

ОЖИРЕНИЕ КОСТНОГО МОЗГА КАК КОМПОНЕНТ ПАТОГЕНЕЗА ОСТЕОПОРОЗА И ЕГО ФАРМАКОКОРРЕКЦИЯ РЕСВЕРАТРОЛОМ

© Шевченко О.А., Должигов А.А.

Белгородский государственный национальный исследовательский университет (НИУ «БелГУ»)
Россия, 308015, Белгородская область, г. Белгород, ул. Победы, д. 85

Цель – исследование изменений жировой ткани костного мозга проксимальных половин бедренной и большеберцовой костей при экспериментальном постменопаузальном остеопорозе и его терапии ресвератролом.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 15 самках крыс Вистар. Модель постменопаузального остеопороза создавали двусторонней овариэктомией со сроком наблюдения 56 суток. Терапию ресвератролом в экспериментальной группе проводили ежедневным внутривнутренним введением в дозе 2 мг/кг на протяжении такого же срока наблюдения. Проведены гистологическое исследование с компьютерным анализом изображений и морфометрией, абсорбционная рентгеновская денситометрия.

Результаты. Двусторонняя овариэктомия у экспериментальных животных – крыс Вистар, через 8 недель вместе с остеопоротическим поражением костных элементов приводит к увеличению объема костномозговой жировой ткани с гиперпластическим типом ожирения в бедренной кости и смешанным в большеберцовой. Ресвератрол в дозе 2 мг/кг, не влияя на диаметр адипоцитов, достоверно уменьшает их количество, снижая степень костномозгового ожирения.

Заключение. Ресвератрол в дозе 2 мг/кг обладает выраженным фармакологическим действием на жировой компонент костного мозга бедренной и большеберцовой костей в модели постменопаузального остеопороза у крыс Wistar, снижая степень костномозгового ожирения. Это может отражать его влияние на коммитирование костномозговых стромальных предшественников с переключением преимущественно на остеобластическое направление дифференцировки, что объясняет его остеопротективный и регенераторный эффекты.

Ключевые слова: постменопаузальный остеопороз; ресвератрол; адипогенез; остеопротекция.

Шевченко Ольга Александровна – ассистент кафедры микробиологии и вирусологии с курсом клинической иммунологии, НИУ «БелГУ», г. Белгород. ORCID ID: 0000-0003-4881-6378. E-mail: olya_dolzhikova@mail.ru

Должигов Александр Анатольевич – д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры анатомии и гистологии человека, НИУ «БелГУ», г. Белгород. ORCID ID: 0000-0001-7425-8416. E-mail: anatomda@mail.ru (автор, ответственный за переписку)

С современных позиций медицинская и социальноэкономическая значимость остеопороза (ОП) как основного возраст-ассоциированного метаболического заболевания скелета определяется несколькими аспектами. Во-первых, неблагоприятным эпидемиологическим прогнозом распространенности ОП и его инвалидизирующих травматологических осложнений на ближайшее десятилетие [1, 2]. Во-вторых, наличием достаточного количества клинических и экспериментальных данных, позволяющих рассматривать остеопороз как возможный компонент метаболического синдрома [3-6], что определяет потенциальные пути поиска средств многоцелевой фармакотерапии. Наконец, изменения состава стромального компонента костного мозга, содержащего среди стромальных элементов и остеогенные предшественники, с увеличением доли жирового компонента расценивается как одно из проявлений костного старения [7]. Поэтому вопросы патогенеза остеопороза и поиска средств профилактической или лечебной фармакокоррекции выходят за рамки собственно проблемы ОП и его осложнений, распространяясь в область геронтологии и геронтопротекции, а также терапии заболеваний, входящих в комплекс метаболического синдрома. Биологическая

обоснованность и значимость исследований костномозговых изменений при метаболической патологии скелета обосновываются тем, что стромальный компонент костного мозга содержит общие предшественники и остеогенной, и адипоцитарной линий дифференцировки – костномозговые стромальные стволовые клетки [8]. В связи с этим нами поставлена цель данного исследования.

Цель исследования – изучить изменения адипоцитарного компонента костного мозга бедренной и большеберцовой костей при экспериментальном постменопаузальном остеопорозе и его фармакотерапии ресвератролом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на 15 белых крысах-самках Wistar массой 280-300 г, соответствующей биологическому возрасту 6 месяцев – возрасту скелетной зрелости, который рекомендуется для начала подобных экспериментов с моделированием постменопаузального остеопороза [9].

Исследованы проксимальные половины бедренной и большеберцовой костей: бедренная –

от головки до середины диафиза, большеберцовая – от мыщелков до середины диафиза. Первая из них выбрана объектом исследования как являющаяся основным местом свойственных остеопорозу низкоэнергетических переломов. Большеберцовая выбрана в связи с тем, что в клинике является объектом ультразвуковой диагностической и скрининговой оценки минеральной плотности скелета, а также технической доступностью для денситометрии у крыс.

Животные были рандомизированы на 3 равные группы.

1. Ложнооперированные, у которых выполняли лапаротомию без каких-либо последующих воздействий.

2. Контрольная с моделированием постменопаузального остеопороза двусторонней овариоэктомией.

3. Экспериментальная с моделью ОП и ежедневным внутрибрюшинным введением ревератрола на физрастворе в дозе 2 мг/кг. Срок завершения эксперимента 8 недель выбран нами на основании предыдущих исследований [10, 11], в которых показано, что остеопоротическое поражение в данной модели начинает формироваться с четырех недель и достигает полной картины к 8. Хирургические вмешательства выполнены под общей анестезией внутрибрюшинным введением золетила и медитина. На 57-й день на мультифункциональной лабораторной рентгеновской установке IN-VIVO MS FX PRO (Bruker; США) с системой молекулярной визуализации при помощи программного обеспечения Bone Density Software выполняли денситометрию изучаемых частей скелета с оценкой минеральной плотности кости (g/cm^3) по показателю ослабления рентгеновского излучения на единицу глубины материала – BCD (Bone Column Density). После этого животных выводили из эксперимента цервикальной дислокацией под хлоралгидратным наркозом. Весь костный материал фиксировали в 10% забуференном формалине «Histosafe» и после декальцинации в жидкости «Surgipath DecalcifierII» (Leica, Германия), автоматическим способом заливали в парафин с последующим изготовлением и окраской гистологических срезов толщиной 7 мкм гематоксилином и эозином и по Маллори. Основное гистологическое исследование с морфометрией проведено на цифровых аналогах препаратов, полученных с помощью системы сканирования и архивирования изображений Hamamatsu. При необходимости детализации препараты изучали обычной световой микроскопией под микроскопом «Ломо» с видеокамерой «DV1000» и программным обеспечением для морфометрии («McrAView 7.3.1.7», ЛОМО-микросистемы, Россия), используя

объектив масляной иммерсии со 100-кратным увеличением.

Морфометрически оценивали следующие показатели:

- 1) толщину костных трабекул;
- 2) диаметры адипоцитов (при отклонении от строго округлой формы клеток определяли один наибольший размер);
- 3) среднее абсолютное количество клеток на поле зрения с анализом 30 случайных полей зрения;
- 4) удельный объем жировой ткани.

Линейные измерения структур проводили аналитическим модулем названной сканирующей системы NDP.View 2. Удельный объем жировой ткани оценивали методом точечного счета по Г.Г. Автандилову, применяя компьютерный аналог прозрачной морфометрической сетки с 49 точками.

Статистическую обработку данных проводили средствами электронных таблиц MS Excel 2003 по стандартным формулам. Так как распределение данных было нормальным (по критерию Шапиро-Уилка) и дисперсии изучаемых признаков не отличались, оценку достоверности отличий проводили по t-критерию Стьюдента с уровнем значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как указано выше, ранее нами в собственных экспериментах было показано, что двусторонняя овариоэктомия вызывает морфологические изменения и снижение минеральной плотности костей, начинающиеся с 4 недель, достигающие полного формирования к 8 неделям и экстраполируемые на патологию у человека. Было отмечено, что жировое замещение костного мозга является одним из проявлений остеопоротического поражения. В настоящем исследовании получены следующие новые результаты и уточнения предшествующих. В бедренной кости (рис. 1) визуальное жировое замещение костного мозга примерно в равной степени выражено и в головке, и в диафизе кости, характеризуясь утратой свойственной интактному костному мозгу дискретности распределения отдельных адипоцитов и их групп. Значимым является то, что основным количественным изменением явилось достоверное увеличение численности клеток, составившее в среднем на поле зрения $32,4 \pm 0,5$ (против $19,0 \pm 0,6$ в первой группе). Средний диаметр клеток при этом достоверно меньше (табл. 1), что свидетельствует о гиперпластическом типе ожирения. Такой механизм снижения остеогенного потенциала

Таблица 1

Table 1

Средние диаметры адипоцитов костного мозга бедренной и большеберцовой костей

Average diameters of bone marrow adipocytes of femoral and tibial bones

Кость Bone	Экспериментальные группы Experimental group		
	Ложнооперированные False-operated	Операция 8 недель Operation 8 weeks	Операция 8 недель+ресвератрол Operation 8 weeks+resveratrol
Бедренная Femur	39.3±0.8	32.3±0.8*	30.0±0.9*
Большеберцовая Tibia	40.75±1.1	35.8±0.7*	36.6±0.8*

Примечание: *достоверные отличия от группы ложнооперированных; **достоверные отличия от группы с остеопорозом.

Note: *significant differences from the group of those who underwent false surgery; **significant differences from the group with osteoporosis.

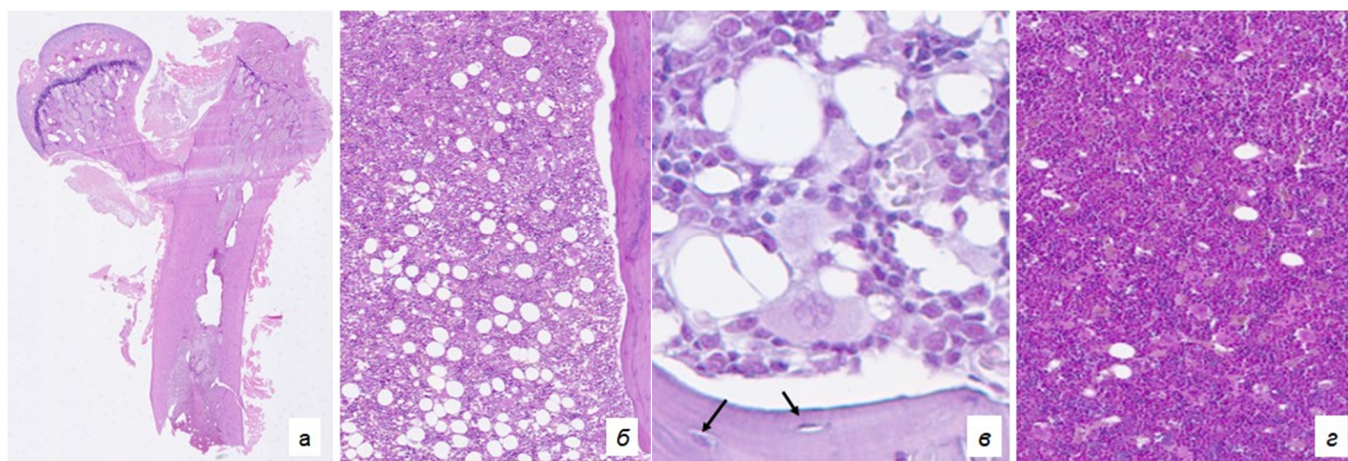


Рис. 1. Гистоструктура бедренной кости у ложнооперированных животных (а), через 8 недель после овариэктомии (б, в) и при терапии ресвератролом (г): а – костномозговые пространства в обеих частях кости с преобладанием гемопоэтического компонента, малочисленными адипоцитами; б – увеличенное количество адипоцитов в диафизе (б) и головке (в); г – состав костного мозга близкий к интактному, с малочисленными дискретно расположенными адипоцитами. Окр. гематоксилином и эозином. Сканированные препараты.

Fig. 1. Histostructure of the femur in falsely operated animals (a), 8 weeks after ovariectomy (б, в) and during resveratrol therapy (г): а – bone marrow spaces in both parts of the bone with a predominance of the hematopoietic component, small adipocytes; б – increased number of adipocytes in the diaphysis (б) and head (в); г – bone marrow composition is close to intact, with small discretely located adipocytes. Ocd with hematoxylin and eosin. Scanned medications.

костномозговых стромальных клеток установлен и для процессов костного старения, при котором значение имеет не только и не столько усиление резорбтивных явлений, сколько переключение костномозговых предшественников на адипоцитарный путь дифференцировки. В частности, при исследовании культуры костномозговых мезенхимальных стволовых клеток от пациентов в возрасте 68-81 год в сравнении с молодыми (18-29 лет) установлено, что снижение остеогенного потенциала связано именно со снижением пролиферативной активности мезенхимальных предшественников и количества остеобластических клеток, а не их функции [12].

В большеберцовой кости (рис. 2) выявлены принципиально сходные изменения: ожирение костного мозга диафиза, достигавшее субтотальной степени, но имевшее в отличие от бедренной кости смешанный тип. Значимой особенностью костных изменений явилось более частое, чем в бедренной кости, обнаружение ко-локализации типичных очагов остеокластической резорбции и гибели остеоцитов по типу апоптоза с запустеванием лакун.

В экспериментальной серии с терапией ресвератролом в обеих костях выявлены значимые изменения, свидетельствующие о влиянии препарата на жировой компонент изученных костей. Распределение адипоцитов стало дискрет-

ным – свойственным нормальному костному мозгу, явно преобладал гемопоэтический компонент. Средний диаметр клеток остался значимо и достоверно меньше, чем у ложнооперированных животных, но в сравнении с нелечеными животными это отличие оказалось недостоверным ($p=0,25$), что может быть связано с сохранением выраженного полиморфизма адипоцитов с наличием крупных клеток. Кроме среднего диаметра размерные характеристики адипоцитов были оценены по спектру размерных групп. Для этого в обеих костях выделены 2 размерные группы: до среднего диаметра включительно и больше него. В обеих костях при 8-недельном остеопорозе выявлено преобладание клеток первой группы (56% против 44% в бедренной; 57% против 44% в большеберцовой). При терапии ресвератролом такое соотношение сохранилось только в бедренной кости (56,2% против 43,8%), а в большеберцовой оно приняло обратный характер (52,6% более крупных против 47,4% первой группы). Но в целом как наиболее значимое изменение мы рассматриваем уменьшение количества адипоцитов. В бедренной кости в среднем на поле зрения оно оказалось значительно меньшим ($17,7 \pm 0,4$) в сравнении с 8-недельным остеопорозом и даже незначительно с пограничной ($p=0,047$) достоверностью в сравнении с ложнооперирован-

ными животными. Таким образом, диаметр адипоцитов значимо уменьшился при остеопоротическом поражении, а терапия ресвератролом на него не повлияла. Ее эффект проявился в снижении количества адипоцитов, что в бедренной кости выявлено по результатам подсчета количества адипоцитов в полях зрения, а в большеберцовой при определении удельной площади жировой ткани. Данный показатель использован для большеберцовой кости из-за ее анатомических особенностей и, по нашему мнению, является интегративным, так как учитывает и диаметр адипоцитов, и их количество. Выявлено достоверное ($p=0,0055$) двукратное (с $11,1 \pm 0,4$ до $5,5 \pm 1,9$) уменьшение удельной доли жировой ткани.

В настоящее время ожирение и ассоциированная с ним патология, входящая в структуру метаболического синдрома, рассматриваются как приобретшие характер неинфекционной эпидемии [13]. В контексте взаимосвязи с ними рассматривается и проблема остеопороза [6], несмотря на то, что путь формирования современных представлений не был лишен противоречий, прежде всего в клинических и эпидемиологических исследованиях вследствие различий в дизайне исследований, возрастных, гендерных и этнических факторов. Литератур-

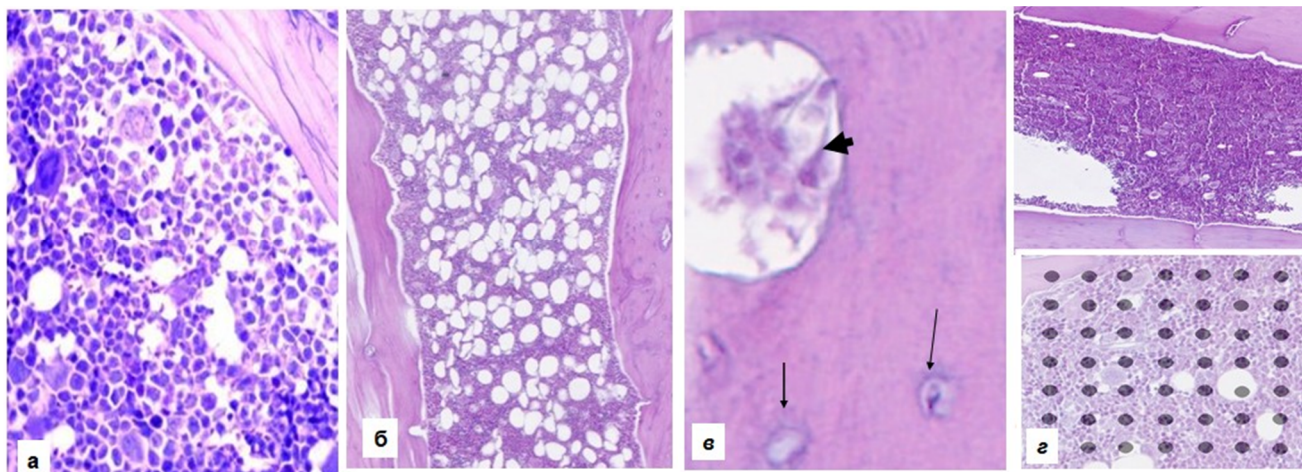


Рис 2. Гистоструктура костного мозга диафиза большеберцовой кости у ложнооперированных животных (а), при остеопорозе (б, в) и при терапии ресвератролом г); а – костномозговое пространство губчатого вещества с преобладанием гемопоэтических элементов, адипоциты одиночные и мелкими группами, имеющими из-за плотного прилегания клеток вид пустот неправильной формы; б – участок выраженного гиперпластического ожирения диафизарного пространства; в – остеокласт в широкой резорбционной лакуне (острие стрелки) и апоптотически измененные остеокиты (тонкие стрелки); г – редукция жирового компонента до единичных дискретно расположенных адипоцитов (в нижней части участок с проекцией морфометрической сетки). Окр. гематоксилином и эозином. Сканированные препараты.

Fig. 2. Histostructure of the bone marrow of the tibial diaphysis in falsely operated animals (a), with osteoporosis (б, в) and with resveratrol therapy (r); а – bone marrow space of a spongy substance with a predominance of hematopoietic elements, single and small groups of adipocytes having the appearance of irregularly shaped voids due to the tight fit of cells; б – an area of pronounced hyperplastic obesity of the diaphyseal space; в – osteoclast in a wide resorption lacuna (arrowhead) and apoptotically altered osteocytes (thin arrows); г – reduction of the fat component to single discretely located adipocytes (in the lower part there is a section with a projection of a morphometric grid). Ocd with hematoxylin and eosin. Scanned specimens.

ные данные столь многочисленны (Поиск в базе PubMed по ключевым словам «osteoporosis» и «obesity» дает более 2000 ссылок), что их анализ выполнен в основном по результатам мета-аналитических работ. Первым рассматриваемым вопросом является влияние жировой массы на состояние скелета. В нем необходимо строго разграничивать эффекты внекостной жировой ткани и костномозговой. В характеристике роли первой в одной из заслуживающих первоочередного внимания аналитических работ [13] к полезным для скелета эффектам жировой ткани отнесены механическая защита при падении, стимулирующее действие нагрузки массой на кортикальную кость, остеогенный локальный эффект лептина, большая активность ароматазы с увеличением продукции эстрадиола. Но количество отрицательных эффектов оказывается вдвое большим (стимуляция остеокластогенеза и резорбции провоспалительными цитокинами, прежде всего TNF- α , через RANKL/RANK сигнальный путь, ингибирующий остеогенез эффект центрального действия лептина, опосредованный синаптическими вегетативными путями, отрицательное действие гипергликемии и инсулинопении, локальный синтез кортизола, активация рецептора пролифератора пероксисом PPAR γ), если из первого перечня обоснованно исключить фактор защиты при падении, являющийся лишь отражением исторических механистических представлений. В одной из зарубежных работ, содержащей мета-анализ более 100 публикаций, под заголовком «Ожирение, остеопороз и костный метаболизм» приведены сходные факторы «за» и «против» жировой ткани [3]. Фактор механической защиты расценивается как излишне упрощенный и отвергается. В обеих работах отдельный раздел представлен более значимым для рассматриваемой проблемы анализом роли костномозговой жировой ткани. В первой из них приводятся данные исследований начала века, заслуживающие отражения. В них было установлено, что костномозговые мезенхимальные клетки от пациенток с остеопорозом экспрессируют большее количество маркеров адипоцитарной дифференцировки, чем клетки от пациенток без остеопороза и большее их число дифференцировалось в адипоциты. Большее же внимание уделено характеристике основного активатора костномозгового адипогенеза – пролифератора пероксисом и его ядерному рецептору PPAR γ , открытому еще с начала века после исследований Akune T. et al. [14] в экспериментах на гетерозиготных мышцах с дефицитом PPAR γ , у которых обнаружена высокая костная масса с усиленным остеобластогенезом.

Вторым вопросом является роль жировой ткани в механизмах скелетного старения. Речь идет не о не требующем доказательств инволюционном жировом замещении красного костного мозга, как и других кроветворных органов, а об изменениях собственно костной ткани. Этот факт практически не оспаривается, а исследовательские усилия направлены в основном на выяснение тонких механизмов данного процесса и возможность влияния на него. А в связи с последним речь идет не о стремлении остановить естественные биологические события, а сделать их соответствующими современному понятию «здоровое старение». И здесь исследовательские пути тем или иным образом пролегают через обеспечение метаболического здоровья, прежде всего связанного с метаболизмом липидов. Выделено понятие «эктопическое ожирение» – увеличение жировых накоплений вне жировой ткани, как один из самых ранних ключевых признаков метаболических нарушений, в частности сахарного диабета 2 типа [15]. На основе анализа литературных данных в механизмах ожирения костного мозга в связи с патогенезом остеопороза можно выделить две основные группы факторов. Во-первых, изменения клеточного, конкретнее митохондриального, метаболизма с дисбалансом между поступлением липидов и их оксидацией, то есть митохондриальную дисфункцию. Во-вторых, сдвиги в дифференцировке стромальных костномозговых предшественников. Первое доказывается следующим. Самые последние разработки эффективных антиостеопоротических средств представлены фармакологическими субстанциями – ингибиторами оксидативного стресса [16], а еще в начале текущего десятилетия [17] опубликованы результаты исследования остеобластической дифференцировки и биогенеза митохондрий под влиянием ресвератрола в культуре периостальных клеток человека из челюстей. Однозначных доказательств повышения жизнеспособности и пролиферативной активности клеток не найдено. Но при этом установлено повышение уровня щелочной фосфатазы и минерализации, что свидетельствует о дифференцировочном эффекте, а самое главное – обнаружено повышение биогенеза митохондрий. Этот аспект представляется высоко значимым, так как давно постулировано и вошло в серию фундаментальных медико-биологических концепций под общим заголовком «Hallmarks», что митохондриальная дисфункция является одним из ключевых признаков старения вообще [18].

Второй тип клеточных событий на территории костномозговых компартментов также имеет большую доказательную базу. Прежде всего, центральным фактом является то, что костно-

мозговые стромальные стволовые клетки являются источником всех негемопоэтических линий дифференцировки: хондрогенной, остеогенной, эндотелиальной, адипоцитарной, фибробластической. Конкретный путь дифференцировки зависит от многочисленных эпигенетических регуляторных факторов, и при этом допускается ряд вариантов переключения с одной линии на другую даже на стадии зрелых клеток [8, 19]. О главном факторе адипогенеза – пролифераторе пероксисом, было сказано выше. Объем информации о различных факторах регуляции коммитирования и дифференцировки клеточных линий за последнее десятилетие достиг грани обозримого. Можно лишь выделить их основные группы: прямые межклеточные и клеточно-матриксные взаимодействия, многочисленные ростовые и транскрипционные факторы, микроРНК. В целом же центральным в процессе костного старения оказываются снижение пролиферативного потенциала костномозговых мезенхимальных стволовых клеток и преобладание адипоцитарного коммитирования [8].

Относительно эффектов ресвератрола и других полифенолов данные также многочисленны, начиная с начала века. Однако в первых работах исследовались большие (вплоть до 400 мг/кг в день) дозы препаратов [19]. Тем не менее можно перечислить основные выявленные и подтвержденные методами соответствующего времени эффекты: ингибирование адипоцитогенеза на этапе предшественников, индукция апоптоза зрелых клеток, ингибирование липогенеза при стимуляции липолиза, ингибирование продукции провоспалительных цитокинов и, соответственно, негативная модуляция остеокластогенного пути RANKL/RANK. Из существенно более современных исследований адекватных дозировок заслуживают внимания данные Feng et al. [20], которые на модели овариоэктомии у достигших скелетной зрелости крыс Sprague-Dawley *in vivo* и *in vitro* методами оценили эффекты трех пероральных доз ресвератрола: 5 мг/кг, 25 мг/кг и 45 мг/кг в день с началом введения через 7 суток после овариоэктомии на протяжении 8 недель. Морфологически исследован дистальный конец бедренной кости – мышечки, а компьютерной микротомографией – поясничный отдел позвоночника. Установлено, что активностью обладают средняя (25 мг) и высокая (45 мг) дозы, а низкая (5 мг) проявила малую эффективность по данным инструментальных (рентгенденситометрия, компьютерная микротомография) и *in vitro* клеточных (оценка остеобластической дифференцировки в культуре костномозговых стромальных клеток) методов. Однако по показателям сыво-

роточного уровня щелочной фосфатазы и остеокальцина умеренный позитивный эффект выявлен при всех испытанных дозах. Но в части микроструктурных изменений данные ограничены описаниями общего характера в субъективных терминах «тоньше», «меньше», «улучшение», без оценки отдельных костных клеточных элементов, других костных микроструктур и без морфометрии. Тем не менее доказана реализация антиостеопоротического эффекта ресвератрола через повышение экспрессии транскрипционного регулятора *sirt1*, ведущего к ингибированию фосфорилирования и активности ядерного фактора κB , а поэтому главного активатора остеокластогенеза – пути RANKL/RANK. Не вдаваясь в детали этой отдельной сложной темы, необходимо указать, что названный транскрипционный фактор *sirt1* принадлежит большому семейству NAD-зависимых деацетилаз, которые в последнее время пристально изучаются в связи с механизмами геронтопротекции [21].

Полученные нами данные, свидетельствующие о преимущественном влиянии ресвератрола на численность популяции костномозговых адипоцитов, то есть снижение степени гиперпластического ожирения, укладываются в указанные современные концепции баланса (образно представляемого некоторыми зарубежными авторами в виде «весов») между остеобластическим и адипоцитарным коммитированием и дифференцировкой как основы «костного здоровья» [21].

Полученные данные позволяют заключить, что ресвератрол в ежедневной дозе 2 мг/кг обладает высокой фармакологической эффективностью при экспериментальном постменопаузальном остеопорозе у лабораторных животных – крыс, определяемой редукцией адипоцитарного компонента костномозговых пространств, вероятнее, объяснимой ингибированием адипоцитарного коммитирования и дифференцировки стромальных предшественников с переключением их на остеобластическую линию. Помимо этого, значение полученных результатов состоит в определении путей для дальнейшего поиска способов коррекции, в том числе многоцелевой фармакотерапии, клеточного состава костномозгового компартмента скелета, опираясь на теорию патогенеза остеопороза как костного ожирения, которую можно распространить и на процессы скелетного старения.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии источников финансирования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Все эксперименты выполнены в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета ЕС по охране животных, используемых в научных целях.

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Шевченко О.А. – выполнение экспериментальной части, проведение функциональных исследований и анализ данных, анализ литературы, редактирование рукописи; Должиков А.А. – разработка концепции исследования и плана выполнения эксперимента, анализ морфологических данных, написание первичного варианта статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Рожинская Л.Я., Луценко А.С. Отчет о международном симпозиуме «Актуальные вопросы лечения пациентов с остеопорозом. *Остеопороз и остеопатии*. 2021;24(3):33–34 [Rozhinskaya L.Y., Lutsenko A.S. Report on the international symposium on osteoporosis. *Osteoporosis and Bone Diseases*. 2021;24(3):33–34 (in Russ)]. EDN: GTXKDU.
2. Клинические рекомендации «Остеопороз» 2021; 82 с. [Clinical recommendations “Osteoporosis” 2021; 82 p. (in Russ)]. URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/recommend/87_4
3. Gkastaris K., Goulis D.G., Potoupnis M., Anastasilakis A.D., Kapetanios G. Obesity, osteoporosis and bone metabolism. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2020;20(3):372–381.
4. Arjunan D., Prasad T.N., Das L., Bhadada S.K. Osteoporosis and Obesity. *Indian J Orthop*. 2023;57(Suppl 1):218–224. DOI: 10.1007/s43465-023-01052-9.
5. Kim T.Y., Schafer A.L. Diabetes and Bone Marrow Adiposity. *Curr Osteoporos Rep*. 2016;14(6):337–344. DOI: 10.1007/s11914-016-0336-x.
6. Martiniakova M., Biro R., Penzes N., Sarocka A., Kovacova V., Mondockova V., Omelka R. Links among Obesity, Type 2 Diabetes Mellitus, and Osteoporosis: Bone as a Target. *Int J Mol Sci*. 2024;25(9):4827. DOI: 10.3390/ijms25094827.
7. Браилова Н.В., Кузнецова В.А., Дудинская Е.Н., Ткачева О.Н. Старение костной ткани. *Российский журнал гериатрической медицины*. 2020;(2): 147–153 [Brailova N.V., Kuznetsova V.A., Dudinskaya E.N., Tkacheva O.N. Aging bone. *Russian journal of geriatric medicine*. 2020;(2):147–153 (in Russ)]. DOI: 10.37586/2686-8636-2-2020-147-153. EDN: UDAFYN.
8. Infante A., Rodríguez C.I. Osteogenesis and aging: lessons from mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther*. 2018;9(1):244. DOI: 10.1186/s13287-018-0995-x.
9. Yousefzadeh N., Kashfi K., Jeddi S., Ghasemi A. Ovariectomized rat model of osteoporosis: a practical guide. *EXCLI J*. 2020;19:89–107. DOI: 10.17179/excli2019-1990.
10. Должиков А.А., Шевченко О.А. Стимуляция пролиферации и остеобластической дифференцировки остеогенных предшественников как фармакологические эффекты ресвератрола при гипопэстрогения-индуцированном остеопорозе: структурно-функциональные проявления и возможные механизмы. *Человек и его здоровье*. 2024;27(3):109–118 [Dolzhikov A.A., Shevchenko O.A. Stimulation of proliferation and osteoblastic differentiation of osteogenic precursors as pharmacological effects of resveratrol in hypoestrogenism-induced osteoporosis: structural and functional manifestations and possible mechanisms. *Humans and their health*. 2024;27(3):109–118 (in Russ.)]. DOI: 10.21626/vestnik/2024-3/11. EDN: XMAUWW.
11. Должиков А.А., Шевченко О.А., Должикова И.Н. Динамика структурно-функциональных изменений в проксимальном эпифизе бедренной кости при экспериментальном постменопаузальном остеопорозе и терапии ресвератролом. *Modern Science*. 2024;(7-1):42–50 [Dolzhikov A.A., Shevchenko O.A., Dolzhikova I.N. Dynamics of structural and functional changes in the proximal epiphysis of the femur in experimental postmenopausal osteoporosis and resveratrol therapy. *Modern Science*. 2024;(7-1):42–50 (in Russ.)]. EDN: MMYALY.
12. Stenderup K., Justesen J., Clausen C., Kassem M. Aging is associated with decreased maximal life span and accelerated senescence of bone marrow stromal cells. *Bone*. 2003;33(6):919–926. DOI: 10.1016/j.bone.2003.07.005.
13. Шишкова В.Н. Ожирение и остеопороз. *Остеопороз и остеопатии*. 2011;14(1):21–26 [Shishkova V.N., Shishkova V.N. Obesity and osteoporosis. *Osteoporosis and Bone Diseases*. 2011;14(1):21–26 (in Russ)]. DOI: 10.14341/osteo2011121-26.
14. Akune T., Ohba S., Kamekura S., Yamaguchi M., Chung U.I., Kubota N., Terauchi Y., Harada Y., et al. PPARgamma insufficiency enhances osteogenesis through osteoblast formation from bone marrow progenitors. *J Clin Invest*. 2004;113(6):846–855. DOI: 10.1172/JCI19900.
15. Schrauwen P., Timmers S. Can resveratrol help to maintain metabolic health? *Proc Nutr Soc*. 2014;73(2):271–277. DOI: 10.1017/S0029665113003856.
16. Трунов К.С., Даниленко А.П., Гудырев О.С., Даниленко Л.М., Покровский М.В., Скачилова С.Я., Чередниченко А.А., Романенко Ю.В. и др. Супрамолекулярный комплекс на основе производных 3-гидроксипиридина предотвращает остеопороз, вызванный дефицитом эстрогенов, ингибируя окислительный стресс. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2023;86(2):28–35 [Trunov K.S., Danilenko A.P., Gudyrev O.S., Danilenko L.M., Pokrovsky M.V., Skachilova S.Ya., Cherednichenko A.A., et al. Supramolecular complex based on 3-hydroxypyridine derivatives prevents osteoporosis caused by estrogen deficiency by inhibiting oxidative stress. *Experimental and clinical pharmacology*. 2023;86(2):28–35 (in Russ.)]. DOI: 10.30906/0869-2092-2023-86-2-28-35. EDN:JGCGCN.
17. Moon D.K., Kim B.G., Lee A.R., In Choe Y., Khan I., Moon K.M., Jeon R.H., Byun J.H., et al. Resveratrol can enhance osteogenic differentiation and mitochondrial biogenesis from human periosteum-derived

- mesenchymal stem cells. *J Orthop Surg Res.* 2020;15(1):203. DOI: 10.1186/s13018-020-01684-9.
18. López-Otín C., Blasco M.A., Partridge L., Serrano M., Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell.* 2013;153(6):1194-217. DOI: 10.1016/j.cell.2013.05.039.
19. Baile C.A., Yang J.Y., Rayalam S., Hartzell D.L., Lai C.Y., Andersen C., Della-Fera M.A. Effect of resveratrol on fat mobilization. *Ann N Y Acad Sci.* 2011;1215:40-7. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2010.05845.x.
20. Feng J., Liu S., Ma S., Zhao J., Zhang W., Qi W., Cao P., Wang Z., et al. Protective effects of resveratrol on postmenopausal osteoporosis: regulation of SIRT1-NF-κB signaling pathway. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai).* 2014;46(12):1024-1233.

DOI: 10.1093/abbs/gmu103.

21. Пухальская А.Э., Кветной И.М., Линькова Н.С., Дятлова А.С., Гутоп Е.О., Козлов К.Л., Пальцев М.А. Сиртуины и старение. *Успехи физиологических наук.* 2022;53(1):16–27 [Pukhalskaia A.E., Kvetnoy I.M., Linkova N.S., Diatlova A.S., Gutop E.O., Kozlov K.L., Paltsev M.A. Sirtuins and aging. *Progress in physiological science.* 2022;53(1):16–27 (in Russ)]. DOI: 10.31857/S0301179821040056. EDN: KUNLXB.

Поступила в редакцию 03.03.2025

Подписана в печать 25.06.2025

Для цитирования: Шевченко О.А., Должиков А.А. Ожирение костного мозга как компонент патогенеза остеопороза и его фармакокоррекция ресвератролом. *Человек и его здоровье.* 2025;28(2):72–79. DOI: 10.21626/vestnik/2025-2/09. EDN: WBRKKX.

BONE MARROW OBESITY AS A COMPONENT OF THE PATHOGENESIS OF OSTEOPOROSIS AND ITS PHARMACOKINETIC TREATMENT WITH RESVERATROL

© Shevchenko O.A., Dolzhikov A.A.

Belgorod State National Research University (NRU "BelSU")

85, Pobedy Str., Belgorod, Belgorod region, 308015, Russian Federation

Objective – to investigate changes in the fatty tissue of the bone marrow of the proximal halves of the femur and tibia in experimental postmenopausal osteoporosis and its therapy with resveratrol.

Materials and methods. The study was performed on 15 female Wistar rats. A model of postmenopausal osteoporosis was created by bilateral ovariectomy with a follow-up period of 56 days. Resveratrol therapy in the experimental group was performed by daily intraperitoneal administration at a dose of 2 mg/ kg during the same follow-up period. Histological examination with computer analysis of images and morphometry, absorption X-ray densitometry were performed.

Results. Bilateral ovariectomy in experimental Wistar rat animals 8 weeks after ovariectomy, together with osteoporotic lesion, leads to an increase in the volume of bone marrow adipose tissue with hyperplastic type of obesity in the femur and mixed in tibia. Resveratrol at a dose of 2 mg / kg, without affecting the diameter of adipocytes, significantly reduces their number, reducing the degree of bone marrow obesity.

Conclusion. Resveratrol at a dose of 2 mg/kg has a pronounced pharmacological effect on the fatty component of the femoral and tibial bone marrow in the Wistar rat model of postmenopausal osteoporosis, reducing the degree of bone marrow obesity. This may reflect its effect on the fixation of bone marrow stromal precursors with a switch mainly to the osteoblastic direction of differentiation, which explains its osteoprotective and regenerative effects.

Keywords: postmenopausal osteoporosis; resveratrol; adipogenesis; osteoprotection.

Shevchenko Olga A. – Assistant at the Department of Microbiology and Virology with a course in Clinical Immunology, NRU "BelSU", Belgorod, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-4881-6378. E-mail: olya_dolzhikova@mail.ru

Dolzhikov Alexander A. – Dr. Sci. (Med), Professor, Professor at the Department of Human Anatomy and Histology, NRU "BelSU", Belgorod, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-7425-8416. E-mail: anatomda@mail.ru (corresponding author)

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The authors claim that there are no sources of funding.

COMPLIANCE WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

All experiments were carried out in accordance with Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes.

AUTHORS CONTRIBUTION

Dolzhikov A.A. – development of the research concept and design, participation in the experimental part, morphological research, intellectual final approval for publication of the manuscript; Shevchenko O.A. – experimental modeling, analysis of literature data, participation in morphological research, primary densitometric research and statistical analysis, correction of primary manuscript.

Received 03.03.2025

Accepted 25.06.2025

For citation: Shevchenko O.A., Dolzhikov A.A. Bone marrow obesity as a component of the pathogenesis of osteoporosis and its pharmacokinetic treatment with resveratrol. *Humans and their health.* 2025;28(2):72–79. DOI: 10.21626/vestnik/2025-2/09. EDN: WBRKKX.