Techniques: A Guide for Physicians and Laboratory Technicians. Edited by D. S. Sarkisov, Yu. L. Perov. Moscow: Meditsina, 1996. P. 463. In Russian [Берченко Г.Н., Липкин С.М. Особенности исследования костной ткани. В кн.: Микроскопическая техника: Руководство для врачей и лаборантов. / Под ред. Д. С. Саркисова и Ю. Л. Перова. М.: Медицина, 1996. С. 463].
31. Sharayev PN. Method for determining free and bound hydroxyproline in blood serum. Laboratory Work. 1981;(5):283–285. In Russian [Шараев П.Н. Метод определения свободного и связанного оксипролина в сыворотке крови // Лабораторное дело. 1981. № 5. С. 283–285].
32. Patent RU2582973C1. Bajramov AA, Shabanov PD, Maevskij EI, et al. Antiosteoporoznoe sredstvo. In Russian [Патент на изобретение RU2582973C1. Байрамов А.А., Шабанов П.Д., Маевский Е.И. и др. Антиостеопорозное средство].
33. GOST 33044-2014 "Principles of Good Laboratory Practice". In Russian [ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики»].
34. 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. Vol. 92. No 12. P. 4514–4521.
35. Dobronravov VA. Modern Insights into the Pathophysiology of Secondary Hyperparathyroidism: The Role of Fibroblast Growth Factor 23 and Klotho. Nephrology. 2011;(4):11–20. In Russian [Добронравов В.А. Современный взгляд на патофизиологию вторичного гиперпаратиреоза: роль фактора роста фибробластов 23 и Klotho // Нефрология. 2011. No. 4. С. 11–20].
36. Shutov EV. Significance of fibroblast growth factor-23 in patients with chronic kidney disease — a review of modern research // Attending physician. 2012. No. 8. P. 35–42. In Russian [Шутов Е.В. Значение фактора роста фибробластов-23 у больных хронической болезнью почек — обзор современных исследований // Лечащий врач. 2012. № 8. С. 35–42].
37. Kneissel M. The promise of sclerostin inhibition for the treatment of osteoporosis // IBMS BoneKEy. 2009. No. 6. P. 259–264.
38. Grebennikova TA, Belaya ZhE, Rozhinskaya LYa, Mel'nichenko GA. Canonical signaling pathway of Wnt/ β -catenin: from the history of discovery to clinical application // Therapeutic archive. 2016;10(88):74–75. In Russian [Гребенникова Т.А., Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я., Мельниченко Г.А. Канонический сигнальный путь Wnt/ β -катенин: от истории открытия до клинического применения // Терапевтический архив. 2016. Т. 10, № 88. С. 74–81].
39. Sims NA, Chia LY. Regulation of sclerostin expression by paracrine and endocrine factors // Clin Rev Bone Miner Metab. 2012. No.10. P. 98–107.

Информация об авторах

Лисовский Дмитрий Александрович, аспирант отдела нейрофармакологии им. С. В. Аничкова, ФГБНУ «ИЭМ»;

Дробленков Андрей Всеволодович, д.м.н., профессор (специальность «клеточная биология»), ведущий научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. С. В. Аничкова, ФГБНУ «ИЭМ»;

Байрамов Алекбер Азизович, д.м.н., ведущий научный сотрудник Института эндокринологии, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России; ведущий научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. С. В. Аничкова, ФГБНУ «ИЭМ»;

Бобков Павел Сергеевич, к.м.н., старший научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. С. В. Аничкова; доцент кафедры медико-биологических дисциплин ФГБНУ «ИЭМ»;

Мамина Наиля Шамилевна, аспирант отдела нейрофармакологии им. С. В. Аничкова, ФГБНУ «ИЭМ»;

Фёдоров Никита Алексеевич, лаборант отдела нейрофармакологии им. С. В. Аничкова, ФГБНУ «ИЭМ»;

Каронова Татьяна Леонидовна, д.м.н., заведующая лабораторией клинической эндокринологии Института эндокринологии, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Шабанов Петр Дмитриевич, д.м.н., профессор, заведующий отделом нейрофармакологии им. С. В. Аничкова, ФГБНУ «ИЭМ».

Authors information:

Dmitriy A. Lisovskiy, Post-graduate student, Department of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine;

Andrey V. Droblenkov, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor, Leading Research Associate, Department of Neuropharmacology named after S. V. Anichkov, Institute of Experimental Medicine;

Alekber A. Bairamov, Dr. Med. Sci. (Pharmacology), Leading Researcher, Institute of Endocrinology, Almazov National Medical Research; Leading Researcher, Department of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine;

Pavel S. Bobkov, MD, Cand. Sci. (Med.), Senior Research Associate, Department of Neuropharmacology named after S. V. Anichkov; Assistant Professor, Department of Biomedical Disciplines, Institute of Experimental Medicine;

Nailya Sh. Mamina, Post-graduate student, Department of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine;

Nikita A. Fedorov, laboratory assistant, Department of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine;

Tatiana L. Karonova, Dr. Med. Sci. (Endocrinology), Head of the Laboratory of Clinical Endocrinology, Institute of Endocrinology, Almazov National Medical Research Centre;

Petr D. Shabanov, Dr. Med. Sci. (Pharmacology), Professor and Head, Department of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine.