



Забайкальский государственный университет
Монгольский национальный университет медицинских наук
Донбасский государственный педагогический университет
Высшая школа экономики в Быдгоще



СОСТОЯНИЕ ЗДОРОВЬЯ: МЕДИЦИНСКИЕ, СОЦИАЛЬНЫЕ И ПСИХОЛОГО-ПЕДАГОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

X Международная научно-практическая интернет-конференция

25-29 ноября

Чита 2019

УДК 613.9:37(082)
ББК 51.1:74.005.5я431
ББК Р1:Ч400.55я431
М 422

Рекомендовано к изданию организационным комитетом
научно-практического мероприятия
Забайкальского государственного университета
Оргкомитет конференции:

С.Т. Кохан – к. мед. н., доцент, директор регионального центра,
ЗабГУ Россия

А.Э.Мелоян – к.психол.н., профессор, зав. кафедрой прикладной
психологии ДГПУ, Украина

А. Бямбаа – к. м.н., доцент кафедры микробиологии и
иммунологии Биомедицинской школы МНУМН, Монголия

А. Скалий – к. наук физической культуры и спорта, доцент,
директор института физической культуры и спорта WSG, Польша

М 422

**Состояние здоровья: медицинские, социальные и
психолого-педагогические аспекты : X Междунар. науч.-практ.
интернет-конф. / отв. ред. С.Т. Кохан. – Чита, 2019. – 591 с.
ISBN 978-5-9293-1883-2**

Сборник научных работ содержит статьи авторов из
различных регионов России и стран ближнего и дальнего
зарубежья.

Целями конференции является укрепление научно-
практических связей, анализ зарубежного опыта исследований в
области медицины, психологии, педагогики и социальной
работы.

Сборник печатается в авторской редакции.

**УДК 613.9:37(082)
ББК 51.1:74.005.5я431
ББК Р1:Ч400.55я431**

ISBN 978-5-9293-1883-2

© Забайкальский государственный
университет, 2019

*Сергей Стефанович Осочук,
Ольга Святославна Яковлева,
Александр Францевич Марцинкевич,
Витебский Государственный ордена Дружбы народов медицинский
университет, г. Витебск Республика Беларусь
E-mail: OSS62@mail.ru*

Некоторые механизмы минерализующей активности α -кальцидола при его совместном применении с аторвастатином

***Аннотация.** Известно, что минерализующая активность статинов ассоциирована с ростом содержания 25-гидроксихолекальциферола в крови как предшественника активной формы витамина D – 1,25-дигидроксихолекальциферола, а минерализующая активность α -кальцидола (1α -гидроксихолекальциферола) осуществляется через его преобразование в активную форму в печени. Исследовали влияние 3-хмесячного введения аторвастатина и α -кальцидола на содержание $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и проводили трехмерное моделирование их взаимодействия с рецептором витамина D (NR1H1). Сделан вывод о том, что минерализующая активность аторвастатина и α -кальцидола не связаны с ростом концентрации $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в крови и невозможности реализации их минерализующего эффекта через рецептор NR1H1.*

***Ключевые слова** α -кальцидол, аторвастатин, рецептор NR1H1, минерализация кости*

Введение. По распространенности среди заболеваний остеопороз занимает 4 место после сердечно-сосудистых, онкологических заболеваний и сахарного диабета. По литературным данным в

Российской Федерации около 34 млн. человек имеют высокий риск переломов связанных с остеопорозом или остеопенией [2]. В структуре заболеваемости остеопорозом 85% приходится на постменопаузальный период [4]. Известно, что в основе дисгормонального остеопороза лежит возрастное снижение активности выработки тестостерона как активатора 1α -гидроксилазы почек [5], преобразующей 25-гидроксиколекальциферол (кальцидол - $25(\text{OH})\text{D}_3$) в активную форму витамина D - 1,25-дигидроксиколекальциферол (кальцитриол - $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$). Теоретически α -кальцидол (1 α -гидроксиколекальциферол), позволяет обойти этот фермент и, таким образом, восстановить количество $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ посредством гидроксилирования его 25-гидроксилазой в печени [4]. Постменопаузальный период сопряжен и с сердечнососудистыми заболеваниями для профилактики которых зачастую назначаются ингибиторы ключевого фермента синтеза холестерина (ОМГ-редуктазы) - статины. Ранее нами было показана способность α -кальцидола потенцировать минерализующую активность аторвастатина (АТV) при их совместном введении в течение 3-х месяцев экспериментальным крысам [3]. Целью настоящей работы было определение влияния совместного применения АТV и α -кальцидола на содержание активной формы витамина D ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) в крови лабораторных животных при их 3-хмесячном внутрижелудочном введении, а также трёхмерное моделирование их взаимодействия с рецептором к витамину D (*NR1III*).

Работа выполнена в рамках Государственной программы научных исследований «Фундаментальные и прикладные науки - медицине» № ГР 20190142 от 26.02.2019

Материалы и методы

Для достижения поставленной цели были сформированы 4 экспериментальные группы из 120 лабораторных неимбредных крыс: 1

группа – интактные животные (без каких-либо воздействий); 2 группа – плацебо (3-х месячное внутрижелудочное введение 1% крахмала); 3 группа 3-х месячное внутрижелудочное введение ATV в дозе 10 мг/кг массы тела на 1% крахмале; 4 группа – 3-х месячное введение ATV в дозе 10 мг/кг массы тела совместно с α -кальцидолом в дозе 0,1 мкг/кг на 1% крахмале. Животные содержались в условиях вивария Витебского медицинского университета на сбалансированном зерновом корме. Эвтаназию животных осуществляли декапитацией под эфирным наркозом в утренние часы, через сутки после последнего введения препаратов. Кровь собирали в сухие стеклянные пробирки и до образования сгустка выдерживали в холодильнике при температуре +4°C. Полученную на рефрижераторной центрифуге РС6 расфасовывали в пластиковые пробирки и до обработки хранили в морозильной камере Forma 705 (США) при -60°C.

Определение количества $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ осуществляли иммуноферментными наборами производства Elabscience (USA) на иммуноферментном анализаторе Витязь (Республика Беларусь). Моделирование трехмерного взаимодействия α -кальцидола с рецептором витамина D NR1H1 проводили с использованием программы AutoDock Vina [6]. Была использована модель белковой молекулы 3B0T, как обладающая наибольшим разрешением (1.3 Å). Размеры области лиганда (x, y, z): 16, 16, 16. Координаты центра (x, y, z): -10,665, -4,014, 31,909.

В качестве лигандов сравнения были использованы следующие молекулы:

- $1\alpha\text{-OH D}_2$
- $1\alpha\text{-OH D}_3$ (α -кальцидол)
- Стеран (циклопентанпергидрофенантерн, как внутренний стандарт)

- Максакальцитол (синтетический аналог)
- Кальцидол (25(OH)D₃)
- Кальцитриол 1,25(OH)₂D₃
- Аторвастатин

В виду неправильности распределения концентрации 1,25(OH)₂D₃ для статистической обработки полученного результата использовали непараметрический критерий Мана-Уитни для независимых выборок [1].

Таблица 1

Влияние ATV и α-кальцидола концентрацию 1,25(OH)₂D₃

	1,25(OH) ₂ D ₃ пг/мл
	Me Q ₁ ;Q ₃
Контроль	57,42 39,18;87,53
Плацебо	59,46 39,38; 70,80
Аторвастатин	72,07 49,21;96,77
Аторвастатин+α-кальцидол	71,11 49,92; 88,68

Результаты и обсуждение

Анализ изменений концентрации 1,25(OH)₂D₃ показал (Таблица 1), что все экспериментальные группы не имели статистически значимых отличий, что свидетельствует об отсутствии взаимосвязи минерализующей активности этих препаратов с синтезом активной формы витамина D.

Оценка стерических взаимоотношений исследованных лигандов (Таблица 2) свидетельствует о том, что наибольшим сродством обладал синтетический аналог витамина D максакальцитол а наименьшим – ATV.

Таблица 2

Описательная статистика для лигандов:

Лиганд	Энергия связывания (средство)
Максакальцитол	-12.59±0.70
Кальцитриол	-11.98±1.30
1 α -(OH)D ₂	-10.99±0.95
1 α -(OH)D ₃	-10.12±0.82
Кальцидол	-9.70±0.88
Стеран	-8.92±0.58
Аторвастатин	-4.02±0.98

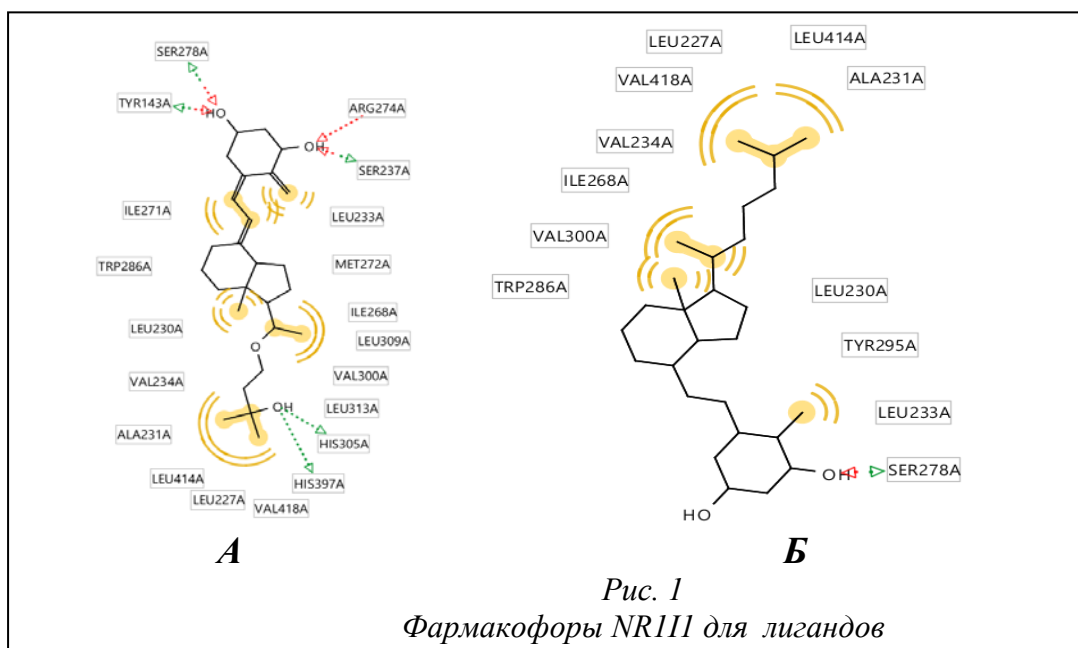
Таблица 3

Попарное сравнение энергии связывания лигандов

Сравниваемые лиганды	Z	P
1 α -(OH)D ₂ - 1 α -(OH)D ₃	-3.953	< 0.001
1 α -(OH)D ₂ - Аторвастатин	-18.476	< 0.001
1 α -(OH)D ₃ - Аторвастатин	-13.938	< 0.001
1 α -(OH)D ₂ - Кальцидол	-7.744	< 0.001
1 α -(OH)D ₃ - Кальцидол	-3.091	0.0085
Аторвастатин - Кальцидол	11.886	< 0.001
1 α -(OH)D ₂ - Кальцитриол	1.950	0.1961
1 α -(OH)D ₃ - Кальцитриол	4.198	< 0.001
Аторвастатин - Кальцитриол	13.788	< 0.001
Кальцидол - Кальцитриол	6.266	< 0.001
1 α -(OH)D ₂ - Максакальцитол	2.582	0.0396
1 α -(OH)D ₃ - Максакальцитол	4.503	< 0.001
Аторвастатин - Максакальцитол	12.883	< 0.001
Кальцидол - Максакальцитол	6.260	< 0.001
Кальцитриол - Максакальцитол	0.754	1
1 α -(OH)D ₂ - Стеран	-17.307	< 0.001
1 α -(OH)D ₃ - Стеран	-10.156	< 0.001
Аторвастатин - Стеран	7.822	< 0.001
Кальцидол - Стеран	-7.175	< 0.001
Кальцитриол - Стеран	-10.419	< 0.001
Максакальцитол - Стеран	-9.701	< 0.001

Попарное сравнение энергии связывания лигандов показало (Таблица 3), что энергия связывания практически всех лигандов статистически значимо отличалась. Статистически значимые отличия не выявлены лишь при сравнении $1\alpha\text{-(OH)D}_2$ и кальцитриола ($p=0,19$), а так же кальцитриола и максакальцитола ($p=1$). Отсутствие статистически значимых отличий между энергиями связывания кальцитриола (активная форма витамина D) и $1\alpha\text{-(OH)D}_2$ позволяет предположить возможность конкурентных взаимоотношений между этими соединениями.

Исходя из представленных результатов можно заключить, что ATV обладает наиболее высокой энергией связывания с рецептором, что говорит о его низком сродстве к нему и не высокой вероятности связи минерализующего эффекта со связыванием ATV с рецептором витамина D. У α -кальцидола энергия связывания статистически значимо выше, чем у синтетического аналога витамина D – Максакальцитола, кальцитриола и $1\alpha\text{-(OH)D}_2$. Вместе с тем она достаточно низкая, для обеспечения связывания $1\alpha\text{-(OH)D}_3$ с рецептором NR111, что позволяет считать возможной связь механизма минерализующей активности α -кальцидола с его способностью взаимодействовать с рецептором к витамину D.



Учитывая, что максакальцитол обладает наибольшим сродством к рецептору NR1H1 моделирование его взаимодействия с этим рецептором использовано в качестве контроля для исследования особенностей взаимодействия α -кальцидола. Моделирование трехмерного взаимодействия синтетического аналога активной формы витамина D (максакальцитола), с радикалами аминокислот рецептора NR1H1 показало, что максакальцитол взаимодействует с SER 278A, TYR 143A, ARG274A, SER237A, HIS 305A и HIS 397A (Рисунок 1 А). В отличие от максакальцитола, α -кальцидол взаимодействует только с SER 278A (Рисунок 1 Б). Вероятнее всего такое взаимодействие не способно привести к полной активации рецептора. В связи с этим можно сделать предварительное заключение о том, что минерализующая активность α -кальцидола на костную ткань обусловлена в большей степени иными механизмами, не связанными с активацией NR1H1. Возможно, его минерализующая активность обусловлена способностью преобразовываться в $1,20(\text{OH})_2\text{D}_3$, обладающего аналогичной $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ активностью [7].

Выводы

1. Минерализующая активность ATV не связана с увеличением концентрации активной формы витамина D $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и его связыванием с рецептором NR1H1.

2. Потенцирование минерализующей активности α -кальцидола не связана с его преобразованием в $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и в минимальной степени может быть обусловлена его связыванием с рецептором NR1H1.

Список литературы:

1. Боровиков В.П. Искусство анализа данных на компьютере. Для профессионалов. Спб.: Питер; 2003. 688 с.

2. Лесняк О.М. Аудит состояния проблемы остеопороза в странах Восточной Европы и центральной Азии // Остеопороз и остеопения - 2011, №2. –С.3-6.
3. Осочук С.С., Яковлева О.С. Влияние длительного приёма аторвастатина и 1-холекальциферола на состав нативных липопротеиновых комплексов крыс// Лабораторная диагностика Восточная Европа -2017. - Том 6. -С.465-471.
4. Якушевская О.В. Активные метаболиты витамина D в лечении постменопаузального остеопороза // Медицинский совет – 2017. №2 – С.100-104.
5. Hagenfeldt Y, Eriksson H, Bjorkhem I Stimulatory effect of testosterone on renal 25-hydroxyvitamin D3-1 α -hydroxylase in guinea pig //Biochim. Biophys. Acta -1989. - Vol.1002. P.84-88.
6. Molecular docking [Electronic resource]. – Mode of access: <http://www.vina.scripps.edu>. – Date of access: 23.03.2019
7. Tuckey R.C., Janjetovic Z., Li W., Nguyen M. N., et al. Metabolism of 1 α -hydroxyvitamin D3 by cytochrome P450c₂₂ to biologically active 1 α ,20-dihydroxyvitamin D3. J Steroid Biochem Mol Biol. – 2008. - Vol. 112. - N 4–5. -P. 213–219.