nutrients

MDPI

Статья

Специфические пептиды коллагена улучшают минеральную плотность костной ткани и маркеры костного ремоделирования у женщин в постклимактерический период - рандомизированное контролируемое исследование

Даниэль Кениг [1]*, Штеффен Ессер [2] и Штефан Шарла [3], Денизе Здзиблик [1] и Альберт Голльхофер [1]

1 Кафедра питания, Институт спорта и спортивных наук, Университет Фрайбурга, Германия, 79117 Фрайбург, Шварцвальдштрассе, 175, ,; Denise.Zdzieblik@sport.uni-freiburg.de (Д. З.); AG@sport.uni-freiburg.de (А. Г.)
2 CRI, Collagen Research Institute GmbH, Германия, 24118 Киль, Шауенбургерштрассе, 116; steffen.oesser@cri-mail.org
3 Независимый исследователь, Германия, 83435 Бад-Райхенхалль, Залиненштрассе, 8; SScharla@gmx.de
* Корреспонденция: Daniel.Koenig@sport.uni-freiburg.de; Тел.: +49-761-203-54085

Получено: 4 декабря 2017 года; принято: 9 января 2018 года; опубликовано: 16 января 2018 года

Краткий обзор: Вступление: исследования на грызунах, а также эксперименты in vitro показали анаболическое действие специфических пептидов коллагена (СПК) на формирование костной ткани и минеральную плотность костной ткани (МПКТ). Цель исследования состояла в изучении действия на МПКТ ежедневного перорального приема 5 г СПК в течение 12 месяцев по сравнению с плацебо (КГ: контрольная группа) у женщин в постклимактерический период с первичным возрастным снижением МПКТ. **Методы**: в этом рандомизированном двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании приняла участие 131 женщина. Основным критерием оценки было изменение МПКТ шейки бедренной кости и позвоночника через 12 месяцев. Кроме того, были проанализированы уровни маркеров костного ремоделирования в плазме крови - аминотерминального пропептида коллагена I типа (P1NP) и С-телопептида коллагена I типа (CTX 1). **Результаты**: всего исследование завершили 102 женщины, но все испытуемые были включены в анализ данных в зависимости от назначенного вмешательства (ITT) (возраст: 64,3 ± 7,2 года; индекс массы тела, ИМТ: 23,6 ± 3,6 кг/м^2; Т-критерий для позвоночника: -2,4 ± 0,6; Т-критерий для шейки бедренной кости: -1,4 ± 0,5). В группе СПК (n = 66) МПКТ позвоночника и шейки бедренной кости существенно выросла по сравнению с контрольной группой (n = 65) (Т-критерий для позвоночника: СПК +0,1 ± 0,26; КГ -0,03 ± 0,18; ANCOVA (ковариационный анализ) p = 0,030; Т-критерий для шейки бедренной кости: СПК +0.09 ± 0.24; КГ -0.01 ± 0.19; ANCOVA p = 0.003). Показатель P1NP значительно вырос в группе СПК (p = 0,007), тогда как CTX 1 значительно увеличился в контрольной группе (p = 0,011). Выводы: полученные данные свидетельствуют о том, что прием СПК увеличивал МПКТ у женщин в постклимактерический период с первичным, возрастным снижением МПКТ. Кроме того, добавление СПК было связано с благоприятными изменениями маркеров костного ремоделирования, указывающих на увеличение костеобразования и снижение деградации костей.

Ключевые слова: остеопороз; гидролизат коллагена; СПК; маркер костного ремоделирования; белковые добавки

1. Вступление

Этиология остеопороза включает в себя недостаточную физическую активность, неполноценное питание, основные заболевания, прием лекарств и немодифицируемые факторы, такие как старение, пол и семейная предрасположенность. Правильная профилактика или терапия остеопороза является очень важной задачей для индивидуального и общественного здоровья, поскольку остеопоротические переломы костей приводят к хроническим болям, ограничению подвижности и инвалидности у пожилых людей. Подсчитано, что во всем мире каждая третья женщина и каждый пятый мужчина старше 50 лет будут страдать от остеопоротического перелома костей [1]. В настоящее время

существует целый ряд терапевтических методов для профилактики и лечения остеопороза. Немедикаментозные методы, такие как ежедневная физическая активность, отказ от курения и снижение потребления алкоголя, являются очень важными сопутствующими факторами в поддержании здоровья костей. Кроме того, при лечении остеопороза рекомендуются добавки с кальцием и витамином D, но не доказано, что они существенно снижают риск переломов костей. Медикаментозное лечение включает такие вещества, как бисфосфонаты, терапию с применением моноклональных антител человека и селективные модуляторы рецепторов эстрогена. Бисфосфонаты используются наиболее широко и считаются "золотым стандартом" антикатаболической терапии в профилактике переломов. Однако, хотя соотношение польза-риск благоприятствует лечению бисфосфонатами, в литературе описаны некоторые побочные эффекты, такие как бисфосфонатный остеонекроз челюстей (БФОНЧ), нарушение со стороны желудочно-кишечного тракта, язвы слизистой оболочки, гиперкальциемия или предрасположенность к почечной недостаточности [2-4]. Другие формы терапии фокусируются на рекомбинантных гормонах или воздействии на рецепторы гормонов; однако эти методы лечения могут также вызывать ряд побочных эффектов [5-7]. По сравнению с другими лекарственными препаратами для лечения хронических заболеваний, вероятность проблем соблюдения предписанного режима терапии относительно высока у пациентов, принимающих антиостеопоротические препараты. Хотя связь с острыми или хроническими побочными эффектами четко не установлена, около 40% пациентов, получающих пероральные бисфосфонаты, прекращают прием препарата в течение первого года терапии и примерно 75% пациентов – в течение 5 лет [8].

После постановки диагноза при остеопении или остеопорозе основные виды терапии с повышенной физической активностью, сбалансированной, богатой кальцием диетой и снижением потребления алкоголя и никотина могут защитить от дальнейшей потери минеральной плотности костной ткани (МПКТ). Тем не менее, эти методы едва ли приведут к улучшению МПКТ. Таким образом, эффективные и соответствующие требованиям терапевтические методы в настоящее время имеют очень важное значение, особенно в период глобальных демографических изменений.

Доклинические исследования in vitro или исследования на грызунах показали, что введение пептидов коллагена увеличивает органический компонент костей [9], улучшает костный метаболизм, а также микроархитектуру костей [10-12] и повышает биомеханическую устойчивость позвоночника [13]. Кроме того, добавление пептидов коллагена в сочетании с кальцитонином показало положительный эффект у женщин в постклимактерический период [14]. В более позднем исследовании добавки с пептидами коллагена привели к статистически значимому снижению выделения продуктов распада коллагена костей по сравнению с группой плацебо. Кроме того, эффект терапии с применением пептидов коллагена сохраняет устойчивость в течение не менее трех месяцев после последнего введения, что свидетельствует об анаболическом эффекте лечения с применением пептидов коллагена.

Поэтому в настоящем исследовании были проверены долгосрочные эффекты специфической биологически активной добавки, содержащей пептиды коллагена, на МПКТ нижнего отдела позвоночника и шейки бедренной кости, определяемые методом ДЭРА (двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия). С этой целью женщины в постменопаузе в возрасте 46-80 лет (средний возраст: 63 года) получали 5 г специфического пептида коллагена (СПК) в сутки или 5 г мальтодекстрина в качестве плацебо (контрольная группа: КГ) в рандомизированном плацебо-контролируемом режиме в течение 12 месяцев.

2. Субъекты и методы исследования

2.1. Субъекты исследования и схема распределения участников исследования

Всего в исследование была включена 131 женщина в постменопаузе со сниженной минеральной плотностью костной ткани (Т-критерий ДЭРА-1 или ниже для шейки бедренной кости или поясничного отдела позвоночника). Конкретные данные об отборе, распределении и последующем наблюдении пациентов представлены на рис.1.

2.2. Критерии включения

Критерии включения были следующими: женщины с пониженной МПКТ нижней части позвоночника или шейки бедренной кости, определяемой по ДЭРА; менопауза (аменорея в течение не менее 1 года); отсутствие диагностированного тяжелого хронического заболевания или сопутствующей патологии; стабильная масса тела и питание; отсутствие противопоказаний к применению БАДов или белковых добавок.

2.3. Критерии исключения

Критерии исключения были следующими: лечение остеопороза в течение последнего года; остеопороз с высоким риском переломов костей и показаниями к медицинскому лечению; аллергия на коллаген; остеопороз на фоне лечения или эндокринных нарушений; злокачественные заболевания в течение предыдущих 5 лет; сахарный диабет I или II типа; заболевания почек или печени, вызванные высоким содержанием белка; недавняя иммобилизация в течение нескольких недель.

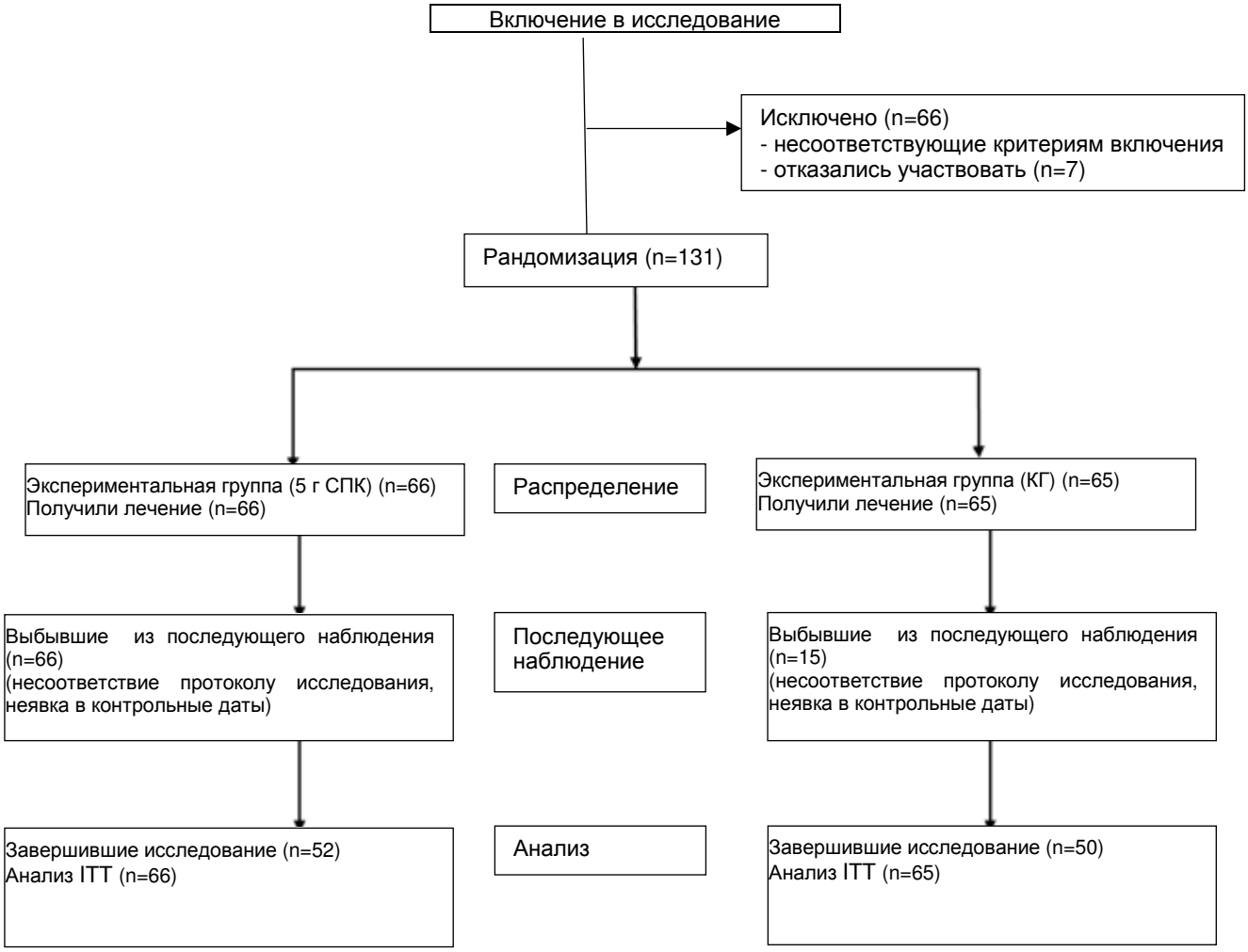

Рисунок 1. Блок-схема отбора пациентов, рандомизации и последующего наблюдения.

2.4 План клинического исследования

Исследование было запланировано как одноцентровое, проспективное, рандомизированное, двойное слепое, плацебо-контролируемое исследование. Клиническое исследование было исследованием фазы III и проводилось в соответствии с требованиями GCP (Надлежащая клиническая практика). Протокол исследования был одобрен Комитетом по этике Фрайбургского университета. Все субъекты исследования дали письменное информированное согласие. Исследованию был присвоен номер DRKS-ID: DRKS0009708.

Участники исследования были рандомизированно разделены на группу лечения (добавки, содержащие пептиды коллагена, СПК) и группу плацебо (мальтодекстрин). Рандомизация производилась с помощью генератора случайных чисел [15]. Анонимность данных исследователей и участников не снималась до введения всех данных, была обеспечена сохранность набора данных, и проведен статистический анализ.. Участники должны были развести содержимое одного саше исследуемого продукта (СПК или мальтодекстрин) в стакане воды и выпить его перед завтраком. Испытуемые в обеих группах получили от врача инструкции о благотворном влиянии регулярной физической активности и сбалансированного питания на течение остеопении и остеопороза [16,17]. Кроме того

испытуемым рекомендовали принимать кальций и витамин D в суточной дозе около 0,5-0,8 г (в зависимости от веса) и 400-800 МЕ соответственно. Однако добавки не ыли прописаны, и их потребление не контролировалось. Соответствие требованиям, касающимся потребления исследуемого продукта, было проверено посредством сбора неиспользованных добавок. Кроме того, испытуемых просили вести ежедневные записи о побочных эффектах или других проблемах, связанных с приемом добавок. Кроме того, в начале и в конце исследования были взяты образцы крови для анализа на маркеры костного ремоделирования и оценки безопасности продукта, а также для контроля нежелательных реакций.
Исследование проводилось в общей сложности в течение 12 месяцев. Все фазы исследования кратко представлены на рис.2.

Рисунок 2. Порядок проведения клинического исследования и точки контроля. МПКТ, минеральная плотность костной ткани; ДЭРА, двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия.

2.5 ДЭРА

МПКТ нижнего поясничного отдела позвоночника (L1-L4) и шейки бедренной кости измеряли до и после 12-месячного периода исследования с использованием ДЭРА (Stratos DR 2D Fan Beam, Degen Medizintechnik, Хеппенхайм, Германия).

2.6 Пищевое поведение и физическая активность

Пищевое поведение, особенно с учетом макроэлементов (жиры, углеводы, белки), кальция и витамина D, оценивалось до начала и в конце исследования с использованием 4-дневного протокола питания. Испытуемым предлагалось заполнить протокол с применением самостоятельно выполняемых измерений в течение 3 рабочих и одного выходного дня. Протоколы были проанализированы с использованием PRODI 6.0 (Prodi, Штутгарт, Германия). Физическая активность оценивалась с помощью оценочной анкеты на немецком языке, где содержались вопросы об объеме и интенсивности физической активности, а также подсчитывалось общее количество калорий, сжигаемых в процессе этих видов деятельности [18].

2.7 Белковые добавки

Для этого исследования использовалась смесь специфических биоактивных пептидов коллагена (СПК) со средней молекулярной массой около 5 кДА, полученных в результате комплексного многостадийного гидролиза коллагена (FORTIBONE®, GELITA AG, Эбербах, Германия). Саше, содержащие 5 г СПК или плацебо (мальтодекстрин, CARGILL, Париж, Франция), были внешне идентичными, а продукты имели одинаковый вкус и текстуру.

2.8 Объем выборки

Объем выборки для исследования был рассчитан на основе последней статистической публикации Центра контроля заболеваний (CDC) за март 2012 года [19]. Был выполнен анализ мощности, основанный на предположении, что минеральная плотность костной ткани у женщин в

постклимактерический период в возрасте 50-59 лет составляет 0,99 ± 0,1 г/см^2, как описано CDC. Учитывая тот факт, что терапия с применением бисфосфонатов увеличивала плотность костной ткани примерно на 5%, аналогично выводам Эдама и др. [14], по СПК ожидался гипотетический рост до 1,04 г/см^2. При стандартном отклонении 0,1 г/см^2 и предполагаемой мощности критерия 80% с уровнем значимости a = 0,05 и расчетной частотой исключения из исследования 10% было рассчитано и признано достаточным число из 64 участников в каждой исследуемой группе.

2.9 Конечные точки

Основная конечная точка настоящего исследования была определена как сравнение различий в минеральной плотности костной ткани (МПКТ) позвоночника (L1-L4) между обеими исследуемыми группами (СПК по сравнению с плацебо). Дополнительный первичный исход определялся как изменение МПКТ шейки бедренной кости. Изменения костного метаболизма оценивали с использованием биомаркеров костного ремоделирования, аминотерминального пропептида коллагена I типа (P1NP) и с-телопептида коллагена I типа (CTX 1). В качестве показателя костеобразования оценивали аминотерминальный пропептид коллагена I типа (P1NP), а в качестве маркера резорбции костной ткани – с-телопептид коллагена I типа (CTX 1). Метаболизм костной ткани рассчитывали посредством сравнения количества биомаркеров (в нг/мл) в образцах плазмы крови в конце исследования (t12) со значением, зарегистрированным в начале исследования (t0). Иммуноферментный анализ in vitro использовался для количественного анализа CTX 1 (BlueGene Biotech., Шанхай, Китай) и P1NP (Cloud-Clone Corp., Хьюстон, Техас, США). Тесты в форме твердофазного ИФА проводились в соответствии с действующими инструкциями. Чувствительность тестов была указана как 12,5 нг/мл и 0,91 нг/мл соответственно.

2.10 Статистические методы

Все количественные параметры представлены в виде среднего значения ± SD. Статистический анализ проводился с использованием статистического пакета для программного обеспечения Social Sciences (IBM SPSS Statistics 23, IBM, Armonk, Нью-Йорк, США).
Полная статистическая оценка проводилась на основе данных по популяции с назначенным лечением (ITT). Недостающие значения всех анализируемых параметров после 12-месячного вмешательства были дополнены анализом линейного тренда в точке (LTAP). Недостающие значения были оценены с помощью SPSS на основе всей исследуемой популяции. Исходные значения всех параметров сравнивались между исследуемыми группами с использованием непарного t-критерия Стьюдента. Проверка изменений целей первичного исследования по минеральной плотности костной ткани между исследуемыми группами проводилась с использованием анализа дисперсий с исходными значениями в качестве ковариаты (ANCOVA). Различия между анализом на исходном уровне и после 12-месячного вмешательства внутри исследуемых групп были определены с применением парного t-критерия Стьюдента. Изменения биомаркеров костного ремоделирования в крови – P1NP и CTX 1, в исследуемых группах были проверены с применением t-критерия Стьюдента для парных образцов. Все тесты в описательном анализе были выполнены в виде двухсторонних тестов; уровни значимости оценивались до $\alpha = 0,05$ в любой момент времени. Считалось, что значение $\rho < 0,05$ указывает на статистическую значимость. Поскольку в протоколе не была определена иерархия для двух основных конечных точек, был проведен анализ по методу Холма-Бонферрони.

3. Результаты

3.1 Субъекты исследования

Всего в исследовании приняла участие 131 женщина (возраст: 64,3 ± 7,2 года; индекс массы тела, ИМТ: 23,6 ± 3,6 кг/м^2; T-критерий МПКТ позвоночника: -2,4 ± 0,6; T-критерий МПКТ шейки бедра: -1,4 ± 0,5), которые были включены в статистический анализ (ITT). В ходе исследования было исключено двадцать девять женщин; между группами не было выявлено существенных различий в количестве исключенных участников. Ни один случай исключения не был связан с какими-либо побочными эффектами, вызванными приемом специфических пептидов коллагена или плацебо. Никаких неблагоприятных явлений отмечено не было, и, в частности, не наблюдалось никаких патологических диагнозов из-за приема тестируемых веществ.

Для оценки однородности исходных данных между группой СПК и группой плацебо все параметры сравнивались между обеими исследуемыми группами. На основном визите участники группы СПК имели статистически значимую более низкую плотность костной ткани в позвоночнике по сравнению с группой плацебо (ρ=0,005; табл.1). Поэтому для статистического анализа была выбрана модель ANCOVA с учетом дисбаланса исходных данных. Кроме того, ИМТ, несмотря на то, что он находился в пределах нормы в обеих группах, значительно различался на исходном уровне. По всем прочим данным не было выявлено статистически значимых различий между исследуемыми группами на исходном уровне (Табл.1).

Таблица 1. Исходные данные [t0]

	СПК (*n* = 66)	**Плацебо (*n* = 65)**	**Значение *p***
Возраст [лет]	*63,8 ± 7,4*	*64,9 ± 7,1*	*0,378*
Рост [м]	*1,64 ± 6,8*	*1,62 ± 7,0*	*0,222*
ИМТ	*24,4 ± 3,7*	*22,9 ± 3,4*	*0,016*
МПКТ, позвоночник [T]	*-2,5 ± 0,6*	*-2,3 ± 0,6*	*0,005*
МКПТ, шейка бедра [T]	*-1,4 ± 0,5*	*-1,4 ± 0,5*	*0,903*

Эти данные представляют собой среднее значение ± SD. ИМТ, индекс массы тела; СПК, специфические пептиды коллагена.

3.2 Изменения минеральной плотности костной ткани

В ходе исследования минеральная плотность костной ткани значительно увеличилась в позвоночнике (ρ= 0,021) и в шейке бедренной кости (ρ = 0,002) после лечения с применением СПК (Табл.2). В группе плацебо, напротив, не было выявлено значительных изменений этих параметров (ρ = 0,185 и ρ = 0,552 соответственно; Табл. 2).

Таблица 2. Обзор T-критериев по t0, t12 для каждой группы лечения.

	Группа	n	**Xo ± SDo**	**X12 ± SD12**	**Значение *p* ***	**ANCOVA Значение *p***
МПКТ, позвоночник [T]	СПК	66	-2,54 ± 0,6	-2,47 ± 0,6	0,021	0,030
	Плацебо	65	-2,25 ± 0,6	-2,28 ± 0,6	0,185	
МКПТ, шейка бедра [T]	СПК	66	-1,41 ± 0,5	-1,42 ±	-1,32 ± 0,5	0,002	0,003
	Плацебо	65	0,5		-1,44 ± 0,5	0,552	

Эти данные представляют собой среднее значение ± SD, * парный тест Стьюдента. X0 = первичное обследование (t0); X12 = обследование через 12 месяцев (t12).

Различия, наблюдаемые между группой SCP и группой плацебо, были проверены с помощью анализа ковариации (ANCOVA), учитывая несбалансированные исходные значения. Анализ показал, что плотность костной ткани значительно (ρ = 0,030) увеличилась в позвоночнике и шейке бедренной кости после лечения с применением СПК по сравнению с плацебо (ρ = 0,003; Табл. 3). В группе СПК МПКТ выросла почти на 3,0% в позвоночнике и на 6,7% в шейке бедренной кости, тогда как в группе плацебо за тот же период плотность костной ткани снизилась (-1,3% для позвоночника и -1,0% для шейки бедренной кости) (рис. 3).

Таблица 3. Изменения в биомаркерах костного ремоделирования, между t0 и t12, в группах подтверждающего исследования.

	Группа	*n*	**X0 ± SD0**	**X12 ± SD12**	**Значение *p* ***
P1NP [нг/мл]	*СПК*	*66*	*33,34 ± 24,70*	*37,22 ± 27,70*	*0,007*
	Плацебо	*65*	*38,74 ± 27,00*	*40,6 ± 28,35*	*0,248*
CTX 1 [нг/мл]	*СПК*	*66*	*0,81 ± 0,40*	*0,80 ± 0,35*	*0,747*
	Плацебо	*65*	*0,68 ± 0,31*	*0,80 ± 0,58*	*0,011*

* Парный T-критерий Стьюдента. CTX1, C-телопептид коллагена I типа; P1NP, аминотерминальный пропептид коллагена I типа.

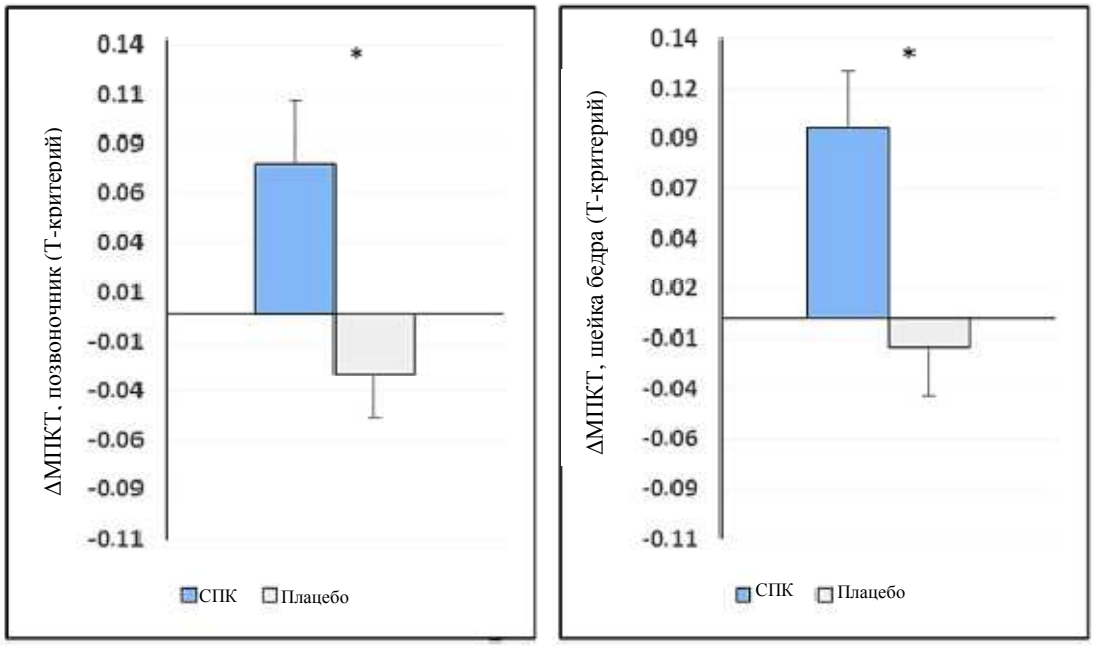

Рисунок 3. Изменение минеральной плотности костной ткани в конце исследования (ΔМПКТ X12-X0). Данные представляют собой среднее значение ± SEM, * ANCOVA отличается статистически значимо. СПК = специфические пептиды коллагена.

Поскольку в протоколе исследования для двух основных конечных точек не было определено ни приоритета, ни иерархии, был выполнен анализ по методу Холма-Бонферрони. Расчетные значения ρ в Таблице 2 были указаны в порядке возрастания, а статистическая значимость оценивалась с использованием поправки Холма-Бонферрони. Было продемонстрировано, что лечение с применением СПК приводило к статистически значимому увеличению плотности костной ткани для основных конечных точек исследования “Изменения МПКТ в позвоночнике" и “Изменения МПКТ в шейке бедренной кости", оцениваемые по данным сканирования методом ДЭРА (рис. 2). Поскольку расчетные значения ρ для обоих параметров предопределенных основных конечных точек меньше, чем значения ρ, рассчитанные по методу Холма-Бонферрони, можно сделать вывод о наличии статистически значимой разницы между лечением с применением СПК и лечением в группе плацебо, причем СПК превосходят плацебо. Этот результат был подтвержден выраженным размером эффектом добавки с содержанием СПК (d = 0,473 для позвоночника и d = 0,504 для шейки бедра) по сравнению с лечением с применением плацебо.

3.3. Биомаркеры костного ремоделирования

Был выполнен анализ образцов крови для оценки специфических биомаркеров формирования и деградации костной ткани в обеих группах лечения. В исходном состоянии костный аминотерминальный пропептид коллагена I типа (P1NP) и с-телопептид коллагена I типа (CTX 1) были сходны в обеих исследуемых группах.
В ходе исследования P1NP существенно вырос в группе СПК (ρ = 0,007), что указывает на стимуляцию костеобразования. В группе плацебо, напротив, не было выявлено изменений концентрации P1NP (ρ = 0,248; Табл. 3), тогда как маркер деградации костной ткани CTX 1 существенно увеличился (ρ = 0,011). И наоборот, у участников, получавших лечение с применением СПК, не было выявлено никаких изменений в маркерах деградации костной ткани (ρ = 0,747).

3.4. Рацион питания и физическая активность

Существенных исходных различий в отношении макроэлементов, кальция и витамина D между двумя группами не было (Табл. 4). Однако потребление витамина D было ниже рекомендуемого (20 мкг/сут)

в обеих исследуемых группах, как до, так и после лечения (употребление добавок с кальцием и витамином D не учитывалось в анализе). Кроме того, абсолютное значение потребления белков и жиров было значительно выше контрольных значений для потребления питательных веществ. Физическая активность и расход калорий имели тенденцию к увеличению в течение всего 12-месячного периода исследования, но изменения не достигли значимости (данные не показаны).

Таблица 4. Потребление энергии и питательных веществ по сравнению с рекомендуемой диетической нормой (RDA) (США) [20,21].

	Группа	**X0 ± SD0**	**X12 ± SD12**	**RDA США (женщины 51-70 лет)**
Энергетическая ценность [ккал]	*СПК* *Плацебо*	*1978 ± 387* *2029 ± 524*	*2010 ± 485* *2030 ± 576*	*2403 (19 лет)* [1]
Белки [г]	*СПК* *Плацебо*	*75 ± 18* [a] *85 ± 39* [a]	*73 ± 19* [a] *87 ± 29* [a]	*46 (=0.8 г/кг МТ)*
Жиры [%]	*СПК* *Плацебо*	*35 ± 7* *38 ± 7*	*34 ± 7* *34 ± 7*	*ND*
Кальций [мг]	*СПК* *Плацебо*	*1086 ± 262* *1383 ± 590*	*1064 ± 348* *1220 ± 466*	*1200*
Витамин D [мкг]	*СПК* *Плацебо*	*1.94 ± 2.9* [b] *2.92 ± 2.8* [b]	*2.13 ± 2.4* [b] *4.00 ± 3.1* [b]	*15*

a = потребление значительно выше рекомендованного, b = потребление значительно ниже рекомендованного, ND = не определено, 1 = для здоровых активных американцев и канадцев; минус 7 ккал/день для женщин в возрасте старше 19 лет, МТ- масса тела.

3.5 Показатели крови и безопасности

Показатели безопасности крови (т.е. гемограмма, показатели почек, печени и воспаления) не продемонстрировали клинически значимых изменений в течение 12 месяцев лечения. Однако систолическое артериальное давление (134,5 ± 16,8 против 128,1 ± 12,9 мм рт. ст.; $\rho < 0,001$), а также диастолическое артериальное давление (81,2 ± 9,6 против 78,6 ± 7,0 мм рт. ст.; $\rho = 0,015$) были существенно ниже в группе СПК после вмешательства согласно расчету с применением парного t-критерия Стьюдента. В группе плацебо артериальное давление оставалось достаточно постоянным.

4. Обсуждение

Основным результатом этого рандомизированного, двойного слепого и плацебо-контролируемого исследования среди женщин в постклимактерический период было то, что специфические пептиды коллагена значительно увеличивали минеральную плотность костной ткани (МПКТ) как в поясничном отделе позвоночника, так и в шейке бедренной кости. И наоборот, в группе плацебо не было выявлено существенных изменений этих показателей. Учитывая снижение МПКТ в контрольной группе, испытуемые в группе СПК показали увеличение МПКТ в позвоночнике на 4,2% и в шейке бедренной кости на 7,7%, что свидетельствует о клинически значимом эффекте 12-месячного лечения с применением СПК [22]. Анаболический эффект приема СПК также был подтвержден значительным увеличением биомаркера костеобразования – аминотерминального пропептида коллагена I типа (P1NP). И наоборот, только в контрольной группе после 12-месячного периода исследования можно было обнаружить значительное повышение концентрации маркера деградации костной ткани с-телопептида коллагена I типа (CTX 1).

Насколько известно автору, только в двух исследованиях изучалось влияние пептидов коллагена на маркеры костного ремоделирования и минеральную плотность костной ткани у человека. В одном исследовании были исследовано действие пептидов коллагена, как с кальцитонином, так и без него [14]. Авторы измерили поперечные связи пиридинолина в моче и предположили, что кальцитонин вместе с пептидами коллагена оказывают большее влияние на ингибирование расщепления костного коллагена. Другое исследование, проведенное с использованием добавки с комбинацией коллаген + кальций + витамин D, показало, что потеря МПКТ была значительно ниже в группе с добавлением коллагена, чем в группе, где применялся только кальций с витамином D [23].

Прямых научных доказательств для объяснения положительного воздействия добавок коллагена на организм человека до сих пор нет. Однако некоторые результаты экспериментов с клетками и

исследований in vivo на грызунах расширили наши знания о том, как пептиды коллагена могут усиливать костеобразование и увеличивать МПКТ. Прежде всего, было подтверждено, что пептиды коллагена быстро всасываются из желудочно-кишечного тракта [24,25]. Кроме того, пептиды коллагена в значительном количестве всасываются в тонком кишечнике в пептидной форме и могут выступать в качестве сигнальных молекул, оказывая таким образом положительное воздействие на анаболические процессы [25,26]. В частности, для соединительной ткани этот стимулирующий эффект был продемонстрирован ранее [27-29]. Относительно дифференциации миобластов и гипертрофии мышечных трубок, Китаказе и др. идентифицировали дипептид (Hyp-Gly) из коллагена как сигнальный пептид, который активирует путь PI3K/Akt/mTOR [30]. Поэтому можно предположить, что стимуляция образования коллагена в костной ткани также может быть опосредована сигнальными белками, полученными из коллагеновых пептидов. Было подтверждено, что коллагеновые пептиды увеличивают экспрессию генов коллагена типа 1, альфа-1 (COLIA1). Кроме того, авторы обнаружили, что сигнальный путь ERK/MAPK участвует в индуцированном коллагеном увеличении экспрессии COLIA1 [31]. Коллаген, безусловно, является основным компонентом костной массы. Результаты исследований на грызунах показали, что пептиды коллагена значительно увеличивают объем органического компонента кости [9]. Поэтому увеличение этой органической фракции и последующая минерализация кости могут привести к увеличению МПКТ. В настоящем исследовании анаболический эффект, связанный с синтезом коллагена и анаболизмом костной ткани, был выражен увеличением маркера костного ремоделирования P1NP в группе с добавлением СПК. И наоборот, маркер деградации костной ткани CTX1 был значительно повышен только в контрольной группе. Сопоставимые результаты были также обнаружены у крыс после овариэктомии после перорального введения пептидов бычьего коллагена [32].

Другие исследования на животных показали, что пептиды коллагена или гидролизаты желатина увеличивают продольный рост костей у крыс [33], увеличивают костную массу как у растущих крыс после беговой дорожки [34], так и у половозрелых крыс [35], ингибируют потерю костной массы у крыс после овариэктомии [12,36] и предотвращают потерю костной массы у крыс с дефицитом эстрогена, вероятно, за счет снижения уровня провоспалительных цитокинов [11].

Вместе с тем новые знания о сигнальных характеристиках пептидов коллагена [30,31,37], а также вышеупомянутые обнадеживающие результаты исследований на животных делают результаты текущих исследований понятными, хотя требуется значительно больше данных из исследований на людях.

Тем не менее, до сих пор недостаточно известно, какой именно тип пептидов коллагена (морские животные, свиные, КРС и др.) оказывает наиболее благоприятное воздействие. Кроме того, не все пептиды коллагена могут оказывать одинаковое воздействие при различных видах заболеваний, и, наконец, процесс производства также может оказывать влияние на биологические и физиологические свойства пептидов коллагена и, следовательно, на их эффективность.

Помимо того, что требуется больше исследований на людях, нам также нужны дополнительные данные об оптимальных сроках и дозировке, а также результаты, связанные с долгосрочными эффектами добавок с пептидами коллагена.

5. Выводы

В заключение следует отметить, что результаты этого рандомизированного плацебо-контролируемого исследования демонстрируют, что добавление 5 г специфических пептидов коллагена значительно повышает минеральную плотность костной ткани поясничного отдела позвоночника и шейки бедренной кости, а также уровень маркера костного ремоделирования P1NP в крови у женщин в постклимактерический период с возрастным снижением МПКТ.

Благодарность: часть исследования проводилась при финансовой поддержке компании GELITA AG, Германия. Планирование, организация исследования, а также анализ данных осуществлялись исключительно исследователями.

Вклад авторов: Даниэль Кениг был главным исследователем. Штефан Шарла и Штеффен Ессер участвовали в разработке и/или проведении исследования и подготовке рукописи. Все авторы прочитали и утвердили окончательную рукопись.

Конфликт интересов: Даниэль Кениг, Штеффен Ессер, Штефан Шарла, Д Денизе Здзиблик и Альберт Голльхофер заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Ссылки

1. Hernlund, E.; Svedbom, A.; Ivergard, M.; Compston, J.; Cooper, C.; Stenmark, J.; McCloskey, E.V.; Jönsson, B.; Kanis, J.A. Osteoporosis in the European Union: Medical management, epidemiology and economic burden. A report prepared in collaboration with the International Osteoporosis Foundation (IOF) and the European Federation of Pharmaceutical Industry Associations (EFPIA). *Arch. Osteoporos.* **2013**, *8*, 136. [CrossRef] [PubMed]
2. Kreutle, V.; Blum, C.; Meier, C.; Past, M.; Müller, B.; Schütz, P.; Born, K. Bisphosphonate induced hypocalcaemia - report of six cases and review of the literature. *Swiss Med. Wkly.* **2014**, *144*, w13979. [CrossRef] [PubMed]
3. Kaehling, C.; Streckbein, P.; Schmermund, D.; Henrich, M.; Burchert, D.; Gattenloehner, S.; Howaldt, H.P.; Wilbrand, J.F. Lethal cervical abscess following bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw. *J. Cranio-Maxillofac. Surg.* **2014**, *42*, 1203–1206. [CrossRef] [PubMed]
4. Rachner, T.D.; Platzbecker, U.; Felsenberg, D.; Hofbauer, L.C. Osteonecrosis of the jaw after osteoporosis therapy with denosumab following long-term bisphosphonate therapy. *Mayo Clin. Proc.* **2013**, *88*, 418–419. [CrossRef] [PubMed]
5. Montagnani, A. Bone anabolics in osteoporosis: Actuality and perspectives. *World J. Orthop.* **2014**, *5*, 247–254. [CrossRef] [PubMed]
6. Dore, R.K. Long-term safety, efficacy, and patient acceptability of teriparatide in the management of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Patient Prefer. Adherence* **2013**, *7*, 435–446. [CrossRef] [PubMed]
7. Hadji, P. The evolution of selective estrogen receptor modulators in osteoporosis therapy. *Climacteric* **2012**, *15*, 513–523. [CrossRef] [PubMed]
8. Gallagher, A.M.; Rietbrock, S.; Olson, M.; van Staa, T.P. Fracture outcomes related to persistence and compliance with oral bisphosphonates. *J. Bone Miner. Res.* **2008**, *23*, 1569–1575. [CrossRef] [PubMed]
9. Watanabe-Kamiyama, M.; Shimizu, M.; Kamiyama, S.; Taguchi, Y.; Sone, H.; Morimatsu, F.; Shirakawa, H.; Furukawa, Y.; Komai, M. Absorption and effectiveness of orally administered low molecular weight collagen hydrolysate in rats. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 835–841. [CrossRef] [PubMed]
10. Guillerminet, F.; Fabien-Soule, V.; Even, P.C.; Tomé, D.; Benhamou, C.L.; Roux, C.; Blais, A. Hydrolyzed collagen improves bone status and prevents bone loss in ovariectomized C3H/HeN mice. *Osteoporos. Int.* **2012**, *23*, 1909–1919. [CrossRef] [PubMed]
11. Han, X.; Xu, Y.; Wang, J.; Pei, X.; Yang, R.; Li, N.; Li, Y. Effects of cod bone gelatin on bone metabolism and bone microarchitecture in ovariectomized rats. *Bone* **2009**, *44*, 942–947. [CrossRef] [PubMed]
12. Guillerminet, F.; Beaupied, H.; Fabien-Soule, V.; Tomé, D.; Benhamou, C.L.; Roux, C.; Blais, A. Hydrolyzed collagen improves bone metabolism and biomechanical parameters in ovariectomized mice: An in vitro and in vivo study. *Bone* **2010**, *46*, 827–834. [CrossRef] [PubMed]
13. De Almeida, J.E.; Cuneo, F.; Amaya-Farfan, J.; de Assuncao, J.V.; Quintaes, K.D. A food supplement of hydrolyzed collagen improves compositional and biodynamic characteristics of vertebrae in ovariectomized rats. *J. Med. Food* **2010**, *13*, 1385–1390. [CrossRef] [PubMed]
14. Adam, M.; Spacek, P.; Hulejova, H.; Galianova, A.; Blahos, J. Postmenopausal osteoporosis. Treatment with calcitonin and a diet rich in collagen proteins. *Cas. Lek. Cesk.* **1996**, *135*, 74–78. [PubMed]
15. Urbaniak, G.C.; Plous, S. *Research Randomizer*, Version 4.0; 2011. Available online: http://www.randomizer.org/ (accessed on 16 January 2018).
16. Management of osteoporosis in postmenopausal women: 2010 position statement of The North American Menopause Society. *Menopause* **2010**, *17*, 25–54.
17. Scharla, S.H. Nutritional medicine for the prevention and treatment of osteoporosis. *Dtsch. Med. Wochenschr.* **2003**, *128*, 946–950. [CrossRef] [PubMed]
18. Frey, I.; Berg, A. Erfassung der körperlichen Aktivität in Klinik und Praxis. In *Körperliche Aktivität in Prävention und Therapie*; Samitz, G.M.G., Ed.; Hans Marseille Verlag GmbH: München, Germany, 2002; pp. 81–86.
19. Looker, A.C.; Borrud, L.G.; Hughes, J.P.; Fan, B.; Shepherd, J.A.; Melton, L.J., III. Lumbar spine and proximal femur bone mineral density, bone mineral content, and bone area: United States, 2005–2008. *Vital Health Stat.* **2012**, *11*, 1–132.
20. Institute of Medicine (US). *Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium*; National Academies Press: Washington, DC, USA, 2011.
21. Institute of Medicine. *Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids*; The National Academies Press: Washington, DC, USA, 2005.
22. Liberman, U.A.; Weiss, S.R.; Broll, J.; Minne, H.W.; Quan, H.; Bell, N.H.; Rodriguez-Portales, J.; Downs, R.W., Jr.; Dequeker, J.; Favus, M.; et al. Effect of oral alendronate on bone mineral density and the incidence of fractures in postmenopausal osteoporosis. The Alendronate Phase III Osteoporosis Treatment Study Group. *N. Engl. J. Med.* **1995**, *333*, 1437–1443. [CrossRef] [PubMed]

23. Elam, M.L.; Johnson, S.A.; Hooshmand, S.; Feresin, R.G.; Payton, M.E.; Gu, J.; Arjmandi, B.H. A calcium-collagen chelate dietary supplement attenuates bone loss in postmenopausal women with osteopenia: A randomized controlled trial. *J. Med. Food* **2015**, *18*, 324–331. [CrossRef] [PubMed]
24. Walrand, S.; Chiotelli, E.; Noirt, F.; Mwewa, S.; Lassel, T. Consumption of a functional fermented milk containing collagen hydrolysate improves the concentration of collagen-specific amino acids in plasma. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 7790–7795. [CrossRef] [PubMed]
25. Ohara, H.; Matsumoto, H.; Ito, K.; Iwai, K.; Sato, K. Comparison of quantity and structures of hydroxyproline-containing peptides in human blood after oral ingestion of gelatin hydrolysates from different sources. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 1532–1535. [CrossRef] [PubMed]
26. Shimizu, K.; Sato, M.; Zhang, Y.; Kouguchi, T.; Takahata, Y.; Morimatsu, F.; Shimizu, M. The bioavailable octapeptide Gly-Ala-Hyp-Gly-Leu-Hyp-Gly-Pro stimulates nitric oxide synthesis in vascular endothelial cells. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 6960–6965. [CrossRef] [PubMed]
27. Oesser, S.; Seifert, J. Stimulation of type II collagen biosynthesis and secretion in bovine chondrocytes cultured with degraded collagen. *Cell Tissue Res.* **2003**, *311*, 393–399. [PubMed]
28. Bello, A.E.; Oesser, S. Collagen hydrolysate for the treatment of osteoarthritis and other joint disorders: A review of the literature. *Curr. Med. Res. Opin.* **2006**, *22*, 2221–2232. [CrossRef] [PubMed]
29. Ng, K.W.; Saliman, J.D.; Lin, E.Y.; Statman, L.Y.; Kugler, L.E.; Lo, S.B.; Ateshian, G.A.; Hung, C.T. Culture duration modulates collagen hydrolysate-induced tissue remodeling in chondrocyte-seeded agarose hydrogels. *Ann. Biomed. Eng.* **2007**, *35*, 1914–1923. [CrossRef] [PubMed]
30. Kitakaze, T.; Sakamoto, T.; Kitano, T.; Inoue, N.; Sugihara, F.; Harada, N.; Yamaji, R. The collagen derived dipeptide hydroxyprolyl-glycine promotes C2C12 myoblast differentiation and myotube hypertrophy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2016**, *478*, 1292–1297. [CrossRef] [PubMed]
31. Kim, H.K.; Kim, M.G.; Leem, K.H. Osteogenic activity of collagen peptide via ERK/MAPK pathway mediated boosting of collagen synthesis and its therapeutic efficacy in osteoporotic bone by back-scattered electron imaging and microarchitecture analysis. *Molecules* **2013**, *18*, 15474–15489. [CrossRef] [PubMed]
32. Liu, J.; Wang, Y.; Song, S.; Wang, X.; Qin, Y.; Si, S.; Guo, Y. Combined oral administration of bovine collagen peptides with calcium citrate inhibits bone loss in ovariectomized rats. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0135019. [CrossRef] [PubMed]
33. Bortolin, R.H.; da Graca Azevedo Abreu, B.J.; Ururahy, M.A.; de Souza, K.S.; Bezerra, J.F.; Loureiro, M.B.; da Silva, F.S.; da Silva Marques, D.E.; de Sousa Batista, A.A.; Oliveira, G.; et al. Protection against T1DM-Induced Bone Loss by Zinc Supplementation: Biomechanical, Histomorphometric, and Molecular Analyses in STZ-Induced Diabetic Rats. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0125349. [CrossRef] [PubMed]
34. Takeda, S.; Park, J.H.; Kawashima, E.; Ezawa, I.; Omi, N. Hydrolyzed collagen intake increases bone mass of growing rats trained with running exercise. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **2013**, *10*, 35. [CrossRef] [PubMed]
35. Wu, J.; Fujioka, M.; Sugimoto, K.; Mu, G.; Ishimi, Y. Assessment of effectiveness of oral administration of collagen peptide on bone metabolism in growing and mature rats. *J. Bone Miner. Metab.* **2004**, *22*, 547–553. [CrossRef] [PubMed]
36. Liu, J.; Zhang, B.; Song, S.; Ma, M.; Si, S.; Wang, Y.; Xu, B.; Feng, K.; Wu, J.; Guo, Y. Bovine collagen peptides compounds promote the proliferation and differentiation of MC3T3-E1 pre-osteoblasts. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e99920. [CrossRef] [PubMed]
37. Iba, Y.; Yokoi, K.; Eitoku, I.; Goto, M.; Koizumi, S.; Sugihara, F.; Oyama, H.; Yoshimoto, T. Oral Administration of Collagen Hydrolysates Improves Glucose Tolerance in Normal Mice Through GLP-1-Dependent and GLP-1-Independent Mechanisms. *J. Med. Food* **2016**, *19*, 836–843. [CrossRef] [PubMed]

© 2018 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).