

АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ СОЛЕЙ ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОСТЕОПОРОЗА

^{1,3}Байрамов А.А., ²Маевский Е.И., ³Лисовский А.Д., ²Учитель М.Л., ³Качула А.С.,
¹Каронова Т.Л., ³Шабанов П.Д.

¹ФГБУ «НМИЦ им. В.А.Алмазова» Минздрава России

²ФГБУ «Институт теоретической и экспериментальной биофизики» РАН

³ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»

Резюме: Выполнен экспериментальный анализ фармакологической эффективности препарата, созданного на основе комплекса кислых солей кальция и магния природного конформера янтарной кислоты, в сравнении с известным антиостеопорозным препаратом. Тестирование проведено на модели остеопороза у самок крыс, которым после двусторонней овариоэктомии дважды вводили преднизолон. Приращение весовые показатели, прирост уровня кальция и коллагена в ткани бедренной кости позволили выявить более высокую эффективность нового препарата при коррекции моделируемого постменопаузного остеопороза.

Ключевые слова: экспериментальный постменопаузный остеопороз, соли янтарной кислоты, антиостеопорозное средство.

ANALYSIS OF THE EFFECTIVENESS OF THE DRUG BASED ON SUCCINIC ACID SALTS FOR THE TREATMENT OF OSTEOPOROSIS

Bayramov A.A., Maevsky E.I., Lisovsky A.D., Uchitel M.L., Kachula A.S., Karonova T. L.,
Shabanov P.D.

Almazov NMRC of the Ministry of health of the Russian Federation

Institute of theoretical and experimental biophysics

Institute of experimental medicine

emaevsky @ iteb.ru;

Abstract: We performed an experimental analysis of the pharmacological effectiveness of the drug, created on the basis of a complex of acid salts of calcium and magnesium of the natural succinic acid conformer, in comparison with the well-known anti-osteoporotic drug. Testing was carried out on a model of osteoporosis in female rats that were given prednisolone twice after bilateral ovariectomy. The increment in weight indicators, the increase in the level of calcium and

collagen in the tissue of the femur revealed the higher efficiency of the new drug in the correction of simulated postmenopausal osteoporosis.

Key words: experimental postmenopausal osteoporosis, succinic acid salts, anti-osteoporotic agent.

Введение

По данным ВОЗ, остеопороз (ОП) сегодня представляет одно из наиболее распространенных заболеваний, которое наряду с инфарктом миокарда, инсультом, раком и внезапной смертью занимает ведущее место в структуре заболеваемости и смертности населения [19, 20, 26, 34]. Доля расходов, связанных с лечением ОП, вызванных им переломами, временной и постоянной нетрудоспособностью составляют огромную статью расхода в здравоохранении [25, 29]. Наиболее уязвимы и чаще подвержены заболеванию ОП женщины в постменопаузальный период. Около 80% из всех пациентов с ОП составляют женщины [25, 29].

Остеопороз – это системное эндокринно-метаболическое заболевание скелета, характеризующееся снижением массы костей и нарушениями микроархитектоники костной ткани, которое приводит к значительному увеличению хрупкости костей и вероятности их переломов [31]. По данным и прогнозам International Osteoporosis Foundation (IOF) ОП страдают около 75 млн человек в Европе, США и Японии [23, 29], а к 2050 г. в связи с увеличением продолжительности жизни во всем мире, частота переломов костей тазобедренного сустава вследствие ОП увеличится на 240% у женщин и на 310% – у мужчин. Инвалидность, обусловленная развитием 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) [26, 28, 31]. Согласно исследованиям НИИ ревматологии РАМН в России ОП страдают 33,8% женщин и 26,9% мужчин старше 50 лет, у 43,3% женщин и 44,1% мужчин определяются признаки остеопении. Таким образом, ОП в России поражено 14 млн человек (10% населения страны), у 20 млн жителей состояние минеральной плотности костной ткани (МПК) соответствует остеопении. У всех этих людей высок риск остеопоротических переломов. В связи с постарением населения число больных ОП в России может увеличиться на треть к 2050 г [4]. Оценка мировой тенденции показала, что только вследствие старения популяции земного шара частота переломов, например, шейки бедра, в период с 2005 по 2050 гг. должна увеличиться в два раза [22].

В последние десятилетия в связи с произошедшим демографическим сдвигом существенно возросло количество женщин в постменопаузальном периоде. В результате около трети общей продолжительности жизни женщин приходится на период постменопаузы, когда увеличивается вероятность развития остеопении, сенильного

остеопороза и травматических переломов. ОП становится медико-социальной проблемой [2, 7, 10, 19]. В США почти 40 миллионов женщины, находящихся в постменопаузе, имеют значительно сниженную МПК [10, 22]. Приведенные данные отражают недостаточную эффективность предложенных программ профилактики и лечения остеопороза. Очевидно, что это связано с более сложными механизмами развития ОП, чем простой дефицит кальция [2]. Существует острая потребность в разработке новых подходов к лечению и профилактике ОП. Необходимы такие методы и препараты, которые соответствуют патогенетическим механизмам и биологии возрастного ОП. Значимым вкладом в решение проблемы может стать создание препаратов на основе биологически активных соединений, способствующих мобилизации естественных путей противодействия развитию ОП.

Новым подходом к профилактике и лечению сенильного и постменопаузального остеопороза, а также дефицита витамина Д₃ является включение в лекарственную терапию разработанного комплекса кислых солей янтарной кислоты, способных влиять на усвоение макро- и микроэлементов костной тканью, и, возможно, на биотрансформацию витамина Д₃ и синтез половых гормонов, в частности эстрогенов, обладающих остеокластическим и остеопластическим потенциалом [6, 8, 9, 14, 15, 18, 35].

Цель исследования заключалась в сопоставлении антиостеопорозной активности препарата, разработанного на основе кислых солей янтарной кислоты, с известным препаратом на модели экспериментального остеопороза у животных по оценке влияния на элементный состав костной ткани (бедренной кости).

Настоящая работа является фрагментом комплекса доклинических предрегистрационных исследований нового препарата, разработанного в ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России. В качестве объекта для оценки эффективности лекарственного препарата были выбраны самки крыс с экспериментальным индуцированным остеопорозом. Тестировали комбинированный препарат на основе комплекса солей янтарной кислоты (Патент РФ №2582973 2016. Антиостеопорозное средство. Патентообладатель: ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России) [1].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент выполнен на 32 половозрелых самках крыс линии Wistar в возрасте 8-10 месяцев. Экспериментальная модель ОП была создана у 24 самок крыс, которым была сделана операция двусторонней овариэктомии с последующим периодическим введением глюкокортикоидных препаратов, усугубляющих явления ОП. Развитие и степень выраженности ОП также, как и результат возможной коррекции ОП оценивали методом

рентгеноденситометрии, по изменению весовых характеристик и содержания Са в костной ткани методом атомно-адсорбционной спектроскопии.

Рандомизация была начата через 8 дней после отбора животных, всех крыс рассаднили по клеткам по 4-5 особи в одну клетку. Еще через 4 дня в течение 3 суток на когорте отобранных животных из 24 самок крыс была выполнена операция овариоэктомии под общим эфирным наркозом. Оперированных самок через неделю после операции разделили на 3 группы случайным образом.

Сравниваемые группы. Все самки крыс, включенные в исследование, были разделены на 4 равные группы по 8 шт. в каждой: группа 1 – интактный контроль - животные без овариоэктомии; группа 2 - овариоэктомизированный контроль, включала самок, перенесших операцию двухсторонней овариоэктомии и введение преднизолона (модель ОП); группа 3 - самки с моделью ОП, получавшие препарат **X3** [Антиостеопорозное средство по патенту РФ №2582973]; группа 4 - самки с моделью ОП, получавшие препарат сравнения **S1** – Кальцимин.. Препараты животные получали перорально в средней дозе в течение 20 дней сразу после второй инъекции преднизолона.

Состав разработанного нами препарата **X3**: 85 мг сукцината кальция кислого (содержание Са - 11 мг), 30 мг сукцината магния кислого, 180 мг сукцината аммония, 15 мг фумарата цинка кислого, 20 мг аскорбиновой кислоты, 15 мг аргинина, 8 мг витамина Е, 8 мкг витамина Д3, 15 мкг глицина, 40 мг глутамата натрия. Кислые соли двухвалентных катионов производства ООО «Экомед-Сервис» по патенту РФ № 2638157 [5].

Состав препарата сравнения **S1** под коммерческим названием Кальцимина: 250 мг кальция (в виде кальция цитрата тетрагидрата и кальция карбоната), 50 МЕ витамина Д3 (холекальциферол), 2 мг цинка (в виде цинка оксида), 0,5 мг меди (в виде меди оксида), 0,5 мг марганца (в виде марганца сульфата) и 50 мкг бора (в виде натрия бората декагидрата)

Этические принципы. Исследование проведено в соответствии с юридическими и этическими нормами, предусмотренными Хельсинкской Декларацией, действующим законодательством РФ, а также принципами Надлежащей Лабораторной Практики (GLP).

Выбор дозы и назначение препаратов. Разовая доза разработанного препарата **X3** составляла 62,5 мг/кг. В качестве известного препарата сравнения **S1** оперированные самки получали Кальцимин (ФРГ) в дозе 75 мг/кг. Препарат давали животным 1 раз в день в течение 20 суток. Предварительно препараты измельчали в ступке и смешивали со свежеприготовленным творогом. Каждое животное из опытных групп получало тот или иной препарат в виде творожных шариков, которые быстро съедались. Средняя разовая доза препаратов рассчитывалась на основании рекомендаций Минздрава РФ «Руководство по

экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [11] с учетом пересчетного коэффициента ($\times 6$), относительно дозы, предназначенной для человека.

Метод создания экспериментальной модели остеопороза

Суть метода заключается в двустороннем хирургическом удалении яичников у самок крыс, с последующим двукратным введением преднизолона. Для эксперимента использованы интактные самки крыс линии Вистар 8–10 месячного возраста весом 240–260 г. Двусторонняя овариоэктомия проводилась под эфирным наркозом. Крыс фиксировали на операционном столе в положении на животе. Шерсть на спинке 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. Находили последовательно 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. Спинной разрез ушивали, 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 день. Для ускорения развития остеопороза через 3 недели после операции самкам крыс вводили р–р преднизолона – внутривнутрибрюшинно в дозе 25 мг/кг [12]. С интервалом 15 дней вновь вводили преднизолон. Затем в течение 20 суток животные получали сравниваемые препараты.

Изучение минерального компонента костной ткани.

Элементный анализ костной ткани бедра выполнен с помощью атомно-адсорбционной спектроскопии (спектрометр фирмы Varian) после гравиметрического исследования (лабораторных электронных весов ВЛКТ, замер с точностью до 1 мг), включавшего оценки влажного веса бедренных кости, сухого веса после высушивания (в термостате при температуре 95–102°C, Порядок исследования: сначала определяли влажный вес костей, затем вес высушенных костей, далее проводили озоление костей, сжигая их в муфельной печи, для анализа зольности (для расчета степени минерализации). Полученную золу подготовили к атомно–абсорбционной спектроскопии и пламенной фотометрии для определения элементного состава (K, Na, Ca, Mg, Zn) костной ткани (бедренной кости) с целью оценки фармакологических свойств разработанного препарата в сравнении с препаратом сравнения.

Изучение органического компонента костной ткани

Состояние обмена коллагена в костной ткани оценивали по содержанию в гомогенате эпифиза бедренной кости суммарного коллагена, рассчитанный по количеству оксипролина [16].

Метод рентгеноденситометрии и атомно-адсорбционной спектрометрии.

После завершения курса кормления животных препаратами всех животных забивали и выделяли бедренные кости для последующих исследований. Рентгеноденситометрию выделенных бедренных костей выполняли методом двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии. Элементный состав костной ткани бедра анализировали с помощью атомно-адсорбционной спектрометрии (спектрометр фирмы Varian). Перед спектрометрией проводили гравиметрическое исследование (электронные весы ВЛКТ, точность 0.5 мг): Измеряли последовательно: влажный вес бедренных костей, сухой вес после высушивания до постоянного веса при температуре от 95 до 102°C (при 104°C и выше начинается потеря жиров кости), вес золы после сжигания бедренных костей в муфельной печи. Рассчитывали степень минерализации после определения зольности. Полученную золу подготавливали к атомно-абсорбционной спектроскопии и пламенной фотометрии для определения элементного состава (K, Na, Ca, Mg, Zn) костной ткани.

Статистика. Результаты исследования сравнивали с данными контроля и статистически обрабатывали методом вариационного анализа ANOVA с помощью программы Origin PRO (версии 8.5.1). Статистические данные в таблицах и графиках для наглядности представлены в виде среднего и ошибки средней. Однако, в связи с тем, что в большей части полученных данных не наблюдалось нормального распределения, расчеты значимости сравниваемых величин выполнены с помощью непараметрического критерия Мана-Уитни и представлены в обычном диаграммном виде с указанием величины SE (или m) и ящичковых диаграмм Тьюки. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

1.1. Весовые характеристики, рентгенологическая плотность и элементный состав костной ткани бедра самок крыс при коррекции экспериментального остеопороза.

После инициации экспериментального остеопороза – ОП (двухсторонней овариоэктомии у самок крыс и двукратного введения преднизолонa) наблюдалась тенденция к снижению рентгеноденситометрической плотности костной ткани (рис.1).

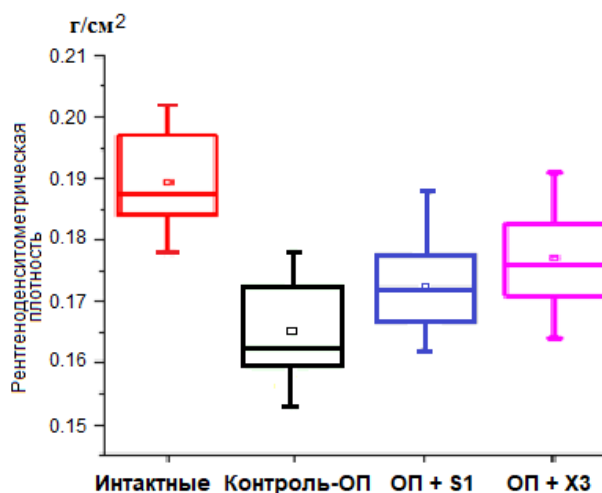


Рис.1. Изменение рентгеноденситометрической плотности бедренной кости при Экспериментальной ОП и монотерапии препаратами S1 или X3.

Приведены ящичковые диаграммы Тьюки (программа Origin PRO - 8.5.1).

Сравнительное исследование основных показателей весовых характеристик бедренной кости с ОП выявило значимое снижение влажного, сухого и зольного веса бедренной кости (табл.1).

Таблица 1. Весовые характеристик и рентгеноденситометрическая плотность бедренных костей самок крыс после овариоэктомии (искусственная инициация остеопороза - ОП)и курса монотерапии, проведенной сравниваемыми препаратами X3 и S1. ($M \pm m$)

Группы Параметры бедренной кости	Интактные животные	Контроль - ОП без препаратов	ОП + S1 (Кальцимин)	ОП + X3 (препарат по патенту №2582973)
Влажной вес	383,5±59,2	260,2±30,9#	352,8±49,8*	369,2±56,9*
Сухой вес	319,7±45,5	217,9±38,9#	282,9±53,1*	308,8±47,7*
Зольный вес	217,9±30,2	149,7±26,3#	185,1±32,4	213,8±39,8*

$p < 0.05$ при сравнении с интактными животными; * $p < 0.05$ при сравнении с контрольными животными, которые после развития ОП не получали препараты. Расчет по непараметрическим критериям Мано-Уитни.

Монотерапия животных с ОП сравнимаемыми препаратами способствовала нормализации указанных весовых показателей. По крайней мере, они не отличались существенным образом от весовых показателей в группе интактных самок крыс. Оба препарата, несмотря на более чем 20-кратную разницу в количестве получаемого животными дополнительного кальция (препарат S1 содержит 250 мг Са, тогда как препарат ХЗ – 11 мг Са), практически в равной степени приводили к восстановлению влажного и сухого веса бедренной кости. При этом разработанный нами препарат обеспечивал более значимое восстановление зольного веса, в отличие от известного препарата сравнения.

Как видно из приведенных данных (Табл. 2), при искусственно вызванном ОП происходило незначительное, всего на 8% падение удельного содержания кальция (в пересчете на г влажной ткани). Однако, с учетом снижения влажного веса бедренной кости на 32% при ОП, следует признать, что в целом происходит значительная потеря кальция. В случае проведения монотерапии известным препаратом Кальцимином (группа ОП + S1) удельное содержание кальция возрастало на 37% по сравнению с таковым в группе Контроль-ОП. Однако перегрузка кальцием вызывала существенное (на 84%) снижение удельного содержания магния в костной ткани. Разработанный препарат ХЗ в меньшей степени повышал уровень кальция и предотвращал резкую потерю магния костной тканью.

Таблица 2 Содержание исследованных элементов в ткани бедренной кости после овариоэктомии и курса монотерапии, проведенной сравнимаемыми препаратами. (M±m)

Группы Элементы	Интактные животные	Контроль - ОП без препаратов	ОП + S1 (Кальцимин)	ОП + ХЗ (препарат по патенту №2582973)
Кальций	307,8±38,4	284,9±30,9	480,8±59,0*	354,3±62,0*
Магний	15,1±1,8	16,7±2,3	9,1±3,1#*	13,8±2,2*
Отношение Са/Na**	19,6±3,5	16,4±2,1	21,9±3,2*	24,4±3,7*
Отношение Са/K**	196,1±22,8	215,8±21,3	214,7±28,3	338,6±44,8*#

Примечание - весовой концентрации элементов в мг на г веса влажной костной ткани;

** $p < 0.05$ при сравнении с группой Контроль-ОП, # $p < 0.05$ при сравнении с группой*

Интактные животные.

Интересно, что оба препарата способствовали приросту отношения Ca/Na, а препарат ХЗ повысил также отношение Ca/K. Эти показатели дают возможность ориентировочно оценить содержание кальция относительно водного внеклеточного и внутриклеточного объема кости. При этом отношение содержания Ca/Na скорее всего соответствует внеклеточному объему, поскольку натрий главным образом находится вне клеток. Отношение Ca/K отражает прирост уровня Ca во внутриклеточном пространстве, поскольку основная часть калия находится внутри клеток. По-видимому, при экспериментальном ОП имеет место увеличение обводнения внеклеточного пространства, судя по падению отношения Ca/Na. Возможно имеет место некоторое обызвествление клеток, о чем свидетельствует ранее выполненной нами исследование, в котором было показано уменьшение органической массы кости при искусственном ОП.

Полученные данные свидетельствуют, что при использовании кислых солей природных конформеров янтарной кислоты удастся достигнуть достаточного насыщения костей кальцием без перегрузки организма избытком кальция и витамином D3. Такая динамика кальция. Следует отметить, что рентгеноденситометрическая картина, которая считается стандартным методом оценки степени остеопении и остеопороза, не может отражать сути перестройки изменения соотношения минерализованного и органически связанного кальция. И поэтому вводит в заблуждение врача: по данным этого метода невозможно даже ориентировочно оценить вклад органически связанного кальция в изменение рентгеноденситометрической плотности костной ткани. В эксперименте, этот вклад ориентировочно оценивается по соотношениям кальция к «водным» элементам Ca/Na и Ca/K. Для более точного суждения о том, что происходит в костной ткани, необходимо исследование клеточного состава (соотношения остеокластов и остеобластов) и ультраструктурное электронно-микроскопическое исследование с анализом и методом эмиссионной рентгенэлектронной микроскопии конкретных мест локализации кальция в костной ткани.

1.2. Оценка содержания коллагена в костной ткани бедра самок крыс при коррекции экспериментального остеопороза

Поскольку основным структурообразующим белком и главным органическим компонентом костной ткани является коллаген, было целесообразно определить изменение его содержания в костной ткани бедра самок крыс с экспериментальным остеопорозом и монотерапии сравниваемыми препаратами. О суммарном содержании коллагена судили на основании данных о концентрации специфической для коллагена аминокислоте гидроксипролину в гомогенате эпифиза бедренной кости [16].

Как показано на рис. 1., при экспериментальном остеопорозе концентрация гидроксипролина в ткани эпифиза бедра снижалась на 25%. При скормливания живонным Кальцимина уровень гидроксипролина повышался незначительно, всего на 7% по сравнению с таковым у животных группы Контроль-ОП и оставался на 20% ниже, чем у животных интактной группы. Прикорм препаратом ХЗ способствовал увеличению содержания гидроксипролина на 20% по сравнению с группой Контроль-ОП и статистически значимо не отличался от уровня у интактных крыс. И это при том, что аккумуляция кальция в группе животных, получавших Кальцитонин возрастала в 3 раза, тогда, как после монотерапии препаратом ХЗ уровень кальция возрастал всего в 1,9 раза.

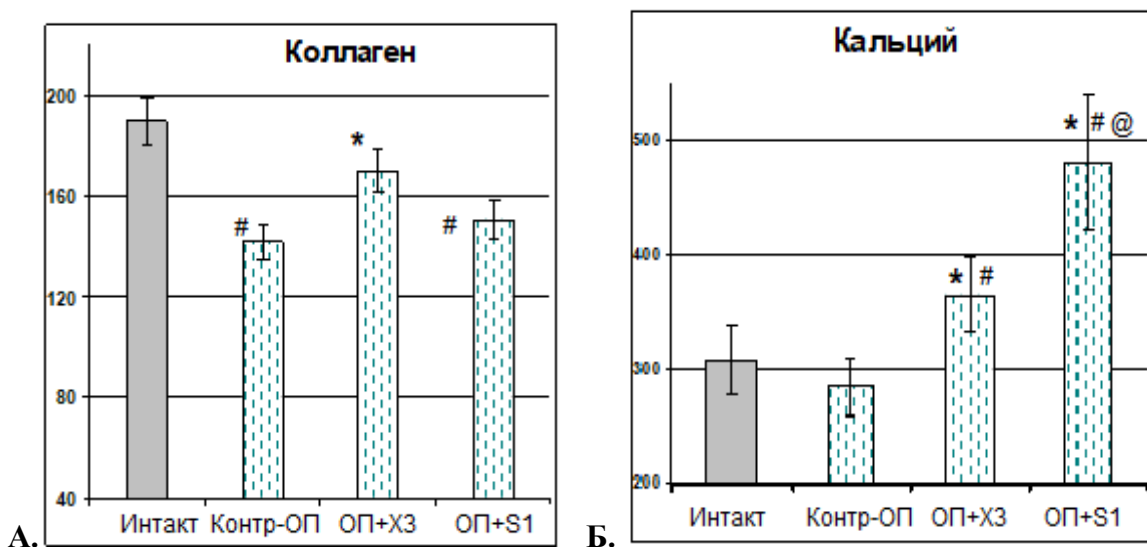


Рисунок 1. Изменение содержания коллагена **А**, (оцениваемое по концентрации гидроксипролина в ммоль/кг) и кальция **Б** (в мг/г) в губчатой части костной ткани у самок крыс с экспериментальным остеопорозом и монотерапии разработанным препаратом ХЗ или Кальцимином S1.

*– $p < 0.05$ при сравнении с группой Контроль-ОП; # - $p < 0.05$ при сравнении с группой Интактных животных; @ - $p < 0.05$ при сравнении групп ОП-ХЗ и ОП-S1.

Сопоставление показателей аккумуляции кальция и приращения уровня гидроксипролина в губчатой (наиболее быстро ремодулируемой) части костной ткани отражает более высокую эффективность разработанного препарата ХЗ. Под влиянием Кальцимина минерализация в 28 раз превышала прирост массы коллагена на фоне ОП, тогда как под влиянием препарата ХЗ аккумуляция кальция превышала наращивание массы коллагена в 4,5 раза.

Таким образом, предлагаемое антиостеопорозное средство ХЗ способствовало существенному большему увеличению белкового матрикса костной ткани - органической компонента костной ткани на фоне экспериментального ОП, чем сравниваемый коммерческий препарат. При этом, монотерапия препаратом ХЗ в отличие от препарата сравнения S1 более мягко увеличивала содержание кальция в костной ткани. Можно полагать, что отсутствие кальциевой перегрузки в сочетании с приростом органического матрикса должно обеспечивать уменьшение хрупкости и повышение эластичности костной ткани.

Заключение

Полученные в экспериментальном исследовании при моделировании постменопаузного остеопороза данные дают основание полагать, что созданный нами препарат ХЗ в отличие от известного коммерчески доступного препарата сравнения может быть более эффективным средством профилактики и лечения остеопении и остеопороза. Очевидно, что использованные в составе нового препарата ХЗ кислые соли природного конформера янтарной кислоты (разработка отечественных производителей) [5] способствуют увеличению биодоступности как самой янтарной кислоты, так и аккумуляции минеральных элементов (Ca и Mg), необходимых для более активного ремоделирования костной ткани в период постменопаузного остеопороза. Самое важное то, что с помощью нового средства удастся достигнуть противоостеопорозного эффекта, избежав перегрузки организма кальцием и витамином D3. По крайней мере, это понижает риск развития нежелательных побочных эффектов.

На основании современных представлений о сигнальном действии сукцината как лиганда экс-орфанового рецептора SUCNR1 [17, 24] и стабилизатора транскрипционного внутриклеточного фактора HIF [27, 32] можно предположить, что кислые соли сукцината являются весьма активными сигнальными молекулами. Благодаря этому они способствуют увеличению активного внутриклеточного пула ионов кальция. могут активировать аккумуляцию Ca^{2+} эндоплазматическим ретикулумом и митохондриями, активность которых лимитирует метаболизм холестерина и последующую биотрансформацию в активные формы

стероидов [6, 8, 30, 35]. Последнее является важным элементом регуляции ремоделирования костной ткани. В экспериментальном исследовании сукцинат-содержащий комплексный препарат повышал индекс массы костной ткани, увеличивал синтез эстрогенов и андрогенов в условиях гормонального дефицита [8, 15, 33]. Можно полагать, что разработанный нами препарат будет особенно эффективен в сочетании с хорошо зарекомендовавшими себя средствами [23], в частности с бифосфонатами [21].

Ожидаемый результат от внедрения технологии – эффективная профилактика и лечение возрастного и постменопаузального ОП и соответственно снижение количества опорно-двигательных, эндокринных и кардиоваскулярных заболеваний и уменьшение риска инвалидизации [3, 4, 10, 13].

Цитируемая литература

1. Байрамов А.А., Шабанов П.Д. Маевский Е.И. Гринева Е.Н., Шляхто Е.В. Антиостеопорозное средство. // Патент РФ №2582973. Приоритет от 10.03.2015. Опубликовано: 27.04.2016 Бюлл. №12 «патентообладатель: ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России
2. Кеттайл В.М., Арки Р.А. Патофизиология эндокринной системы. Пер. с англ. М. Бином. 2010. 335 с.
3. Котельников Г.П., Булгаков С.В. Остеопороз. М. ГЕОТАР-Медиз. 2010. 504 с.
4. Лесняк О.М. Аудит состояния проблемы остеопороза в Российской Федерации. Профилактическая медицина. 2011; 2: 7–10.
5. Маевский Е.И. Трунин Р.А., Учитель М.Л., Шумилин А.С. Способ получения комплексных кислых солей двухвалентных металлов дикарбоновых кислот.//Патент РФ № 2638157 приоритет от 19.09.2016. Опубликовано: 12.12.2017. Бюл. № 35
6. Маевский Е.И., Учитель М.Л., Байрамов А.А., Шабанов П.Д. и др. Коррекция гормональной активности субстратными композициями у мужчин и женщин. Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. 2017. № 2-3. С.55-56.
7. Медицина климактерия / Под ред. В.П. Сметник.- Ярославль: «Изд. Литера», 2006. 848 с.
8. Митохондриальные процессы во временной организации жизнедеятельности. Сб. Под ред. М.Н. Кондрашовой, В.В. Дынника, Ю.Г. Каминского, Е.И. Маевского, Е.А. Окон. Пушино, 1978, 182 с.
9. Митохондрий в патологии. Сб. Под ред. М.Н.Кондрашовой, Ю.Г.Каминского, Е.И.Маевского, Е.В.Гришина. Пушино, 2001, 258 с.
10. Риггз Б.Л., Мелтон Д. Остеопороз. Этиология, диагностика, лечение. «Издательство Бином», 2000; с. 309–13.
11. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под общей редакцией Р. У. Хабриева - 2-изд., перераб. и доп. - М.: ОАО "Издательство "Медицина", 2005, 832 с.
12. Салухов В.В., Ковалевская Е.А. Глюкортикоид-индуцированный остеопороз: современное состояние проблемы//Биомедицинский журнал. medline.ru 2018. Т. 19, СТ. 61, с. 832-860.
13. Стивен Ходжкин. Клиника Мэйо об Остеопорозе. Пер. с англ. М. Астрель. АСТ. 2007. 237 с.

14. Терапевтическое действие янтарной кислоты. Сб. Под ред. М.Н.Кондрашовой. Пушино, 1976, 255 с.
15. Учитель М.Л., Болотанова М.К., Нечаев А.Н, Васильева А.А., Гришина Е.Н., Погорелов А.Г., Погорелова В.Н., Богданова Л.А., Маевский Е.И. Попытка метаболической коррекции остеопении в эксперименте и клинике при завершении овуляторного цикла.//Биомедицинский журнал medline.ru. 2013, Т. 14, СТ. 93, с. 1211-1217.
16. Шараев, П.Н. Метод определения свободного и связанного оксипролина в сыворотке крови // Лабораторное дело. 1981, №5, с.283-285.
17. Е.Б. Шустов,С.В. Оковитый Экс-орфановые рецепторы как мишени для потенциальных лекарственных средств //Биомедицина. 2015. №2. С. 15-29.
18. Янтарная кислота в медицине, пищевой промышленности, сельском хозяйстве. Сб. Под ред. М.Н.Кондрашовой, Ю.Г.Каминского, Е.И.Маевского. Пушино, 1996, 300 с.
19. Black D.M., Rosen C.J.. Postmenopausal osteoporosis // N Engl J Med. 2016; 74:254-262.
20. 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; 95:1174–1181
21. Brown J.P., Morin S., Leslie W., et al.: Bisphosphonates for treatment of osteoporosis: expected benefits, potential harms, and drug holidays // Can Fam Physician. 2014, 60:324-333.
22. Cauley J.A., Thompson D.E., Ensrud K.C. et al. Risk of mortality following clinical fractures // Osteoporosis Int., 2000; 11: 556–561.
23. EFO and IOF (European Foundation For Osteoporosis and International Osteoporosis Foundation). Who are candidates for prevention and treatment for osteoporosis? // Osteoporosis Int 1997; 7: 1.
24. He W., Miao F., Lin D., Schwandner R.T., Wang Z., Gao J., Chen J.-L., Tian H., Ling L. Citric acid cycle intermediates as ligands for orphan G-protein-coupled receptors // Nature. 2004. № 429, p. 188-193.
25. International Osteoporosis Foundation 2010. <http://www.iofbonehealth.org/facts-and-statistics.html#factsheet-category-22>.
26. Kanis J.A.. 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.
27. Koivunen P, Hirsilä M, Remes AM, Hassinen IE, Kivirikko KI, Myllyharju J. Inhibition of hypoxia-inducible factor (HIF) hydroxylases by citric acid cycle intermediates: possible links between cell metabolism and stabilization of HIF.//J Biol Chem. 2007 Feb 16;282(7):4524-32. doi: 10.1074/jbc.M610415200. Epub 2006 Dec 19.

28. 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* 200;148:197–213
29. Management of Osteoporosis in Postmenopausal Women: 2010 Position Statement of The North American Menopause Society // *Menopause* 2010; 17 (1): 25–54.
30. W.L. Miller Steroid hormone synthesis in mitochondria // *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2013, V. 379, Iss. 1–2, p. 62-73. doi.org/10.1016/j.mce.2013.04.014
31. National Osteoporosis Foundation. Advocacy News & Updates. America's Bone Health: The State of Osteoporosis and Low Bone Mass. Accessed April 18, 2011. 14. National Osteoporosis Foundation. Fast Facts. Accessed April 18, 2011
32. Semenza G. L. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine. // *Cell*. 2012, v.148, №3, p. 399–408.
33. Vasilieva A.A., Simonova M.A., Bairamov A.A, Grishina E.V., Uchitel M.L, Maevsky E.I. Correction of the functional state of female rats after unilateral ovariectomy using a succinate containing composition. *Cardiometry*, 2017, №10; p.86–92;
34. WHO (World Health Organization), FRAX (Fracture Risk Assessment Tool), “Calculation Tool”. Accessed November 11, 2012. shef.ac.uk/FRAX/tool.jsp?country=9.
35. Yuqi-Guo, Chengzhi-Xie, Xiyan-Li, Jian-Yang, Tao-Yu, Ruohan-Zhang, Tianqing-Zhang, D. Saxena, M. Snyder, Yingjie-Wu, Xin-Li Succinate and its G-protein-coupled receptor stimulates osteoclastogenesis // *Nat Commun*. 2017; 8: 15621. Published online 2017 May 31. [doi:10.1038/ncomms15621](https://doi.org/10.1038/ncomms15621)