

ВЛИЯНИЕ КВАМАТЕЛА НА СВОЙСТВА НЕЙТРОФИЛОВ, ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В КРОВИ БОЛЬНЫХ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ И ПАНКРЕАТИТОМ

В. Г. Артюхов¹, Ю. Н. Чернов², А. Ю. Искусных¹, О. В. Башарина¹

Исследованы свойства нейтрофилов, показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты (активность супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы) в крови больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки и панкреатитом в ходе лечения их квамателом. Показано, что квамател вызывает изменения в изучаемых параметрах, свидетельствующие об антиоксидантных свойствах препарата.

Ключевые слова: пероксидное окисление липидов, антиоксидантная система, супероксиддисмутазы, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, нейтрофилы, миелопероксидаза, язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки, панкреатит, квамател

ВВЕДЕНИЕ

Одним из важных патологических механизмов нарушения гомеостаза при гастродуоденальных язвах и панкреатите является активация пероксидного окисления липидов и нарушение антиоксидантной защиты [6].

Для борьбы с проявлениями окислительного стресса перспективным является использование антиоксидантных свойств селективных блокаторов H₂-гистаминовых рецепторов. Одним из наиболее эффективных представителей селективных блокаторов H₂-гистаминовых рецепторов третьего поколения является квамател (3-[[[2-[(аминоиминометил)амино]-4тиазолил]метил]тио]-N-(аминосульфонил)пропанамид-амид, фамотидин), относящийся к группе гуанидинотиазоловых соединений.

Гистамин в высоких концентрациях усиливает продукцию активных форм кислорода (АФК) в нейтрофилах за счет активации НАДН-оксидазы [14]. Блокаторы H₂-гистаминовых рецепторов подавляют генерацию супероксиданиона в нейтрофилах [21], тормозят реакции, катализируемые миелопероксидазой (МПО) [20]. По способности блокировать активность гидроксильного радикала H₂-блокаторы в несколько раз превосходят известный скавенджер АФК маннитол [16], при этом они не являются истинными скавенджерами АФК (т.е. веществами, инактивирующими их путем прямого связывания). Блокаторы H₂-гистаминовых рецепторов действуют лишь в биологических системах с мембраноассоциированной биологической активностью; эффект их является кальций-зависимым [19].

Кроме того, они усиливают активность супероксиддисмутазы (СОД) [17].

Квамател не вызывает серьезных побочных эффектов и широко применяется при лечении язвенной болезни (ЯБ) и хронического гастрита. Существуют единичные сообщения об использовании кваматела в лечении острого и хронического панкреатита [5, 15]. Лечебное действие этого препарата связывают в основном с эффективным подавлением им кислой желудочной секреции [9, 11].

В литературе имеются немногочисленные данные о действии кваматела на отдельные звенья антиоксидантной защиты (АОЗ) человека [12].

Целью работы явилось исследование влияния кваматела на активность ферментов АОЗ, показатели пероксидного окисления липидов (ПОЛ), а также функциональную активность нейтрофилов больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки и панкреатитом в ходе терапии с применением кваматела.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследовали кровь больных ЯБ двенадцатиперстной кишки и панкреатитом (20 человек, мужчины). Больным в ходе лечения внутривенно вводили по 20 мл раствора кваматела 2 раза в день с интервалом 12 ч, всего проводили 5 инъекций. Кровь брали из локтевой вены пациентов непосредственно до и через час после инъекции препарата. В крови больных определяли функциональную активность нейтрофилов [8] и МПО [1], показатели ПОЛ — содержание диеновых конъюгатов (ДК) и кетодиенов (КД) [2], показатели антиоксидантной защиты — активность ферментов СОД [13], каталазы [18], глутатионпероксидазы (ГПО), глутатионредуктазы (ГР), концентрацию восстановленного глутатиона (ГТ) [10].

¹ Кафедра биофизики и биотехнологии, Воронежского государственного университета, Воронеж, 394006, Университетская площадь, 1.

² Воронежская государственная медицинская академия им. Н. Н. Бурденко, Воронеж.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Основными источниками АФК в организме являются нейтрофильные гранулоциты крови — главные участники ранней ответной реакции на любые изменения в тканях организма. Именно продукцией АФК обусловлена цитотоксическая активность нейтрофилов. Генерация АФК активированными нейтрофилами сопровождается возникновением длительной (в течение нескольких минут) световой эмиссии — хемилюминесценцией, которая усиливается в присутствии люминола. Уровень генерации АФК нейтрофилами, активированными различными индукторами, не отличается у больных панкреатитом, ЯБ двенадцатиперстной кишки и хеликобактерным гастритом и выше соответствующего значения у доноров [12].

Нами показано (рис. 1), что функциональная активность нейтрофилов при применении кваматела снижается. Исходный уровень интенсивности хемилюминесценции нейтрофилов составлял 2,7 мВ. В результате первых двух инъекций кваматела функциональная активность нейтрофилов повышалась, однако, с последующими инъекциями в процессе лечения происходило снижение данного параметра. После пятой инъекции интенсивность хемилюминесценции нейтрофилов составила 1,54 мВ, что на 44 % ниже исходного уровня, но все еще выше уровня данного параметра у доноров (1,1 мВ).

Изучение активности миелопероксидазы (рис. 1) показало, что исходный уровень ее активности составляет 6,15 ед/мг белка. Применение первых четырех инъекций кваматела приводит к повышению активности МПО непосредственно после введения препарата. После пятой инъекции кваматела наблюдалось понижение активности фермента до 3,86 ед/мг белка, что на 37 % ниже исходного уровня и достоверно не отличается от аналогичного показателя у доноров (3,5 ед/мг белка).

Следовательно, квамател у больных ЯБ двенадцатиперстной кишки и панкреатитом первоначально вызывает повышение функциональной активности нейтро-

филов и миелопероксидазы, а затем изучаемые показатели снижаются и приближаются к норме.

Следующим этапом нашей работы было исследование влияния кваматела на показатели ПОЛ и АОЗ в крови больных ЯБ двенадцатиперстной кишки и панкреатитом.

Установлено, что содержание ДК и КД в крови больных ЯБ двенадцатиперстной кишки и панкреатитом повышено по сравнению с донорами на 32,4 и 26,9 % соответственно (рис. 2). После 2-й инъекций кваматела наблюдалось увеличение концентрации ДК и КД в крови больных на 29,5 и 28,8 % соответственно. Содержание ДК и КД в крови больных до и после 4-й инъекции достоверно не отличалось от аналогичного показателя до лечения, после 5-й инъекции уровень ДК и КД снижался на 8,6 и 9,1 % по сравнению с содержанием первичных продуктов ПОЛ до лечения. После 5 инъекций кваматела уровень ПОЛ оставался выше, чем у доноров по ДК — на 21 %, по КД — на 15,4 %.

Таким образом, квамател вызывает изменения в интенсивности пероксидного окисления липидов, что находит отражение в некотором повышении содержания в крови больных первичных продуктов ПОЛ после 1-й и 2-й инъекций препарата, а затем - в снижении указанных показателей после 5-й инъекции.

Изменения в образовании первичных продуктов ПОЛ, вызванные квамателом, сопровождались изменениями в ферментативном звене системы АОЗ.

Нами была отмечена недостаточность АОЗ у больных ЯБ двенадцатиперстной кишки и панкреатитом до лечения их квамателом, выражающаяся в снижении активности основных ферментов АОЗ. Так, активность СОД была ниже, чем у доноров на 28 %, активность каталазы, ГПО и ГР — ниже на 14,3, 13,6 и 18,9 % соответственно по сравнению с донорами.

По-видимому, индукция начальных этапов пероксидации липидов под влиянием кваматела приводила к некоторому повышению функциональной активности ферментативного звена АОЗ.

Корреляционная взаимосвязь показателей системы ПОЛ-АОЗ в крови больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки и панкреатитом в ходе лечения квамателом

Показатель	I_{\max}	МПО	ДК	КД	СОД	КАТ	ГПО	ГР	ГТ
I_{\max}	1,000	0,146	0,241	0,269	-0,153	-0,614*	-0,575*	0,339	-0,606*
МПО		1,000	0,476	0,452	0,517*	0,576*	0,106	0,017	-0,375
ДК			1,000	0,997*	0,806*	0,135	-0,05	-0,659*	-0,370
КД				1,000	0,777*	0,070	-0,041	-0,673*	-0,407
СОД					1,000	0,530*	0,327	-0,496	-0,286
КАТ						1,000	0,270	-0,068	0,358
ГПО							1,000	-0,248	-0,289
ГР								1,000	-0,083
ГТ									1,000

Примечание. * — $p < 0,05$. МПО — миелопероксидаза, ДК — диеновые конъюгаты, КД — кетодиены, СОД — супероксиддисмутаза, КАТ — каталаза, ГПО — глутатионпероксидаза, ГР — глутатионредуктаза, ГТ — восстановленный глутатион.

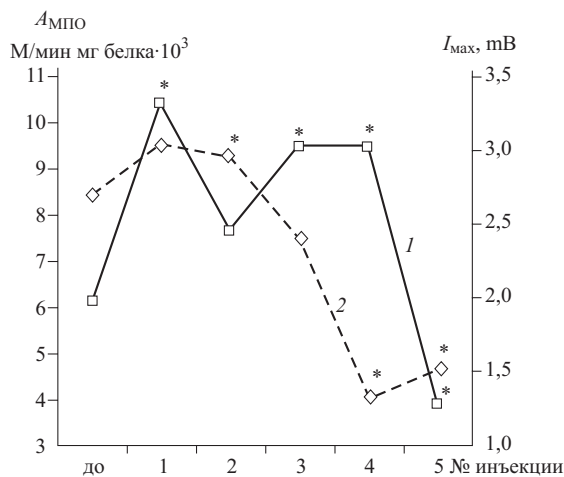


Рис. 1. Влияние кваматела на функциональную активность нейтрофилов и активность миелопероксидазы нейтрофилов в крови больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки и панкреатитом.

Здесь и на рис. 2 и 3: * — отличия достоверны относительно исходного значения (до лечения) ($p < 0,05$). 1 — активность МПО, 2 — хемилюминесценция нейтрофилов.

Активность СОД повышалась через 12 ч после 2-й инъекции на 50 % по сравнению с исследуемыми параметрами до лечения (рис. 3).

Следует отметить, что после 2-й, 3-й и 4-й инъекций активность СОД соответствовала норме, однако, после 3-й инъекции наметилась тенденция к снижению активности фермента. После 5-й инъекции активность оставалась выше исходного значения на 16,7 % и ниже показателя доноров на 16,1 %.

В ходе лечения квамателом изменялась активность каталазы в крови больных ЯБ двенадцатиперстной кишки и панкреатитом (рис. 3). Максимум активности каталазы отмечался после 3-й инъекции (на 61 % выше исходного значения), далее происходило снижение активности фермента. После 5-й инъекции активность каталазы соответствовала норме.

Квамател вызывал изменения также в глутатионовом звене АОЗ больных. Так, активность ГПО повышалась после 1-й инъекции препарата на 10,5 %, а после 4-й и 5-й инъекций на 26,3 и 17,5 % соответственно по сравнению с исходным уровнем. После 5-й инъекции активность ГПО соответствовала норме и составляла 20,56 мМ/л · мин. Активность ГР снижалась после 2-й инъекции кваматела на 10 %, в то же время содержание восстановленного глутатиона уменьшалось на 18,6 % по сравнению с исходным уровнем. После 1-й, 3-й, 4-й, 5-й инъекций достоверных изменений в активности ГР и содержании восстановленного глутатиона в крови больных не выявлено. Активность ГР до лечения и после него оставалась на 18,9 %, а содержание восстановленного глутатиона — на 34 % ниже нормы. Показано [3], что экспериментальная терапия язвенного поражения двенадцатиперстной кишки квамателом не оказывает существенного

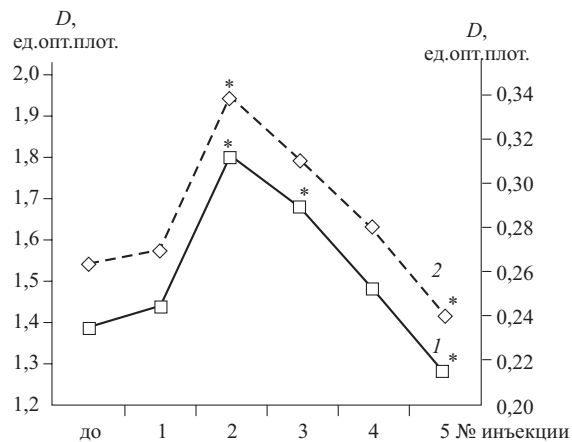


Рис. 2. Влияние кваматела на содержание диеновых конъюгатов (1) и кетодиенов (2) в крови больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки и панкреатитом.

Обозначения те же, что на рис. 1.

влияния на уровень восстановленного глутатиона в печени, поджелудочной железе, двенадцатиперстной и тонкой кишке, повышая его в ткани желудка.

Полученные материалы свидетельствуют о сбоях в функционировании глутатионového звена АОС у больных с этой патологией, которые не удается преодолеть применением данного лечения.

Установленные изменения в интенсивности процессов пероксидации липидов и состояния ферментативного звена АОЗ у больных ЯБ двенадцатиперстной кишки и панкреатитом при лечении квамателом связаны с определенной реакцией со стороны макросистемы ПОЛ — АОЗ на введение препарата. При этом по большей части сохраняется физиологическая сбалансированность процессов в макросистеме ПОЛ-АОЗ, подтверждением тому является наличие коррелятивных взаимосвязей между компонентами антиоксидантной системы.

Как следует из данных, приведенных в таблице, в процессе лечения квамателом определяется средний отрицательный коэффициент корреляции между функциональной активностью нейтрофилов и активностью каталазы ($r = -0,614$), между активностью нейтрофилов и активностью ГПО ($r = -0,575$), между активностью нейтрофилов и содержанием в крови восстановленного глутатиона ($r = -0,606$).

Положительная корреляционная взаимосвязь выявлена между активностью МПО и активностью СОД ($r = 0,517$), активностью МПО и активностью каталазы ($r = 0,576$), а также между содержанием ДК и КД и активностью СОД в крови больных ($r = 0,806$ и $0,777$ соответственно), между активностью СОД и каталазы ($r = 0,530$).

Отрицательные корреляционные взаимосвязи между функциональной активностью нейтрофилов и активностью ферментов АОЗ — каталазы и ГПО свидетельствуют о достаточно эффективной регуляции образования АФК нейтрофилами. Наличие выраженной

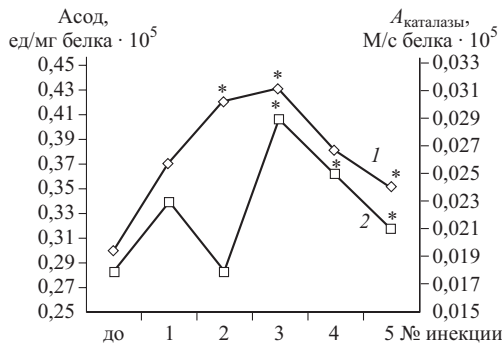


Рис. 3. Влияние кваматела на активность супероксиддисмутазы (1) и каталазы (2) в крови больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки и панкреатитом.

Обозначения те же, что на рис. 1.

прямой зависимости ($r = 0,530$) между активностью СОД и активностью каталазы подтверждает высокую степень их согласованности в процессе функционирования антиоксидантной системы.

По изменению уровня продуктов ПОЛ и активности ферментов АОЗ при лечении можно судить о состоянии макросистемы ПОЛ-АОЗ, что является адекватным критерием оценки состояния организма и динамики патологического процесса.

Таким образом, высокая эффективность кваматела при язвенной болезни и панкреатитах обусловлена не только подавлением кислой желудочной секреции [9], но и его выраженными антиоксидантными свойствами. Блокаторы H_2 -рецепторов гистамина не являются сквенджерами супероксиданиона и пероксида водорода, генерируемых в химических реакциях (например, в ксантинооксидазной системе), поэтому их действие, скорее всего, опосредованно мембранными структурами живых клеток.

Отмеченное купирование болевого синдрома [9, 12], вероятно, связано со следующим. Причиной боли может быть перинеуральное воспаление в ткани поджелудочной железы с усилением лейкоцитарной инфильтрации. Оказывая антиоксидантное действие, квамател снижает лейкоцитарную инфильтрацию и участвует в купировании болевого синдрома.

Одними из первичных патогенетических факторов язвообразования являются ишемические и реперфузионные эпизоды, вызывающие усиленное образование анион-радикала кислорода нейтрофилами и клетками слизистой оболочки желудка и ДПК [7]. В условиях ишемии возрастает активность ксантинооксидазы [4], вследствие активации ксантинооксидазы увеличивается образование активных форм кислорода в эпителиальных и эндотелиальных клетках, что, в свою очередь, способствует образованию хемотаксических факторов посредством взаимодействия с липопротеинами плазмы и инициации ПОЛ с повышением концентрации диеновых конъюгатов и кетодиенов, оказывающих влияние на активность АОЗ. Выраженность окислительного стресса в слизистой оболочке желудка и двенадцатиперстной кишки усугубляется тем обстоятельством, что и возбудитель гастрита *H. pylori* является источником образования АФК. Антиоксидантные свойства кваматела делают целесообразным включение его в схемы антихеликобактерной терапии.

надцатиперстной кишки усугубляется тем обстоятельством, что и возбудитель гастрита *H. pylori* является источником образования АФК. Антиоксидантные свойства кваматела делают целесообразным включение его в схемы антихеликобактерной терапии.

ВЫВОДЫ

1. Квамател у больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки и панкреатитом первоначально вызывает повышение функциональной активности нейтрофилов (после первых двух инъекций) и миелопероксидазы (после первых четырех инъекций), а затем - снижение этих показателей до нормальных значений.

2. У больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки и панкреатитом выявлена интенсификация процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ), снижен антиоксидантный статус организма, на что указывают низкие значения активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, глутатионпероксидазы (ГПО), глутатионредуктазы (ГР) и уровень свободного глутатиона.

3. Квамател вызывает изменения интенсивности перекисного окисления липидов, что находит отражение в некотором повышении содержания в крови больных первичных продуктов ПОЛ после 1-й и 2-й инъекций препарата, а затем - в снижении указанных показателей после 5-й инъекции. Однако после 5 инъекций кваматела уровень ПОЛ остается выше, чем у доноров по показателю диеновых конъюгатов — на 21 %, по показателю кетодиенов — на 15,4 %.

4. Квамател увеличивает активность СОД, активность каталазы и ГПО повышает до нормальных значений: полученные результаты указывают на выраженные антиоксидантные свойства кваматела.

5. Квамател не оказывает влияния на активность ГР и содержание восстановленного глутатиона в крови.

Авторы статьи благодарны докт. мед. наук Л. С. Свекло за помощь при проведении экспериментов.

ЛИТЕРАТУРА

1. М. М. Бакуев, М. З. Саидов, *Иммунол.*, № 1, 15 – 18 (1991).
2. В. Б. Гаврилов, А. Р. Гаврилова, Н. Ф. Хмара, *Лаб. дело*, № 2, 60 – 64 (1988).
3. Ш. Н. Даминов, Ф. Х. Иноятова, *Экспер. и клин. фармакол.*, № 4, 26 – 28 (1998).
4. Б. С. Запороженко, В. И. Шишлов, *Вісник морської медицини*, № 3, (2000).
5. В. Т. Ивашкин, Г. А. Минасян, *Рос. журнал гастроэнтерол.*, № 6 (4), 10 – 17 (1996).
6. Х. Я. Каримов, З. З. Хакимов., Ш. М. Даминов, *Экспер. и клин. фармакол.*, № 3, 38 – 40 (1998).
7. Т. Ю. Кравцова, *Рос. гастроэнтерол. ж.*, № 1, 19 – 24 (2000).
8. А. Л. Лобашевский, *Лаб. дело*, № 11, 28 – 31 (1983).
9. Ф. Х. Мансирова, Д. М. Кадыров, *Клин. мед.*, № 6, 53 – 56 (2000).

10. *Методическое пособие по изучению процессов перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты организма у животных*, Бузлама В. С. (ред.), Воронеж (1997).
11. А. М. Ногаллер, М. А. Бутов, А. С. Луняков, *Клин. мед.*, № 9, 55 – 58 (1996).
12. С. Г. Хомерики, Н. М. Хомерики, В. Г. Сафронова, *Клин. фармакол. и тер.*, № 9 (5), 24 – 28 (2000).
13. В. Н. Чумаков, Л. Ф. Осинская, *Вопр. мед. хим.*, № 5, 712 – 716 (1977).
14. Н. Benbarek, A. Mouithys-Mickalad, and G. Deby-Dupont, *Inflam. Res.*, № 11, 594 – 601 (1999).
15. A. Carrocio and F. Pardo, *Dig. Dis. Sci.*, № 9, 1441 – 1446 (1992).
16. T. Ching, G. Haenen, and A. Bast, *Chem. Biol. Interact.*, № 86, 119 – 127 (1993).
17. K. Kedsiora-Kornatowska, and W. Tkaczewski, *Hepatogastroenterol.*, № 19, 276 – 280 (1998).
18. S. Marklund, J. Nordennson, and O. Back, *J. Gerontol.*, № 4, 405 – 409 (1981).
19. K. Mikawa and H. Akamatsu, *Anest. Analg.*, № 1, 218 – 224 (1999).
20. J. Vanzyl, A. Kriegler, and B. Vander Walt, *J. Biochem. Pharmacol.*, № 12, 2389 – 2397 (1993).
21. J. Zimmerman, *J. Clin. Pharmacol. Ther.*, № 5, 487 – 494 (1989).

Поступила 19.12.02

THE EFFECT OF QUAMATEL ON THE PROPERTIES OF NEUTROPHILS, THE PARAMETERS OF LIPID PEROXIDATION, AND THE CHARACTERISTICS OF ANTIOXIDANT PROTECTION IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH DUODENAL ULCER AND PANCREATITIS

V. G. Artyukhov¹, Yu. N. Chernov², A. Yu. Iskusnykh¹, and O. V. Basharina¹

¹ Biophysics and Biotechnology Department, Voronezh State University, Universitetskaya pl. 1, Voronezh, Russia

² Voronezh State Medical Academy, Studencheskaya ul. 10, Voronezh, 394000 Russia

The properties of neutrophils, the parameters of lipid peroxidation, and the characteristics of antioxidant protection (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase activity) were studied in the blood of patients with duodenal ulcer and pancreatitis in the course of quamatel administration. The pattern of changes induced by quamatel shows evidence of the antioxidant activity of the drug.