

Є.П.Свіщенко, А.В.Коцюрuba, О.Ф.Мегедь,
О.М.Буханевич, В.В.Радченко, Н.М.Гула

Дія ірбезартану – пролонгованого антагоніста АТ1-рецепторів ангіотензину II на окисний метаболізм ліпідів за умов гіпертонічної хвороби

Исследовали влияние ирбезартана – антагониста АТ1-рецепторов ангиотензина II (ANGII) пролонгированного действия на некоторые показатели ферментативного и неферментативного окисления липидов в плазме и эритроцитах крови больных гипертонической болезнью (ГБ) II степени (систолическое артериальное давление – САД > 160 мм рт.ст., диастолическое артериальное давление – ДАД > 95 мм рт.ст.). У больных ГБ отмечены в плазме крови, но не в эритроцитах, повышенные, относительно значений у здоровых добровольцев (САТ < 140 мм рт.ст., ДАД < 90 мм рт.ст.), уровни диеновых конъюгатов (неферментативное окисление липидов) и эйкозаноидов – продуктов как липоксигеназного (LTC_4) так и циклооксигеназного (TXB_2) путей превращения арахидоновой кислоты (ферментативное окисление липидов). При использовании ирбезартана в течение 30 сут в плазме крови больных ГБ снижались уровни эйкозаноидов (TXB_2 в большей степени, чем LTC_4) и диеновых конъюгатов, что указывает на возможное вовлечение рецепторов АТ1 ANG II в регуляцию окислительного метаболизма липидов, в том числе в окисление свободной арахидоновой кислоты.

ВСТУП

Нині опубліковано дані близько десяти багатогоцілових досліджень з вивчення клінічної ефективності пролонгованого високоселективного антагоніста АТ1-рецепторів ангіотензину II – ірбезартану при лікуванні гіпертензії [4]. Показано, що ірбезартан дійсно має дозозалежну гіпотензивну дію, але даних щодо його дії на окисний метаболізм ліпідів у проведених дослідженнях немає. Водночас у досліджах на тваринах встановлено [3, 5], що ангіотензин II є фізіологічним активатором біосинтезу вазоконстрикторних простагландинів – продуктів циклооксигеназного шляху окиснення вільної арахідонової кислоти.

Метою нашої роботи було дослідити дію ірбезартану на окисний метаболізм

ліпідів у хворих на артеріальну гіпертонію II ступеня.

МЕТОДИКА

Кров для дослідження брали у здорових донорів з нормальним артеріальним тиском (систолический артеріальний тиск < 140 мм рт.ст., діастолічний артеріальний тиск < 90 мм рт.ст.), у хворих на артеріальну гіпертензію II ступеня (систолический артеріальний тиск > 160 мм рт.ст., діастолічний артеріальний тиск > 95 мм рт.ст.) до вживання ірбезартану та через 1 міс його щодобового вживання.

У досліджах використовували інгібітор АТ1-рецепторів ангіотензину II – ірбезартан (235 мг на добу) фірми «Sanofi» (Італія) комерційна назва «Aprovel».

Визначали біохімічні показники, що характеризують інтенсивність ферментативного перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) – вміст вільної арахідонової кислоти в плазмі крові та еритроцитах та її перетворення в альтернативних каналах метаболізму – вміст продукту циклооксигеназного окиснення арахідонової кислоти – тромбоксану B_2 (TXB_2), що є стабільним метаболітом вазоконстриктора тромбоксану A_2 і вміст вазоконстрикторного продукту ліпоксигеназного окиснення арахідонової кислоти – лейкотриєну C_4 (LTC_4).

Вміст вільної арахідонової кислоти визначали в ліпідному екстракті проб, отриманого за методом Фолча [9], розділяли на колонці з оксидом алюмінію (нейтральний, 100 – 200 mesh, відбираючи фракцію нейтральних ліпідів елюцією сумішшю хлороформ – метанол (9:1) [8], яку розділяли методом тонкошарової хроматографії на силікагелевих пластинках Silufol у системі діетиловий ефір – петролейний ефір – оцтова кислота (85:15:0,1) [10]. Зони арахідонової кислоти на платівках елювали етанолом і кількісно визначали спектрофотометричним методом за значенням екстинції при 210 нм. Вміст арахідонової кислоти визначали в наномолях на 1 мг білка, використовуючи відомий коефіцієнт молярної екстинції.

Вміст TXB_2 і LTC_4 визначали в пробах за допомогою РІА-методу з застосуванням реактивів фірми «Amersham» (Англія) і «Du Pont» (США) відповідно.

Оцінювали також зміни при лікуванні артеріальної гіпертензії ірбезартаном показників, що характеризують інтенсивність генерації вільних радикалів (у тому числі при окисненні арахідонової кислоти) – вміст стабільного метаболіту активного кисню – пероксиду водню (H_2O_2) та інтенсивність неферментативного ПОЛ вільними радикалами кисню за допомогою визначення вмісту дієнових кон'югатів, що утворюються в процесі ПОЛ при окисненні

жирних кислот ліпідних компонентів мембран.

Вміст H_2O_2 визначали [7], використовуючи каталазу (фірма «Sigma», США).

Вміст дієнових кон'югатів визначали спрощеним методом [2]. До 0,2 мл плазми крові, або суспензії еритроцитів додавали 6 мл гептан-ізопропанольної суміші (2:1), яку готували перед дослідом. Пробу перемішували протягом 15 хв і додавали 1 мл розчину HCl з рН 2,0, швидко перемішували і після розшарування відбирали верхню гептанову фазу і визначали в ній поглинання при довжині хвилі 232 нм.

Вміст загального білка в пробах визначали загальноновживаним методом Бредфорда.

Результати оброблено статистично з використанням критерію t Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як видно із табл.1, у хворих на гіпертонічну хворобу II ступеня вміст вільної арахідонової кислоти в плазмі достовірно більший від значень у контрольній групі ($8,40 \pm 1,62$ і $4,90$ нмоль/мг білка $\pm 0,16$ нмоль/мг білка відповідно ; $P < 0,05$). Лікування ірбезартаном призводило до майже повної нормалізації вмісту вільної арахідонової кислоти ($5,42$ нмоль/мг білка $\pm 0,29$ нмоль/мг білка) в плазмі хворих на гіпертонічну хворобу.

Активність циклооксигеназного окиснення вільної арахідонової кислоти в плазмі крові хворих достовірно підвищувалася відносно такої в контрольній групі, про що свідчить вміст стабільного метаболіту TXA_2 – тромбоксану B_2 у плазмі крові ($10,29 \pm 1,55$ і $3,34$ пмоль/мг білка $\pm 0,95$ пмоль/мг білка відповідно; $P < 0,01$). Лікування ірбезартаном повністю нормалізувало вміст TXB_2 у плазмі крові хворих ($3,63$ пмоль/мг білка $\pm 0,33$ пмоль/мг білка).

Активність ліпоксигеназного окиснення вільної арахідонової кислоти у разі гіперто-

нічної хвороби також достовірно підвищувалася відносно значення в контрольній групі. На це вказує вміст лейкотриєну C_4 – основного вазоконстрикторного продукту цього шляху ($5,95 \pm 0,81$ і $1,44$ пмоль/мг білка $\pm 0,40$ пмоль/мг білка відповідно; $P < 0,01$). Лікування ірбезартаном достовірно знижувало вміст LTC_4 у плазмі крові ($2,97$ пмоль/мг білка $\pm 0,11$ пмоль/мг білка) у хворих на гіпертонічну хворобу (див. табл. 1).

В еритроцитах хворих на гіпертонічну хворобу II ступеня спостерігали дещо інші зміни досліджених біохімічних показників, що характеризують окисний метаболізм арахідонової кислоти відносно їх значень порівняно з такими у контрольній групі (див. табл. 1). Як і в плазмі крові, вміст вільної арахідонової кислоти достовірно не змінювався ні у разі гіпертонії, ні після її лікування ірбезартаном. На відміну від плазми крові, при гіпертонічній хворобі вміст в еритроцитах TXB_2 і LTC_4 достовірно не змінювався відносно їх значення в контрольній групі як до, так і після лікування ірбезартаном, хоч і відмічалася тенденція до підвищення обох окиснених

метаболітів арахідонової кислоти у разі гіпертонічної хвороби та деяке їх зниження при лікуванні ірбезартаном.

Величина співвідношення TXB_2/LTC_4 , що характеризує інтенсивність двох альтернативних – циклооксигеназного та ліпоксигеназного окисного метаболізму вільної арахідонової кислоти, у хворих на гіпертонічну хворобу була на рівні контрольних значень як у плазмі, так і в еритроцитах (див. табл. 1). Але лише в плазмі крові вона при дії ірбезартану зменшувалася достовірно: $1,83 \pm 0,25$ і $1,24 \text{ од} \pm 0,12 \text{ од}$ відповідно до і після лікування ірбезартаном. Ці зміни зумовлені в основному дещо сильнішим ефектом ірбезартану щодо інгібування циклооксигеназного шляху відносно його інгібування ліпоксигеназного шляху.

Вказані вище достовірні ефекти ірбезартану в плазмі крові з нормалізації вмісту як самої вільної арахідонової кислоти, так і обох її окиснених метаболітів, що утворюються двома різними альтернативними каналами її окисного метаболізму – TXB_2 у циклооксигеназному і LTC_4 у

Таблиця 1. Ферментативний окисний метаболізм ліпідів у плазмі крові та в еритроцитах крові здорових донорів і хворих на гіпертонічну хворобу II ступеня до і після лікування ірбезартаном (M \pm m)

Групи обстежених	Вміст вільної арахідонової кислоти, нмоль/мг білка	Вміст TXB_2 , пмоль/мг білка	Вміст LTC_4 , пмоль/мг білка	TXB_2/LTC_4 , од.
Плазма				
Контрольна група (n=5)	4,9 \pm 0,16	3,34 \pm 0,95	1,44 \pm 0,40	2,30 \pm 0,11
Хворі на гіпертонічну хворобу (n=10) до лікування	8,4 \pm 0,62*	10,29 \pm 1,55*	5,95 \pm 0,81*	1,82 \pm 0,25
після лікування	5,42 \pm 0,29**	3,63 \pm 0,33**	2,97 \pm 0,11**	1,24 \pm 0,12*,**
Еритроцити				
Контрольна група (n=5)	0,63 \pm 0,08	2,08 \pm 0,52	1,42 \pm 0,13	1,39 \pm 0,28
Хворі на гіпертонічну хворобу (n=10) до лікування	0,85 \pm 0,17	3,05 \pm 0,64	2,90 \pm 0,82	1,64 \pm 0,58
після лікування	0,61 \pm 0,04	1,62 \pm 0,20	2,53 \pm 0,59	1,27 \pm 0,54

Примітка. Тут і в табл. 2 * різниця достовірна відносно значення в контрольній групі; ** різниця достовірна відносно значення до лікування.

ліпоксигеназному – вказують на неспецифічну дію цього препарату, що забезпечується найпевніше не прямою його дією на ферменти арахідонового каскаду, а опосередковано через інгібування сигнальних шляхів утворення вторинних месенджерів при дії ангіотензину II на свої АТ1-рецептори.

Як видно з табл. 2, вміст H_2O_2 у плазмі хворих на гіпертонічну хворобу достовірно не відрізняється від контрольного рівня. Після закінчення курсу лікування ірбезартаном (через 1 міс) він достовірно ($P < 0,05$) знижувався ($2,17 \pm 0,36$ і $1,16$ пмоль/мг білка $\pm 0,16$ пмоль/мг білка у хворих на гіпертонічну хворобу до і після лікування відповідно). Ці результати повністю корелюють зі зменшенням вмісту продуктів обох альтернативних ферментативних шляхів метаболізму вільної арахідонової кислоти і вказують на зниження інтенсивності окисного метаболізму арахідонової кислоти за дії ірбезартану. Причини такої дії останнього, що є інгібітором АТ1-рецепторів ангіотензину II, очевидно, зумовлені зниженням рівнів генерації вільної арахідонової кислоти при гідролізі як фосфоліпідів, так і, можливо, нейтральних ліпідів, на що вказувалося вище.

У хворих на гіпертонічну хворобу відмічено значне достовірне збільшення ($P < 0,05$) вмісту дієнових кон'югатів у плазмі ($127,81 \pm 11,98$ та $74,25$ нг/мг білка $\pm 8,65$ нг/мг білка у хворих і в контрольній групі відповідно). Після лікування ірбезар-

таном вміст дієнових кон'югатів у плазмі крові знизився ($P < 0,001$) навіть нижче від рівня контролю ($47,63$ нг/мг білка $\pm 3,13$ нг/мг білка). Не виключено, що цей виражений антиоксидантний ефект ірбезартану є одним із чинників його дії з нормалізації артеріального тиску.

Як і при ферментативному окисному метаболізмі арахідонової кислоти, зміни вмісту H_2O_2 і дієнових кон'югатів у еритроцитах хворих на гіпертонічну хворобу до і після лікування ірбезартаном (див. табл. 2) дещо відрізняються від таких у плазмі. Так, вміст H_2O_2 у хворих майже втричі нижчий за контрольні значення ($2,88 \pm 0,74$ і $1,03$ пмоль/мг білка $\pm 0,11$ пмоль/мг білка відповідно, $P < 0,05$) і не змінюється при дії ірбезартану ($0,83$ пмоль/мг білка $\pm 0,28$ пмоль/мг білка). Це зумовлено наявністю в еритроцитах власної потужної антиоксидантної системи [2], що включає в себе як ферменти-антиоксиданти (каталаза, супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза тощо), так і значні кількості водорозчинних антиоксидантів (наприклад, глутатіону). Певно ірбезартан або сам чинить антиоксидантну дію, або ж стимулює антиоксидантну систему еритроцитів у хворих на гіпертонічну хворобу. Інтенсивність ПОЛ в еритроцитах хворих при дії ірбезартану зменшувалася вдвічі, про що свідчить вміст дієнових кон'югатів ($8,81 \pm 1,19$ і $4,25$ нг/мг білка $\pm 0,10$ нг/мг білка відповідно, $P < 0,01$)

Таблиця 2. Неферментативний метаболізм ліпідів у плазмі та еритроцитах крові здорових донорів і хворих на гіпертонічну хворобу II ступеня до і після лікування ірбезартаном ($M \pm m$)

Групи обстежених	Плазма		Еритроцити	
	Вміст дієнових кон'югатів, нг/мг білка	Вміст H_2O_2 , пмоль/мг білка	Вміст дієнових кон'югатів, нг/мг білка	Вміст H_2O_2 , пмоль/мг білка
Контрольна група (n=5)	$74,25 \pm 8,65$	$2,72 \pm 0,53$	$9,98 \pm 2,27$	$2,88 \pm 0,74$
Хворі на гіпертонічну хворобу (n=10) до лікування	$127,81 \pm 11,98^*$	$2,17 \pm 0,36$	$8,81 \pm 1,19$	$1,03 \pm 0,11^*$
після лікування	$47,63 \pm 3,13^{***}$	$1,16 \pm 0,15^{***}$	$4,25 \pm 0,10^{***}$	$0,83 \pm 0,28^*$

Як було показано нами раніше, пролонговане інгібування АТ1-рецепторів ангіотензину II високоафінним їх антагоністом ірбезартаном має за наслідок стійке та тривале зниження тиску крові. Одним із механізмів такої гіпотензивної його дії є інгібування окисного метаболізму ліпідів. Останній процес включає зниження в плазмі крові хворих на гіпертонічну хворобу при дії ірбезартану інтенсивності неферментативного ПОЛ внаслідок зменшення вмісту H_2O_2 , вільної арахідонової кислоти та продуктів її окисного метаболізму по двох альтернативних каналах, але з переважним інгібуванням циклооксигеназного шляху, фізіологічним активатором якого є ангіотензин II.

ВИСНОВКИ

Артеріальна гіпертензія супроводжується значною інтенсифікацією процесів ферментативного та неферментативного окиснення ліпідів у плазмі крові, на що вказує значне підвищення вмісту дієнових кон'югатів (неферментативне окиснення ліпідів вільними радикалами кисню) та ейкозаноїдів – продуктів ферментативного циклооксигеназного (TXB_2), та ліпоксигеназного (LTC_4) окисного метаболізму вільної арахідонової кислоти, що зумовлюють вазоконстрикторні ефекти ангіотензину II.

Пролонгований інгібітор АТ1-рецепторів ангіотензину II ірбезартан нормалізує в плазмі крові інтенсивність ферментативного окиснення ліпідів (зменшує вміст окиснених метаболітів арахідонової кислоти), причому його ефект щодо інгібування циклооксигеназного (TXB_2) виявився сильнішим, ніж щодо ліпоксигеназного (LTC_4).

Використання ірбезартану нормалізує в плазмі крові хворих на гіпертонічну хворобу інтенсивність неферментативного ПОЛ, про що свідчить значне зниження (навіть нижче від контрольного рівня) вмісту дієнових кон'югатів і пероксиду водню.

Отримані результати свідчать про високу антиоксидантну активність ірбезартану і дозволяють зробити припущення про доцільність використання цього інгібітора АТ1-рецепторів ангіотензину II не тільки в терапії артеріальної гіпертензії, але й інших патологій кардіо-васкулярної системи, що супроводжуються значною активізацією процесів пероксидації ліпідів, а саме: атеросклерозу, ішемічної хвороби серця, інфаркту міокарда тощо.

E.P. Svyshchenko¹, A.V. Kotsuruba², O.F. Meged², O.M. Buchanevich², V.V. Radchenko¹, N.M. Gulaya²

ACTION OF ANG II TYPE I RECEPTOR INHIBITOR IRBEZARTANE ON OXIDATIVE METABOLISM OF LIPIDS AT ESSENTIAL HYPERTENSION

We evaluated the alters in plasma vasoconstriction eicosanoids (LTC_4 , TXB_2) and diene conjugates (DC) levels in patients with essential hypertension (EH) after chronic (30 days, 235 mg per day) of irbezartane (inhibitor of ANG II type I receptor with prolongation action «Aprovel» from «Sanofi») oral administration. Patients with EH have significantly higher plasma both LTC_4 , TXB_2 and DC levels then healthy controls. This imbalance can be beneficially modulated by chronic irbezartane («Aprovel») administration. It is concluded that ANG II type I receptors can be involved in regulation of free arachidonic acid oxidation.

¹*M.D. Strazhesko Institute of cardiology Academy of medical Science of Ukraine;*

²*A.V. Palladin Institute of biochemistry National Academy of Science of Ukraine, Kiev*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Хмара Н.Ф. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гептановых и изопропановых экстрактов // Лаб. дело. – 1988, № 2. – С.60 – 64.
2. Дубинина Е.Е. Антиоксидантная система плазмы крови // Укр. биохим. журн. – 1992, – 62, № 2. – С.3 – 15.
3. Коцюруба А.В., Буханевич О.М., Тараканов С.С. та ін. С27-стероїдні гормони кальцитриол та екдистерон активують гідроліз нейтральних ліпідів – ефірів холестеролу та триацилгліцеролів – у ранній догеномній фазі дії // Там само. – 1998. – 70, № 5. – С.30 – 37.
4. Ломакина О.В. Блокаторы рецепторов ангиотензина II в терапии артериальной гипертензии. Результаты клинических исследований // Вісн. проблем біології і медицини. – 1999. – № 6. – С.12 – 17.

5. Alonso M.T., Sanchez A., Garcia-Sanco J. Arachidonic acid-induced calcium influx in human platelets. Comparison with the effect on thrombin // *Biochem. J.* – 1990. – **272**, № 2. – P.435 – 443.
6. Benabe J.E., Spry L.A., Vorrison A.R. Effects of angiotensin II on phosphatidylinositol and phosphoinositide turnover in rat kidney // *J. Biol.Chem.* – 1982. – **257**, № 13. – P.7430 – 7434.
7. Cochen G., Dembile D., Markus J. Measurement of catalase activity in tissue extracts // *Anal. Biochem.* – 1970. – № 34. – P.30 – 38.
8. Durochez J.G., Leboeuf B. Rapid quantitative separation of long – chain fatty acids from neutral lipids // *Canad. J.Biochem.* – 1969. – **47**, № 7. – P.746 – 750.
9. Folch J., Lees M., Sleane S.G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues // *J.Biol.Chem.* – 1957. – **226**, № 2. – P.497 – 509.
10. Takahashi Y., Reddy G.R., Veda N. et al. Arachidonate 12-lipoxygenase of platelet-type in human epidermal cells // *J.Biochem.* – 1993. – **268**, № 22. – P.16443 – 16448.
11. Wanhoutte P.M., Rubauji G.M., Miller V.M., Houston D.S. Modulation of vascular small muscle contraction by the endothelium // *Ann.Rev.Physiol.* – 1986. – **48**, № 1. – P.307 – 320.

*Ин-т кардіології ім. М.Д.Стражеска АМН України;
Ин-т біохімії ім. О.В.Палладіна НАН України, Київ*

*Матеріал надійшов до
редакції 3.07.2002*