

Ефективність бісфосфонових кислот у самиць щурів з експериментальним остеопорозом

В.В. Поворознюк¹, В.І. Пехньо², Н.В. Григор'єва¹, О.М. Козачкова², Н.В. Царик²

¹ Державна установа «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМН України», Київ;

² Інститут загальної та неорганічної хімії ім. В.І. Вернадського НАН України, Київ;

e-mail: crystal_ng@ukr.net

Досліджували вплив різних бісфосфонових кислот, а саме етиліденбісфосфонової (ЕБФ), аміноетиліденбісфосфонової (АЕБФ), 1-феніл-1-гідроксиметилденбісфосфонової (ФенГМБФ) та 1-феніл-1-фторметилденбісфосфонової (ФенФМБФ) кислот порівняно із золедроновою кислотою на тлі додаткового введення кальцію та вітаміну D у самиць щурів з експериментальним остеопорозом на мінеральну щільність (МЩКТ) та насиченість кісткової тканини. Отримані результати свідчать про відсутність достовірних змін МЩКТ у щурів самиць після двобічної оваріоектомії, які на тлі додаткового введення препаратів кальцію та вітаміну D отримували ЕБФ, АЕБФ та ФенГМБФ. Вірогідна динаміка МЩКТ усього скелета (з $0,100 \pm 0,007$ до $0,105 \pm 0,008$ г/см² через 3 міс) при введенні ФенФМБФ у комплексі з препаратами кальцію та вітаміну D потребує подальшого вивчення ефективності цієї кислоти у профілактиці та лікуванні системного остеопорозу.

Ключові слова: етиліденбісфосфорова кислота; аміноетиліденбісфосфорова кислота; 1-феніл-1-гідроксиметилденбісфосфорова кислота; 1-феніл-1-фторметилденбісфосфорова кислота; золедророва кислота; самиці щурів; мінеральна щільність кісткової тканини; експериментальний остеопороз.

ВСТУП

Нині найбільшим класом антиостеопоротичних препаратів є бісфосфонати (бісфосфонові кислоти, БФК), які мають антирезорбтивну активність з дією на клітини остеокласти, що беруть активну участь у руйнуванні кісткової тканини. Дослідженнями останніх років продемонстровано, що вони призводять до порушення ферментативної активності цих клітин та їх апоптозу, що дає змогу зменшити активність резорбції кісткової тканини й ефективно проводити лікування остеопорозу [1].

Антирезорбційні властивості встановлено для декількох десятків бісфосфонатів, ефективність яких становить від 1 до 2000, що зумовлено різною хімічною природою замісників, що зв'язуються з бісфосфоровою групою. Усі БФК характеризуються наявністю Р-С-Р-структури, яка забезпечує їх активне зв'язування з кістковим матриксом, а також 2 бічних ланцюги, що визначають їх

антирезорбційну активність, побічні ефекти та механізм дії. За хімічною природою БФК ділять на три типи. БФК першого типу не містять у своєму складі гетероатому азоту (клодророва, медророва, етидророва кислоти), другого – мають аміногрупу (памідророва, алендророва, ібандророва, нерідророва, олпадророва, інкадророва кислоти). Найбільшу антирезорбційну активність проявляють БФК третього типу, які містять азотовмісний гетероцикл (різедророва, золедророва кислоти). Для покращення біологічної активності та підвищення ефективності у клінічній практиці проводять модифікацію БФК різними замісниками та вивчають їх вплив на зміну біологічної активності [2-5].

Для лікування системного остеопорозу у клініці широко використовують алендронову, різедророву, памідронову, ібандронову й золедронову кислоти, ефективність та безпечність яких доведена у численних

© В.В. Поворознюк, В.І. Пехньо, Н.В. Григор'єва, О.М. Козачкова, Н.В. Царик

рандомізованих, плацебо контрольованих дослідженнях. Незважаючи на вищезазначене на сьогодні продовжується пошук нових БФК [6-8], які б могли розширити можливості для ефективного лікування остеопорозу та зменшення матеріальних витрат.

Метою нашої роботи була оцінка впливу різних БФК, а саме етиліденбісфосфонової (ЕБФ), аміноетиліденбісфосфонової (АЕБФ), 1-феніл-1-гідроксиметилденбісфосфонової (ФенГМБФ) та 1-феніл-1-фторметилденбісфосфонової (ФенФМБФ) у самиць щурів з експериментальним остеопорозом.

МЕТОДИКА

Дослідження проведено на 4-місячних самицях щурів лінії Вістар репродуктивного [9] віку масою 197 ± 5 г ($n=60$). Щури перебували у віварії ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМН України» при природному освітленні й стандартному раціоні харчування, вільному доступі до їжі (стандартний гранульований комбікорм-концентрат) та води. Експерименти проводили відповідно до правил Європейської конвенції про гуманне ставлення до тварин [10].

На початку дослідження під ефірним наркозом щурам була виконана двобічна овариюектомія [9], через 3 міс розпочата терапія експериментального остеопорозу. Тварин було розподілено на 6 груп по 10 у кожній залежно від виду лікування: I група не отримувала будь-яких БФК (контроль); II група – розчин ЕБФ; III група – розчин АЕБФ; IV група – розчин ФенГМБФ; V група – розчин ФенФМБФ; VI група (порівняння) – розчин золедроновіої кислоти (ЗОЛ). Тварини всіх груп отримували в достатній кількості кальцій та вітамін D (Ca/D) з раціоном харчування, введення розчинів досліджуваних БФК здійснювали одноразово парентерально.

Для вивчення терапевтичної дії БФК у експерименті ми приготували розчини ЕБФ, АЕБФ, ФенГМБФ, ФенФМБФ, ЗОЛ. Зважаючи на середню масу щурів на початок терапії

200 г, доза досліджуваної БФК для одного щура становила 0,75 мг (3,75 мг/кг). Дослідні розчини мали концентрацію ЕБФ, АЕБФ, ФенГМБФ, ФенФМБФ 0,75 мг/мл ($3,35 \cdot 10^{-3}$ моль/л). Як розчинник використовували фізіологічний розчин.

Прижиттєву оцінку стану кісткової тканини проводили за допомогою двофотонного рентгенівського денситометра «Prodigy» (GE Medical systems, model 8743, 2005; USA; програма «Experimental animals»), який дає змогу вимірювати у дрібних тварин мінеральну щільність (МЩКТ) і мінеральну насиченість кісткової тканини (МНКТ) всього скелета та його окремих ділянок. Дослідження проводили тричі (після моделювання експериментального остеопорозу до ведення препаратів та через 1 й 3 міс) з фіксацією тварини за допомогою спеціального пристрою під ефірним наркозом. МЩКТ та МНКТ хребта та всього скелета щурів усіх груп до початку лікування достовірно не відрізнялися між собою. Похибка вимірювання МЩКТ становила $\pm 0,01$ г/см².

Статистичний аналіз проводили з використанням пакетів програми «Statistica 10.0». Застосовували такі методи статистичного аналізу: перевірка нормальності розподілу кількісних ознак за критерієм Колмогорова-Смірнова, порівняння середніх показників за критерієм t Стьюдента, оцінка динаміки показників у групі за спорідненим критерієм t Стьюдента. Результати представлені у вигляді $M \pm SD$. Критичним рівнем значущості при перевірці статистичних гіпотез вважали $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз МЩКТ на рівні хребта та усього скелета у самиць щурів після двобічної овариюектомії не виявив достовірної динаміки показників через 1 та 3 міс на тлі щоденного прийому Ca/D (табл. 1, 2). Згідно з існуючими уявленнями МЩКТ є інтегральним показником міцності й відображає співвідношення

МНКТ та її площі, тому є надзвичайно важливою в оцінці стану кісткової тканини. Оскільки втрата кісткової тканини при системному остеопорозі переважає в губчастій частині, важливим є динаміка показників не тільки загалом, але й на рівні хребта зокрема. Отримані результати підтверджують дані попередніх наших досліджень [9] і гіпотезу про необхідність використання сильних антирезорбтивних засобів при лікуванні встановленого остеопорозу.

Вибір БФК для цього дослідження був таким: по перше, більшість цих кислот усіх трьох типів містять гідроксигрупу, яка, згідно з даними літературних джерел [4, 5], може

впливати на фізико-хімічне зв'язування БФК з гідроксіапатитом кістки. Для підтвердження цієї гіпотези доцільним є вивчення ефективності БФК, які подібні за хімічною будовою до кислоти, що застосовується в медицині, але не містить гідроксигрупи, зокрема ЕБФ, яка близька за будовою до медронової та етидроновної кислот – представників першого типу БФК.

По-друге, БФК II типу містять аміногрупу, яка віддалена від бісфосфонатної групи. Відсутність даних про біологічну активність БФК з аміногрупою, безпосередньо зв'язаною з α -атомом вуглецю бісфосфоновної групи, зумовлює необхідність дослідження

Таблиця 1. Мінеральна щільність кісткової тканини (г/см^2) хребта у самиць щурів репродуктивного віку після оваріоектомії та через 1 та 3 міс лікування

Групи тварин	До лікування	Після лікування	Динаміка показника	t	P
1 міс					
I (кальцій і вітамін D)	0,133±0,009	0,132±0,012	-0,001±0,014	0,15	0,89
II (етиліденбісфосфонова кислота, кальцій і вітамін D)	0,134±0,007	0,140±0,010	0,006±0,009	2,17	0,06
III (аміноетиліденбісфосфонова кислота, кальцій і вітамін D)	0,129±0,007	0,125±0,008	-0,005±0,010	1,36	0,21
IV (1-феніл-1-гідроксиметиленбісфосфонова кислота, кальцій і вітамін D)	0,138±0,011	0,131±0,016	-0,007±0,013	1,55	0,16
V (1-феніл-1-фторметиленбісфосфонова кислота, кальцій і вітамін D)	0,135±0,010	0,137±0,009	0,003±0,008	1,03	0,33
VI (золедроновна кислота, кальцій і вітамін D)	0,132±0,010	0,137±0,007	0,004±0,013	-1,08	0,31
3 міс					
I (кальцій і вітамін D)	0,135±0,007	0,115±0,046	-0,019±0,044	1,17	0,29
II (етиліденбісфосфонова кислота, кальцій і вітамін D)	0,134±0,007	0,134±0,008	0,000±0,013	0,02	0,98
III (аміноетиліденбісфосфонова кислота, кальцій і вітамін D)	0,129±0,007	0,131±0,011	0,002±0,015	0,39	0,71
IV (1-феніл-1-гідроксиметиленбісфосфонова кислота, кальцій і вітамін D)	0,138±0,011	0,134±0,012	-0,004±0,012	1,11	0,30
V (1-феніл-1-фторметиленбісфосфонова кислота, кальцій і вітамін D)	0,137±0,009	0,138±0,013	0,002±0,013	0,44	0,67
VI (золедроновна кислота, кальцій і вітамін D)	0,132±0,010	0,142±0,013	0,009±0,013	2,33	0,04

їх біологічної активності та порівняння з дією вже досліджених кислот. Нами було обрано 1-АЕБФ, яка містить аміногрупу в α -положенні.

По-третє, для покращення біологічної активності та підвищення ефективності БФК у клінічній практиці на сьогоднішній день іде активний пошук нових сполук, створених на основі їх модифікації різними замісниками. У цьому дослідженні вивчали ФенГМБФ та ФенФМБФ, які містять як один із бічних ланцюгів фенільну групу. Препаратом порівняння була ЗОЛ, яка має велику доказову базу щодо ефективності та безпечності, активно використовується у клінічній практиці, має найбільшу антирезорбтивну активність [1, 4, 5].

При аналізі результатів щодо ефективності застосування ЕБФ при додатковому щоденно-

му введенні Ca/D у самиць з експериментальним остеопорозом достовірних відмінностей не виявлено як на рівні хребта, так і всього скелета через 1 та 3 міс спостереження (див. табл. 1, 2), що підтверджує дані літературних джерел [11-13] щодо недостатньої ефективності цих сполук у попередженні втрати кісткової тканини при системному остеопорозі.

При вивченні ефективності нової БФК – АЕБФ, яка містить аміногрупу в α -положенні, та може бути віднесена до представників другого типу БФК, достовірних відмінностей показників МЩКТ хребта та всього скелета через 1 та 3 міс спостереження також не виявлено (див. табл. 1, 2), що підтверджує думку про те, що подібне положення аміногрупи відносно бісфосфонової групи не впливає на динаміку МЩКТ.

Таблиця 2. Мінеральна щільність кісткової тканини ($\text{г}/\text{см}^2$) усього скелета у самиць репродуктивного віку після оваріоектомії та через 1 та 3 міс лікування

Групи тварин	До лікування	Після лікування	Динаміка показника	t	P
1 міс					
I (кальцій і вітамін D)	0,133±0,009	0,132±0,012	0,001±0,014	0,15	0,89
II (етиліденбісфосфонова кислота, кальцій і вітамін D)	0,100±0,005	0,104±0,006	0,004±0,006	-2,11	0,06
III (аміноетиліденбісфосфонова кислота, кальцій і вітамін D)	0,096±0,006	0,096±0,003	0,000±0,004	0,21	0,84
IV (1-феніл-1-гідроксиметилденбісфосфонова кислота, кальцій і вітамін D)	0,105±0,007	0,099±0,010	-0,006±0,006	2,99	0,02
V (1-феніл-1-фторметилденбісфосфонова кислота, кальцій і вітамін D)	0,099±0,007	0,104±0,009	0,005±0,004	4,30	0,002
VI (золедронна кислота, кальцій і вітамін D)	0,098±0,005	0,104±0,003	0,006±0,005	3,58	0,006
3 міс					
I (кальцій і вітамін D)	0,099±0,006	0,102±0,006	0,003±0,008	1,03	0,34
II (етиліденбісфосфонова кислота, кальцій і вітамін D)	0,100±0,005	0,102±0,005	0,002±0,009	0,80	0,45
III (аміноетиліденбісфосфонова кислота, кальцій і вітамін D)	0,096±0,006	0,100±0,006	0,004±0,008	1,57	0,15
IV (1-феніл-1-гідроксиметилденбісфосфонова кислота, кальцій і вітамін D)	0,105±0,007	0,105±0,008	-0,000±0,005	0,07	0,95
V (1-феніл-1-фторметилденбісфосфонова кислота, кальцій і вітамін D)	0,100±0,007	0,105±0,008	0,005±0,006	2,52	0,03
VI (золедронна кислота, кальцій і вітамін D)	0,098±0,005	0,108±0,007	0,010±0,007	4,53	0,001

Надалі проаналізовано МЦКТ та МНКТ на тлі введення нових БФК, що містили як один із бічних ланцюгів фенільну групу, а саме кислот ФенГМБФ та ФенФМБФ. При аналізі МЦКТ хребта на тлі введення щурам розчину ФенГМБФ та супутнього прийому Ca/D через 1 та 3 міс лікування вірогідних відмінностей не виявлено, проте на відміну від вищезазначеного встановлено достовірне зменшення МЦКТ усього скелета через 1 міс спостереження, яке було не вірогідним через 3 міс спостереження (див. табл. 1, 2).

При аналізі показників двоенергетичної рентгенівської денситометрії при введенні ще однієї нової сполуки БФК – ФенФМБФ на тлі регулярного прийому Ca/D на рівні хребта (див. табл. 1) підтверджено відсутність достовірних відмінностей показників через 1 та 3 міс спостереження. Проте при оцінці МЦКТ усього скелета спостерігалася вірогідне збільшення показника як через 1 міс, так і через 3 міс терапії (див. табл. 2), що підтверджує її позитивний вплив на міцнісні характеристики кісткової тканини. Вплив ФенФМБФ на МЦКТ відбувався за рахунок збільшення показників на рівні верхніх ($P=0,03$ та $P=0,0002$ через 1 та 3 міс лікування відповідно) та нижніх ($P=0,01$ та $P=0,006$ відповідно) кінцівок, голови ($P=0,002$ та $P=0,00009$ відповідно) та кісток тазу ($P=0,00009$ через 3 міс спостереження).

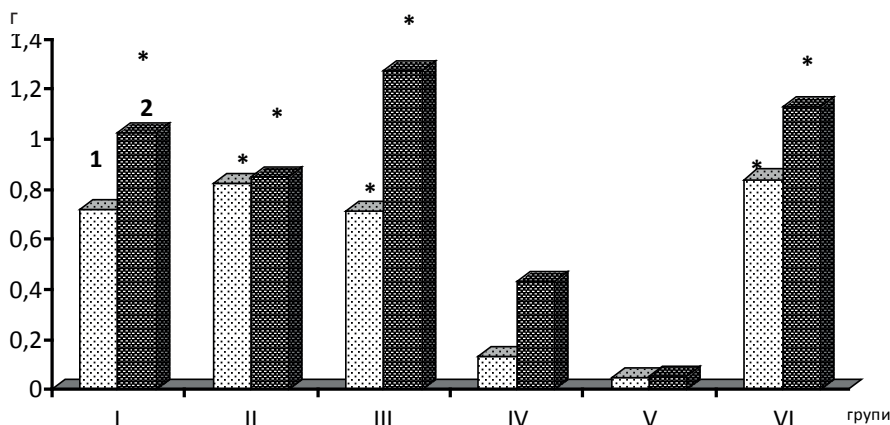
За результатами проведеного дослідження введення розчину ЗОЛ на тлі прийому Ca/D не призводило до достовірної динаміки МЦКТ через 1 міс, проте через 3 міс спостереження нами виявлено вірогідне збільшення МЦКТ хребта (див. табл. 1). Позитивний вплив такого лікування був підтверджений і при аналізі МЦКТ на рівні всього скелета, де через 1 та 3 міс спостереження було виявлено достовірне її збільшення (див. табл. 2). При порівнянні ефективності різних бісфосфонових кислот з ЗОЛ встановлено, що МЦКТ хребта через 1 міс після їх введення вірогідно не відрізнялися, тоді як через 3 міс спостереження вони були достовірно вищими у групі тварин, яка

на тлі додаткового введення Ca/D отримувала ЗОЛ (див. табл. 1). Через 1 та 3 міс МЦКТ усього скелета не мала вірогідних відмінностей лише при введенні ФенФМБФ порівняно з показниками у тварин, які на тлі додаткового введення Ca/D отримували ЗОЛ. У групах тварин, яким вводили лише Ca/D, ЕБФ і Ca/D, АЕБФ і Ca/D та ФенГМБФ і Ca/D, показники були достовірно нижчими відповідно до значень тварин, які отримували ЗОЛ і Ca/D.

Таким чином, у разі введення різних видів БФК і регулярного додавання Ca/D спостерігалася достовірною динаміка МЦКТ на рівні усього скелета та хребта при лікуванні ЗОЛ, що підтверджує дані численних, зокрема й експериментальних досліджень [2, 9, 13] та при дії нового представника БФК – ФенФМБФ. Вищезазначене може мати важливе клінічне значення у зв'язку із обмеженнями при використанні ЗОЛ, які пов'язані з її значною вартістю. Нами також встановлено відсутність вірогідних змін при використанні ЕБФ, яка на відміну від БФК першого типу не має в своєму складі гідроксигрупи, АЕБФ, яка на відміну від БФК другого типу містить аміногрупу в α -положенні, та ФенГМБФ, котра як бічні ланцюги має фенільну та гідроксигрупи.

Нині відомо, що БФК можуть діяти не тільки на МЦКТ, але й на МНКТ і порушувати мінералізацію кісткової тканини, у зв'язку з чим оцінка другого показника є особливо важливою. Введення щурам Ca/D призводило до вірогідного зростання МНКТ усього скелета лише через 3 міс (рисунок). Натомість при введенні ЕБФ, АЕБФ та ЗОЛ встановлено вірогідне збільшення МНКТ усього скелета через 1 міс, яке утримувалося і через 3 міс. Достовірної динаміки показників через 1 та 3 міс спостереження при дії ФенФМБФ та ФенГМБФ не встановлено (див. рисунок). Вірогідних змін МНКТ хребта за умов дії різних видів лікування через 1 та 3 міс також не виявлено.

Таким чином, отримані нами результати встановили відсутність достовірних змін



Динаміка мінеральної насиченості кісткової тканини всього скелета у самиць щурів з експериментальним остеопорозом за умов дії різних видів бісфосфонових кислот:

I – кальцій і вітамін D (Ca/D); II – етиліденбісфосфорова кислота, Ca/D; III – аміноетиліденбісфосфорова кислота, Ca/D; IV – 1-феніл-1-гідроксиметилденбісфосфорова кислота, Ca/D, V – 1-феніл-1-фторметилденбісфосфорова кислота, Ca/D; VI – золедроновая кислота, Ca/D; * $P < 0,05$ відносно вихідних значень

МЩКТ та МНКТ у щурів самиць після двобічної овариоектомії, які на тлі додаткового введення Ca/D отримували ЕБФ, АЕБФ та ФенФМБФ. Позитивна динаміка показників двоенергетичної рентгенівської денситометрії при введенні ФенФМБФ на тлі додавання Ca/D вимагає подальшого вивчення її ефективності у профілактиці та лікуванні системного остеопорозу. Введення атому фтору в метиленову групу сприяє зміні ліпофільності молекули БФК й тим самим істотно впливає на зміну фармакологічних властивостей, тому фторвмісні їх похідні є перспективними об'єктами для вивчення в сучасній медицині.

Подяка. Автори висловлюють подяку співробітникам Інституту органічної хімії НАН України д.х.н., проф. Ю.Г. Шермоловичу та к.х.н. О.І. Гузирю за надані для досліджень зразки ФенГМБФ та ФенФМБФ.

**В. В. Поворознюк¹, В. І. Пехньо²,
Н. В. Григор'єва¹, А. М. Козачкова²,
Н. В. Царик²**

ЭФФЕКТИВНОСТЬ БИСФОСФОНОВИХ КИСЛОТ У САМОК КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ОСТЕОПОРОЗОМ

Изучали влияние различных бисфосфоновых кислот, а именно этилиденбисфосфоновой (ЭБФ), аминетилиденбисфосфоновой (АЭБФ), 1-фенил-1-гидроксимети-

ленбисфосфоновой (ФенГМБФ) и 1-фенил-1-фторметилденбисфосфоновой (ФенФМБФ) кислот по сравнению с золедроновой кислотой на фоне дополнительного введения кальция и витамина D у самок крыс с экспериментальным остеопорозом на показатели минеральной плотности (МПКТ) и насыщенности костной ткани. Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии достоверной динамики показателей МПКТ у самок крыс после двусторонней овариоектомии, которые на фоне дополнительного введения препаратов кальция и витамина D получали ЭБФ, АЭБФ и ФенГМБФ. Достоверная динамика показателей МПКТ всего скелета ($0,100 \pm 0,007$ до $0,105 \pm 0,008$ г/см² через 3 мес) при введении ФенФМБФ в комплексе с препаратами кальция и витамина D требует дальнейшего изучения эффективности данной кислоты в профилактике и лечении системного остеопороза.

Ключевые слова: этилиденбисфосфоновая кислота; аминетилиденбисфосфоновая кислота; 1-фенил-1-гидроксиметилденбисфосфоновая кислота; 1-фенил-1-фторметилденбисфосфоновая кислота; золедроновая кислота; самки крысы; минеральная плотность костной ткани; экспериментальный остеопороз.

**V.V. Povoroznyuk¹, V.I. Pekhnyo², N.V. Grygorieva¹,
O.M. Kozachkova², N.V. Tsaryk²**

EFFECASY OF BISPHOSPHONIC ACIDS IN FEMALE RATS WITH EXPERIMENTAL OSTEOPOROSIS

We evaluated the efficiency of different types of bisphosphonic acids, ethylidenebisphosphonic (EBP), aminoethylidenebisphosphonic (AEBP), 1-phenyl-1-hydroxymethylenebisphosphonic (PhHMBP) and 1-phenyl-1-fluoromethylenebisphosphonic (PhFMBP) acids compared to zoledronic

acid in combination of calcium and vitamin D supplementation in female rats with experimental osteoporosis. Our results established the absence of significant changes in bone mineral density indexes in female rats after bilateral ovariectomy, which received EBF, AEBF and FenHMBF in combination with calcium and vitamin D supplements. We also showed the significant dynamics of bone mineral density indices of total body (from $0,100 \pm 0,007$ to $0,105 \pm 0,008$ g/sm² after 3 months) in the rats which receive FenFMBF with calcium and vitamin D administration. Our study requires further researches of the effectiveness of FenFMBF in the prevention and treatment of systemic osteoporosis.

Key words: ethylidenebisphosphonic acid; aminoethylidenebisphosphonic acid; 1-phenyl-1-hydroxymethylidenebisphosphonic acid; 1-phenyl-1-fluoromethylene-bisphosphonic acid; zoledronic acid; female rats; bone mineral density; experimental osteoporosis.

¹State Institution «Institute of Gerontology named after D. F. Chebotarev of NAMS Ukraine», Ukrainian Scientific-Medical Center of Osteoporosis, Kyiv;

²Vernadsky Institute of general and inorganic chemistry of the Ukrainian National Academy of Sciences, Kiev; e-mail: crystal_ng@ukr.net

REFERENCES

- Chan CK, Mason A, Cooper C, Dennison E. Novel advances in the treatment of osteoporosis. *Br Med Bull.* 2016 Sep;119(1):129-42. doi: 10.1093/bmb/ldw033. Epub 2016 Aug 24.
- Zhou J, Ma X, Wang T, Zhai S. Comparative efficacy of bisphosphonates in short-term fracture prevention for primary osteoporosis: a systematic review with network meta-analyses. *Osteoporos Int.* 2016 Jun 7. [Epub ahead of print]
- Peng J, Liu Y, Chen L, Peng K, Xu Z, Zhang D, Xiang Z. Bisphosphonates can prevent recurrent hip fracture and reduce the mortality in osteoporotic patient with hip fracture: A meta-analysis. *Pak J Med Sci.* 2016;32(2):499-504. doi: 10.12669/pjms.322.9435. Review.
- Serrano AJ, Begoña L, Anitua E, Cobos R, Orive G. Systematic review and meta-analysis of the efficacy and safety of alendronate and zoledronate for the treatment of postmenopausal osteoporosis. *Gynecol Endocrinol.* 2013;29(12):1005-14. doi: 10.3109/09513590.2013.813468. Epub 2013 Sep 25. Review.
- Povoroznyuk VV, Grygorieva NV, Orlyk TV et al. Osteoporosis in the practice of internist doctor. *Express;* 2014. [Russian].
- De Colli M, Tortorella P, Marconi GD, Agamennone M, Campestre C, Tauro M, Cataldi A, Zara S. In vitro comparison of new bisphosphonic acids and zoledronate effects on human gingival fibroblasts viability, inflammation and matrix turnover. *Clin Oral Investig.* 2016;20(8):2013-2021.
- Bortolini O, Fantin G, Fogagnolo M, Rossetti S, Maiuolo L, Di Pompo G, Avnet S, Granchi D. Synthesis, characterization and biological activity of hydroxyl-bisphosphonic analogs of bile acids. *Eur J Med Chem.* 2012;52:221-9. doi: 10.1016/j.ejmech.2012.03.020.
- Rubino MT, Agamennone M, Campestre C, Campiglia P, Cremasco V, Faccio R, Laghezza A, Loiodice F, Maggi D, Panza E, Rossello A, Tortorella P. Biphenyl sulfonylamino methyl bisphosphonic acids as inhibitors of matrix metalloproteinases and bone resorption. *ChemMedChem.* 2011;4(6):1258-68. doi: 10.1002/cmdc.201000540.
- Povoroznyuk VV, Deduh NV, Grygorieva NV, Gopkalova IV. Experimental osteoporosis. *Kyiv: Express;* 2012. [Russian].
- European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986.- Strasbourg, 1986.
- Moore SN, Tanner SB, Schoenecker JG. Bisphosphonates: from softening water to treating PXE. *Cell Cycle.* 2015;14(9):1354-5. doi: 10.1080/15384101.2015.1024585.
- Russell RG Bisphosphonates: the first 40 years. *Bone.* 2011;49(1):2-19. doi: 10.1016/j.bone.2011.04.022.
- Ebetino FH, Hogan AM, Sun S, Tsoumpira MK, Duan X, Triffitt JT, Kwaasi AA, Dunford JE, Barnett BL, Oppermann U, Lundy MW, Boyde A, Kashemirov BA, McKenna CE, Russell RG. The relationship between the chemistry and biological activity of the bisphosphonates. *Bone.* 2011;49(1):20-33. doi: 10.1016/j.bone.2011.03.774.

Матеріал надійшов до редакції 02.11.2016