

**Контакты.**

Черныш Ирина Михайловна. Служебный адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2 (Ректорат); т. 8(495)609-14-00, доб.30-41(факс), доб.30-75 E.mail: imchernish@gmail.com;

Дубова Маргарита Никитична. Служебный адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2 (Ректорат); т. 8(495)609-14-00, доб.30-41(факс), доб.30-75 E.mail: m_dubova44@mail.ru;

Королева Марина. Служебный адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр.2 (Ректорат); т. 8(495)609-14-00, доб.30-41(факс), доб.30-75 E.mail: verzhina-mk@yandex.ru.

ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЕЙ БЕЛКОВ КРОВИ ПРИ СОВМЕСТНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОЙ ГИПОКИНЕЗИИ И БЛОКАТОРА K^+/H^+ АТФАЗЫ ОМЕПРАЗОЛА

УДК 612.062

Ларина О.Н., ведущий научный сотрудник, к.б.н.;

Беккер А.М., лаборант-исследователь, к.б.н.

Учреждение РАН «Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем», г. Москва

Аннотация.

Исследовано влияние ингибитора K^+/H^+ АТФазы омепразола на плазматические уровни белков острой фазы при кратковременном пребывании испытуемых добровольцев в антиортостатической гипокинезии (-15°). Эффекты терапевтических доз препарата, применяемого на фоне антиортостатического воздействия, проявлялись в существенном снижении концентраций $\alpha 1$ -кислого гликопротеина и гаптоглобина, в то время как содержание в крови $\alpha 1$ -антитрипсина и $\alpha 2$ -макроглобулина сокращалось в период антиортостаза как в присутствии омепразола, так и в контрольной серии без использования фармпрепарата. Предполагается, что воздействие омепразола могло оказать дестабилизирующее воздействие на эритроцитарные мембраны, а также мембраны лизосом.

Введение.

Омепразол (омез) относится к первому поколению препаратов, ингибирующих K^+/H^+ АТФазу, называемую также «протонным насосом», в париетальных клетках желудка. Как и все лекарственные средства, относящиеся к классу ингибиторов K^+/H^+ АТФазы, омепразол оказывает фармакологическое действие путем образования дисульфидных связей с молекулой-мишенью и блокирования секреции соляной кислоты во внеклеточное пространство. Ингибиторы K^+/H^+ АТФазы зарекомендовали себя как средство первого выбора при коррекции различных нарушений, связанных с неблагоприятными эффектами выделяемой желудком кислоты. Так же как и другие блокаторы K^+/H^+ АТФазы первого поколения, омепразол характеризуется недостаточной высокой избирательностью, в частности, известны такие побочные эффекты препарата, как подавление активности карбоангидразы [1], а также взаимодействие с другими лекарственными средствами [2].

Как известно, одним из физиологических эффектов наземного моделирования условий микрогравитации является повышение секреторной активности желудка [3], негативно отражающееся на способности организма приспособиваться к измененным условиям среды. В Учреждении Российской академии наук Государственном научном центре Российской Федерации – Институте медико-биологических проблем РАН (ГНЦ РФ – ИМБП РАН) группой под руководством к.м.н. Афонина Б.В. проводились исследования, направленные на проверку возможности применения омепразола в целях медикаментозной коррекции обусловленного имитируемой микрогравитацией гиперсекреторного синдрома, при выполнении которых использовалась модель антиортостатической гипокинезии (АНОГ). Имеющиеся экспери-

ментальные данные указывают, что пребывание в условиях микрогравитации может модифицировать эффекты применения фармакологических средств [4]. Как уже отмечалось выше, принадлежность омепразола к первому поколению фармакологических средств – блокаторов K^+/H^+ АТФазы повышает риск появления нежелательных последствий его использования в условиях имитируемой микрогравитации.

Переход к сниженной гравитации вызывает адаптивные перестройки различных функциональных систем организма, к числу которых относится ответ со стороны врожденного (неспецифического) иммунитета, о чем свидетельствует индукция механизмов реакции острой фазы [5–7]. К наиболее ярким проявлениям острофазного ответа относятся изменения экспрессии группы белков плазмы крови, объединяемых под названием белки острой фазы, которые, помимо того, что являются важным звеном адаптивных изменений в организме, могут служить индикатором ряда физиологических и биохимических процессов. В данной работе была проверена гипотеза о том, что омепразол, применяемый в условиях АНОГ для купирования избыточной секреторной активности клеток желудка, может также оказывать влияние на реализацию механизмов острофазного ответа. С этой целью у испытуемых во время кратковременного пребывания в условиях АНОГ, осуществившегося на фоне приема омепразола, были измерены плазматические концентрации белков острой фазы.

Материалы и методы исследования.

Исследования проводили на базе клинического стационара ГНЦ РФ – ИМБП РАН до и во время пребывания испытуемых в условиях АНОГ (-15°) (научные руководители – д.м.н., профессор Ларина И.М. и к.м.н. Афонин Б.В.). Программа исследований была одобрена комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ-ИМБП РАН. Обследуемую группу составили 8 добровольцев (возраст $25,9 \pm 5,8$ лет, рост 182 ± 9 см, вес $80,2 \pm 7,6$ кг), находившихся в одинаковых климатических условиях и получавшие стандартный рацион питания. Водопотребление не ограничивалось. Для проведения исследований были получены информированные согласия испытуемых [8].

Перед антиортостатическим воздействием в утренние часы, после 10-12-часового интервала в приеме пищи, проводилось взятие фоновых образцов крови. Перевод испытуемых в антиортостатическое положение происходил в тот же день в 20 ч. Однократный пероральный прием омепразола в дозе 20 мг осуществлялся в 22 ч. (через 2 часа после начала антиортостатической гипокинезии). На следующий день в 8 ч. (через 12 часов после начала антиортостатической гипокинезии) выполнялось по-

вторное взятие крови. Контрольная серия исследований проводилась с теми же обследуемыми, принимавшими плацебо, в тех же условиях АНОГ продолжительностью 16 часов. Для шести испытуемых воздействие АНОГ с применением омепразола предшествовало контрольному воздействию (АНОГ + плацебо), в двух случаях соблюдалась обратная последовательность воздействий. Интервал между двумя периодами пребывания индивидуумов в АНОГ (серия с омепразолом и контрольная серия) колебался от 2 до 13 дней.

Концентрации $\alpha 1$ -антитрипсина ($\alpha 1$ -АТ), $\alpha 1$ -кислого гликопротеина ($\alpha 1$ -АГР), $\alpha 2$ -макроглобулина ($\alpha 2$ -М) и гаптоглобина (Нр) определяли в сыворотке крови иммунотурбидиметрическими методами на биохимическом анализаторе «Колибри» (Техномедика, Россия) с использованием наборов реактивов Sentinel (Италия)¹⁾.

¹⁾ Ошибка метода в диапазоне измеренных в настоящей работе концентраций белков (коэффициент вариабельности): $\alpha 1$ -АТ – 2.31%, $\alpha 1$ -АГР – 3.79% ч 4.10%, $\alpha 2$ -М – 3.03%, Нр – 3.87.

Обработку количественных данных выполняли с помощью программного обеспечения STATISTICA, версия 6.0. При оценке статистической достоверности различий между выборками использовали тест Вилкоксона для зависимых переменных.

Результаты и их обсуждение.

Следствием пребывания испытуемых в антиорто-статическом положении стали изменения сывороточных уровней всех исследованных белков. В характере обнаруженных сдвигов Нр и $\alpha 1$ -АТ наблюдалась зависимость от использования фармакологического препарата (табл. 1): если по результатам определения концентраций этих белков в контрольной серии невозможно судить о наличии каких-либо общих тенденций в обследуемой группе, то в серии с применением омепразола явно превалировало снижение уровней этих белков. Различия между экспериментальными сериями для гаптоглобина были статистически значимыми. Концентрации $\alpha 1$ -кислого гликопротеина и $\alpha 2$ -макроглобулина проявили в АНОГ достоверное снижение независимо от применения фармпрепарата.

Таблица 1. Изменения концентраций белков крови в исследовании с 12-часовой АНОГ (% к фоновым значениям, $M \pm \sigma$)

	$\alpha 1$ -Антитрипсин	$\alpha 1$ -Кислый гликопротеин	$\alpha 2$ -Макроглобулин	Гаптоглобин
Контроль	-0.05 ± 11.41	-5.5 ± 4.9 *	-4.50 ± 4.88	3.76 ± 7.31
Омез	-6.65 ± 7.44*	-7.2 ± 5.1 *	-5.11 ± 3.74*	-6.96 ± 4.88* •

* отличия достоверны по отношению к фону, $p < 0.05$

• отличия достоверны по отношению к контрольной серии, $p < 0.05$

Антиорто-статическая гипокинезия является одним из методов имитации физиологических эффектов микрогравитации в наземных условиях. Во многом сходное влияние на человеческий организм оказывает пребывание в водной иммерсии. Полученные ранее в исследовании с иммерсией данные свидетельствовали о разнонаправленных изменениях $\alpha 1$ -АТ, снижении $\alpha 1$ -АГР и повышении уровней Нр и $\alpha 2$ -М на начальном этапе воз-

действия (первые измерения были сделаны через 48 часов пребывания в иммерсии) [5, 6]. В нашем исследовании 16-часовое воздействие «чистой» АНОГ проявилось в разнонаправленных изменениях $\alpha 1$ -АТ относительно исходного уровня в достаточно широком диапазоне значений (-18,2% ч +14,7%) (рис. 1) и снижении $\alpha 1$ -АГР и $\alpha 2$ -М у большинства испытуемых (рис. 2, 3).

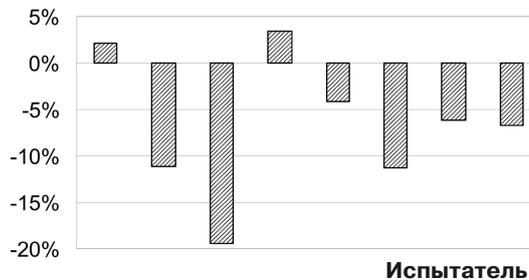
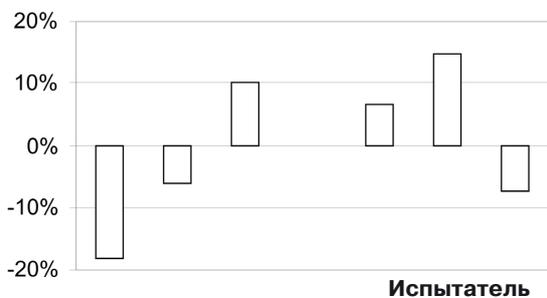


Рис. 1. Индивидуальные отклонения концентрации $\alpha 1$ -антитрипсина от исходного уровня после 12-часовой АНОГ (% к фоновым значениям)

а – контрольная серия; б – серия с применением омепразола

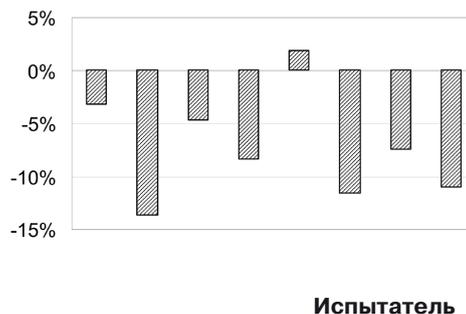
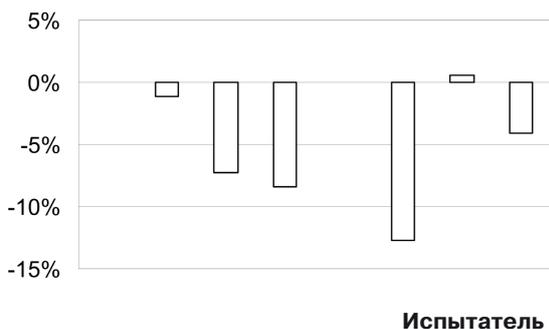


Рис. 2. Индивидуальные отклонения концентрации $\alpha 1$ -кислого гликопротеина от исходного уровня после 12-часовой АНОГ (% к фоновым значениям)

а – контрольная серия; б – серия с применением омепразола

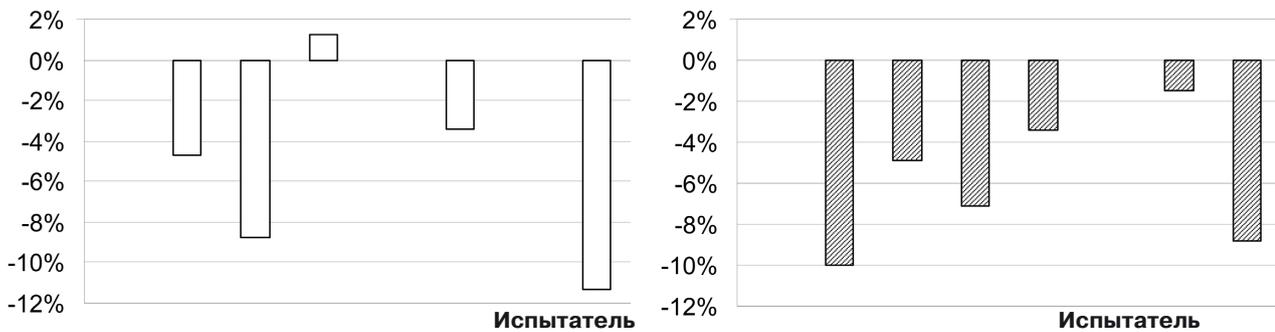


Рис. 3. Индивидуальные отклонения концентрации $\alpha 2$ -макроглобулина от исходного уровня после 12-часовой АНОГ (% к фоновым значениям)

а – контрольная серия; б – серия с применением омепразола

Все исследованные плазматические белки являются представителями белков острой фазы, общий признак которых – изменение интенсивности синтеза в ответ на различные локальные или системные нарушения, вызванные инфекцией, повреждением тканей, неопластическим ростом и иммунологическими расстройствами [9, 10]. Имеются данные о том, что на ранних стадиях развертывания реакции острой фазы может происходить снижение плазматического уровня ингибиторов протеолиза, поскольку темпы их синтеза недостаточны для компенсации активности лизосомальных протеолитических ферментов, повышенное поступление которых в кровь является одним из проявлений реакции острой фазы [11]. Как известно, $\alpha 1$ -АТ и $\alpha 2$ -М выполняют функции ингибиторов протеолиза – при избыточном содержании протеолитических ферментов в крови они образуют комплексы с молекулами протеаз, которые узнаются клетками ретикуло-эндотелиальной системы и выводятся из сосудистого русла. Не исключено, что наблюдаемые случаи снижения концентраций $\alpha 1$ -АТ и $\alpha 2$ -М могли быть следствием подобных событий.

Таким образом, кратковременная имитация эффектов сниженной силы тяжести может сопровождаться уменьшением содержания в крови белков-ингибиторов протеолиза у некоторых индивидуумов. При этом использование омепразола приводит к более выраженному снижению уровня $\alpha 1$ -антитрипсина, обладающего признаками статистической достоверности.

Реакции гаптоглобина были аналогичны $\alpha 1$ -АТ: во время АНОГ без применения фармпрепарата наблюдались разнонаправленные изменения по отношению к исходным величинам (рис. 4), под влиянием омепразола происходи-

ло статистически достоверное уменьшение концентрации Нр в обследованной группе, причем снижение показателя происходило у всех индивидуумов. Здесь следует заметить, что в исследовании с иммерсией наблюдалось устойчивое повышение уровня гаптоглобина, достигавшее значительных величин уже после 2 суток воздействия – к моменту первого взятия крови в указанном эксперименте. Выявленный факт находится в соответствии с известной моделью поведения этого белка, относящегося к «сильным» позитивным (то есть реагирующим интенсификацией синтеза в ответ на воздействие) белкам острой фазы. В нынешнем же исследовании сочетанное воздействие антиортостатического положения и омепразола (но не воздействие чистой АНОГ) приводило к противоположным изменениям. Известно, что главной функцией гаптоглобина является связывание свободного гемоглобина плазмы с образованием трудно диссоциирующих комплексов, которые затем разрушаются в печени. В литературе содержатся сведения о том, что в отношении старых фармпрепаратов – блокаторов $K^+(Na^+)/H^+AT$ Фаз известна возможность повышения гемолиза [12]. На этом основании можно предположить, что последствием совместного воздействия АНОГ и омепразола могла стать дестабилизация мембран эритроцитов, а также (учитывая снижение содержания протеазных ингибиторов $\alpha 1$ -АТ и $\alpha 1$ -М) и лизосомальных мембран. Поскольку гаптоглобин обладает способностью инактивировать лизосомальную протеазу катепсин В [13], в случае выброса протеолитических ферментов из лизосом можно также ожидать снижения содержания гаптоглобина в плазме.

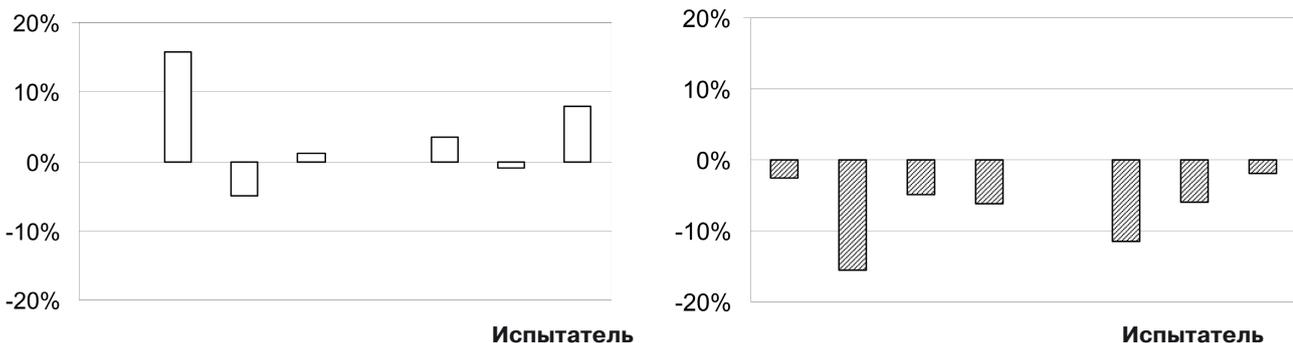


Рис. 4. Индивидуальные отклонения концентрации гаптоглобина от исходного уровня после 12-часовой АНОГ (% к фоновым значениям)

а – контрольная серия; б – серия с применением омепразола

Такие свойства Нр, как ингибирование метаболизма нейтрофилов, снижение реакции моноцитов на хемоаттрактанты, угнетение пролиферативного ответа мононуклеаров крови на митогены, подавление продукции антител [14, 15, 16], предполагают наличие противовоспалительной активности белка, которая, соответственно, может зависеть от его пула в крови, изменяющегося при применении омепразола на фоне АНОГ.

Как было отмечено выше, во время антиортостатического воздействия имело место достоверное снижение концентрации в крови $\alpha 1$ -кислого гликопротеина. Изменения такой же направленности происходили в крови испытуемых и в период пребывания в иммерсии (но не после ее окончания, когда быстрый рост уровня белка иллюстрировал его принадлежность к сильным позитивным белкам острой фазы) [7]. Причина наблюдаемого сокращения

плазматического пула $\alpha 1$ -AGP в настоящее время неясна, однако краткость временного интервала, по прошествии которого отмечались выраженные сдвиги концентрационного показателя, предполагает, что повышенное выведение белка более вероятно, чем подавление процессов синтеза и секреции во внутрисосудистое пространство. $\alpha 1$ -AGP является транспортным белком крови, переносимым вещества с щелочными и нейтральными свойствами, к числу которых относятся и фармакологические средства. Омепразол, являясь слабым основанием [17], также взаимодействует с молекулами $\alpha 1$ -AGP: 95% присутствующего в кровотоке омепразола связано с альбумином и $\alpha 1$ -кислым гликопротеином. Наблюдавшееся в эксперименте с АНОГ снижение уровня $\alpha 1$ -AGP могло отразиться на соотношении между свободной и связанной фракциями омепразола. Следовательно, снижение уровня $\alpha 1$ -кислого гликопротеина на ранних стадиях адаптации к антиортостатическому положению может изменять эффекты препарата даже при его назначении в стандартных дозировках.

Заключение.

Результаты исследования показали, что наличие в организме терапевтических уровней омепразола изменяет реакции гаптоглобина и усиливает тенденцию к снижению содержания $\alpha 1$ -антитрипсина при кратковременном пре-

бывании в антиортостатическом положении (-15°), причем наиболее вероятными причинами отмеченных эффектов являются соответственно дестабилизация мембран эритроцитов и повышение протеазной активности крови. Нельзя исключить, что за наблюдаемыми концентрационными сдвигами белков могут стоять и другие функциональные изменения, индуцированные совместным действием антиортостатической гипокинезии и омепразола, однако для их выяснения требуется проведение дополнительных экспериментов, которые должны включать прямые исследования состояния мембран эритроцитов, уровня протеаз и белков-переносчиков в крови, а также исследования динамики плазматических белков при изолированном действии омепразола. Необходимо также получить более подробные представления о закономерностях изменений уровней белков при различной продолжительности антиортостатического воздействия. Тем не менее, выявленные изменения белков крови предоставляют отчетливые указания на необходимость учета возможности модификации эффектов, производимых блокаторами K^+/H^+ АТФазы, под влиянием измененной гравитации, а также подчеркивают целесообразность использования в этих условиях высокоспецифичных препаратов, обладающих минимальными побочными действиями.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Puscas I., Coltau M., Baican M., Domuta G. // J. Pharmacol. Exp. Ther. 1999. – V 290, N 2. – P. 530–534.
2. de Korwin J.D., Ducrotty P., Vallot T. // Presse. Med. – 2004. – V 33, N 11. – P. 746–754.
3. Смирнов К.В. Пищеварение и гипокинезия. М.: Медицина, 1990. – 224 С.
4. Синтрон Н.М., Пучка Л. Фармакокинетика в полете. 1997 / Космическая биология и медицина. Человек в космическом полете. Т. III. Кн. 2. С. 469–486.
5. Ларина О.Н. //Авиакосмическая и экологическая медицина. – 1994. – Т. 28, № 2. – С. 42–47.
6. Ларина О.Н., Беккер А.М. // Вестник восстановительной медицины. 2008. – Т. 29, № 6. – С. 29–31.
7. Ларина О.Н., Беккер А.М. // Авиакосмическая и экологическая медицина. 2009. – Т. 43, № 1. – С. 52–56.
8. Пахарукова Н.А., Носовский А.М., Пастушкова Л.Х. и др. // Авиакосмическая и экологическая медицина. 2009. – Т. 43, № 4. – С. 60–66.
9. Koj A. Metabolic studies of acute phase proteins. In: Pathophysiology of plasma protein metabolism-New York, London: Plenum, 1984. – P. 221–248.
10. Kushner J. The acute phase response: an overview. In: Methods in enzymology -San Diego: Academic Press, 1988. – Vol. 163. – P.373–383.
11. Fritz H. Proteinase inhibitors in severe inflammatory processes (septic shock and experimental endotoxaemia): biochemical, pathophysiological and therapeutic aspects. - In: protein degradation in health and disease. Ciba Foundation Symposium 75. Amsterdam, Oxford, New York, 1980, P. 351 – 375.
12. Weiss E., Lang H.J., Bernhardt I. // Bioelectrochemistry. 2004. V. 62, N 2. P 35–40
13. Snellman O., Sylven B. // Experientia. 1974. V. 30. P. 1114 – 1116.
14. Huntoon K.M., Wang Y., Eppolito C.A., et al. // J. Leukoc. Biol. 2008. V. 84. N 1. C. 170–181.
15. Oh S.K., Pavlitsky N., Tauber A.J. // J. Leukoc. Biol. 1990. V. 47. P. 142 – 146.
16. Oh S.K., Kim S.H., Walker J.E. // J. Natl. Cancer Inst. 1990. V. 82. P. 934 – 938.
17. Udupa N. Proton Pump Inhibitors – An Overview. <http://www.pharmainfo.net/reviews/proton-pump-inhibitors-overview>. 06.12.2006.

РЕЗЮМЕ

У 8 испытуемых, находившихся в кратковременной антиортостатической гипокинезии (АНОГ- 15°), изучено влияние ингибитора K^+/H^+ АТФазы омепразола на содержание в крови белков острой фазы: $\alpha 1$ -антитрипсина ($\alpha 1$ -АТ), $\alpha 1$ -кислого гликопротеина ($\alpha 1$ -AGP), $\alpha 2$ -макроглобулина ($\alpha 2$ -М) и гаптоглобина (Hp). Показано, что совместное воздействие антиортостатического положения и терапевтических доз омепразола, в отличие от условий АНОГ без применения фармпрепарата, приводило к снижению концентраций $\alpha 1$ -АТ и Hp, причем в последнем случае эти различия были статистически достоверными. В условиях АНОГ, независимо от применения омепразола, наблюдалось снижение уровня $\alpha 1$ -AGP и $\alpha 2$ -М по отношению к доэкспериментальному уровню. Причиной снижения исследованных ингибиторов протеолиза ($\alpha 1$ -АТ и $\alpha 2$ -М) в АНОГ могло быть увеличенное поступление в кровь протеаз из лейкоцитарных лизосом, и омепразол, по-видимому, усиливал этот эффект. Характер изменений Hp, наблюдавшихся в данном исследовании, позволяет предположить снижение стабильности мембран эритроцитов под влиянием омепразола в условиях АНОГ. Полученные результаты указывают на возможность модификации эффектов, производимых постуральными и гравитационными воздействиями, под влиянием блокаторов K^+/H^+ АТФазы.

Ключевые слова: человек, антиортостатическая гипокинезия, K^+/H^+ АТФаза, омепразол, белки острой фазы.

ABSTRACT

Blood concentrations of $\alpha 1$ -antitrypsin ($\alpha 1$ -AT), $\alpha 1$ -acid glycoprotein ($\alpha 1$ -AGP), $\alpha 2$ -macroglobulin ($\alpha 2$ -M), and haptoglobin (Hp) were measured in 8 test subjects who consecutively participated to two series of head down tilt (HDT -15°) study: HDT without the use of pharmaceutical agents (control series) and HDT after the intake of K^+/H^+ ATPase inhibitor Omeprazole (Omez) in therapeutic doses. The results showed that in contrast to control series with “pure” HDT, combined influence of HDT and Omeprazole caused the decrease in $\alpha 1$ -AT and Hp blood levels (difference between series showing statistical reliability for Hp). HDT conditions caused the decrease in $\alpha 1$ -AGP and $\alpha 2$ -M both in the presence and absence of Omeprazole. The reason for decrease in protease inhibitors ($\alpha 1$ -AT and $\alpha 2$ -M) in this study could be the release of lysosomal proteases from leukocytes while Omeprazole seemed to enhance this effect. An abrupt decline of Hp concentration in HDT series with Omeprazole suggests the lowering of erythrocyte membrane stability caused by this medicine. The results obtained show the possibility that Omeprazole can modulate postural and gravitational effects on blood protein concentrations.

Key words: humans, head down tilt, K^+/H^+ ATPase, Omeprazole, acute phase proteins

Контакты

Ларина Ольга Николаевна. Адрес: Москва, Хорошевское ш., 76 а, тел. (499) 1951573, факс: (499) 1952253.
E-mail: olarina@imbp.ru

Беккер Анна Марковна. Адрес: Москва, Хорошевское ш., 76 а, тел. (499) 1951573, факс: (499) 1952253.
E-mail: post@imbp.ru