

МОДИФИКАЦИЯ ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СИМВАСТАТИНА НИКОТИНАТОМ 3-ГИДРОКСИПИРИДИНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Уланова Т.В.¹, Инчина В.И.¹, Русейкин Н.С.¹, Худойкина С.В.¹

¹ФГБОУ ВПО «Мордовский национально-исследовательский университет им. Н.П.Огарева», Саранск, Россия (430004, ул. Большевикская, д. 68, г. Саранск, Республика Мордовия). e-mail: tatyana_304@mail.ru

Изучалась возможность модификации гиполипидемической активности симвастатином новым препаратом с антиоксидантной активностью из группы 3-гидроксипиридина – никотинатом 3-гидроксипиридина на экспериментальной модели аллоксанового диабета с экзогенной гиперхолестеринемией. Исследование проведено на 60 белых нелинейных крысах, массой 180-220 г., содержащихся в стандартных условиях вивария. Диабет моделировали однократным внутривентральным введением аллоксана в дозе 135 мг/кг. Диабетогенный эффект определяется тропностью аллоксана к β -клеткам и сводится к их разрушению. Гиперхолестеринемия моделировалась ежедневным введением холестерина в дозе 40 мг/кг, а также эргокальциферола в дозе 7500 ЕД/кг per os в течение 14 дней. В рамках исследования получены данные свидетельствующие о более эффективной комбинации симвастатином с никотинатом 3-гидроксипиридина по сравнению с монотерапией симвастатином, выражающуюся в большем снижении уровня общего холестерина, индекса атерогенности, а также в повышении уровня холестерина ЛПВП.

Ключевые слова: аллоксановый диабет, гиперхолестеринемия, производные 3-гидроксипиридина

MODIFICATION HYPOLIPIDEMIC ACTIVITY OF SIMVASTATIN NICOTINATE 3-HYDROXYPYRIDINE IN EXPERIMENT

Ulanova T.V.¹, Inchina V.I.¹, Ruseykin N.S.¹, Khudoykina S.V.¹

¹"Mordovia National Research University. N.P.Ogarev", Saransk, Russia (430004, st. Bolshevik, d. 68, Saransk, Republic of Mordovia), e-mail: tatyana_304@mail.ru

We studied the possibility of modifying the lipid-lowering activity of a new drug simvastatin with antioxidant activity of the group of 3-hydroxypyridine - nicotinate 3-hydroxypyridine on an experimental model of alloxan diabetes with exogenous hypercholesterolemia. The study was conducted on 60 white non-linear rats, weighing 180-220 g, kept under standard vivarium conditions. Diabetes is modeled by a single intraperitoneal injection of alloxan at a dose of 135 mg / kg. Diabetogenic effect of alloxan tropism determined to β -cells and reduced to their destruction. Hypercholesterolemia simulated daily administration of cholesterol in a dose of 40 mg / kg and in a dose of ergocalciferol 7500 IU / kg per os for 14 days. The study provided data showing a more effective combination of simvastatin with nicotinate 3-hydroxypyridine as compared with simvastatin monotherapy, which is expressed in a greater reduction in total cholesterol, atherogenic index, as well as to increase the level of HDL cholesterol.

Keywords: alloxan diabetes, hypercholesterolemia, 3-hydroxypyridine derivatives

Сахарный диабет (СД) – это заболевание, при котором, помимо нарушений углеводного обмена, имеются отклонения во всех видах обмена, в том числе и липидном, лежащем в основе осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы. В сыворотке крови у больных сахарным диабетом повышается содержание общего холестерина, триглицеридов, β -липопротеидов, свободных жирных кислот, снижается уровень α -холестерина [1, 5, 8]. Патогенез данного состояния сложен и может «запускаться» несколькими путями, хотя в его основе, по-видимому, всегда можно проследить синдром инсулинорезистентности. Дислипидемия может иметь место уже на стадии предиабета, например, в составе метаболического синдрома Х, или индуцироваться отдельными факторами, такими как избыточная масса тела, повышенная калорийность рациона. Инсулинорезистентность

приводит к усилению липолиза и высвобождению большого количества жирных кислот из жировой ткани, что в сочетании с повышенным содержанием глюкозы в крови дает дополнительное количество субстрата для синтеза триглицеридов в печени. Соответственно синтезируется большое количество липопротеидов очень низкой плотности, богатых триглицеридами. Помимо усиления синтеза липопротеидов очень низкой плотности, имеет значение также нарушение катаболизма этих частиц в связи со снижением при сахарном диабете 2 типа активности внепеченочной липопротеинлипазы-эндотелиального фермента, который осуществляет гидролиз триглицеридов, хиломикронов и липопротеидов низкой плотности, приводящий к образованию жирных кислот, используемых как источник энергии тканью. Увеличение содержания богатых триглицеридами липопротеидов приводит к повышенному образованию липопротеидов промежуточной плотности и перенасыщенности триглицеридами липопротеидов низкой плотности и липопротеидов очень низкой плотности, которые обладают повышенной атерогенностью [4, 7]. В свою очередь высокая концентрация триглицеридов опосредованно приводит к снижению содержания антиатерогенных липопротеидов высокой плотности [3, 6]. Учитывая вышеизложенное, с целью лечения СД показано применение препаратов комплексно корригирующих нарушения обмена веществ. Применяемые в настоящее время лекарственные препараты не решают проблему лечения сахарного диабета и его осложнений, поэтому актуален поиск новых соединений комплексно воздействующих на все основные звенья патогенеза сахарного диабета. Производные 3-гидроксиперидина(3-ГП) оказались первыми наиболее эффективными препаратами, корригирующими дисметаболические нарушения [2]. В связи с этим, в рамках данного эксперимента изучалась способность нового производного 3-ГП – никотината 3-ГП (данное соединение синтезировано на базе ФГБОУ ВПО «МГУ им. Огарева» доцентом Семеновым А.В.) корригировать метаболические нарушения на фоне сахарного диабета, а также модифицировать гиполипидемическую активность симвастатина.

Материалы и методы. Исследование проведено на 60 белых нелинейных крысах, массой 200-220г., содержащихся в стандартных условиях вивария. Диабет моделировали однократным внутривенным введением аллоксана в дозе 135 мг/кг. Гиперхолестеринемию моделировали ежедневным введением холестерина в дозе 40 мг/кг, а также эргокальциферола в дозе 7500 ЕД/кг per os в течение 14 дней. Летальность при моделировании составила 20%.

Через 14 суток животные были разделены на группы. 1-я – интактные крысы; 2-я – контрольная, крысы с моделированным диабетом и экзогенной гиперхолестеринемией, которым перорально в течение 14 дней вводили 0,9% раствор NaCl в дозе 0,1 мл; крысы 3-й группы получали мексидол в дозе 50 мг/кг в/м; 4-й – никотинат 3-ГП в дозе 50мг/кг (10% от

ЛД₅₀); 5-й - никотинат 3-ГП в дозе 50мг/кг в комбинации с симвастатином 1мг/кг per os; 6-й - симвастатин 1мг/кг per os; 7-ой – никотиновую кислоту в дозе 50 мг/кг per os. экспериментальной модели аллоксанового диабета с экзогенной гиперхолестеринемией.

Никотинат 3-ГП синтезирован на кафедре органической химии Мордовского ГУ, Саранск, к.х.н. Семеновым А.В. ; структура была подтверждена путем анализа спектра ЯМР ¹H, спектра ЯМР ¹³C и спектра ИК. Препараты сравнения – симвастатин, никотиновая кислота и мексидол были закуплены в аптечной сети.

По истечению эксперимента животных каждой группы декапитировали под фторотановым наркозом.

В сыворотке крови исследовали уровень глюкозы, общего холестерина, триглицеридов, холестерина ЛПНП.

Содержание глюкозы определяли глюкозооксидазным методом, используя стандартные наборы реактивов.

Определение содержания общего холестерина (ОХ) в сыворотке крови проводили с помощью набора для количественного определения общего холестерина (эстерифицированного и неэстерифицированного) в сыворотке крови. Содержание триглицеридов (ТГ) и холестерина ЛПНП в сыворотке крови определяли, используя стандартные наборы реактивов. Исследование этих показателей проводили на фотоэлектроколориметре ЕRМА.

Уровень ЛПОНП и ЛПВП и индекс атерогенности рассчитывали по формулам:

$$\text{ХС ЛПОНП} = \text{ТГ}/2,18;$$

$$\text{ХС ЛПВП} = \text{ОХ} - \text{ХС ЛПОНП} - \text{ХС ЛПНП}$$

$$\text{ИА} = (\text{ОХ} - \text{ХС ЛПВП})/\text{ЛПВП}$$

Результаты и обсуждение

Введение аллоксана приводило к развитию достоверной гипергликемии: 4,33±0,42 ммоль/л у интактных крыс и 17,9±2,19 ммоль/л в группе контроля. Достоверное снижение уровня глюкозы в сыворотки крови наблюдалось у животных получавших никотинат 3-ГП и в группе, получавших комбинацию симвастатин+никотинат 3-ГП и в группе (уровень глюкозы составил 10,36±1,31 ммоль/л и 9,04,±2,11 ммоль/л соответственно). В группах, получавших никотиновую кислоту, симвастатин и мексидол наблюдалось снижение гликемии, однако недостоверное (табл. 1).

Таблица 1

Показатели гликемии сыворотки крови подопытных животных

Серия	Средний уровень глюкозы в сыворотки крови, ммоль/л (M±m)	Степень достоверности (*- по отношению к интактным животным; **-по отношению к контролю)
интактные животные	4,3 ±0,42	

контроль	17,9 ±2,19	p* < 0,001
мексидол 50 мг/кг в/м	10,75 ± 2,67	p** > 0,05
никотинат 3-ГП 50 мг/кг per os	10,36 ± 1,31	p** < 0,05
симвастатин 1 мг/кг per os	11,15 ± 0,68	p** > 0,05
никотинат 3-ГП 50 мг/кг per os + симвастатин 1 мг/кг per os	9,04 ± 2,11	p** < 0,05
никотиновая кислота в дозе 50 мг/кг per os	11,75 ± 3,39	p** > 0,05

Таким образом, введение никотината 3-ГП и никотината 3-ГП в комбинации с симвастатином приводило к достоверному снижению уровня гипергликемии на 42% и 49% соответственно.

Уровень ОХ в группе контроля был почти в 1,5 раза выше, чем у интактных крыс. Максимальное снижение уровня ОХ наблюдалось на фоне монотерапии никотинатом 3-ГП и на фоне введения комбинации симвастатина и никотината 3-ГП на 38 и 30% соответственно, тогда как при монотерапии симвастатином уровень ОХ снижался лишь на 23% (табл. 2).

Таблица 2

Уровень общего холестерина в сыворотке крови подопытных животных

Серия	Средний уровень ОХ, ммоль/л (M±m)	Степень достоверности (*-по отношению к интактным животным; **-по отношению к контролю)
интактные животные	1,44 ± 0,7	
контроль	2,13 ± 0,5	p* < 0,05
мексидол 50 мг/кг в/м	1,37 ± 0,15	p** > 0,05
никотинат 3-ГП 50 мг/кг per os	1,32 ± 0,3	p** < 0,05
симвастатин 1 мг/кг per os	1,65 ± 0,2	p** < 0,05
никотинат 3-ГП 50 мг/кг per os + симвастатин 1 мг/кг per os	1,5 ± 0,14	p** < 0,05

никотиновая кислота в дозе 50 мг/кг per os	1,6±0,3	p**>0,05
--	---------	----------

Уровень ТГ в сыворотке крови крыс из группы контроля был достоверно выше, чем у интактных животных. Минимальный уровень ТГ наблюдался в группе животных, получавших никотиновую кислоту – 0,47±0,07 ммоль/л. На фоне монотерапии симвастатином уровень ТГ снижался на 21% по отношению к контролю. Никотинат 3-ГП и никотинат 3-ГП в комбинации с симвастатином оказывали сопоставимое с симвастатином снижение уровня ТГ на 22% и 15% и соответственно (табл. 3).

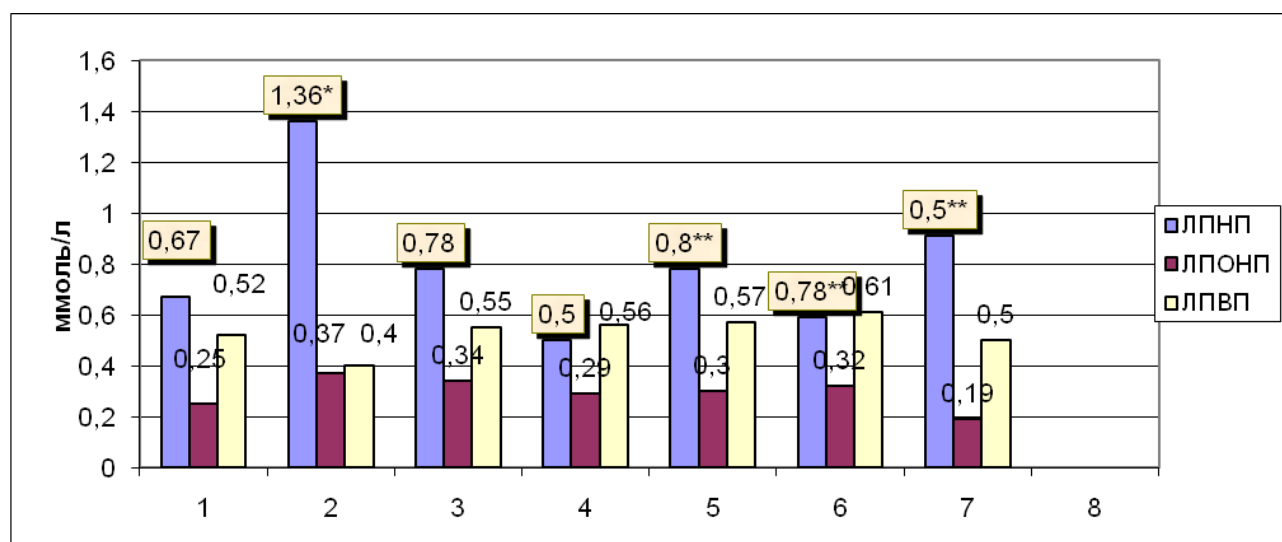
Таблица 3

Уровень ТГ в сыворотке крови белых крыс при аллоксановом диабете с экзогенной гиперхолестеринемией на фоне терапии исследуемыми соединениями и препаратами сравнения

Серия	Средний уровень ТГ, ммоль/л (M±m)	Степень достоверности (*-по отношению к интактным животным; **-по отношению к контролю)
интактные животные	0,56±0,2	
контроль	0,81±0,3	p*<0,001
мексидол 50 мг/кг в/м	0,74±0,07	p**>0,05
никотинат 3-ГП 50 мг/кг per os	0,63±0,03	p**<0,05
симвастатин 1 мг/кг per os	0,64±0,03	p**<0,05
никотинат 3-ГП 50 мг/кг per os+симвастатин 1мг/кг peros	0,69±0,05	p**<0,05,
никотиновая кислота в дозе 50 мг/кг per os	0,47±0,07	p**<0,05

Никотинат 3-ГП и его комбинация с симвастатином вызывают достоверное снижение холестерина ЛПНП на 63% и 57% соответственно по отношению к контрольной группе животных. В группе животных, получавших монотерапию симвастатином, наблюдалось снижение уровня холестерина ЛПНП на 43% по отношению к контрольной группе. Уровень холестерина ЛПНП в сыворотке крови белых крыс, получавших никотиновую кислоту, был ниже, чем в контрольной группе на 33%.

Достоверных изменений уровней холестерина ЛПВП и ЛПОНП в группах обнаружено не было (рисунок).



Влияние никотината 3-ГП и препаратов сравнения на уровень ЛПНП, ЛПОНП и ЛПВП в сыворотке крови белых крыс при аллоксановом сахарном диабете и экзогенной гиперхолестеринемии

1-интактные животные

2-контроль

3- мексидол 50 мг/кг в/м

4- никотинат 3-ГП 50 мг/кг per os

5- симвастатин 1 мг/кг per os

6- никотинат 3-ГП 50 мг/кг per os + симвастатин 1 мг/кг per os

7- никотиновая кислота 50 мг/кг per os

Примечание: степень достоверности: *-по отношению к интактным животным; **-по отношению к группе контроля

Обсуждая механизмы гипополипидемической активности никотината 3-гидроксипиридина следует отметить выраженную антиоксидантную активность, цито- и мембранопротекторное действие, а также способность улучшать энергетический обмен любой клетки соединений из группы 3-гидроксипиридина.

Выводы:

1. Никотинат 3-ГП в дозе 50 мг/кг оказывает достоверное гипополипидемическое действие на экспериментальной модели диабета с экзогенной гиперхолестеринемией.
2. Никотинат 3-ГП в дозе 50 мг/кг и никотинат 3-ГП в комбинации с симвастатином оказывали сопоставимое с симвастатином снижение уровня триацилглицеридов на экспериментальной модели аллоксанового диабета с экзогенной гиперхолестеринемией.
3. Никотинат 3-ГП в дозе 50 мг/кг и его комбинация с симвастатином вызывают достоверное снижение холестерина ЛПНП на экспериментальной модели аллоксанового диабета с экзогенной гиперхолестеринемией.
4. Применение комбинации никотината 3-ГП в дозе 50 мг/кг с симвастатином приводило большему снижению уровня общего холестерина по сравнению с монотерапией симвастатином.

Список литературы

1. Балаболкин М.И. Патогенез и механизмы развития ангиопатий при сахарном диабете / М.И. Балаболкин, Е.М. Клебанова, В.М. Креминская // Кардиология. – 2000. - №10. – С. 74-87.
2. Воронина Т.А. Перспективы применения мексидола в экстремальных ситуациях / Т.А. Воронина, Л.Д. Смирнов // Российский психиатрический журнал. – 2000. - №1. С. 32-34.
3. Дубовская Т.Н. Влияние некоторых производных 3-оксипиридина, димефосфона и ксимедона на цитохимическую и фагоцитарную активность нейтрофильных гранулоцитов при длительном иммобилизационном стрессе. Автореф. дис. канд. мед. наук. – Саранск; 1997.
4. Нагорнев В.А. Атерогенез как отражение развития иммунного воспаления в сосудистой стенке / В.А. Нагорнев, О.А. Яковлева, С.В. Мальцева // ВРАМН. – 2000. – №10. – С. 45-50.
5. Панченко В.М. Посейдон в лечении гиперлипидемий у больных сахарным диабетом 2 типа / В.М. Панченко и др. // Клиническая медицина. – 2001. - №6. – С. 47-50.
6. Яфасов К.М. Дислипидемия при сахарном диабете 2 типа: патогенез и лечение / К.М. Яфасов, Н.В. Дубянская // Кардиология. – 2001. - №9. – С. 74-77.
7. Cowri M.S. Decreased protection by HDL from poorly controlled type 2 diabetic subjects against LDL oxidation may be due to the abnormal composition of HDL // Atherosclerosis Thromb. Vasc. Biol. – 1999. – Vol. 19. – P. 2226-2233.
8. Steiner G. The dyslipoproteinemias of diabetes. Atherosclerosis. – 1994. – P. 27-33.

Рецензенты:

Сипров А.В., д.м.н., профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии с курсом фармакологической технологии ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н.П. Огарева», г.Саранск.

Тарасова Т.В., д.б.н., профессор кафедры нормальной физиологии с курсом нормальной физиологии с курсом биологической и фармацевтической химии ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н.П. Огарева», г. Саранск.