

НОВЫЕ ПРЕПАРАТЫ

DOI: 10.30906/0869-2092-2023-86-2-28-35

СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЙ КОМПЛЕКС НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ 3-ГИДРОКСИПИРИДИНА ПРЕДОТВРАЩАЕТ ОСТЕОПОРОЗ, ВЫЗВАННЫЙ ДЕФИЦИТОМ ЭСТРОГЕНОВ, ИНГИБИРУЯ ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС

К. С. Трунов, А. П. Даниленко, О. С. Гудырев, Л. М. Даниленко*,
М. В. Покровский, С. Я. Скачилова, А. А. Чередниченко,
Ю. В. Романенко, А. А. Щербинина, И. С. Коклин,
А. А. Должиков, Е. А. Боева¹

Остеопороз представляет собой дисбаланс между формированием кости и ее резорбцией. Активные формы кислорода могут снижать продукцию NO эндотелием и ингибировать дифференцировку и пролиферацию остеобластов, усиливая дифференцировку остеокластов. В настоящее время не существует безопасных лекарственных средств для профилактики и лечения остеопороза, вызванного овариэктомией. Потенциальными фармакологическими веществами, способными снижать или предупреждать развитие остеопороза, являются производные 3-гидроксипиридина. Исследование остеопротекторных эффектов производных 3-гидроксипиридина проведено на 60 крысах-самках линии Вистар с использованием модели гипоэстроген-индуцированного остеопороза. Оценку остеопоретического действия проводили на основе рентгенологического анализа показателей плотности костной ткани, микроциркуляции с использованием лазерной доплеровской флоуметрии, расчета коэффициента эндотелиальной дисфункции, биохимических и гистоморфологических проб. Пероральное введение супрамолекулярного комплекса на основе производных 3-гидроксипиридина в дозе 50 мг/кг в течение 56 дней на модели гипоэстроген-индуцированного остеопороза приводит к повышению плотности костной ткани на 12,5 % ($p < 0,001$), увеличению уровня микроциркуляции на 39,6 % ($p < 0,001$), снижению коэффициента эндотелиальной дисфункции на 49,7 % ($p < 0,001$) и увеличению толщины костных трабекул на 19,1 % ($p < 0,001$) в сравнении с группой контроля. Снижение среднего значения показателей малонового диальдегида в экспериментальной группе с супрамолекулярным комплексом на основе производных 3-гидроксипиридина указывает на снижение активности остеокластов. Значительное повышение активности супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы на фоне введения изучаемого комплекса подчеркивает снижение окислительного стресса.

Ключевые слова: производные 3-гидроксипиридина; остеопороз; АФК; гипоэстроген-индуцированный остеопороз; эндотелий.

ВВЕДЕНИЕ

Постменопаузальный остеопороз идентифицируется как системное заболевание, характеризующееся низкой минеральной плотностью кости (МПК) и качественными изменениями микроархитектуры костной ткани, с последующим увеличением хрупкости кости и восприимчивости к переломам [5, 10]. Хотя в настоящее время для профилактики и лечения постменопаузального остеопороза доступны несколько лекарственных средств (ЛС) [9, 13], включая эстрогены и бис-

фосфонаты, различные побочные эффекты этих антирезорбтивных ЛС ограничивают их использование [8]. Учитывая ограничения существующих вариантов лечения постменопаузального остеопороза, существует потребность в альтернативных ЛС с минимальными побочными эффектами.

В качестве одного из таких соединений может быть предложен супрамолекулярный комплекс, состоящий из производных 3-гидроксипиридина, — в дальнейшем по тексту как композиция № 1, состоящая из одной молекулы 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния 3-пиридинокарбоноата (лабораторный шифр ЛХТ 21-16) и 3 молекул 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния *N*-ацетил-6-аминогексаноата (лабораторный шифр ЛХТ 21-18), полученная путем топохимического синте-

¹ ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Россия, 308015, Белгород, ул. Победы, 85.

* e-mail: Danilenko_L@bsu.edu.ru

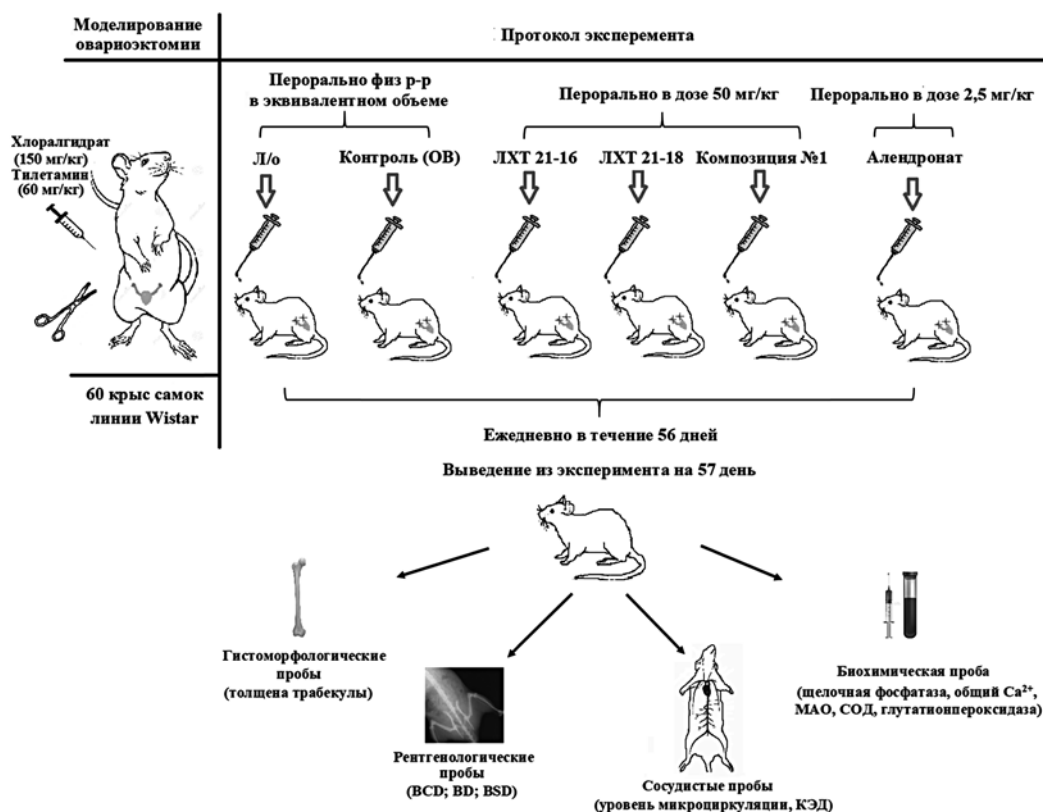


Рис. 1. Схема эксперимента.

за (АО Научный центр по безопасности биологически активных веществ, Старая Купавна, Россия).

Соединение ЛХТ 21-16 имеет широкий спектр фармакологической активности [1, 11]. Всестороннее исследование его свойств позволило установить, что это соединение обладает свойствами антигипоксанта, антиоксиданта, гепато-, фото-, радиопротектора и т.д.

Органическая кислота — ЛХТ 21-18 — производное аминокaproновой кислоты способно ускорять очищение раневой поверхности от некротических масс, уменьшать экссудативные процессы, активировать рост грануляционной ткани, васкуляризацию, стимулировать образование костного мозга, ускоряя процессы заживления переломов [12].

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные и экспериментальный дизайн

Эксперименты были одобрены региональным этическим комитетом Белгородского государственного национального исследовательского университета (протокол № 3/22 от 11 февраля 2022 г.). Животные были получены из питомника лабораторных животных “Столбовая” (Россия).

Исследование проводилось на 60 крысах-самках линии Вистар массой 220 – 280 г. Этические принципы обращения с лабораторными крысами соблюдались в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экс-

периментов или в иных научных целях (ETS N 123). Все манипуляции на крысах проводили после внутрибрюшинного (в/б) введения раствора хлоралгидрата в дозе 150 мг/кг и тилетамин в дозе 60 мг/кг. Схема эксперимента представлена на рис. 1.

Развитие генерализованного остеопороза оценивали через 8 недель (на 57 день) после проведения овариоэктомии [2]. В эксперименты были включены следующие группы крыс: ложнооперированные животные (ежедневное пероральное введение физиологического раствора); контрольная группа, моделирование билатеральной овариоэктомии (ОЭ); ОЭ + ЛХТ 21-16 в дозе 50 мг/кг; ОЭ + ЛХТ 21-18 в дозе 50 мг/кг; ОЭ + композицией № 1 в дозе 50 мг/кг; ОЭ + алендроновая кислота (алендронат) в дозе 2,5 мг/кг. В каждой экспериментальной группе было по 10 животных.

На 57 день для подтверждения развития генерализованного остеопороза в комплексной оценке эффективности исследуемых соединений проводили оценку рентгенологических, сосудистых и гистологических проб костной ткани проксимальных метафизов бедренной кости. Кроме того, проводилась оценка уровня общего содержания кальция и щелочной фосфатазы и определялись показатели супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (GSH-Px) и малонового диальдегида (МДА).

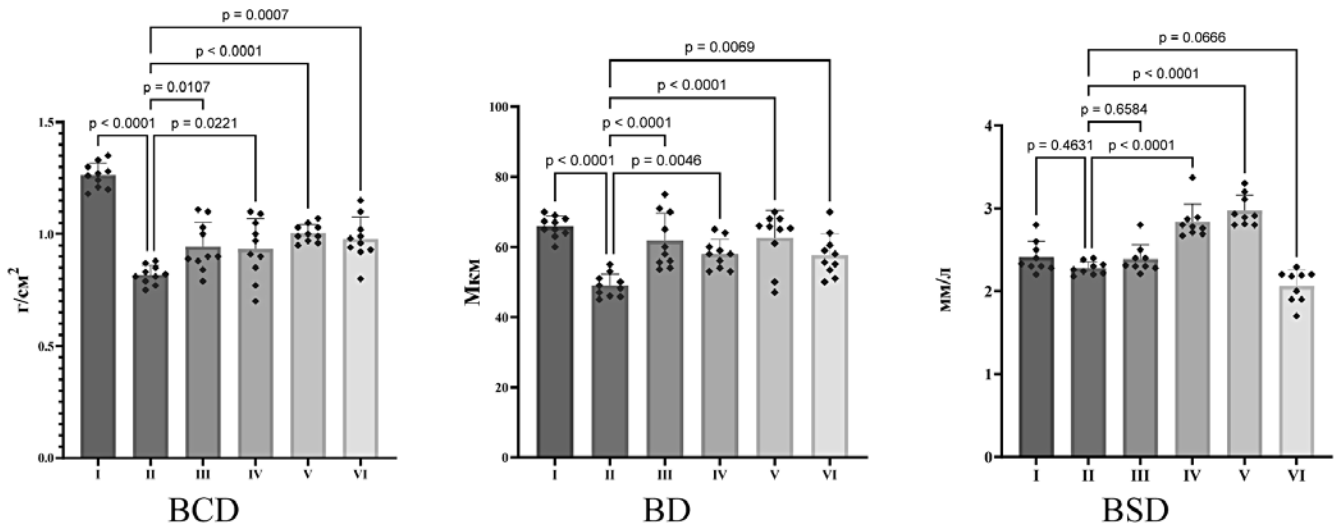


Рис. 2. Показатели денситометрии на фоне введения композиции № 1.

Примечания: I — ложнооперированные животные; II — контроль; III — ЛХТ 21-16; IV — ЛХТ 21-18; V — композиция № 1; VI — алендронат; BCD — характеристика степени ослабления рентгеновского излучения на единицу глубины материала; BD — плотность кости; BSD — характеристика плотности поверхности кости независимо от плотности костного мозга с учетом геометрии изучаемого фрагмента кости.

Исследование плотности кости

Исследование рентгенологических проб было проведено с помощью мультифункциональной лабораторной рентгеновской установки IN-VIVO MS FX PRO производства компании Bruker (США) с системой молекулярной визуализации при помощи лицензированного программного обеспечения — BoneDensity-Software.

Для оценки степени резорбции костей и эффективности лечения были выбраны следующие показатели: *Bone Column Density (BCD)* — характеристика степени ослабления рентгеновского излучения на единицу глубины материала; *Bone Density (BD)* — плотность кости; *Bone Surface Density (BSD)* — характеристика плотности поверхности кости независимо от плотности костного мозга с учетом геометрии изучаемого фрагмента кости.

Проведение сосудистых проб

Проведение сосудистых проб заключалось в измерении уровня микроциркуляции в ткани проксимального метафиза бедренной кости. Для этого после наркотизации и доступа к проксимальному метафизу бедра животного проводили измерение внутрикостного уровня микроциркуляции с помощью датчика TSD144 оборудования производства компании “Biopac Systems, Inc” (США): полиграф MP150 с модулем LDF150C. После измерения внутрикостного уровня микроциркуляции, не изменяя положения датчика, проводили пробы на эндотелий-зависимую вазодилатацию (ЭЗВД) и эндотелий-независимую вазодилатацию (ЭНВД). Регистрация и обработка результатов лазер доплеровской флоуметрии (ЛДФ) производилась с помощью оригинальной прикладной программы AcqKnowledge

компании “Biopac Systems, Inc” (США) версии 3.8.1., значения микроциркуляции выражались в перфузионных единицах (п.е.) [2].

Биохимический анализ крови

Для оценки биохимических показателей после проведения сосудистых проб у всех животных экспериментальных групп проводился забор крови из хвостовой вены с определением общего кальция в плазме крови методом колориметрии с О-крезолфталейном, ммоль/л; активности щелочной фосфатазы сыворотки крови (метод кинетический колориметрический, Ед/л) на спектрофотометре СФ-46 (Санкт-Петербург, Россия).

Уровни СОД, GSH-Px и МДА (Nanjing Jiancheng Biological Engineering Research Institute, КНР) в сыворотке крови определяли в соответствии с инструкциями производителя.

Морфофункциональная оценка состояния костной ткани

Объектом исследования для гистологического исследования были выбраны большеберцовые кости. Для гистологического исследования их выделяли целиком с прилежащими мягкими тканями и фиксировали в 10 % формалине. Из фиксированных костей иссекали проксимальный отрезок на протяжении 1 см от суставной поверхности мыщелков. Материал декальцинировали в жидкости “Surgipath DecalcifierII” (Leica, Германия) по рекомендуемому протоколу. Декальцинированные фрагменты автоматическим способом по стандартному протоколу заливали в парафин с последующей окраской срезов толщиной 7 мкм гематоксилином и эозином и по Мааллори.

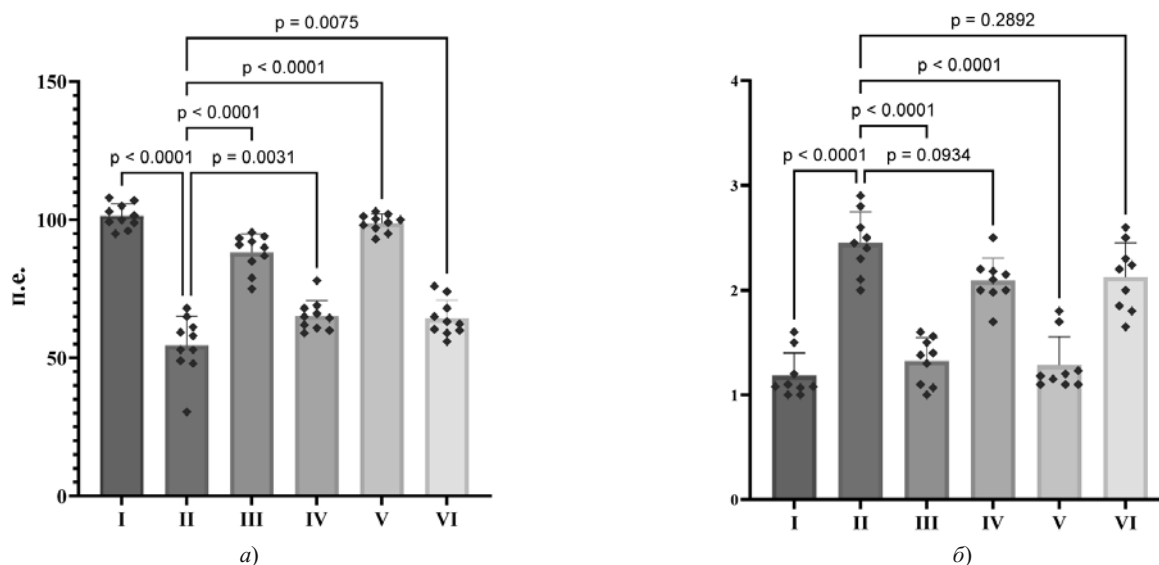


Рис. 3. Показатели микроциркуляции в проксимальном метафизе бедренной кости у крыс на фоне введения композиции № 1 (а); коэффициент эндотелиальной дисфункции КЭД (б).

Примечание: I — ложнооперированные животные; II — контроль; III — ЛХТ 21-16; IV — ЛХТ 21-18; V — композиция № 1; VI — алендронат.

Микропрепараты изучали сканирующим способом под микроскопом “Ломо” с видеокамерой “DV1000”. С помощью программы “McrAView 7.3.1.7” (ЛОМО-микросистемы, Россия) производили измерение толщины костных трабекул и кортикальной кости диафиза. Регистрацию данных и статистическую обработку проводили средствами электронных таблиц MSExcel по стандартным формулам с проверкой типа распределения.

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 пост-hoc-тестом Тьюки. Данные с ненормальным распределением сравнивались с тестом Крускала — Уоллеса и тестом Данна post hoc. Различия были определены на уровне значимости 0,05. Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 9.2.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Остеопоротические изменения в костях скелета через 8 недель после овариоэктомии были подтверждены результатами денситометрии. Так, в группе контроля на 57 день после проведенной билатеральной ОЭ отмечалось значительное снижение выбранных показателей: BCD снизился на 47,7 %; BD на 32,6 %; а BSD на 34,1 % в сравнении с группой ложнооперированных животных ($p < 0,001$).

В группе животных с введением ЛХТ 21-16 и ЛХТ 21-18 было обнаружено достоверное увеличение дан-

ных показателей в сравнении с группой контроля, однако полученные показатели не достигали значения уровня групп ложнооперированных животных и достоверно не отличались. Максимальное благоприятное влияние на процессы ремоделирования было выявлено у композиции № 1, которая достоверно увеличивала плотность костной ткани (BD) ($p < 0,001$) (рис. 2).

Результаты ЛДФ позволили констатировать достоверно более низкие показатели микроциркуляции в костной ткани у крыс через 8 недель после ОЭ, которые снижались до уровня $59,3 \pm 3,6$ п.е., по сравнению с группой ложнооперированных животных $98,9 \pm 4,1$ п.е., что на 40,1 % выше, чем в группе контроля ($p < 0,001$). При оценке влияния изучаемых соединений на показатели микроциркуляции было обнаружено, что ЛХТ 21-16 (50 мг/кг) и композиция № 1 (50 мг/кг) эффективно предотвращали снижение уровня регионарного кровотока в костной ткани бедра, сохраняя значения микроциркуляции на уровне ложнооперированных животных $92,1 \pm 3,7$ и $98,1 \pm 2,9$ п.е. соответственно ($p < 0,001$). Результаты ЛДФ в группах крыс, получавших ЛХТ 21-16 (50 мг/кг) и композицию № 1 (50 мг/кг), достоверно не различались между собой, однако достоверно отличались от показателей в группе крыс с остеопорозом (рис. 3, а).

Далее на основе ЛДФ рассчитывали КЭД для подтверждения роли дисфункции эндотелия. В группе ложнооперированных животных КЭД = $1,2 \pm 0,1$, в группе крыс с экспериментальным остеопорозом КЭД = $2,3 \pm 0,2$, что характеризует развитие эндотелиальной дисфункции при гипостроген-индуцированном остеопорозе ($p < 0,001$).

Влияние соединений на КЭД выявил эндотелиопротекторное действие у ЛХТ 21-16 (50 мг/кг) и компози-

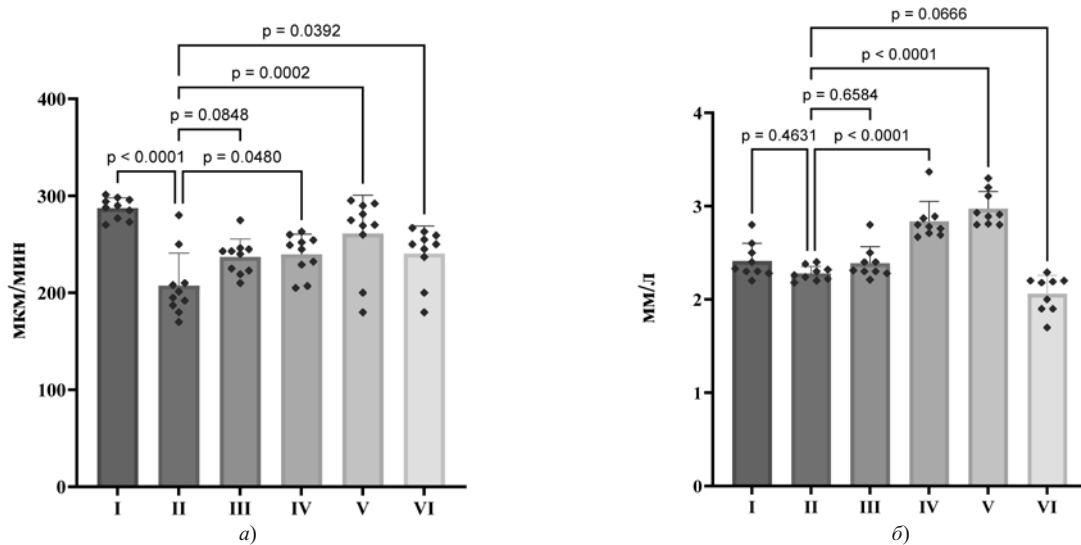


Рис. 4. Показатели уровня щелочной фосфатазы (а) и общего кальция (б) на фоне введения композиции № 1.

ции № 1 (50 мг/кг), что выражалось в восстановлении пропорции между площадями треугольников над кривыми восстановления уровня микроциркуляции в кости в ответ на введение нитропрусида и ацетилхолина к таковым у интактных животных (рис. 3, б). Тем самым соединения ЛХТ 21-16 (50 мг/кг) и композиция № 1 (50 мг/кг) достоверно снижали КЭД до значений $1,6 \pm 0,1$ ($p < 0,001$) и $1,2 \pm 0,2$ ($p < 0,001$) соответственно, тогда как в группе животных с остеопорозом он составлял $2,1 \pm 0,1$ ($p < 0,001$). Соединение ЛХТ 21-18 (50 мг/кг) ($p < 0,0217$) и препарат сравнения алендронат в дозе 2,5 мг/кг ($p = 0,0075$) не приводили достоверному отличию КЭД с группой контрольных животных.

В ходе эксперимента был выявлен в разной степени положительный эффект изучаемых соединений на костный обмен. Активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови у животных после ОЭ снижалась, что свидетельствует о нарушении ремоделирования костной ткани. Уровень значения щелочной фосфатазы в группах крыс с введением композиции № 1 был достоверно выше, чем в группе контроля и составил $269,37 \pm 34,38$ мкМ/мин ($p < 0,001$), и превосходил значения показателей при применении ЛХТ 21-16 и ЛХТ 21-18 в монотерапии (рис. 4, а).

Несмотря на усиление резорбции костной ткани у крыс после ОЭ, концентрация кальция у животных большинства групп достоверно не отличалась ($p = 0,4631$) (рис. 4, б) от группы ложнооперирован-

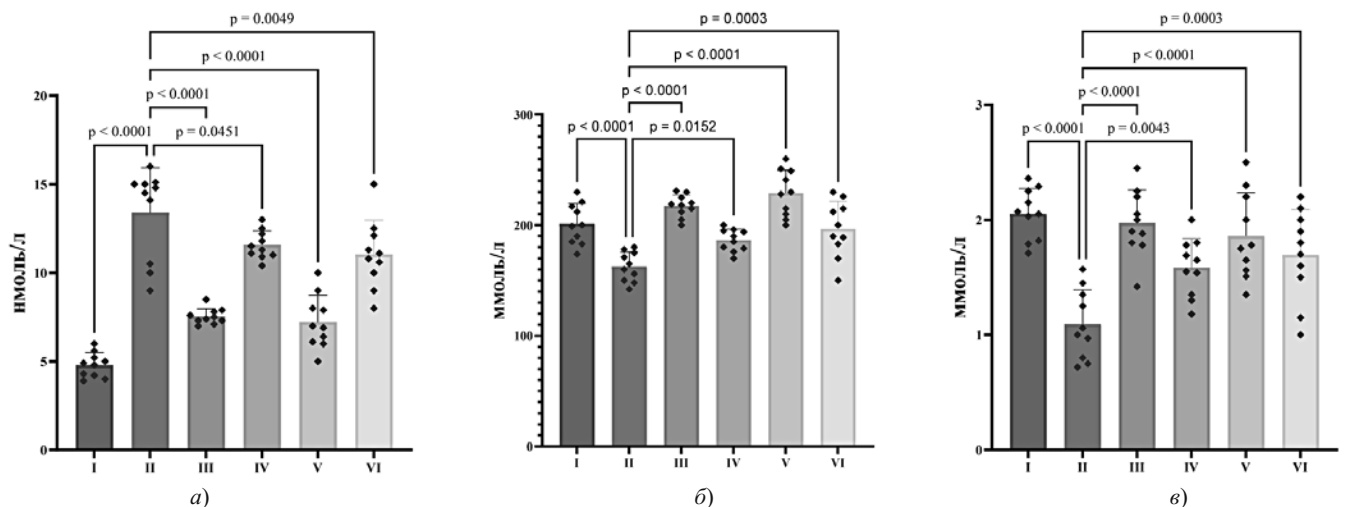


Рис. 5. Влияние композиции № 1 на уровень окислительного стресса в сыворотке крови: малоновый диальдегид (МДА) (а); супероксиддисмутазы (СОД) (б); GSH-Px (в).

Примечания: I — ложнооперированные животные; II — контроль; III — ЛХТ 21-16; IV — ЛХТ 21-18; V — композиция № 1; VI — алендронат.

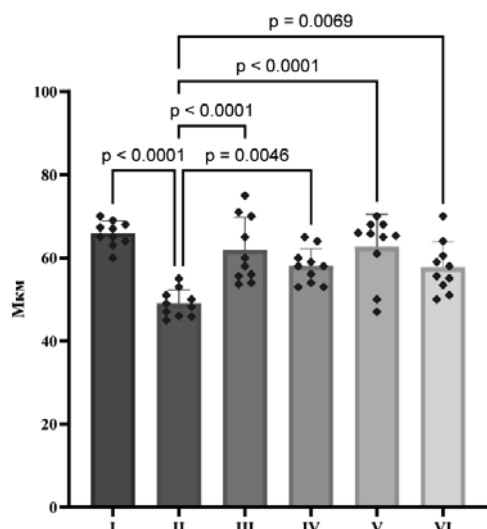


Рис. 6. Толщина костных трабекул в экспериментальных группах и на фоне введения композиции № 1.

Примечание: I — ложнооперированные животные; II — контроль; III — ЛХТ 21-16; IV — ЛХТ 21-18; V — композиция № 1; VI — алендронат.

ных животных, что свидетельствует о способности организма животных, перенесших ОЭ, поддерживать концентрацию кальция в пределах нормы за счет кальций-регулирующих гормонов. Однако субстанция ЛХТ 21-18 и композиция № 1 приводила к достоверному повышению содержания кальция в крови в сравнении с группой контроля ($p < 0,001$).

При изучении влияния композиции № 1 на маркеры окислительного стресса в сыворотке крови было обнаружено, что содержание СОД и GSH-Px в контрольной группе были значительно ниже в сравнении с группой ложнооперированных животных ($p < 0,001$) на 36 и 59,3 % соответственно (рис. 5).

Введение композиции № 1 статистически достоверно повышало содержание СОД и глутатионпероксидазы в эксперименте на 31,6 и 53,9 % ($p < 0,001$) соответственно в сравнении с группой контроля (рис. 5). Кроме того, уровень МДА в сыворотке крови в контрольной группе был значительно выше, чем в группе ложнооперированных животных ($p < 0,05$). После лечения композицией № 1 уровни МДА в сыворотке крови в группах: ЛХТ 21-16, ЛХТ 21-18, Алендронат и Композиция № 1 были значительно ниже, чем в группе контроля ($p < 0,05$). Эффект группы Алендронат и ЛХТ 21-18 в монотерапии был слабее, чем у групп ЛХТ 21-16 и Композиция № 1, самый низкий уровень МДА отмечался в группе применения композиции № 1 (рис. 5, в).

Гистологические срезы проксимальных отделов бедренных костей животных подвергали гистоморфометрическим исследованиям. При микроскопии выявлены патологические изменения губчатой костной ткани бедра, истончение решетчатой сети костных трабекул, а также истончение и перфорация костных пластинок. Также обнаружено уменьшение средней

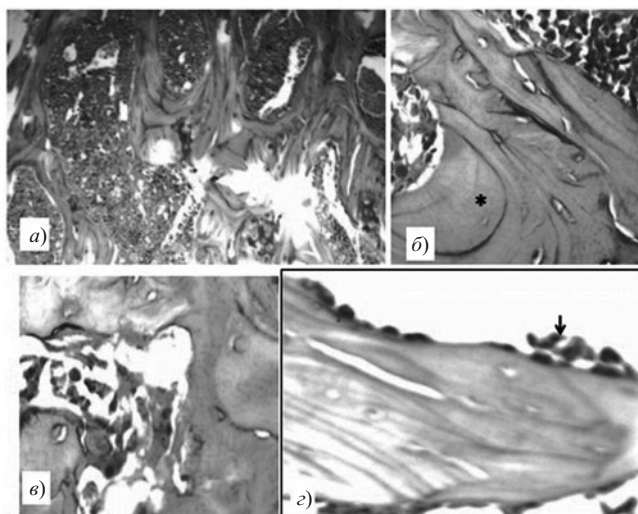


Рис. 7. Серия с композицией № 1: интактная микроархитектоника губчатого вещества (а), остеон с локальным утолщением стенки новообразованными костными пластинами (б, *), скопление клеток преостеобластического типа на поверхности балок (в, з). Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$.

толщина костных трабекул в губчатой ткани проксимального метафиза бедренной кости в группе контрольных животных до $52,51 \pm 4,18$ мкм ($p < 0,001$). Средняя толщина костных трабекул в этой локализации у ложнооперированных животных составила $61,94 \pm 6,79$ мкм. Толщина костных трабекул в группе животных с композицией № 1 составила $58,49 \pm 4,3$ мкм, что достоверно выше по сравнению как с группой контроля ($p < 0,001$) (рис. 6). Микрофотографии гистологической картины костной ткани животных в опытной группе с композицией № 1 представлены на рис. 7, а – з.

Как видно из результатов гистоморфологического исследования, наибольший корректирующий эффект получен при использовании композиции № 1 (рис. 7). При этом информативными оказались и качественные, и морфометрические показатели трабекул губчатого вещества. Общая архитектура кортикальной кости и губчатого вещества соответствовала интактной. Помимо заметных клеточных проявлений остеопластической активности, очевидным был и результат неоостеогенеза в виде пластинчатых костных структур на поверхности балок (рис. 7, б). Количественно достигнутый эффект отражает как абсолютное, так и относительное увеличение толщины костных балок, которая варьировала от 52 до 110 мкм. Средняя толщина достоверно ($p < 0,001$) больше, чем после ОЭ, так и в сравнении с монотерапией и препаратом сравнения — алендронатом. Кроме того, самыми значимым показателем являются проявления остеобластической активности (рис. 7, в, з), судя по гистологическим картинам, с высокой вероятностью связанные с мобилизацией остеогенного резерва стромальных элементов костного мозга.

В сериях с введением животным после ОЭ препаратов ЛХТ 21-16, ЛХТ 2 – 18 и композиции № 1 выявлены как качественные, так и количественные морфологические признаки, позволяющие выстроить указанные препараты в виде следующего ряда нарастающей эффективности: ЛХТ 21-16 — ЛХТ 2-18 — алендронат — композиция № 1.

Остеокластогенез — сложный процесс, требующий многочисленных регуляторов. Первоначальные исследования показали, что остеокласты образуются при совместном культивировании клеток костного мозга со стромальными клетками костного мозга [4]. В более поздних исследованиях было установлено, что миелоидные гемопоэтические предшественники сливаются вместе с образованием многоядерных остеокластов под влиянием двух специфических цитокинов: макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF), взаимодействующего с рецептором *c-fms*, и рецептора-активатора лиганда NF- κ B (RANKL) [7, 13]. M-CSF и RANKL необходимы для дифференцировки остеокластов. Чрезмерная продукция этих цитокинов приводит к повышенной дифференцировке остеокластов и аномальной резорбции кости, что приводит к потере костной массы при остеопорозе [14]. Важность RANKL-индуцировать продукцию активных форм кислорода (АФК) в модулировании дифференцировки остеокластов хорошо известна [15]. Стимуляция RANKL вызывает значительное увеличение внутриклеточных АФК за счет активации фактора, ассоциированного с рецептором фактора некроза опухоли (TNF- α) и никотинамидадениндинуклеотидфосфатоксидазы (Nox). Внутриклеточные АФК действуют как важнейший сигнальный медиатор для остеокластогенеза, поскольку добавки с антиоксидантом, *N*-ацетилцистеин, отменяет как RANKL-опосредованную продукцию АФК, так и дифференцировку остеокластов [6, 8].

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 кости, сопровождающееся нарушением функции эндотелия и приводящее к торможению активности остеобластов, а также к усиленной деятельности остеокластов [2, 12].

Дефицит эстрогенов в постменопаузальный период приводит к целому ряду расстройств, в том числе к снижению продукции эндотелийзависимого релаксирующего фактора NO. Дисфункция эндотелия, проявляющаяся снижением вазодилаторных свойств сосудов. Основная задача микроциркуляции (МЦ) заключается в оптимальной доставке питательных веществ и кислорода к тканям в зависимости от их потребностей и удалении продуктов обмена. Нарушение МЦ повышает тонус артериол в виде усиления вазоконстрикции и/или ослабления вазодилатации. Нарушения

МЦ в достаточно большой степени влияют на состояние перфузии внутренних органов, в том числе костной ткани [2]. На сегодняшний день известно, что оксид азота оказывает прямое стимулирующее действие на остеобласты, что также может положительно влиять на костную массу. При этом экспериментально показана зависимость костной МЦ от эстрогенного статуса.

Производные 3-гидроксипиридина относятся к простейшим гетероциклическим аналогам ароматических фенолов, благодаря чему проявляют высокую антиоксидантную и доказанную эндотелиопротекторную активность [1, 3]. Вышеупомянутые соединения на практике находят применение как средства быстрого достижения фармакологического эффекта, так и в целях снижения частоты побочных реакций.

Таким образом, развитие остеопороза, вызванное дефицитом эстрогенов, в нашем исследовании корректировалось супрамолекулярным комплексом производных 3-гидроксипиридина, который проявил синергетический эффект в отношении остеопротекторного действия, что может быть связано со снижением окислительного стресса и предотвращением снижения выработки эндогенного NO, следовательно, композиция производных 3-гидроксипиридина может быть использована для профилактики и лечения постменопаузального остеопороза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Т. А. Воронина, *Журн. неврол. и психиатр. им. С. С. Корсакова*, **112**(12), 86 – 90 (2012).
2. О. С. Гудырев, А. В. Файтельсон, М. В. Покровский и др., *Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация*, № 22 (117), вып. 16 / 2, 9 – 15 (2011).
3. М. В. Корокин, Е. Н. Пашин, К. Е. Бобраков и др., *Кубанский научн. мед. вестник*, № 4(109), 104 – 108 (2009).
4. J. E. Compston, M. R. McClung, W. D. Leslie, *Lancet*, **393**, 364 – 376 (2019); doi: 10.1016 / S0140-6736(18)32112-3
5. L. M. Danilenko, S. Ya. Skachilova, S. V. Nadezhdin, et al., *Res. Results in Pharmacol.*, **4**(2), 125 – 132 (2018); doi: 10.3897 / rpharmacology.4.28414
6. H. Na, H. B. Kwak, S. W. Lee, et al., *Exp. Cell Res.*, 301, 119 – 127 (2004); doi: 10.1016 / j.yexcr.2004.07.035
7. L. C. Hofbauer, T. D. Rachner, *Lancet*, **386**, 1116 – 1118 (2015).
8. S. Khosla, L. C. Hofbauer, *Lancet Diabetes Endocrinol.*, **5**(11), 898 – 907 (2017); doi: 10.1016 / S2213-8587(17)30188-2
9. N. K. Lee, Y. G. Choi, J. Y. Baik, et al., *Blood*, **106**(3), 852 – 859 (2005); doi: 10.1182 / blood-2004-09-3662
10. M. R. McClung, A. Grauer, S. Boonen, et al., *N. Engl. J. Med.*, **370**, 412 – 420 (2014); doi: 10.1056 / NEJMoa1305224
11. N. Nakagawa, M. Kinosaki, K. Yamaguchi, et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **253**, 395 – 400 (1998); doi: 10.1006 / bbrc.1998.9788
12. K. Saravana Ramasamy, Anjali P. Kusumbe, Tomer Itkin, et al., *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, **32**, 649 – 675 (2016).
13. S. H. Tella, J. C. Gallagher, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **142**, 155 – 170 (2014); doi: 10.1016 / j.jsbmb.2013.09.008
14. H. Yasuda, N. Shima, N. Nakagawa, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **95**, 3597 – 3602 (1998); doi: 10.1073 / pnas.95.7.3597

15. F. Yuan, W. Peng, C. Yang, et al., *Int. J. Surg.*, **66**, 1 – 11 (2019);
doi: 10.1016 / j.ijssu.2019.03.004

Поступила 25.01.23

SUPRAMOLECULAR COMPLEX BASED ON 3-HYDROXYPYRIDINE DERIVATIVES PREVENTS OSTEOPOROSIS CAUSED BY ESTROGEN DEFICIENCY BY INHIBITING OXIDATIVE STRESS

K. S. Trunov, A. P. Danilenko, O. S. Gudyrev, L. M. Danilenko*, M. V. Pokrovsky, S. Ya. Skachilova, A. A. Cherednichenko, Yu. V. Romanenko, A. A. Sherbinina, I. S. Koklin, A. A. Dolzhikov, and E. A. Boeva

Belgorod National Research University, Belgorod, 308015 Russia

* e-mail: Danilenko_L@bsu.edu.ru

Osteoporosis is an imbalance between bone formation and bone resorption. Reactive oxygen species (ROS) can decrease endothelial NO production and inhibit osteoblast differentiation and proliferation, increasing differentiation of osteoclasts. Currently, there are no safe pharmaceutical drugs for the prevention and treatment of osteoporosis caused by ovariectomy. Potential pharmacological agents capable of reducing or preventing the development of osteoporosis are 3-hydroxypyridine derivatives. The study of the osteoprotective effects of 3-hydroxypyridine derivatives was performed on 60 female Wistar rats using the model of hypoestrogen-induced osteoporosis. The osteoporotic effects were assessed proceeding from the data of radiological analysis of the bone tissue density, parameters of the microcirculation determined by Laser Doppler Flowmetry (LDF), calculation of the endothelial dysfunction factor, biochemical and histomorphological tests. Oral administration of supramolecular complex based on 3-hydroxypyridine derivatives at a dose of 50 mg/kg for 56 days in the model of hypoestrogen-induced osteoporosis leads to an increase in the bone density by 12,5% ($p < 0,001$), increase of the microcirculation level by 39,6% ($p < 0,001$), decrease of the endothelial dysfunction coefficient by 49,7% ($p < 0,001$), and increase of the bone trabecula thickness by 19,1% ($p < 0,001$) as compared to control group. A decrease of the average malonic dialdehyde value in the experimental group with supramolecular complex based on 3-hydroxypyridine derivatives testifies to a decrease of the osteoclast activity. A significant increase in the activity of superoxide dismutase and glutathione peroxidase on the background of administrating complex under study underlines a decrease in the oxidative stress.

Keywords: derivatives of 3-hydroxypyridine; osteoporosis; ROS; hypoestrogen-induced oophorectomy; endothelium.