

Влияние цилазаприла на продукцию активных форм кислорода полиморфноядерными лейкоцитами у больных сахарным диабетом 2 типа

А.В. Ситожевский, И.В. Луста, Е.В. Ефимова, О.А. Кошельская, Р.С. Карпов

НИИ кардиологии Томского научного центра
(дир. — акад. РАМН Р.С. Карпов)
Сибирского отделения РАМН, Томск

Лейкоциты, продуцирующие активные формы кислорода (АФК), участвуют в опосредованной эндотелием регуляции тонуса сосудов [11], синтезируют и высвобождают ангиотензиноген и являются подвижной клеточной системой в управлении сопротивлением сосудов [9]. Нарушение метаболизма фагоцитирующих клеток при сахарном диабете (СД) приводит к изменению их функциональной активности, что может быть одним из факторов ускорения атерогенеза.

Ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) применяются в качестве антигипертензивных средств в терапии СД 2 типа, однако сведения о влиянии препаратов этой группы на метаболизм АФК немногочисленны и получены в основном *in vitro* [6]. Полиморфноядерные лейкоциты обладают мощными ферментными системами активации кислорода и внеклеточного образования АФК [1]. Нами исследовано влияние ингибитора АПФ цилазаприла на продукцию АФК полиморфноядерными лейкоцитами у больных СД 2 типа.

Материалы и методы

Обследованы 30 больных СД 2 типа (14 женщин и 16 мужчин) с артериальной гипертензией (АГ). Средние показатели возраста, длительности СД и АГ составили 51 ± 3 , $6,5 \pm 0,5$ и $5,5 \pm 0,5$ лет соответственно. Цилазаприл назначался открытым способом в виде монотерапии в течение 6 нед. В группу сравнения вошли 26 здоровых доноров (12 женщин, 14 мужчин; средний возраст 46 ± 3 лет).

Полиморфноядерные лейкоциты выделяли из гепаринизированной венозной крови центрифугированием ($800 \times g$, 30 мин, $4^\circ C$) на градиенте плотности с применением сред Histopaque-1077 и Histopaque-1199 (Sigma). Жизнеспособность клеток оценивали по тесту с трипановым синим, в исследовании использовали суспензии с содержанием живых клеток 95–98%.

Скорость продукции активных форм кислорода полиморфноядерными лейкоцитами определяли по интенсивности хемилюминесценции, измеренной в режиме счета фотонов. Индукцию образования активных форм кислорода лейкоцитами осуществляли опсонизированным зимозаном. Значения интенсивности хемилюминесценции, записанные с частотой дискретизации 1с,

использовали для определения интегральной величины:

$$I = \int_{t_0}^t I(t) dt,$$

где $I(t)$ — скорость изменения хемилюминесцентного сигнала; $(t_0 - t)$ — время изменения хемилюминесцентного сигнала от уровня $0,2 \times I_{\max}$ до $I_{\max}$ [4]. Интегральная интенсивность хемилюминесценции отражает количество активных форм кислорода, продуцируемых лейкоцитами.

Результаты измерений нормировали на число полиморфноядерных лейкоцитов в объеме пробы, статистическую обработку данных проводили с помощью стандартного пакета программ STATISTICA 5.0.

Результаты и обсуждение

Хемилюминесцентный ответ полиморфноядерных лейкоцитов, вызванный добавлением опсонизированного зимозана, отражает развитие “респираторной вспышки”, сопровождающейся образованием активных форм кислорода. Кинетика хемилюминесцентного ответа имела характерный вид (рис. 1). Добавление зимозана приводило к быстрому увеличению интенсивности хемилюминесценции после непродолжительного периода, обусловленного активацией НАДФН-оксидазы полиморфноядерных лейкоцитов. Максимальная скорость отмечалась через 2,5–3 мин. после начала “респираторной вспышки”, затем наблюдалось экспоненциальное снижение хемилюминесцентного сигнала, отражающее подавление продукции активных форм кислорода лейкоцитами, которое было менее выражено у больных СД. Максимальная интенсивность зимозаниндуцированной хемилюминесценции полиморфноядерных лейкоцитов у больных СД варьировала в диапазоне от $6,2$ до $18,4 \times 10^3$ имп $\times$ с $^{-1}$, хотя в группе сравнения этот параметр не был подвержен значительным колебаниям и составлял в среднем $10,6 \pm 1,4 \times 10^3$ имп $\times$ с $^{-1}$. Вариабельность величины интенсивности хемилюминесценции лейкоцитов при СД может свидетельствовать об изменении силы

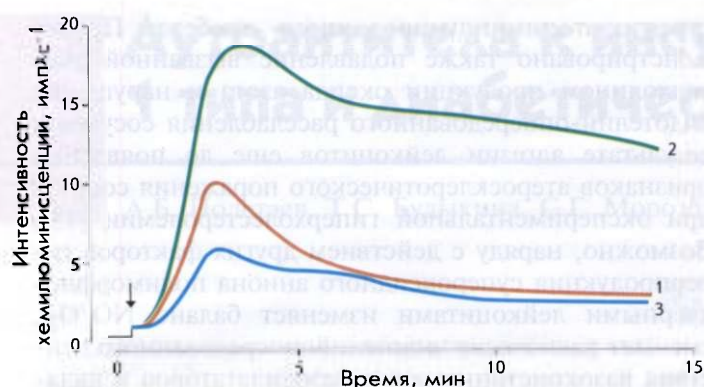


Рис. 1. Кинетика хемилюминесцентного ответа изолированных полиморфноядерных лейкоцитов.

1 – группа здоровых доноров;
2 – больной К. с длительностью заболевания СД 3 года;
3 – больной Н. с длительностью заболевания СД 12 лет.

Содержание лейкоцитов 2×10^5 в пробе. Стрелкой отмечен момент добавления опсонизированного зимозана.

“респираторной вспышки” полиморфноядерных лейкоцитов. Вероятно, степень выраженности метаболических нарушений, прямо коррелирующая с длительностью заболевания, может отражаться на суммарной окислительной способности фагоцитирующих клеток, определяемой как количество АФК, продуцируемых активированными лейкоцитами.

Кластерный анализ показал, что группа больных СД образована двумя подгруппами пациентов с различными значениями интегральной интенсивности зимозаниндуцированной хемилюминесценции лейкоцитов и различной длительностью заболевания (рис. 2). Первый кластер включал больных СД с длительностью заболевания до 8 лет и высокой интегральной интенсивностью хемилюминесценции

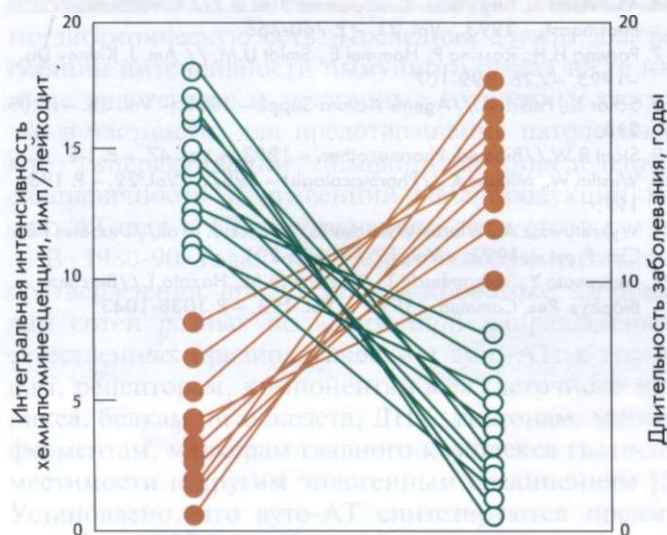


Рис. 2. Распределение интегральной интенсивности хемилюминесценции полиморфноядерных лейкоцитов в зависимости от длительности заболевания СД.

лейкоцитов ($13,3 \pm 3,4$ имп/лейкоцит), а во второй кластер вошли пациенты с относительно низкими значениями интенсивности хемилюминесценции ($3,6 \pm 0,4$ имп/лейкоцит) и продолжительностью заболевания от 8 до 20 лет. Эти данные говорят о том, что усиление продукции АФК полиморфноядерными лейкоцитами связано с ранними сроками развития СД, а низкий уровень продукции АФК является характерным признаком большей длительности заболевания. Последнее наблюдение согласуется с данными о снижении функциональной активности полиморфноядерных лейкоцитов при СД 1 и 2 типов [14, 15, 21], хотя в ряде работ продемонстрировано усиление продукции супероксидного аниона и увеличение хемилюминесценции полиморфноядерных лейкоцитов в период от нескольких месяцев до нескольких лет заболевания СД [7, 8].

Образование активных форм кислорода полиморфноядерными лейкоцитами у больных СД снижалось после лечения цилазаприлом, о чем свидетельствовало уменьшение интегральной интенсивности зимозаниндуцированной хемилюминесценции до $3,4 \pm 0,6$ имп/лейкоцит (рис. 3). Наиболее выраженное подавление продукции активных форм кислорода лейкоцитами наблюдалось после лечения ингибитором АПФ у пациентов с длительностью заболевания СД до 8 лет.

Способность каптоприла и его SH-содержащих аналогов подавлять образование АФК лейкоцитами и блокировать реакции

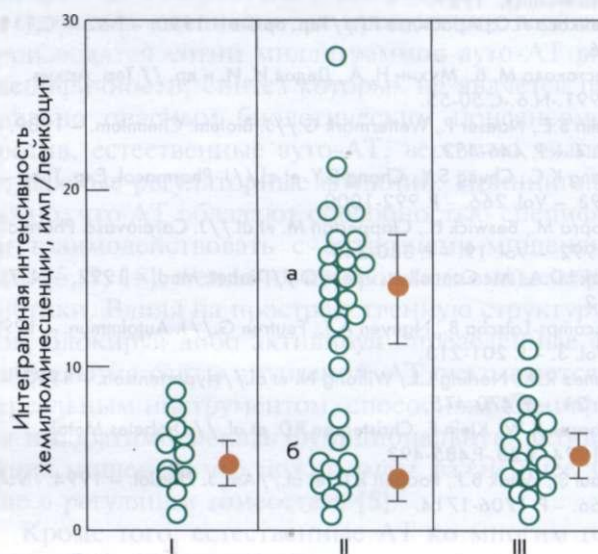


Рис. 3. Влияние цилазаприла на продукцию активных форм кислорода полиморфноядерными лейкоцитами больных СД.
I – здоровые доноры;
II – больные СД до лечения цилазаприлом (а – пациенты с длительностью СД до 8 лет; б – пациенты с длительностью СД более 8 лет);
III – больные СД после лечения цилазаприлом.

перекисного окисления липидов отмечена в работах [6, 20], но в тех же условиях ингибиторы АПФ, не содержащие SH-группы, проявляли только свойства "ловушек" радикалов в процессах липидной перекисидации. Цилазаприл не имеет в своей структуре SH-группы, однако существенно снижает скорость продукции АФК полиморфноядерными лейкоцитами больных СД. Вероятно, в условиях *in vivo* может существовать другой механизм подавления цилазаприлом продукции АФК лейкоцитами, не связанный с прямым антиоксидантным действием ингибиторов АПФ. Это предположение подтверждается данными об усилении ангиотензином II и ангиотензином III хемотаксиса и продукции АФК лейкоцитами [12, 22]. Ингибирование АПФ в этом случае должно приводить к подавлению активности лейкоцитов и, возможно, отражением этого является снижение скорости образования АФК лейкоцитами больных СД после лечения цилазаприлом.

При СД ускоряется атерогенез у пациентов с артериальной гипертензией [19]; клинические наблюдения свидетельствуют о благоприятном влиянии ингибиторов АПФ на течение гипертонической болезни у больных СД [2,3,10,17]. Одним из механизмов антиатерогенного действия ингибиторов АПФ может быть подавление продукции супероксидного аниона полиморфноядерными лейкоцитами. В работах [5, 16] показано существование связи СОД-ингибируемого хемилюминесцентного ответа полиморфноядерных лейкоцитов и степени изометрического напряжения полосок артерий и увеличение чувствительности к норадреналину на начальных стадиях

стрептозототининдуцированного диабета. Протестировано также подавление вызванной ацетилхолином продукции оксида азота и нарушение эндотелий-опосредованного расслабления сосудов в результате адгезии лейкоцитов еще до появления признаков атеросклеротического поражения сосудов при экспериментальной гиперхолестеролемии [13]. Возможно, наряду с действием других факторов гиперпродукция супероксидного аниона полиморфноядерными лейкоцитами изменяет баланс NO/O_2^- , смещает равновесие эндотелийопосредованного действия вазоконстрикторов и вазодилататоров и является одним из начальных механизмов атерогенеза при СД. Ингибиторы АПФ подавляют продукцию супероксидного аниона лейкоцитами и снижают скорость инактивации брадикинина, увеличивающего образование оксида азота эндотелием [18].

Таким образом, механизм антиатерогенного действия ингибиторов АПФ у больных СД 2 типа может быть, по крайней мере частично, основан на способности подавлять продукцию АФК полиморфноядерными лейкоцитами. Подавление образования АФК лейкоцитами больных СД после терапии цилазаприлом можно рассматривать как благоприятный эффект, особенно у пациентов с увеличением продукции АФК на ранних стадиях развития СД.

Литература

1. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. – Новосибирск, 1989.
2. Новикова Л.С., Арабидзе Г.Г. // Тер. архив – 1990. – Т.62. – С.119-126.
3. Шестакова М. В., Мухин Н. А., Дедов И. И. и др. // Тер. Архив. – 1991. -N.6.-С.50-55.
4. Brolin S.E., Naeser P., Wettermark G. // J. Biolum. Chemilum. – 1989. – Vol. 4. – P. 446-453.
5. Chang K.C., Chung S.Y., Chong S.Y. et al. // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1993. – Vol. 266. – P. 992-1000.
6. Chopra M., Beswick H., Clapperton M. et al. // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 1992. – Vol. 19. – P. 330-340.
7. Clark I.D.A., Mc Connell A., Jones O. // Diabet. Med. – 1992. – N. 7. – P. 12.
8. Descamps-Latscha B., Nguyen A.T., Feutren G. // J. Autoimmun. – 1990. – Vol. 3. – P. 201-213.
9. Gomez R.A., Norling L.L., Wilfong N. et al. // Hypertension. – 1993. – Vol. 21. – P. 470-475.
10. Hansen K.W., Klein F., Christensen P.D. et al. // Diabetes Metab. – 1994. -V.20.-P.485-493.
11. Kaul S., Waak B.J., Padgett R.C. et al. // Am. J. Physiol. – 1994. - Vol. 266. – P. 1706-1714.
12. Kumar K.V., Das U.N. // Free Radical Res. Commun. – 1993. - Vol. 19. – P.59-66.
13. Lefer A.M., Ma X.L. // Arterioscler. Thromb. – 1993. – Vol. 13. – P. 771-776.
14. Marhofer W., Stein M., Schleinkofer L., Federlin K. // Diabetes Res. Clin. Pract. – 1993. – Vol. 19. – P.183-188.
15. Market M., Cech P., Frei J. // Blut. – 1984. – Vol. 49. - P. 447-455.
16. Murohara T., Kugiyama K., Sugiyama S. et al. // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 1993. - Vol. 21. – P. 760-766.
17. Parving H.H., Rossing P., Hommel E., Smidt U.M. // Am. J. Kidney Dis. – 1995. -V.26.-P.99-107.
18. Schor K., Felsch A. // Agents Actions Suppl. – 1992. – Vol. 38. – P.209-216.
19. Stout R.W. // Biomed. Pharmacother. – 1993. – Vol. 47. – P. 1-2.
20. Westlin W., Millane K. // Pharmacologist – 1987. – Vol. 29. – P. 193-197.
21. Wykretowicz A., Wierus-Wysocka B., Wysocki J. et al. // Diabetes Res. Clin. Pract. – 1993. – Vol. 19. – P. 195-201.
22. Yamamoto Y., Yamamuchi T., Shimamura M., Hazato T. // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1993. – Vol. 193. – P. 1038-1043.