

**ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА «ГИПОКСЕН» ДЛЯ КОРРЕКЦИИ
ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК У ЛИЦ,
ЗАНЯТЫХ НА РАБОТАХ С ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ**

Фомичев А.В.*, Василюк В.Б.**, Сосюкин А.Е.**

**Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург*

*** Федеральное государственное унитарное предприятие научно-исследовательский институт промышленной и морской медицины Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург*

8-9213-619717

Фомичев А.В.

Резюме. У лиц, занятых на работах с фосфорорганическими соединениями (ФОС), «Гипоксен», обладающий антиоксидантным и антигипоксантным действием, оказывал положительное влияние на вазомоторную функцию эндотелиоцитов. Ключевым патогенетическим механизмом его действия по расширению дилатационного потенциала сосудов является увеличение уровня оксида азота, в первую очередь, за счет уменьшения его деградации на фоне снижения степени выраженности свободнорадикального окисления и повышения емкости эндогенной системы антиоксидантной защиты.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гипоксен, фосфорорганические соединения, эндотелиальная дисфункция, свободно-радикальное окисление, оксид азота, фактор Виллебранда.

THE "HYPOXEN" USE EXPERIENCE FOR CORRECTING FUNCTIONALITY OF ENDOTHELIAL CELLS IN PERSONS WHO ARE ENGAGED IN WORKS WITH ORGANOPHOSPHORUS COMPOUNDS.

Fomichev A.V., Vasilyuk V.B., Sosyukin A.Ye

* Kirov Military Medical Academy, Saint-Petersburg

** Federal state unitary enterprise research Institute of industrial and marine medicine, Federal medical-biological Agency, Saint-Petersburg

Abstract. "Hypoxen", which has antioxidant and antihypoxic action, has a positive effect on endothelial vasomotor function among persons are engaged in activities with organophosphorus compounds. The key pathogenetic mechanism of its action to increase the capacity of vascular dilatation is to increase the level of nitric oxide. This effect is achieved by reducing its degradation due to lower severity of free radical oxidation and increase the capacity of the endogenous antioxidant defense system.

Key words: hypoxen, organophosphates compounds, endothelial dysfunction, free radical oxidation, nitric oxide, von Willebrand factor.

Введение. В настоящее время сформулирована концепция об эндотелии как органе-мишени для профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний [1, 2]. Своевременное выявление эндотелиальной дисфункции и проведение мероприятий, направленных на ее коррекцию, могут улучшить прогноз и снизить заболеваемость органов кровообращения, в том числе у персонала объектов по хранению и уничтожению высокотоксичных фосфорорганических соединений [3, 4, 5, 6].

Врачи, как правило, сталкиваются с пациентами, у которых последствия эндотелиальной дисфункции реализовались в сердечно-сосудистые заболевания. Рациональная терапия эндотелиальной дисфункции преследует цель по восстановлению равновесия эндотелиальных медиаторов, ограничению действия одних и компенсации дефицита других, что в конечном итоге приводит к нормализации дилататорного ответа

сосудов и межклеточных взаимодействий, индуцирующих процессы атерогенеза [5]. Важную роль в повреждении эндотелиоцитов при интоксикациях ФОС отводят не только прямому ангиотоксическому воздействию ксенобиотика, нарушению холинергической медиации, но и активации механизмов свободно-радикального окисления (СРО) [7, 8].

В предыдущих наших исследованиях показано формирование выраженной стойкой активации процессов образования активных форм кислорода (АФК) в плазме крови, недостаточности системы антиоксидантной защиты и активации показателей гиперкоагуляции при подострых интоксикациях ФОС [9]. Данные отклонения гомеостазиса в свою очередь приводят к формированию эндотелиальной дисфункции, играющей ключевую роль в патогенезе не только заболеваний органов кровообращения, но и болезней других классов у персонала объектов по хранению и уничтожению высокотоксичных химических веществ фосфорорганической природы.

Исходя из ключевой роли активации СРО в формировании эндотелиальной дисфункции, перспективным подходом к профилактике данной патологии является применение антиоксидантов. Широко используемые в клинической практике антиоксиданты α -токоферол, аскорбиновая кислота, селен, каротин, убихинон требуют сочетанного и длительного применения для достижения в конечном итоге слабовыраженного антиоксидантного и антигипоксантажного эффекта [9, 10]. Это послужило основанием для поиска и изучения новых антиоксидантов.

Для коррекции выявленных нарушений был выбран препарат «Гипоксен», действие которого направлено на уменьшение образования АФК и восстановление уровня антиоксидантов [11]. «Гипоксен» относится к соединениям, антиоксидантные свойства которых связаны с наличием в их структуре слабых фенольных гидроксильных групп. В молекуле «Гипоксена» насчитывается до 12 фенольных гидроксильных групп, способных связывать большое число свободных радикалов [11]. В основе антигипоксантажного действия «Гипоксена» лежит его способность шунтировать 1-й и 2-й комплексы дыхательной цепи митохондрий, обеспечивая непрерывность и интенсивность потока восстановленных эквивалентов с 1-го на 3-й комплекс дыхательной цепи, минуя убихиноновое звено. С другой стороны, «Гипоксен» изменяет конформационную структуру порфирина таким образом, что это приводит к уменьшению сродства к кислороду, одновременно модифицируя ионотранспортные системы эритроцита [12], что активирует систему транспорта кислорода от эритроцита к клеткам. Результирующим

эффектом действия «Гипоксена» является восстановление генерации макроэргов, нарушенной или прерванной различными патологическими процессами.

Цель исследования состояла в оценке влияния препарата «Гипоксен» на функциональное состояние эндотелиоцитов и показатели окислительного стресса у персонала объектов по хранению и уничтожению высокотоксичных химических веществ фосфорорганической природы.

Материалы и методы. В исследуемую группу включено 20 человек, работающих на объектах по хранению и уничтожению высокотоксичных химических веществ фосфорорганической природы, в возрасте от 25 до 42 лет (средний возраст - $36,1 \pm 4,6$ лет).

С целью фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции у персонала объектов использовали препарат «Гипоксен» (поли[дигидроксифенилен]тиосульфат натрия) в капсулах по 0,25 г (производитель ЗАО «Корпорация Олифен»). «Гипоксен» назначали в течение 7 суток 2 раза в день в суточной дозе 1,5 г (6 капсул - из расчета на среднюю массу тела 70-80 кг). Исследование изучаемых параметров производили до и после окончания лечения «Гипоксеном», то есть на 1 и 8 сутки наблюдения.

Вазомоторную функцию эндотелия оценивали в пробе с реактивной гиперемией (РГ) методом визуализации просвета плечевой артерии (ПА) с помощью ультразвукового аппарата ACUSON Sequoia 512, оснащенного линейным датчиком с частотой 7,0 МГц по методике, изложенной в «Guidelines for ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilatation of the brachial artery» Американской коллегии кардиологов (Corretti M.S. et al. 2002). При этом измеряли максимальную ($V_{\max}$) и минимальную ($V_{\min}$) скорости кровотока в ПА, среднюю скорость в течение всего сердечного цикла ($TAMx$), затем рассчитывали индекс резистивности (RI) и пульсаторный индекс (PI) по формулам (Дергачев А.И., Котляров П.М., 2003):

$$RI = (V_{\max} - V_{\min}) / TAMx$$

$$PI = (V_{\max} - V_{\min}) / V_{\max}$$

Для создания реактивной гиперемии на предплечье накладывали манжету прибора для измерения АД и создавали компрессию на 50 мм рт. ст. превышающую систолическое АД. Время компрессии составляло 5 мин, после чего производили декомпрессию и повторное измерение вышеперечисленных параметров. Затем рассчитывали индекс эндотелий-зависимой вазодилатации (ЭЗВД) плечевой артерии по формуле:

$$ЭЗВД = (D2 - D1) / D1 \times 100\%,$$

где D1 – исходный диаметр плечевой артерии, D2 – диаметр плечевой артерии, измеренный после пробы с реактивной

гиперемией.

Определение уровней нитритов, продуктов метаболизма оксида азота, проводили по реакции с реактивом Грисса. Забор крови у пациентов производили в утренние часы (8-9 часов), что по данным литературы соответствует базальному уровню оксида азота (Tanaka S., 1997).

Группу контроля составили 20 практически здоровых мужчин в возрасте от 18 до 35 лет (средний возраст - 26,2±1,2 лет), «химически-интактных», без факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний, проживающих в городе Санкт-Петербурге.

Статистический анализ проводили с использованием пакетов прикладных программ SPSS 8.0 (SPSS Inc.), Microsoft Excel 2010, Statistica for Windows 8.0. Результаты исследования представлены как $X \pm m_x * t_{95}$.

Результаты и их обсуждение. Результаты влияния препарата «Гипоксен» на показатели вазомоторной функции эндотелиоцитов у персонала объектов по хранению и уничтожению высокотоксичных фосфорорганических веществ приведены в таблице 1.

Таблица 1

Показатели ЭЗВД плечевой артерии и частота встречаемости нарушения вазомоторной функции эндотелия у персонала объектов по хранению и уничтожению высокотоксичных фосфорорганических веществ на фоне терапии препаратом «Гипоксен»

Параметры		Группа контроля, (n=20)	Исследуемая группа, (n=20)	
			До лечения	После лечения
Диаметр плечевой артерии, мм	исходный	42,1±0,6	48,4±2,1	47,5±1,7
	30 сек	47,0±0,5	52,3±3,3	52,7±0,9
	60 сек	46,4±0,6	50,0±2,5	51,9±1,6
	1 мин	-	52,5±2,4	50,4±3,3
	3 мин	-	56,0±1,5	55,0±2,4
	5 мин	-	57,3±2,1	56,9±3,1
Максимальная скорость кровотока в плечевой артерии	Исходная	0,53±0,01	0,38±0,04	0,40±0,03
	в начале рециркуляции	1,14±0,04	0,81±0,12	1,09±0,11

(Vmax), м/с	30 сек	0,73±0,02	0,53±0,08*	0,68±0,07
Индекс ЭЗВД, %	30 сек	11,5±0,9	8,1±3,8	10,9±3,6
	60 сек	10,2±1,1	3,7±2,8*	9,2±2,7
Парадоксальная реакция, чел (%)	30 сек	0 (0 %)	3 (15,0 %)	1 (5,0 %)
	60 сек	0 (0 %)	5 (25,0 %)	2 (10,0 %)
Сниженная ЭЗВД, чел (%)	30 сек	8 (40,0 %)	4 (20,0 %)	5 (25,0 %)
	60 сек	9 (45,0 %)	3 (15,0 %)	4 (20,0 %)
Нормальная ЭЗВД, чел (%)	30 сек	12(60,0 %)	3 (15,0 %)	4 (20,0 %)
	60 сек	11(55,0 %)	2 (10,0 %)	3 (15,0 %)
RI	исходный	1,18±0,02	1,11±0,04	1,18±0,05
	в начале рециркуляции	0,71±0,02	0,92±0,14	0,81±0,13
PI	исходный	6,81±0,44	5,74±0,56*	9,55±2,44
	в начале рециркуляции	1,05±0,08	4,19±1,89	2,71±1,28

* - достоверность различий средних показателей по t-критерию Стьюдента между группами до и после лечения при $p<0,05$.

Исходно у персонала объектов отмечалось нарушение функции эндотелиоцитов в виде снижения индекса ЭЗВД и Vmax в начале и на 30 сек рециркуляции, увеличения значений PI исходного и в начале рециркуляции, повышения уровня нитритов в плазме крови (таблица 2). На развитие эндотелиальной дисфункции у данной категории пациентов также указывает более высокая частота выявляемости парадоксального и сниженного типов дилатационной реакции плечевой артерии в пробе с реактивной гиперемией (таблица 1). Следует заметить, что формирование дисфункции эндотелиоцитов у персонала объектов по хранению и уничтожению высокотоксичных химических веществ фосфорорганической природы происходило на фоне активации механизмов свободнорадикального окисления (таблица 3).

«Гипоксен» оказывал положительное влияние на вазомоторную функцию эндотелиоцитов, которое заключалось в расширении дилатационного потенциала сосудов, а также увеличении максимальной скорости кровотока (Vmax). Так, индекс ЭЗВД достоверно увеличился к 60 сек рециркуляции с $3,7\pm2,8\%$ до $9,2\pm2,7\%$ ($p<0,05$), а на 30 сек рециркуляции имел тенденцию к увеличению с $8,1\pm3,8\%$ до $10,9\pm3,6\%$; Vmax в начале рециркуляции достоверно увеличилась с $0,81\pm0,12$ м/с до $1,09\pm0,11$ м/с ($p<0,05$), а на 30 сек рециркуляции - с $0,53\pm0,08$ м/с до $0,68\pm0,07$ м/с ($p<0,05$). Следует заметить, что восстановление дилатационного потенциала плечевой артерии на фоне терапии «Гипоксеном» было полным, а значения индекса ЭЗВД практически достигали 10 % нормативного порога.

Нельзя исключить, что ведущим механизмом увеличения дилатационного потенциала ПА, является увеличение биологической активности оксида азота. Применение препарата «Гипоксен» приводило к достоверному увеличению содержания нитритов в крови пациентов, занятых на объектах по хранению и уничтожению высокотоксичных химических веществ фосфорорганической природы, с $8,62 \pm 1,72$ ммоль/л до $14,37 \pm 4,06$ ммоль/л ($p < 0,05$), что указывало на повышение продукции оксида азота эндотелиальными клетками или уменьшение его деградации. Активность фактора Виллебранда в плазме крови на фоне терапии «Гипоксеном» не претерпевала достоверных изменений, но имела тенденцию к повышению с $105,7 \pm 14,4$ % до $115,8 \pm 11,8$ %, что по нашему мнению является не признаком ухудшения гемостазрегулирующей функции эндотелиоцитов, а компенсаторной реакцией эндотелиальных клеток на частые парентеральные инъекции, которые проводились данной категории пациентов с диагностической целью. Более того, в литературе мы не встречали данных относительно влияния данного препарата на уровень фактора Виллебранда.

Таблица 2

Уровни нитритов и активности фактора Виллебранда в крови персонала объектов по хранению и уничтожению высокотоксичных фосфорорганических веществ до и после лечения препаратом «Гипоксен»

Показатели	Группа контроля, (n=20)	Исследуемая группа, (n=20)	
		До лечения	После лечения
Нитриты, ммоль/л	$7,75 \pm 1,41$	$8,62 \pm 1,72^*$	$14,37 \pm 4,06$
Фактор Виллебранда, %	$101,8 \pm 4,6$	$105,7 \pm 14,4$	$115,8 \pm 11,8$

* - достоверность различий средних показателей по t-критерию Стьюдента между группами до и после лечения при $p < 0,05$.

С целью определения патофизиологических механизмов повышения уровня оксида азота, определяемого по концентрации нитритов крови, у персонала объектов по хранению и уничтожению высокотоксичных фосфорорганических веществ на фоне терапии «Гипоксеном», была произведена оценка влияния данного препарата на механизмы оксидативного стресса.

Таблица 3

Показатели СРО у персонала объектов по хранению и уничтожению высокотоксичных фосфорорганических веществ до и после лечения препаратом «Гипоксен»

Показатели	Группа контроля, (n=20)	Исследуемая группа, (n=20)	
		До лечения	После лечения
S, мВ/сек	10,69±0,78	13,74±1,46*	10,76±1,31
I _{max} , мВ	3,02±0,11	3,32±0,39*	2,55±0,34
S/ST _{max} , отн. ед.	6,72±0,73	13,63±1,33*	16,89±1,42

* - достоверность различий средних показателей по t-критерию Стьюдента между группами до и после лечения при $p < 0,05$.

Результаты влияния препарата «Гипоксен» на параметры прооксидантной и антиоксидантной систем у персонала объектов по хранению и уничтожению высокотоксичных химических веществ фосфорорганической природы приведены в таблице 3. «Гипоксен» оказывал положительное воздействие на параметры оксидативного стресса, которое заключалось в уменьшении продукции активных радикалов. Так, значения светосуммы (S) снижались с $13,74 \pm 1,46$ до $10,76 \pm 1,31$ мВ/сек ($p < 0,05$), а максимальной интенсивности сигнала (I_{max}) с $3,32 \pm 0,39$ до $2,55 \pm 0,34$ мВ ($p < 0,05$). При этом было отмечено увеличение показателя S/ST_{max}, характеризующего емкость системы антиоксидантной защиты, с $13,63 \pm 1,33$ отн. ед. до $16,89 \pm 1,42$ отн. ед. ($p < 0,05$).

Таким образом, на основании результатов, полученных в ходе данного исследования, можно сделать вывод о том, что патофизиологической основой улучшения вазомоторной функции эндотелиоцитов у персонала объектов по хранению и уничтожению высокотоксичных химических веществ фосфорорганической природы на фоне терапии препаратом «Гипоксен», является увеличение уровня нитритов плазмы крови, которое может быть следствием как повышения продукции эндотелиальными клетками оксида азота, так и уменьшения его деградации вследствие коррекции механизмов оксидативного стресса.

Выводы:

1. «Гипоксен» оказывает положительное влияние на вазомоторную функцию эндотелиоцитов у персонала объектов по хранению и уничтожению высокотоксичных химических веществ фосфорорганической природы, патофизиологической основой которого является увеличение биологической активности оксида азота на фоне коррекции процессов свободнорадикального окисления.

2. Антиоксидантный эффект «Гипоксена» у персонала объектов по хранению и уничтожению высокотоксичных фосфорорганических химических веществ проявляется

снижением уровня прооксидантной активности и увеличением емкости эндогенной системы антиоксидантной защиты.

Литература:

1. Петрищев Н.Н. Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция / Н.Н.Петрищев. – СПб.: Изд-во СПбГМУ, 2003. – 184 с.
2. Lusher T.F. Biology of the endothelium / T.F.Lusher, M.Barton // Clin. Cardiol. – 1997. – Vol.10 (Suppl. 11). – P. 3 – 10.
3. Василюк В.Б. Эндотелиальная дисфункция и ее возможные механизмы формирования у персонала объектов хранения и уничтожения химического оружия / В.Б.Василюк // Вестник Рос. Воен.-мед. академии. – 2008. – №1 (21), прил. – С. 218 – 224.
4. Сосюкин А.Е. Изменение биологического возраста военнослужащих с полиморбидной сердечно-сосудистой патологией, проходящих службу на объектах по хранению и уничтожению химического оружия / А. Е.Сосюкин, А.С.Парцерняк, В.Б.Василюк [и др.] // Российский Химический Журнал (ЖРХО им. Д. И. Менделеева). – 2010. – Т. 54, № 4. – С. 144 – 147.
5. Шестакова М.В. Дисфункция эндотелия - причина или следствие метаболического синдрома? / М.В.Шестакова // Рос.мед. журн. – 2001. – Т.9, №2. – С. 88 – 93.
6. Фомичев А.В. Исследование функциональной активности эндотелиоцитов у лиц, работающих с высокотоксичными химикатами фосфорорганической природы / А.В.Фомичев, В.Б.Василюк, О.В.Ветряков, В.А.Горичный // Столетие инфильтрационной теории атеросклероза академика Н.Н.Аничкова: Мат круглого стола Всерос. науч. конф. с межд. участием. – СПб.: ВМедА, 2013. – С11-12.
7. Плужников Н.Н. Отдаленные органофосфатные нейропатии: механизмы формирования и подходы к оценке риска инвалидизации при отравлениях на объектах по хранению и уничтожению химического оружия / Н.Н. Плужников, С.В. Чепур, В.Н. Быков [и др.] // Научно-технические аспекты обеспечения безопасности при уничтожении, хранении и транспортировке химического оружия: мат. 2-ой научно-практич. конференции / НТЦ ФУ БХУХО. – М., 2004. – С. 144-155.
8. Прозоровский В.Б., Чепур С.В. Новые данные о несинаптических (дистантных) эффектах фосфорорганических ингибиторов холинэстеразы (обзор литературы) /

- В.Б.Прозоровский, С.В.Чепур // Токсикологический вестник. – 2001. – Вып. 4 – С. 2-7.
9. Юдин М.А. Подходы к фармакологической коррекции изменений, вызванных подострым введением фосфатидилтиохолина у крыс / М.А.Юдин, В.Н.Быков, С.В.Чепур, В.Б.Василук // Актуальные проблемы и перспективы развития военной медицины: науч. тр. НИИЦ (МБЗ) ГНИИИВМ МО РФ. – Т. 6. – СПб., 2006. – С. 314-325.
10. Плужников Н.Н. Цитопротекция: фундаментальные и прикладные проблемы / Н.Н.Плужников, А.Б.Белевитин, С.В.Чепур [и др.] // Вестник Рос. Воен.-мед. академии. – 2008. – №1 (21), прил. – С. 3 – 49.
11. Румянцева С.А., Кравчук А.А., Силина Е.В. Антиоксиданты в терапии цереброваскулярных заболеваний / С.А.Румянцева, А.А.Кравчук Е.В.Силина // Лечащий врач. – 2006. – №5. – С. 39 – 43.
12. Смирнов В.С. Гипоксен / В.С.Смирнов, М.К.Кузьмич. – М. – СПб., 2001. – 36 с.