

УДК 616.71-007.234:542.943-92>78



Протективная роль производных 3-оксипиридина при стероид-индуцированном остеопорозе у крыс, связанная со снижением оксидативного стресса и восстановлением образования оксида азота

А.П. Даниленко¹, К.С. Трунов², М.В. Покровский¹, Л.М. Даниленко¹, М.В. Корокин¹,
О.С. Гудырев¹, А.А. Хентов³, Н.П. Масальтина¹, И.А. Татаренкова⁴, А.В. Чередниченко¹,
Е.В. Боева¹, И.С. Коклин¹, Э.И. Таран¹

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»,

308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, д. 85

² Областное государственное бюджетное учреждение здравоохранения

«Городская больница № 2 г. Белгорода»,

308031, Россия, г. Белгород, ул. Губкина, д. 46

³ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы

«Городская клиническая больница им. С.С. Юдина Департамента здравоохранения города Москвы»,

115446, Россия, г. Москва, ул. Коломенский проезд, д. 4

⁴ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Курский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации,

305004, Россия, г. Курск, ул. К. Маркса, д. 3

E-mail: Danilenko_L@bsu.edu.ru

Получена 20.09.2022

После рецензирования 21.12.2022

Принята к печати 10.02.2023

С точки зрения рассматриваемых механизмов реализации патогенетических звеньев развития стероид-индуцированного остеопороза особый интерес представляет повышенный риск окислительного стресса в остеобластах, а также развитие эндотелиальной дисфункции сосудов микроциркуляторного русла костной ткани, приводящее к нарушению трофики костной ткани и прогрессированию остеопороза.

Цель. Изучить остеопротекторные эффекты композиции производных 3-оксипиридина на модели стероид-индуцированного остеопороза.

Материалы и методы. Для моделирования патологии остеопороза животным (самцы крыс линии Wistar) внутрибрюшинно в течение 5 недель вводили метилпреднизолон (МП) в дозе 5 мг/кг каждые 5 дней. В качестве неселективного ингибитора NO-синтазы в работе использовали L-NAME в дозе 25 мг/кг, внутрибрюшинно. Производные 3-оксипиридина (в дальнейшем по тексту как композиция № 1), вводились в дозе 50 мг/кг перорально. Во всех экспериментальных группах проводилась оценка уровня микроциркуляции и минеральной плотности костной ткани, анализ гистоморфологических и биохимических проб.

Результаты. Результаты показали, что композиция № 1 (50 мг/кг) оказывала остеопротекторное действие, эффективно предотвращала снижение уровня регионарной микроциркуляции в костной ткани и развитие эндотелиальной дисфункции, что позволило увеличить минеральную плотность костей и замедлить истончение костных трабекул. Кроме того, композиция № 1 (50 мг/кг) снижала выработку активных форм кислорода и увеличивала биодоступность NO.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что изучаемая композиция производных 3-оксипиридина, считается перспективным соединением для профилактики и лечения стероид-индуцированного остеопороза.

Ключевые слова: производные 3-оксипиридина; остеопороз; активные формы кислорода; оксидативный стресс; оксид азота; эндотелий

Список сокращений: АФК – активные формы кислорода; МП – метилпреднизолон; L-NAME – L-нитро-L-аргининметилэфир; NO – оксид азота; ГК – глюкокортикоид; NF-κB – ядерный фактор-κB; RANK – активатор рецептора NF-κB; RANKL – активатор рецептора лиганда NF-κB; OPG – остеопротегерин; NOS – NO-синтаза; СОД – супероксиддисмутаза; МДА – малоновый диальдегид; КЭД – коэффициент эндотелиальной дисфункции; ПОЛ – перекисное окисление липидов; ГП – глутатионпероксидаза; CSF – колониестимулирующий фактор; eNOS – эндотелиальная NO-синтаза; NOX – никотинамидадениндинуклеотидфосфатоксидаза.

Для цитирования: А.П. Даниленко, К.С. Трунов, М.В. Покровский, Л.М. Даниленко, М.В. Корокин, О.С. Гудырев, А.А. Хентов, Н.П. Масальтина, И.А. Татаренкова, А.В. Чередниченко, Е.В. Боева, И.С. Коклин, Э.И. Таран. Протективная роль производных 3-оксипиридина при стероид-индуцированном остеопорозе у крыс, связанная со снижением оксидативного стресса и восстановлением образования оксида азота. *Фармация и фармакология*. 2023;11(1):48-61. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-1-48-61

© А.П. Даниленко, К.С. Трунов, М.В. Покровский, Л.М. Даниленко, М.В. Корокин, О.С. Гудырев, А.А. Хентов, Н.П. Масальтина, И.А. Татаренкова, А.В. Чередниченко, Е.В. Боева, И.С. Коклин, Э.И. Таран, 2023

For citation: A.P. Danilenko, K.S. Trunov, M.V. Pokrovsky, L.M. Danilenko, M.V. Korokin, O.S. Gudyrev, A.A. Khentov, N.P. Masalytina, I.A. Tatarenkova, A.V. Cherednichenko, E.V. Boeva, I.S. Koklin, E.I. Taran. Protective role of 3-oxypyridine derivatives in rats' steroid-induced osteoporosis associated with reduced oxidative stress and recovery of nitric oxide formation. *Pharmacy & Pharmacology*. 2023;11(1):48-61. DOI: 10.19163/2307-9266-2023-11-1-48-61

Protective role of 3-oxypyridine derivatives in rats' steroid-induced osteoporosis associated with reduced oxidative stress and recovery of nitric oxide formation

A.P. Danilenko¹, K.S. Trunov², M.V. Pokrovsky¹, L.M. Danilenko¹, M.V. Korokin¹,
O.S. Gudyrev¹, A.A. Khentov³, N.P. Masalytina¹, I.A. Tatarenkova⁴, A.V. Cherednichenko¹,
E.V. Boeva¹, I.S. Koklin¹, E.I. Taran¹

¹ Belgorod State National Research University,
85, Pobeda Str., Belgorod, Russia, 308015

² City Hospital No. 2, Belgorod,
46, Gubkin Str., Belgorod, Russia, 308031

³ City CLinical Hospital named after S.S. Yudin, Moscow City Health Department,
4, Kolomensky Dwy, Moscow, Russia, 115446

⁴ Kursk State Medical University,
3, Karl Marx Str., Kursk, Russia 305041

E-mail: Danilenko_L@bsu.edu.ru

Received 20 Sep 2022

After peer review 21 Dec 2022

Accepted 10 Feb 2023

From the point of view of the mechanisms for the implementation of pathogenetic links in the development of steroid-induced osteoporosis considered in the paper, the increased risk of the oxidative stress in osteoblasts, as well as the development of the vessels endothelial dysfunction of the microcirculatory bloodstream in the bone tissue, are of particular interest. They lead to the impaired bone tissue trophism and progression of osteoporosis.

The aim of the study was research of the osteoprotective effects of a 3-hydroxypyridine derivatives composition on the model of steroid-induced osteoporosis.

Materials and methods. To model osteoporosis pathology, the animals (male Wistar rats) were injected with methylprednisolone (MP) at the dose of 5 mg/kg (intraperitoneally) every 5th day for 5 weeks. As a non-selective blocker of NO synthase, L-NAME was used at the dose of 25 mg/kg (intraperitoneally). Derivatives of 3-hydroxypyridine (hereinafter referred to as composition No. 1) were administrated at the dose of 50 mg/kg (*per os*) In all experimental groups, the level of microcirculation and the bone mineral density, as well as the analysis of histomorphological and biochemical samples, were assessed.

Results. The study results showed that composition No. 1 (50 mg/kg) has an osteoprotective activity, effectively prevents a decrease in the level of the regional bone tissue microcirculation and in the development of an endothelial dysfunction. That makes it possible to increase the bone mineral density and to slow down the thinning of bone trabeculae. In addition, composition No. 1 (50 mg/kg) reduces the production of reactive oxygen species and increases the NO bioavailability.

Conclusion. The data obtained indicate that the studied composition of 3-hydroxypyridine derivatives is considered a promising compound for the prevention and treatment of steroid-induced osteoporosis.

Keywords: 3-hydroxypyridine derivatives; osteoporosis; reactive oxygen species; oxidative stress; nitric oxide; endothelium

Abbreviations: ROS – reactive oxygen species; MP – methylprednisolone; L-NAME – L-Nitro-arginine methyl ester; NO – nitric oxide; GC – glucocorticoid; NFκB – nuclear factor-κB; RANK – receptor activator for nuclear factor kappa B; RANKL – ligand of receptor activator for nuclear factor kappa B; OPG – osteoprotegerin; NOS – NO-synthase; SOD – superoxide dismutase; MDA – malondialdehyde; EDC – endothelial dysfunction coefficient; LPO – lipid peroxidation; GP – glutathione peroxidase; CSF – colony-stimulating factor; eNOS – endothelial NO-synthase; NOX – nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase.

ВВЕДЕНИЕ

Глюкокортикоиды (ГК) остаются одним из эффективных способов терапии многих воспалительных и аутоиммунных заболеваний, находя широкое применение в различных областях медицины (ревматологии, пульмонологии, гематологии, гастроэнтерологии, дерматологии, трансплантологии) [1]. Однако длительная терапия ГК имеют ряд побочных эффектов, среди которых одним из значимых является стероид-индуцированный остеопороз, который является

наиболее распространенной формой ятрогенного и вторичного остеопороза [2], вызывающего снижение минерализации костной ткани и, как следствие, переломы у 30–50% пациентов. По распространенности стероид-индуцированный остеопороз занимает второе место среди всех форм остеопороза, уступая только постменопаузальному и старческому [3]. Патофизиология остеопороза, вызванного ГК, обусловлена различными факторами [4–8], в том числе значительная роль отводится рецептору-активатору ядерного фактора-κB (RANK),

его лиганду (RANKL), и остеопротегерину (OPG). RANKL, как член надсемейства фактора некроза опухоли (TNF), регулирует дифференцировку, активацию и выживание остеокластов посредством связывания с родственным ему рецептором RANK, который может взаимодействовать с несколькими факторами, ассоциированными с рецептором TNF (TRAF), активируя сигнальные молекулы [9]. Активные формы кислорода (АФК) считаются основными факторами в RANKL-индуцированном влиянии на костную ткань, в том числе и при стероид-индуцированном остеопорозе [10–12], что позволяет определить одну из важнейших терапевтических стратегий для коррекции данной патологии.

Еще одной потенциальной мишенью для лечения остеопороза может являться оксид азота (NO). Эндогенный NO образуется из L-аргинина в результате реакции, катализируемой ферментом семейства кальмодулин-зависимых NO-синтаз (NOS). Из трех изоформ NOS наибольший вклад в развитие остеопороза вносит эндотелиальная NOS (eNOS). Убедительные подтверждения роли NO в функции остеобластов получены в исследованиях на животных с нокаутом eNOS, где сообщается о серьезных дефектах формирования кости и активности остеобластов в исследованиях *in vivo* и *in vitro*. [13]. Кроме того, превентивное введение донаторов NO (нитроглицирина и L-аргинина) предотвращает потерю костной массы, увеличивает прочность костей путем снижения развития остеопороза [14, 15].

Рекомендации по лечению остеопороза, вызванного ГК, включают рутинные добавки кальция и витамина D, терапию бисфосфонатами, селективными модуляторами рецептора эстрогена, применение моноклональных человеческих антител к RANKL и его внутриклеточному фактору, а также рекомбинантный паратиреоидный гормон [16–18]. Все фармакологические подходы до сих пор носят спорный характер и показывают противоречивые и изменчивые результаты, которые могут зависеть от возраста, пола, дозы и продолжительности лечения. Кроме того, длительное применение ряда препаратов может привести к серьезным осложнениям, включая повреждение почек, венозный тромбоз и повышенный риск развития опухолей.

В связи с этим поиск новых эффективных подходов для коррекции стероид-индуцированного остеопороза представляется весьма перспективным направлением в фармакологии.

Производные 3-гидроксипиридина относятся к простейшим гетероциклическим аналогам ароматических фенолов и имеют широкий спектр действия, который включает антиоксидантную, антигипоксическую, противовоспалительную, противоишемическую [19], кардио- и

эндотелиопротекторную активность [20]. Огромный перечень видов фармакологического воздействия позволяет предположить, что новый комплекс производных 3-оксипиридина, состоящий из одной молекулы 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния 3-пиридинокарбоноата и трех молекул 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния N-ацетил-6-аминогексаноата (в дальнейшем по тексту – композиция № 1), полученный путем топомимического синтеза (АО «Всесоюзный научный центр по безопасности биологически активных веществ», г. Старая Купавна, Россия) может стать перспективным соединением для профилактики и лечения стероид-индуцированного остеопороза.

ЦЕЛЬ. Изучить остеопротекторные эффекты композиции производных 3-оксипиридина на модели стероид-индуцированного остеопороза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Методика получения и анализ

Химические реактивы необходимые для получения соединения были приобретены у коммерческих поставщиков, которые имеют сертификат на химическую продукцию (Sigma-Aldrich, США). Путь синтеза композиции № 1 заключался в следующих этапах: в гомогенизатор загружали 26,0 г (0,1 г/моль) 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния 3-пиридинокарбоноата, при перемешивании постепенно добавляли 93,2 г (0,3 г/моль) 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния N-ацетил-6-аминогексаноата. Массу гомогенизировали в течение 10–15 мин при 300–400 об/мин. Далее проверяли размер частиц полученного порошка, который должен составлять не более 10 мкм, при необходимости дополнительно гомогенизировали. На выходе получали 119,0 г белого мелкокристаллического порошка с $T_{пл.} = 139–143^{\circ}\text{C}$. Полученное соединение растворимо в воде с легкой опалесценцией. Найдено, %: С 62,48; Н 7,98; N 9,39 С62 Н94 N8O15; м.м. 1191,46. Вычислено, %: С 62,50; Н 7,95; N 9,41; O 20,14. Химическая формула соединения (композиция № 1) представлена на рисунке 1.

Дизайн исследования

Все экспериментальные исследования проведены в соответствии с Правилами лабораторной практики, утвержденными приказом Минздрава России от 23.08.2010 № 708н, при строгом соблюдении Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или других научных целей (Директива 2010/63/ЕС). Экспериментальные исследования одобрены Биоэтической комиссией ФГБОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Минздрава России (протокол

№ 11/9 от 12.02.2022). Вивисекцию проводили в соответствии с этическими принципами обращения с лабораторными животными, изложенными в Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (CETS No. 123).

Эксперименты выполнены на 60 здоровых неморбидных крысах-самцах линии Wistar массой 220–300 г. Животные были получены из питомника «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА (Московская область), содержались в стандартных условиях, соответствующих санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) № 1045-73.

На первом этапе лабораторные животные случайным образом были разделены на 6 экспериментальных групп: I группа – интактные животные, внутрибрюшинно (в/б) вводили физраствор; II группа – в/б метилпреднизолон (МП) в дозе 5 мг/кг в течение 5 недель каждые 5 дней; III группа – L-NAME в/б в дозе 25 мг/кг в течение 35 сут; IV группа – метилпреднизолон (МП) в дозе 5 мг/кг + L-NAME 25 мг/кг в/б в течение 35 сут; V группа – МП + «композиция № 1» внутрижелудочно в дозе 50 мг/кг 1 р/сут в течение 35 дней; VI группа – МП + L-NAME + «композиция № 1» внутрижелудочно в дозе 50 мг/кг 1 р/сут в течение 35 дней.

На 36 день животные выводились из эксперимента с дальнейшей оценкой показателей денситометрии, функциональных, биохимических и гистоморфометрических проб. Дизайн эксперимента представлен на рисунке 2.

Исследование плотности костной ткани

Денситометрию у животных проводили после предварительного введения животных в состояние наркоза раствором тилетамина, золазепамы (60 мг/кг) и хлоралгидрата (300 мг/кг). Показатель выражали в г/см³, он определялся для проксимального метафиза, диафиза и дистального метафиза бедренной кости. Оценка плотности костной ткани (Bone Density, BD) была проведена с помощью мультифункциональной лабораторной рентгеновской установки IN-VIVO MS FX PRO производства компании Bruker (США) с системой молекулярной визуализации при помощи лицензированного программного обеспечения Bone Density Software.

Проведение сосудистых проб

Воздействие на микроциркуляторное русло костной ткани является одним из перспективных подходов в коррекции остеопороза, в связи с чем во всех экспериментальных группах проводили оценку микроциркуляции в губчатой

костной ткани проксимального метафиза правой бедренной кости. Для получения данных о костной микроциркуляции использовали оборудование ВЮРАС Systems (США): полиграф МР100-150 с модулем лазерной доплеровской флоуметрии LDF100С и датчиком TSD144. Результаты лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) записывали с помощью программы Acq Knowledge (версии 3.8–4.2). Показатели микроциркуляции выражали в перфузионных единицах (п.е.). После измерения внутрикостного уровня микроциркуляции, проводилась проба на эндотелий-зависимую вазодилатацию (ацетилхолин внутривенно (в/в) 40 мкг/кг) и эндотелий-независимую вазодилатацию (натрия нитропруссид в/в 30 мкг/кг), с дальнейшим определением коэффициента эндотелиальной дисфункции (КЭД) [21].

Биохимический анализ крови

Для оценки биохимических показателей после проведения сосудистых проб у животных экспериментальных групп проводился забор крови с помощью шприца из хвостовой вены с последующим определением содержания общего кальция (ммоль/л) в плазме крови методом колориметрии с о-крезолфталеином и щелочной фосфатазы (Ед/л) в сыворотке крови (колориметрический, кинетический метод), на спектрофотометре СФ-46 (ОАО «ЛОМО», Россия). Уровни супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (GSH-Px) и малонового диальдегида (МДА) (Nanjing Jiancheng Biological Engineering Research Institute, Китай) в сыворотке крови определяли в соответствии с инструкциями производителя [22].

Морфофункциональная оценка состояния костной ткани

Объектом исследования для гистологического анализа были выбраны большеберцовые кости, которые изначально фиксировали в 10% формалине. Из фиксированных костей иссекали проксимальный отрезок на протяжении 1 см от суставной поверхности мыщелков. Материал декальцинировали в жидкости «Surgipath Decalcifier II» (Leica, Германия) по рекомендуемому протоколу¹. Декальцинированные фрагменты автоматическим способом заливали в парафин с последующей окраской срезов толщиной 7 мкм гематоксилином и эозином по Маллори. Микропрепараты изучали сканирующим способом под микроскопом «Микмед» с видеокамерой «DV1000». С помощью программы «McrAView 7.3.1.7» (АО «ЛОМО», Россия) производили измерение толщины костных трабекул и кортикальной кости диафиза.

¹ Decalcification. Cardiovascular Pathology (5th Edition), 2022. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/decalcification>

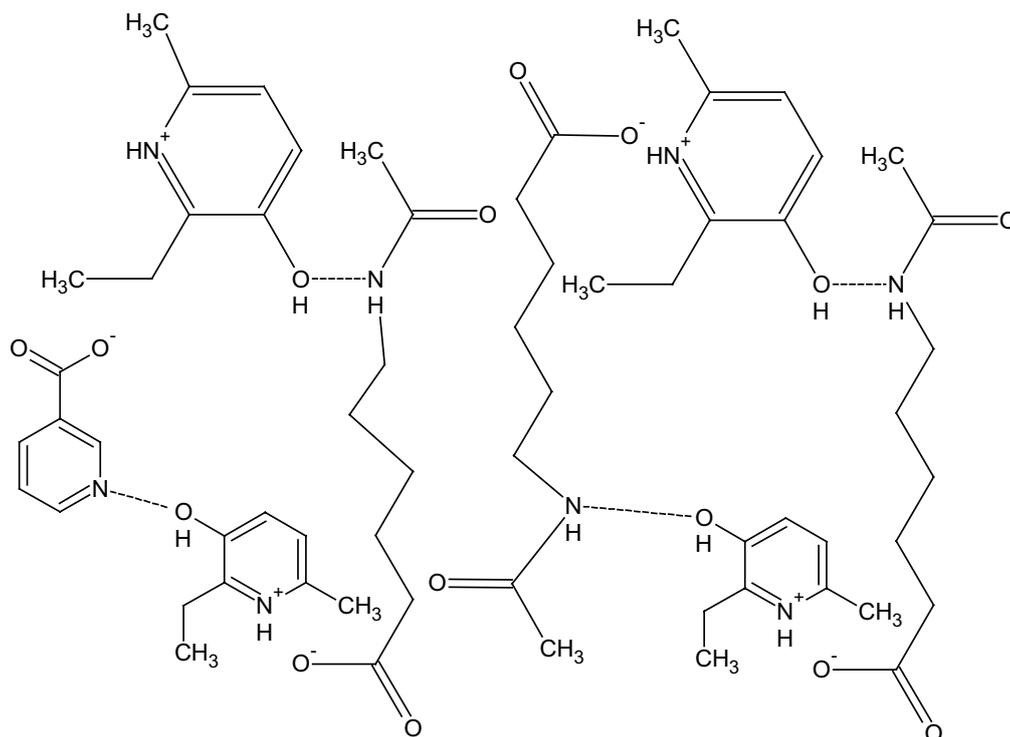


Рисунок 1 – Структурная формула соединения (композиция № 1)

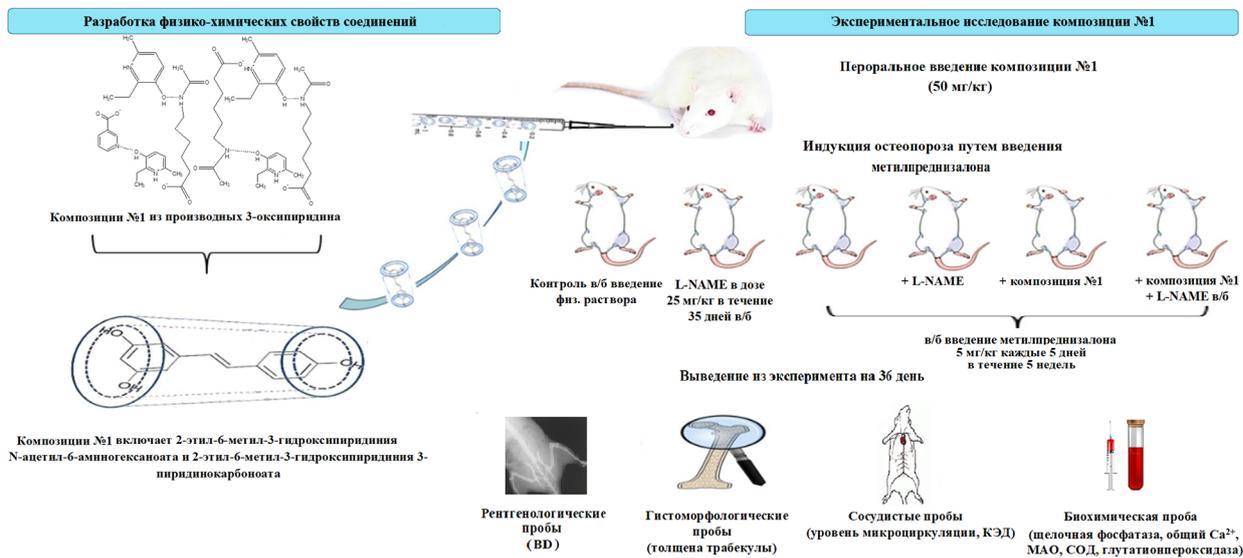


Рисунок 2 – Дизайн эксперимента

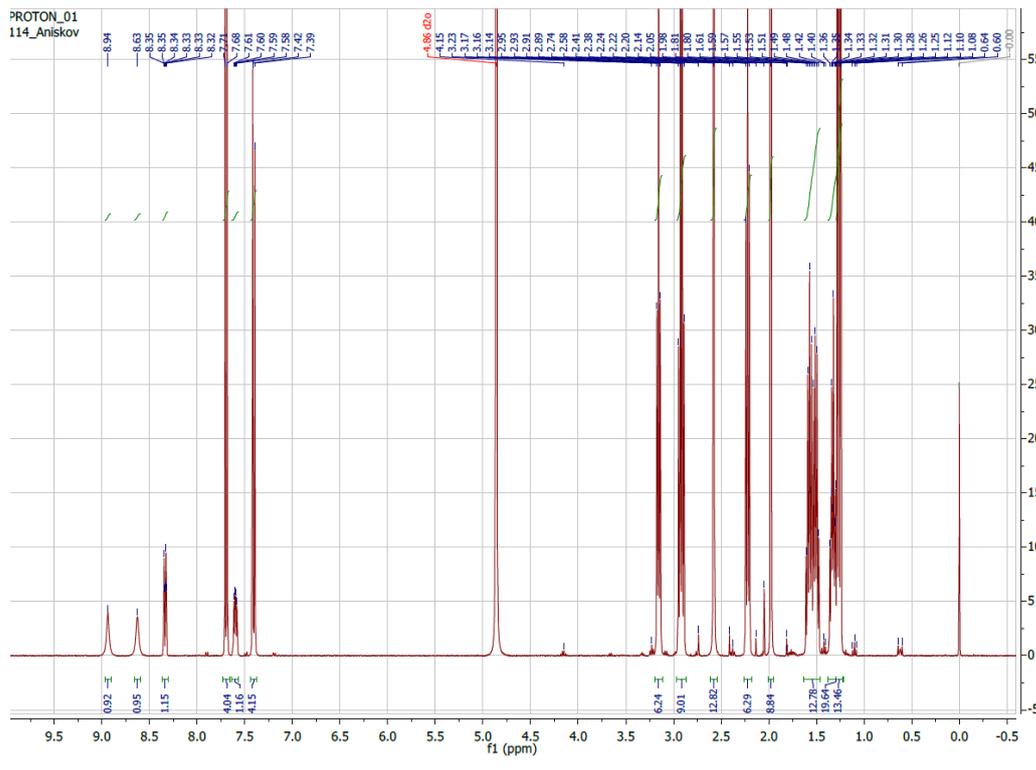


Рисунок 3 – Спектр ЯМР ¹H композиции № 1

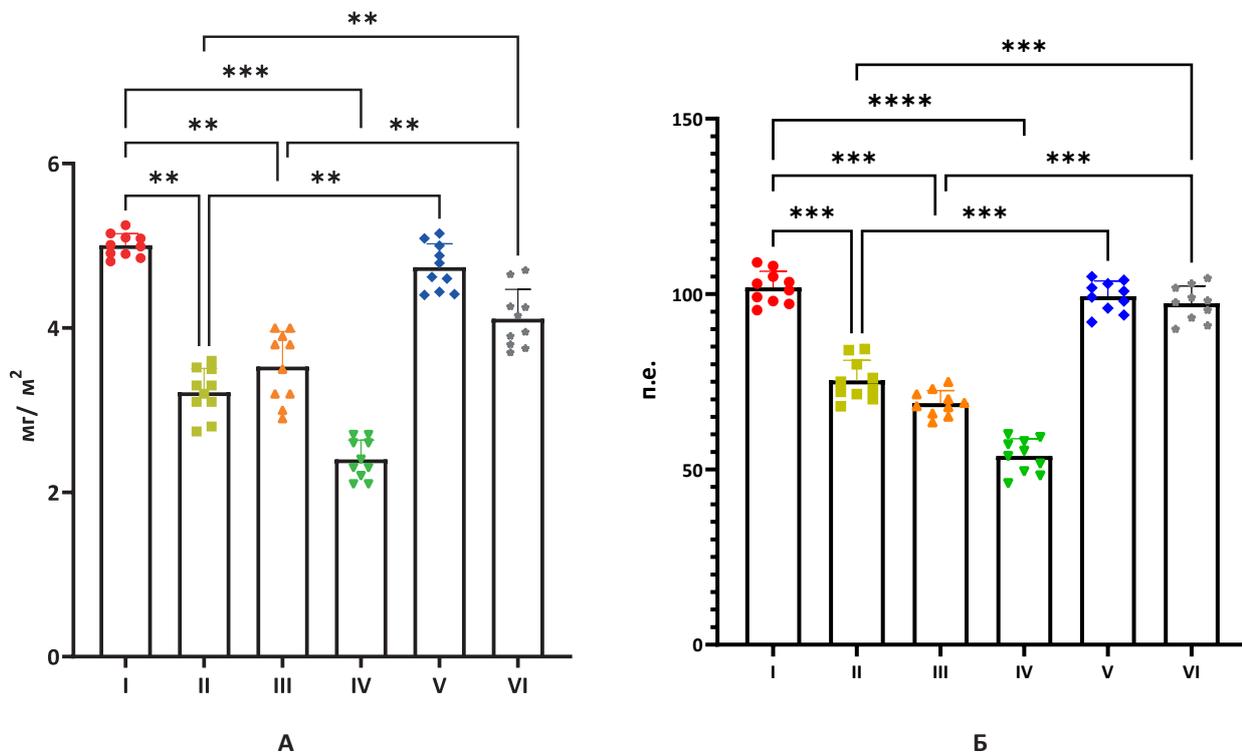


Рисунок 4 – Влияние композиции № 1 на BD (А) и уровень микроциркуляции (Б)

при стероид-индуцированном остеопорозе

Примечание (здесь и на Рис. 3–5): I – интактные; II – МП; III – L-NAME; IV – МП+L-NAME; V – МП+композиция № 1; VI – МП+L-NAME+композиция № 1.

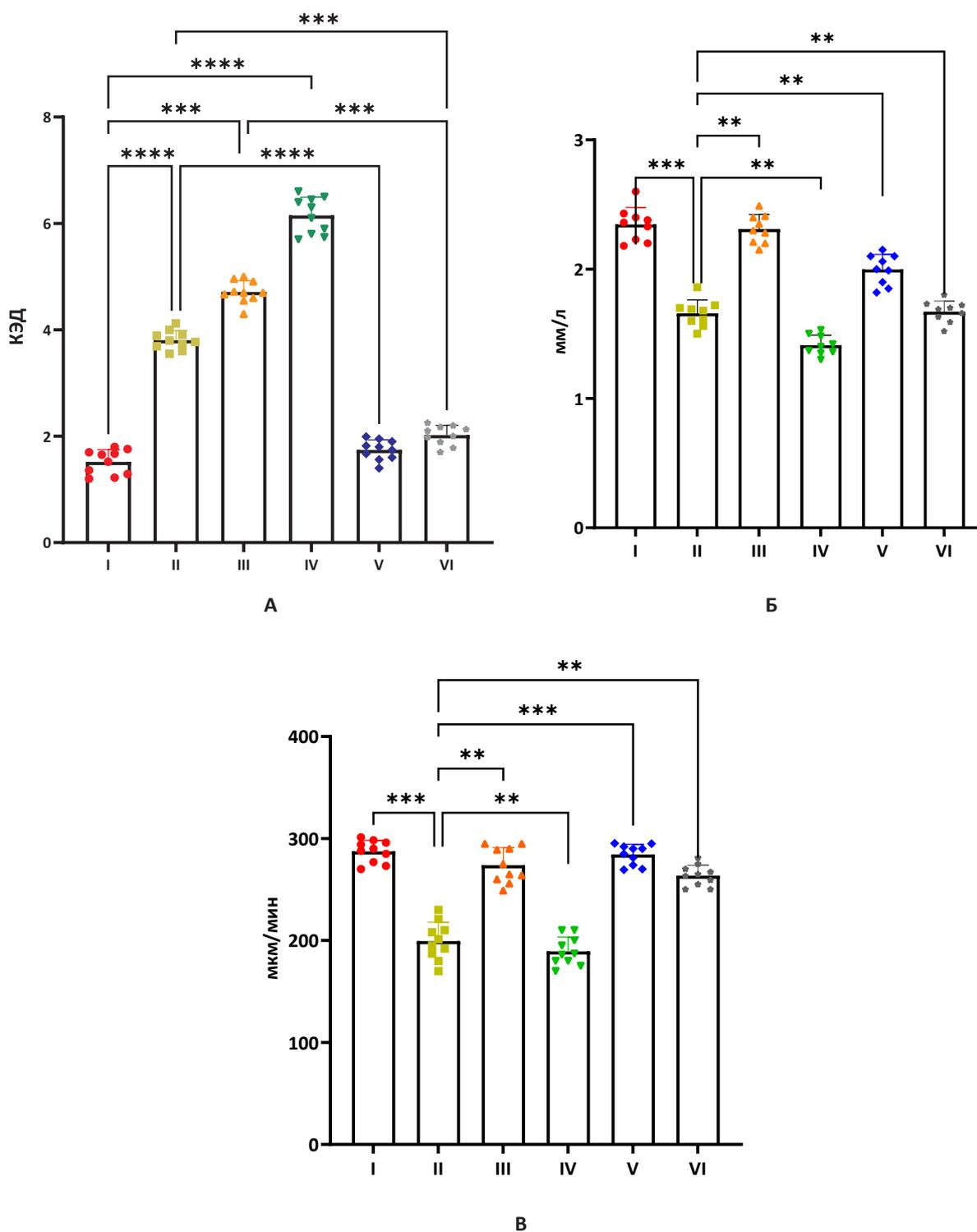


Рисунок 5 – Влияние композиции № 1 на коэффициент эндотелиальной дисфункции (А), уровень щелочной фосфатазы (Б) и содержание кальция в сыворотке крови (В)

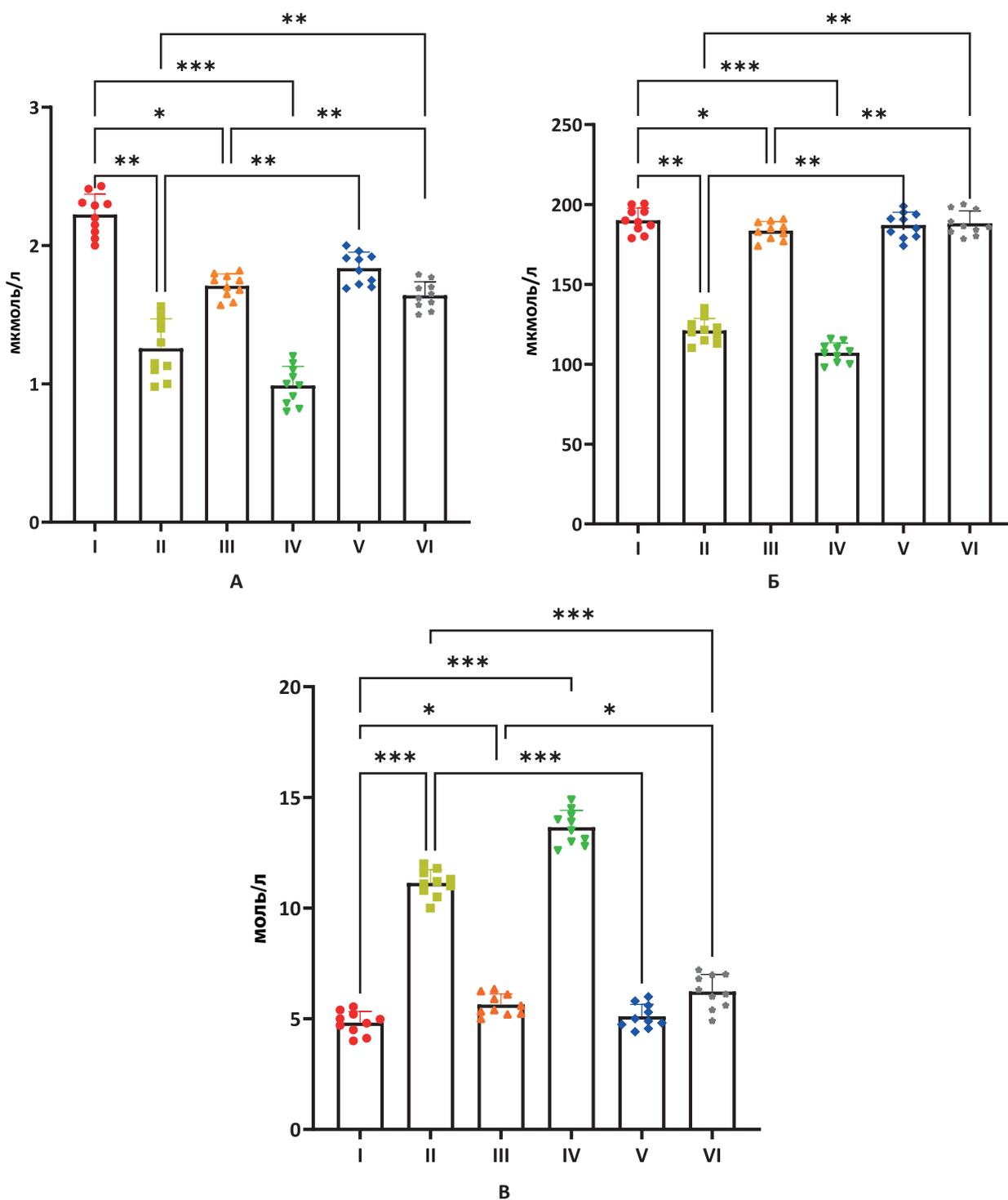


Рисунок 6 – Влияние композиции № 1 на содержание СОД (А), уровень глутатионпероксидазы (Б) и малонового диальдегида (В)

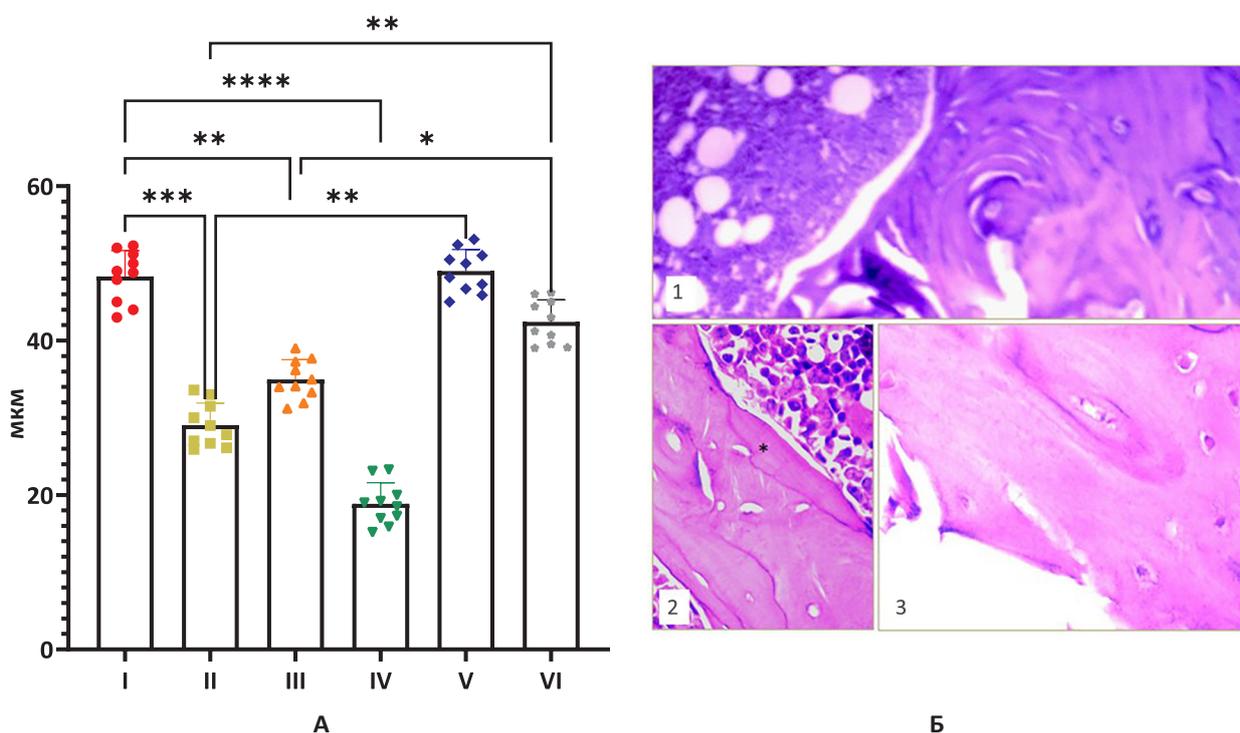


Рисунок 7 – Влияние композиции № 1 на толщину костных трабекул (А) и микроструктуру большеберцовой кости (Б)

Примечание: микроструктура большой берцовой кости в группе VI: МП+композиция № 1+L-NAME; 1 – кортикальная и прилегающий участок губчатого вещества без специфических изменений; 2 – балка* губчатого вещества с новообразованным пластом пластинчатой костной ткани; 3 – интактная внутренняя структура костной балки. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение ×100 (А), ×400 (Б).

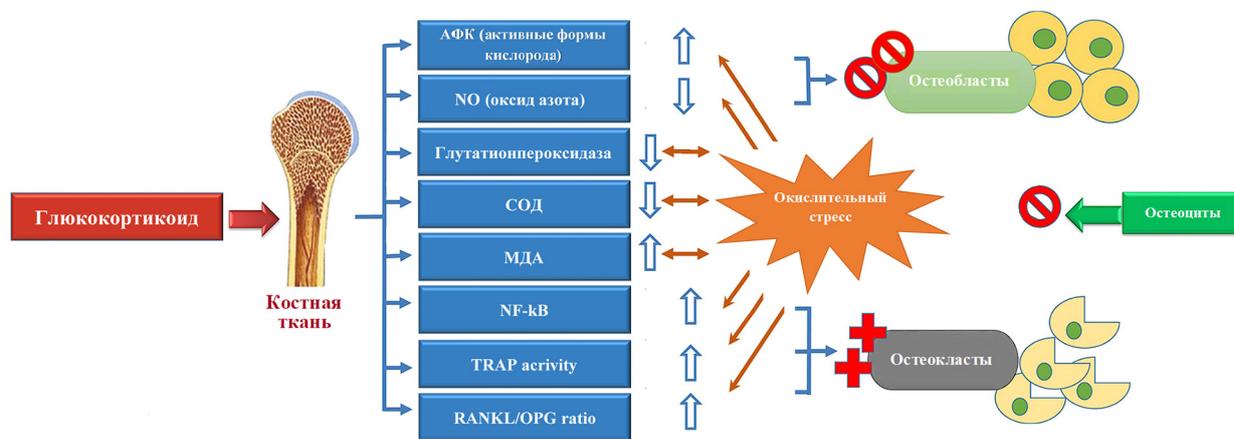


Рисунок 8 – Возможные механизмы повреждения костной ткани при стероид-индуцированном остеопорозе

Статистический анализ

Данные были проверены на нормальность распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка. Данные с нормальным распределением сравнивались с использованием обычного одностороннего дисперсионного анализа (ANOVA) с *post-hoc* тестом Тьюки. Данные с ненормальным распределением сравнивались с помощью теста Крускала-Уоллеса и непараметрического *post-hoc* теста Данна. Различия были определены на уровне значимости 0,05. Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 9.2.0 (GraphPad Software, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Структура супрамолекулярного комплекса (композиция № 1) подтверждалась на основе спектроскопических данных: ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3412 (ОН), 3290 (NH), 2941 (CH), 2673 (N^+), 1781 (C=N-), 1634 (C=C), 1561 (COO-). Масс-спектр комплекса в режиме сканирования положительных ионов [M+H] составлял m/z 1195,46 (что соответствует м.м. 1191,46). Спектры ЯМР ^1H представлены на рисунке 3.

В ЯМР ^1H спектре образца композиции № 1 отмечены ключевые сигналы, ассоциированные с никотинат анионом: 8.94 (уш с, 0.25H), 8.63 (уш с, 0.25H), 8.34 (дт, $J=8.0$, 1.8 Гц, 0.25H) 7.60 (дд, $J=7.9$, 5.1 Гц, 0.25H) и 6-ацетигексаноат анионом 3.16 (т, $J=6.9$ Гц, 2H), 2.58 (с, 3H), 2.22 (т, $J=7.4$ Гц, 2H), 1.98 (с, 9H), 1.63–1.46 (м, 4H), 1.38–1.29 (м, 4H). Соотношение анионных остатков составляет 1:3 (никотинат/гексаноат). Отмечены ключевые сигналы 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина: 7.69 (д, $J=8.7$ Гц, 1H), 7.40 (д, $J=8.7$ Гц, 1H), 2.92 (кв, $J=7.6$ Гц, 2H, (2-этил (CH_2))), 1.26 (т, $J=7.6$ Гц, 4H, 2-этил (CH_3)).

Композиция производных 3-окипиридина предотвращает развитие стероид-индуцированного остеопороза

Значимых различий в исходных показателях плотности костной ткани в начале эксперимента не было отмечено ни в одной из 6 экспериментальных групп животных. Средние значения плотности бедренной кости во всех экспериментальных группах составили $4,91 \pm 1,03$ мг/см², что подтверждает отсутствие клинических признаков остеопороза у всех экспериментальных животных в начале эксперимента (Рис. 2А). Однако через 5 недель эксперимента было отмечено значительное и достоверное снижение плотности костной ткани на 37% ($p < 0,05$) во II группе; на 29% ($p < 0,05$) в III группе и на 52% ($p < 0,05$) в IV группе соответственно. Комбинированное применение МП+L-NAME (группа IV) способствовало максимальному снижению показателей плотности костной ткани (Рис. 4А). Введение композиции № 1 приводило к предотвращению снижения плотности костной ткани, приближая значения к группе интактных животных (Рис. 4А).

При анализе показателей микроциркуляции проксимального метафиза бедренной кости у животных в интактной группе данный показатель составил $101,1 \pm 4,15$ п.е. (Рис. 4Б), тогда как в группе II он достоверно снижался до значений $72,09 \pm 3,26$ п.е. ($p < 0,05$); группе III – до $67,8 \pm 4,12$ п.е. ($p < 0,05$); в группе IV отмечалось максимальное снижение показателя микроциркуляции до значений $55,3 \pm 4,12$ п.е. ($p < 0,05$). Исследуемое соединение композиция № 1 эффективно предотвращало снижение уровня регионарного кровотока костной ткани бедра на фоне введения МП и L-NAME. Показатель уровня микроциркуляции в группе МП+композиции № 1 (группа V) составил $100,8 \pm 3,23$ п.е., МП+L-NAME+композиция № 1 (группа VI) составил $98,1 \pm 4,79$ п.е. соответственно ($p < 0,05$) (Рис. 4Б).

При проведении пробы с эндотелий-зависимой (в/в введение ацетилхолина) и эндотелий-независимой (в/в введение натрия нитропруссид) вазодилатацией с расчетом коэффициента эндотелиальной дисфункции (КЭД) было установлено его значение: $1,22 \pm 0,01$ ($p < 0,05$) в группе интактных животных; $3,6 \pm 0,07$ ($p < 0,05$) в группе с МП; $4,66 \pm 0,09$ ($p < 0,05$) в группе с L-NAME; $6,31 \pm 0,04$ ($p < 0,05$) в группе МП+ L-NAME (Рис. 5А).

Введение композиции № 1 способствовало коррекции повреждения эндотелия. Так в группе МП+композиции № 1, КЭД снизился до значений $1,4 \pm 0,02$, в группе МП+L-NAME+композиции № 1 до значений $2,1 \pm 0,03$ соответственно, что подтверждает повышение биодоступности NO при введении композиции № 1.

Для биохимического анализа процессов костного метаболизма определяли концентрацию Ca^{2+} и костной щелочной фосфатазы (маркер остеосинтеза). В группах с МП и МП+L-NAME отмечалось статистически значимое снижение уровня кальция в сыворотке крови на 33 и 41% ($p < 0,05$) соответственно. В остальных экспериментальных группах статистически значимого отличия не наблюдалось. Введение композиции № 1 способствовало предотвращению потери Ca^{2+} , вызванной введением МП и L-NAME (Рис. 5Б).

После двух недель эксперимента в группах с МП и МП+L-NAME продемонстрировано значительное снижение ($p < 0,05$) уровня щелочной фосфатазы в сыворотке. После 5 недель лечения животных композицией № 1 уровни щелочной фосфатазы в сыворотке крови оставались значительно ниже, чем в группах с МП и МП+L-NAME, что подтверждает эффективность композиции № 1 в лечении нарушений метаболизма костной ткани (Рис. 5В).

При изучении влияния композиции № 1 на маркеры окислительного стресса в сыворотке крови было обнаружено, что изначально содержание СОД и глутатионпероксидазы в группах с МП и МП+L-NAME были достоверно ниже в сравнении с группой интактных животных ($p < 0,05$) на 32 и 41,3% соответственно (Рис. 6А).

Введение животным композиции № 1 позволило статистически значимо увеличить концентрацию СОД и глутатионпероксидазы относительно группы животных с МП и МП+L-NAME (Рис. 6А и 6Б). Отмечено изменение уровня малонового диальдегида (МДА) у группы животных МП и МП+L-NAME, в виде достоверного повышения секреции до уровня $4,9 \pm 0,1$ и $5,2 \pm 0,2$ моль/л ($p < 0,05$) соответственно (Рис. 6В). Применение в качестве фармакологической поддержки композиции № 1 позволило статистически значимо сократить концентрацию продукта перекисного окисления липидов – МДА относительно группы животных с моделированием патологии (группа II и IV) (Рис. 6В).

Для подтверждения морфофункциональных и биохимических проб были проведены гистоморфологические исследования проксимальных отделов бедренных костей животных. При изучении материала от интактных животных каких-либо особенностей, отличающих строение изученных участков большеберцовых костей от типичной структуры, обнаружено не было (Рис. 7А).

Толщина костных трабекул составила в среднем $47,9 \pm 1,8$ мкм. При ведении МП и МП+L-NAME было достигнуто воспроизведение свойственных остеопорозу костных изменений. Толщина костных трабекул снижалась и составила $31,5 \pm 2,2$ и $23,1 \pm 1,3$ мкм соответственно (Рис. 7А), что характеризует истончение балки губчатого вещества.

О корректирующем эффекте изучаемой композиции № 1 свидетельствуют как качественные, так и морфометрические показатели трабекул губчатого вещества. Общая архитектура кортикальной кости и губчатого вещества в группе МП+композиция № 1 приближалась к интактным животным. В группе имелись как клеточные проявления остеопластической активности, так и результат несовершенного остеогенеза в виде пластинчатых костных структур на поверхности балок (Рис. 7Б).

Разнообразие биологических эффектов стероидных гормонов и сложность путей их метаболизма вызывают трудности в окончательном понимании патогенетических аспектов развития и прогрессирования стероид-индуцированного остеопороза. Из многих факторов, способствующих развитию стероид-индуцированного остеопороза, центральную роль может играть окислительный стресс, что подтверждено в ряде экспериментальных исследований [23].

Для фармакологической коррекции окислительного стресса при стероид-индуцированном остеопорозе изучается влияние антиоксидантов различной химической природы, а именно природного происхождения. Однако их остеопротекторная активность является не достаточной и требует дальнейших экспериментальных подтверждений [24, 25].

Для создания новых лекарственных средств остается актуальным выбор в качестве предшественника соединений хорошо изученных химических структур, в частности производных пиридина [19]. Обоснованность данного направления заключается в том, что пиридины проявляют широкий спектр фармакологической активности, обладая при этом низкой токсичностью. Изучаемый в работе супрамолекулярный комплекс (композиция № 1) представлен в виде одной молекулы 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния 3-пиридинокарбоноата и трёх молекул 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния N-ацетил-6-аминогексаноата. У 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния 3-пиридинокарбоноата доказана антигипоксическая, антиоксидантная, эндотелиопротекторная активность. Второй компонент – соединение 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния N-ацетил-6-аминогексаноат известен как средство способное ускорять очищение раневой поверхности от некротических масс, уменьшать экссудативные процессы, активировать рост грануляционной ткани, васкуляризацию и эпителизацию ран, а также стимулировать образование костного мозга, ускоряя процессы заживления переломов костей [26].

Принимая во внимание взаимосвязь оксидативного стресса и развития эндотелиальной дисфункции в нарушении процессов костного ремоделирования, в рамках данного исследования мы попытались дать оценку влияния обеих факторов на повреждение костной ткани. Как известно, строение микроциркуляторного русла костной ткани существенно отличается от морфологии сосудистого русла остальных тканей организма. Костные микрососуды имеют только эндотелий и не имеют мышечного и соединительнотканного слоев. Таким образом, именно эндотелий опосредует всю гуморальную регуляцию обмена между остеобластами, остеокластами и кровью. Для подтверждения вклада NO в развитие остеопороза животным вводили селективный ингибитор eNOS, соединение L-NAME. Внутривентральное введение L-NAME в дозе 25 мг/кг ежедневно в течение 35 сут приводило к снижению плотности костной ткани, что сопровождалось статистически значимым снижением уровня микроциркуляции в кости и повышением КЭД, что свидетельствует о причастности эндотелиальной дисфункции в развитии остеопороза. Комбинированное введение глюкокортикостероида МП в дозе 5 мг/кг внутривентрально через каждые 5 сут в течение 5 недель и L-NAME внутривентрально в дозе 25 мг/кг в течение 35 сут увеличивало повреждение костной ткани, при этом значительно снижая показатели микроциркуляции и повышая КЭД.

В силу высокой реакционной способности свободных радикалов их действие в организме контролируется эндогенными и экзогенными антиоксидантами, а также ферментами

антиоксидантной системы. Эндогенная антиоксидантная система не всегда справляется с этим процессом, приводя к развитию различных патологических состояний. В ходе проведения исследования было установлено, что композиция № 1 в условиях введения МП и L-NAME способствовала сохранению активности ферментов эндогенной антиоксидантной защиты, снижению интенсивности ПОЛ, что выражалось в повышении активности СОД, глутатионпероксидазы и снижении образования МДА относительно группы животных с моделированием стероид-индуцированного остеопороза. Однако в группе, которой вводили МП, было отмечено более выраженное снижение количества антиоксидантных ферментов СОД и ГП, а также повышение уровня МДА. Введение L-NAME на уровень антиоксидантных ферментов статистически значимого влияния не оказывало.

Известно, что колониестимулирующий фактор (CSF) и рецептор-активатор лиганд NF-κB (RANKL) оказывают влияние на дифференцировку остеокластов и приводят к аномальной резорбции костной ткани. Важность RANKL индуцировать продукцию АФК в модулировании дифференцировки остеокластов хорошо известна [27]. Стимуляция RANKL вызывает значительное увеличение внутриклеточных АФК за счет активации, ассоциированного с рецептором фактора некроза опухоли (TNF-α) и никотинамидадениндинуклеотидфосфатоксидазы (NOX) [28]. Подтверждением тому служит и ряд работ подтверждающих остеопротекторную активность антиоксидантов при остеопорозе, в частности при применении N-ацетил-L-цистеина и аскорбиновой кислоты [29].

Следовательно, нацеливание на внутриклеточные АФК может представлять собой потенциальный терапевтический подход к предотвращению резорбции костей и лечению нарушений костного метаболизма. Еще одним важным звеном в патогенезе остеопороза является снижение кровоснабжения костей, сопровождающееся нарушением функции

эндотелия и приводящее к торможению активности остеобластов, а также к усиленной деятельности остеокластов [30]. На сегодняшний день известно, что NO оказывает прямое стимулирующее действие на остеобласты, что положительно влияет на костную ткань. При этом многие работы показывают зависимость между окислительным стрессом и наличием эндотелиальной дисфункции [31, 32].

Окислительный стресс влечет за собой снижение образования эндотелиального NO, что, в свою очередь, нарушает микроциркуляцию в поврежденной костной ткани, в том числе при стероид-индуцированном остеопорозе. Таким образом, сгенерированный введением МП окислительный стресс в сочетании с блокадой eNOS путем введения L-NAME подтверждают гипотезу о пагубном влиянии на костную ткань ГК посредством повышения АФК и снижения выработки NO (Рис. 8).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, подводя итог исследования об остеопротекторном эффекте нового соединения на основе производных 3-оксипиридина, композиции № 1 (50 мг/кг), можно сделать заключение, что изучаемое соединение предотвращает снижение уровня микроциркуляции в костной ткани бедра, проявляет выраженное эндотелиопротективное действие, повышая биодоступность NO, а также улучшает показатели биохимических и морфометрических проб на фоне стероид-индуцированного остеопороза. Наблюдаемые улучшения можно ассоциировать с влиянием соединения на снижение выработки АФК и ингибирование RANKL-индуцированной активации NF-κB. Однако для выяснения точного механизма действия соединения требуются дальнейшие углубленные исследования. Полученные же данные характеризуют перспективность изучения композиции № 1 для коррекции и профилактики стероид-индуцированного остеопороза.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Исследование выполнено за счет гранта РФФИ № 22-25-00376 (Режим доступа: <https://rscf.ru/project/22-25-00376>).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

А.П. Даниленко – написание статьи, разработка дизайна исследования; К.С. Трунов – оценка и интерпретация результатов; М.В. Покровский – планирование исследования и всех этапов эксперимента; Л.М. Даниленко – написание статьи, интерпретация результатов; М.В. Корокин – статистическая обработка данных, редактирование текста; О.С. Гудырев – разработка методологии, проведение исследования; А.А. Хентов – интерпретация полученных результатов исследования; Н.П. Масальтина – забор образцов для гистоморфологического и биохимического исследования, анализ литературных источников; И.А. Татаренкова – анализ литературных источников, редактирование текста; А.В. Чередниченко – моделирование патологии, проведение экспериментальной работы; Е.В. Боева – моделирование патологии, проведение экспериментальной работы; И.С. Коклин – анализ литературы, подготовка графического материала; Э.И. Таран – анализ литературы, подготовка графического материала.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Compston J. Glucocorticoid-induced osteoporosis: an update // *Endocrine*. - 2018. - Vol. 1, No. 61. - P. 7–16. DOI:10.1007/s12020-018-1588-2
2. Weinstein R.S. Glucocorticoid-induced osteoporosis and osteonecrosis // *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* - 2012. - Vol. 41, No. 3. - P. 595–611. DOI:10.1016/j.ecl.2012.04.004
3. Cho S.K., Sung Y.K. Update on Glucocorticoid Induced Osteoporosis. *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2021 Jun;36(3):536–543. DOI:10.3803/EnM.2021.1021
4. Ohnaka K., Tanabe M., Kawate H., Nawata H., Takayanagi R. Glucocorticoid suppresses the canonical Wnt signal in cultured human osteoblasts // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* - 2005. - Vol. 329, No. 1. - P. 177–181. DOI:10.1016/j.bbrc.2005.01.117
5. Swanson C., Lorentzon M., Conaway H.H., Lerner U.H. Glucocorticoid regulation of osteoclast differentiation and expression of receptor activator of nuclear factor-kappaB (NF-kappaB) ligand, osteoprotegerin, and receptor activator of NF-kappaB in mouse calvarial bones // *Endocrinology*. - 2006. - Vol. 147, No. 7. - P. 3613–3622. DOI:10.1210/en.2005-07176
6. Jiang H.T., Ran C.C., Liao Y.P., Zhu J.H., Wang H., Deng R., Nie M., He B.C., Deng Z.L. IGF-1 reverses the osteogenic inhibitory effect of dexamethasone on BMP9-induced osteogenic differentiation in mouse embryonic fibroblasts via PI3K/AKT/COX-2 pathway // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* - 2019. - Vol. 191. - Art. ID: 105363. DOI:10.1016/j.jsbmb.2019.04.012
7. Xie B., Zhou H., Liu H., Liao S., Zhou C., Xu D. Salidroside alleviates dexamethasone-induced inhibition of bone formation via transforming growth factor-beta/Smad2/3 signaling pathway // *Phytother. Res.* - 2022. DOI:10.1002/ptr.7711
8. Korokin M.V., Gudyrev O.S., Lebedev P.R., Kuzubova E.V., Radchenko A.I., Koklin I.S., Taran E.I., Kochkarov A.A. Characteristics of the state of bone tissue in genetically modified mice with impaired enzymatic regulation of steroid hormone metabolism // *Research Results in Pharmacology*. - 2022. - Vol. 8, No. 4. - P. 157–166. DOI:10.3897/rpharmacology.8.98779
9. Tolba M.F., El-Serafi A.T., Omar H.A. Caffeic acid phenethyl ester protects against glucocorticoid-induced osteoporosis in vivo: Impact on oxidative stress and RANKL/OPG signals // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* - 2017. - Vol. 324. - P. 26–35. DOI:10.1016/j.taap.2017.03.021
10. Arafa E.A., Elgendy N.O., Elhemely M.A., Abdelaleem E.A., Mohamed W.R. Diosmin mitigates dexamethasone-induced osteoporosis in vivo: Role of Runx2, RANKL/OPG, and oxidative stress // *Biomed. Pharmacother.* - 2023. - Vol. 161. - Art. ID: 114461. DOI:10.1016/j.biopha.2023.114461. Ahead of Print
11. Fan Z.Q., Bai S.C., Xu Q., Li Z.J., Cui W.H., Li H., Li X.H., Zhang H.F. Oxidative Stress Induced Osteocyte Apoptosis in Steroid-Induced Femoral Head Necrosis // *Orthop. Surg.* - 2021. - Vol. 13, No. 7. - P. 2145–2152. DOI:10.1111/os.13127
12. Agidigbi T.S., Kim C. Reactive Oxygen Species in Osteoclast Differentiation and Possible Pharmaceutical Targets of ROS-Mediated Osteoclast Diseases // *Int. J. Mol. Sci.* - 2019. - Vol. 20, No. 14. - Art. ID: 3576. DOI:10.3390/ijms20143576
13. Jeddi S., Yousefzadeh N., Kashfi K., Ghasemi A. Role of nitric oxide in type 1 diabetes-induced osteoporosis // *Biochem. Pharmacol.* - 2022. - Vol. 197. - Art. ID: 114888. DOI:10.1016/j.bcp.2021.114888
14. Wimalawansa S., Chapa T., Fang L., Yallampalli C., Simmons D., Wimalawansa S. Frequency-dependent effect of nitric oxide donor nitroglycerin on bone // *J. Bone Miner. Res.* - 2000. - Vol. 15, No. 6. - P. 1119–1125. DOI:10.1359/jbmr.2000.15.6.1119
15. Baecker N., Boese A., Schoenau E., Gerzer R., Heer M. L-arginine, the natural precursor of NO, is not effective for preventing bone loss in postmenopausal women // *J. Bone Miner. Res.* - 2005. - Vol. 20, No. 3. - P. 471–479. DOI:10.1359/JBMR.041121
16. Shum L.C., White N.S., Mills B.N., Bentley K.L., Eliseev R.A. Energy metabolism in mesenchymal stem cells during osteogenic differentiation // *Stem. Cells Dev.* - 2016. - Vol. 25, No. 2. - P. 114–122. DOI:10.1089/scd.2015.0193
17. Ekeuku S.O., Mohd Ramli E.S., Abdullah Sani N., Abd Ghafar N., Soelaiman I.N., Chin K.Y. Tocotrienol as a Protecting Agent against Glucocorticoid-Induced Osteoporosis: A Mini Review of Potential Mechanisms // *Molecules*. - 2022. - Vol. 27, No. 18. - Art. ID: 5862. DOI:10.3390/molecules27185862
18. Marcucci G., Domazetovic V., Nediani C., Ruzzolini J., Favre C., Brandi M.L. Oxidative Stress and Natural Antioxidants in Osteoporosis: Novel Preventive and Therapeutic Approaches // *Antioxidants (Basel)*. - 2023. - Vol. 12, No. 2. - Art. ID: 373. DOI:10.3390/antiox12020373
19. Trunov K.S., Danilenko A.P., Pokrovsky V.M., Peresyphkina A.A., Soldatov V.O., Konovalova E.A., Danilenko L.M., Denisuk T.A., Povetkin S.V., Zhernakova N.I. Endothelioprotective Impact of 2-Ethyl-3-Hydroxy-6-Methylpyridine Nicotinate // *J. Computation. Theoretic. Nanoscienc.* - 2020. - Vol. 17, No. 9–10. - P. 4746–4750. DOI:10.1166/jctn.2020.9372
20. Kesarev O.G., Danilenko L.M., Pokrovskii M.V., Timokhina A.S., Khovanskii A.V. Study of dose-dependent effect of 2-ethyl-6-methyl-3 hydroxypyridine succinate on the contractile function of isolated rat heart // *Research Results in Pharmacology*. - 2017. - Vol. 3, No. 1. - P. 3–9. DOI:10.18413/2500-235X-2017-3-1-3-9
21. Sobolev M.S., Faitelson A.V., Gudyrev O.S., Rajkumar D.S.R., Dubrovin G.M., Anikanov A.V., Koklina N.U., Chernomortseva E.S. Study of Endothelio – and Osteoprotective Effects of Combination of Rosuvastatin with L-Norvaline in Experiment // *J. Osteoporos.* - 2018. - Vol. 2018. - Art. ID: 1585749. DOI:10.1155/2018/1585749
22. Liu M., Yang C., Chu Q., Fu X., Zhang Y., Sun G. Superoxide Dismutase and Glutathione Reductase as Indicators of Oxidative Stress Levels May Relate to Geriatric Hip Fractures' Survival and Walking Ability: A Propensity Score Matching Study // *Clin. Interv. Aging*. - 2022. - Vol. 17. - P. 1081–1090. DOI:10.2147/CIA.S370970
23. Mandal C.C., Ganapathy S., Gorin Y., Mahadev K., Block K., Abboud H., Harris S.E., Ghosh-Choudhury G., Ghosh-Choudhury N. Reactive oxygen species derived from Nox4 mediate BMP2 gene transcription and osteoblast differentiation // *Biochem. J.* - 2011. - Vol. 433, No. 2. - P. 393–402. DOI:10.1042/BJ20100357
24. Xuhao Y., Tianlong J., Yu W., Lei G. The Role and Mechanism of SIRT1 in Resveratrol-regulated Osteoblast Autophagy in Osteoporosis Rats // *Sci. Rep.* - 2019. - Vol. 9, No. 1. - Art. ID: 18424. DOI:10.1038/s41598-019-44766-3

25. Martiniakova M., Babikova M., Omelka R. Pharmacological agents and natural compounds: available treatments for osteoporosis // *J. Physiol. Pharmacol.* – 2020. – Vol. 71, No. 3. DOI:10.26402/jpp.2020.3.01
26. Yamaguchi M., Uchiyama S. Preventive effect of zinc acexamate administration in streptozotocin-diabetic rats: Restoration of bone loss // *Int. J. Mol. Med.* – 2003. – Vol. 12, No. 5. – P. 755–761.
27. Sun J., Chen W, Li S., Yang S., Zhang Y., Hu X., Qiu H., Wu J., Xu S., Chu T. Nox4 Promotes RANKL-Induced Autophagy and Osteoclastogenesis via Activating ROS/PERK/eIF-2 α /ATF4 Pathway // *Front. Pharmacol.* – 2021. – Vol. 12. – Art. ID: 751845. DOI:10.3389/fphar.2021.751845
28. Muzaffar S., Shukla N., Angelini G.D., Jeremy J.Y. Prednisolone augments superoxide formation in porcine pulmonary artery endothelial cells through differential effects on the expression of nitric oxide synthase and NADPH oxidase // *Br. J. Pharmacol.* – 2005. – Vol. 145, No. 5. – P. 688–697. DOI:10.1038/sj.bjpp.0706235
29. Chen L., Wang G., Wang Q., Liu Q., Sun Q., Chen L. N-acetylcysteine prevents orchietomy-induced osteoporosis by inhibiting oxidative stress and osteocyte senescence // *Am. J. Transl. Res.* – 2019. – Vol. 11, No. 7. – P. 4337–4347.
30. Jeddi S., Yousefzadeh N., Kashfi K., Ghasemi A. Role of nitric oxide in type 1 diabetes-induced osteoporosis // *Biochem. Pharmacol.* – 2022. – Vol. 197. – Art. ID: 114888. DOI:10.1016/j.bcp.2021.114888
31. Hu X.F., Xiang G., Wang T.J., Ma Y.B., Zhang Y., Yan Y.B., Zhao X., Wu Z.X., Feng Y.F., Lei W. Impairment of type H vessels by NOX2-mediated endothelial oxidative stress: critical mechanisms and therapeutic targets for bone fragility in streptozotocin-induced type 1 diabetic mice // *Theranostics.* – 2021. – Vol. 11, No. 8. – P. 3796–3812. DOI:10.7150/thno.50907
32. Корокин М.В., Солдатов В.О., Гудырев О.С., Коклин И.С., Таран Э.И., Мишенин М.О., Корокина Л.В., Кочкаров А.А., Покровский М.В., Вараксин М.В., Чупахин О.Н. Роль метаболизма кортизола в реализации патогенетических звеньев развития остеопороза – обоснование поиска новых фармакотерапевтических мишеней (обзор) // *Научные результаты биомедицинских исследований.* – 2022. – Т. 8, № 4. – С. 457–473. DOI:10.18413/2658-6533-2022-8-4-0-5

АВТОРЫ

Даниленко Антон Павлович – ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0009-0001-2419-8109. E-mail: anton.step2016@yandex.ru

Трунов Константин Сергеевич – ортопед-травматолог ОГБУЗ «Городская больница № 2 г. Белгорода». ORCID ID: 0009-0009-0658-3722. E-mail: trunov587@gmail.com

Покровский Михаил Владимирович – доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии, руководитель НИИ фармакологии живых систем, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0002-2761-6249. E-mail: mpokrovsky@yandex.ru

Даниленко Людмила Михайловна – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0001-6101-8712. E-mail: MilaDanilenko@yandex.ru

Корокин Михаил Викторович – доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии, руководитель НИИ фармакологии живых систем, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0001-5402-0697. E-mail: mkorokin@mail.ru

Гудырев Олег Сергеевич – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0003-0097-000X. E-mail: gudyrev@mail.ru

Хентов Алексей Александрович – врач-травматолог-ортопед, ГБУЗ г. Москвы «ГКБ им. С.С. Юдина ДЗМ». ORCID ID: 0009-0006-4315-0828. E-mail: alexeyhentov@gmail.com

Масальгина Наталья Петровна – студентка 6-го курса, специальность «Лечебное дело», ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0009-0005-5838-7660. E-mail: 1246988@bsu.edu.ru

Татаренкова Ирина Александровна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-6477-1934. E-mail: irtalex@yandex.ru

Чередниченко Альбина Вячеславовна – студентка 4-го курса, специальность «Лечебное дело», ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0003-0162-9196. E-mail: cherednichenko.albina@gmail.com

Боева Елизавета Валерьевна – студентка 4-го курса, специальность «Лечебное дело», ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0002-4802-172X. E-mail: liza.boeva31@gmail.com

Коклин Иван Сергеевич – кандидат медицинских наук, научный сотрудник НИИ фармакологии живых систем ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0002-1560-4195. E-mail: ikoklin@mail.ru

Таран Эдуард Игоревич – научный сотрудник НИИ фармакологии живых систем ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0001-7880-6686. E-mail: mdtaraneduard@gmail.com