

И.В. Кудяева, О.В. Попкова

ОКСИД АЗОТА КАК ВОЗМОЖНАЯ МИШЕНЬ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПРИ НЕЙРОИНТОКСИКАЦИЯХ ПРОИЗВОДСТВЕННЫМИ ФАКТОРАМИ

Ангарский филиал ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН – НИИ медицины труда и экологии человека (Ангарск)

Представлены результаты содержания оксида азота в крови у работающих в контакте с ртутью и винилхлоридом и у лиц в отдаленном периоде интоксикации ртутью. Сниженные уровни оксида азота рассматриваются в качестве одного из механизмов формирования и прогрессирования основной и сопутствующей патологии у обследованных лиц.

Ключевые слова: оксид азота, ртуть, винилхлорид, нейротоксиканты

NITRIC OXIDE AS A POSSIBLE TARGET OF PATHOGENETIC THERAPY AT THE NEUROINTOXICATION BY INDUSTRIAL FACTORS

I.V. Kudaeva, O.V. Popkova

Research Institute of Occupational Health and Human Ecology ESSC HE SD RAMS, Angarsk

The article presents the results of content of nitric oxide in blood of workers exposed by mercury and vinyl chloride, and in people in the remote period of mercury intoxication. Reduced levels of nitric oxide are considered as one of the mechanisms development and progressing of basic and concomitant pathology in examined people.

Key words: nitric oxide, mercury, vinyl chloride, neurotoxicants

В 1998 году американские ученые Louis J. Ignarro, Ferid Murad и Robert F. Furchgott были награждены Нобелевской премией по физиологии и медицине за установление функциональной роли оксида азота (NO) в работе сердечно-сосудистой системы. С тех пор накоплен большой клинический и экспериментальный материал, позволивший установить ферменты, отвечающие за синтез NO, отдельные молекулярные механизмы его физиологических и патофизиологических эффектов, а также разработать препараты, обладающие активирующей и ингибирующей способностью в отношении синтеза NO.

Современное представление о механизме реализации биохимического действия NO хорошо изучено в отношении сосудистой системы. Установлено, что данное соединение как мощный эндогенный вазодилататор принимает участие в регуляции системного и легочного сосудистого сопротивления и процессах коагуляции крови [12]. Исходное образование NO на короткий период повышается в ответ на физическую и химическую стимуляцию в сосудистом эндотелии. Увеличение его синтеза осуществляется также под влиянием ацетилхолина, брадикинина, 5-гидрокситриптамина, адениловых нуклеотидов [2]. В то же время NO необратимо инактивируется в реакции с гемоглобином в просвете кровеносного сосуда, с супероксидным радикалом — в его стенке [1], а взаимодействие NO с кислородом сопровождается образованием стабильных конечных продуктов (NO_x) — нитритов и нитратов, которые являются косвенными маркерами его концентрации.

При эссенциальной и вторичной артериальной гипертонии (АГ) в первую очередь страдает функция эндотелия резистивных артерий, снижается

регулирующее влияние NO на сосудистый тонус и адгезию тромбоцитов к сосудистому эндотелию, в связи с чем обоснованным является исследование уровня данного анализа при сердечно-сосудистых заболеваниях. Учитывая, что одними из наиболее частых сопутствующих патологий у работающих, экспонированных ртутью, и лиц в отдаленном периоде интоксикации ртутью являются АГ, имеющая склонность к прогрессированию и трудно поддающаяся коррекции, а также ишемическая болезнь сердца (ИБС), а у лиц, контактирующих в производственных условиях с винилхлоридом, АГ занимает третье ранговое место [4], актуальным является изучение уровня NO в крови у представителей вышеперечисленных групп, что явилось целью проводимого нами исследования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В условиях клиники Ангарского филиала ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН в динамике с интервалом в 4 года обследованы работающие в контакте с винилхлоридом (ВХ) (средний возраст — 44,3 ± 1,1 лет) и ртутью (средний возраст — 41,5 ± 2,1 лет), а также пациенты с хронической ртутной интоксикацией (средний возраст — 49,5 ± 1,2 лет) в отдаленном постконтактном периоде, основным проявлением которой являлась токсическая энцефалопатия (ТЭ). В качестве сопутствующего заболевания в последнем случае у 76,7 ± 7,4 и 54,7 ± 7,9 % обследованных отмечалась АГ и ИБС соответственно [4]. Врачами клиники по результатам неврологического и психологического обследования работающих были сформированы группы клинического риска, включающие доклиническую или клиническую стадию нарушений нервно-психической сферы (НПС). Со-

путствующая патология у работающих в контакте с ртутью в $36,1 \pm 6,0\%$ случаев характеризовалась АГ 1-й и 2-й степени и в $8,3 \pm 2,8\%$ – ИБС, при контакте с ВХ артериальная гипертензия определялась у $23,6 \pm 4,8\%$ обследуемых [4]. Исследования выполнены с информированного согласия обследуемых и соответствуют этическим нормам Хельсинкской декларации (2000) и Приказа Минздрава РФ № 266 (от 19.06.2003).

Содержание суммарных метаболитов оксида азота определяли спектрофотометрическим методом с использованием реактива Грисса [3]. Статистическую обработку результатов осуществляли при помощи ППП «Statistica 6.0». Для парного сравнения связанных выборок применяли тест Вилкоксона. Сравнение несвязанных групп осуществляли непараметрическим U-критерием Манна – Уитни. Результаты исследований представлены в виде медианы, верхнего (Q25) и нижнего (Q75) квартилей.

Авторы выражают глубокую благодарность с.н.с. лаборатории биохимии Л.Б. Маснавиевой за оказанную помощь в проведении лабораторных исследований.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенного обследования было установлено, что среднее содержание NO_x в сыворотке крови работающих, контактирующих в производственных условиях с ртутью, было ниже нормативных ($32,5 - 45,6$ мкмоль/л) и контрольных величин ($36,7 \pm 16,2$ мкмоль/л) и составило $26,24$ ($20,41 - 34,55$) и $27,83$ ($21,51 - 36,18$) мкмоль/л при первом и повторном обследовании соответственно. Анализ уровня NO_x у работающих со стажем экспозиции ртутью до 15 лет не выявил статистически значимых различий в динамике обследования, максимальное его увеличение отмечалось у лиц, проработавших более 15 лет (рис. 1).

При исследовании концентрации изучаемого аналита при воздействии ртути в зависимости от степени выраженности нарушений нервной системы было зарегистрировано статистически значимое ее снижение в динамике обследования у лиц с клинической стадией нарушений НПС (на $30,9\%$ ($-45,8; 23,4$) – с $31,2$ ($25,1 - 38,8$) до $23,0$ ($16,2; 35,20$)) и у пациентов с проявлениями ТЭ (на $28,7\%$ ($-51,5; -17,7; p = 0,0008$)), выходящее за пределы нижней референсной границы.

Хроническая экспозиция ВХ в производственных условиях не приводила к изменению уровня NO_x у работающих всех стажевых групп в динамике обследования. В то же время в когортах лиц, отработавших 5–9 лет и 10–15 лет, их концентрация при первом обследовании была статистически значимо выше, чем в двух других выборках (рис. 2). Рассматривая в динамике воздействия ВХ содержание NO_x у работающих в зависимости от выраженности нарушений НПС, было установлено, что снижение их уровня на $17,3\%$ ($-36,8; 3,7$) у лиц с клинической стадией ($p = 0,001$) (рис. 3) имело менее выраженный характер, чем у обследуемых аналогичной группы риска, контактировавших с ртутью.

Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать несколько предположений и выводов. Во-первых, более высокий уровень NO_x у работающих со стажем экспозиции ВХ от 5 до 15 лет, по сравнению с лицами других стажевых групп, можно оценить как общебиологическую адаптационную реакцию. При этом следует учитывать, что, с одной стороны, активация синтеза NO рассматривается в качестве одного из источников инициации свободных перекисных радикалов. С другой стороны, NO , продуцируемый клетками эндотелия, является вазодилататором, реализует синергичное влияние ацетилхолина и брадикинина, противостоит сосудосуживающему действию

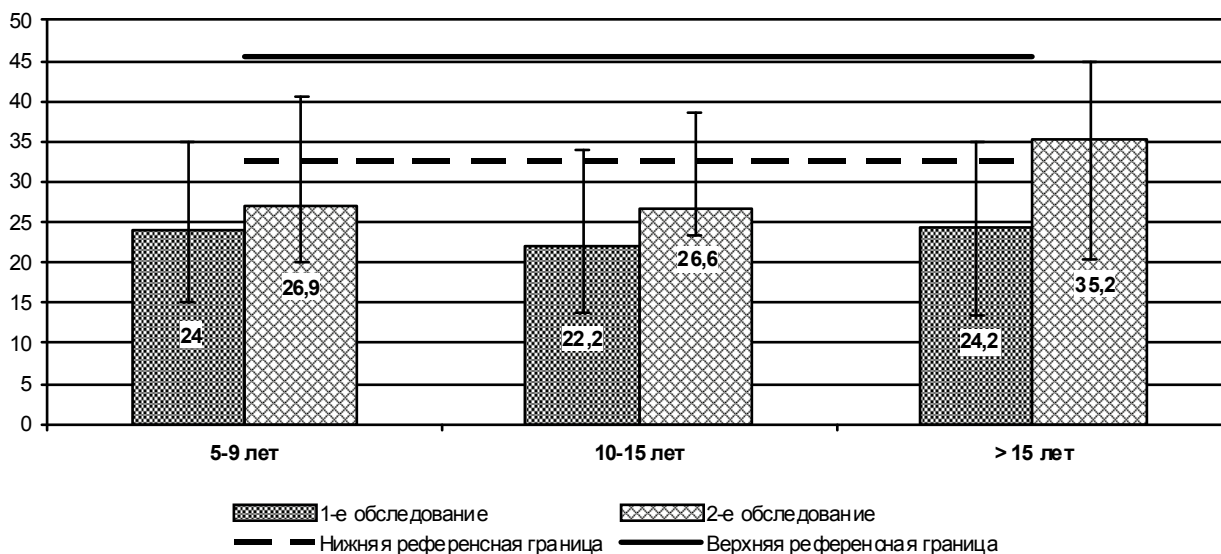


Рис. 1. Содержание оксида азота в крови работающих разных стажевых групп, экспонированных ртутью, в динамике обследования. Результаты представлены в виде медианы и интерквартильных отрезков.

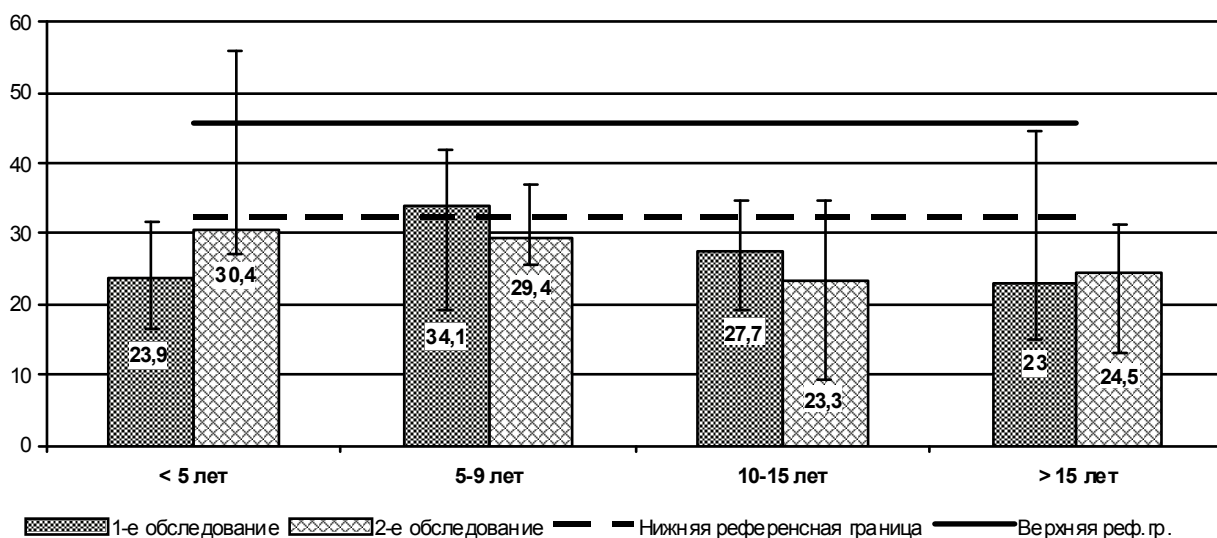


Рис. 2. Содержание оксида азота в крови работающих разных стажевых групп, экспонированных винилхлоридом, в динамике обследования. Результаты представлены в виде медианы и интерквартильных отрезков.

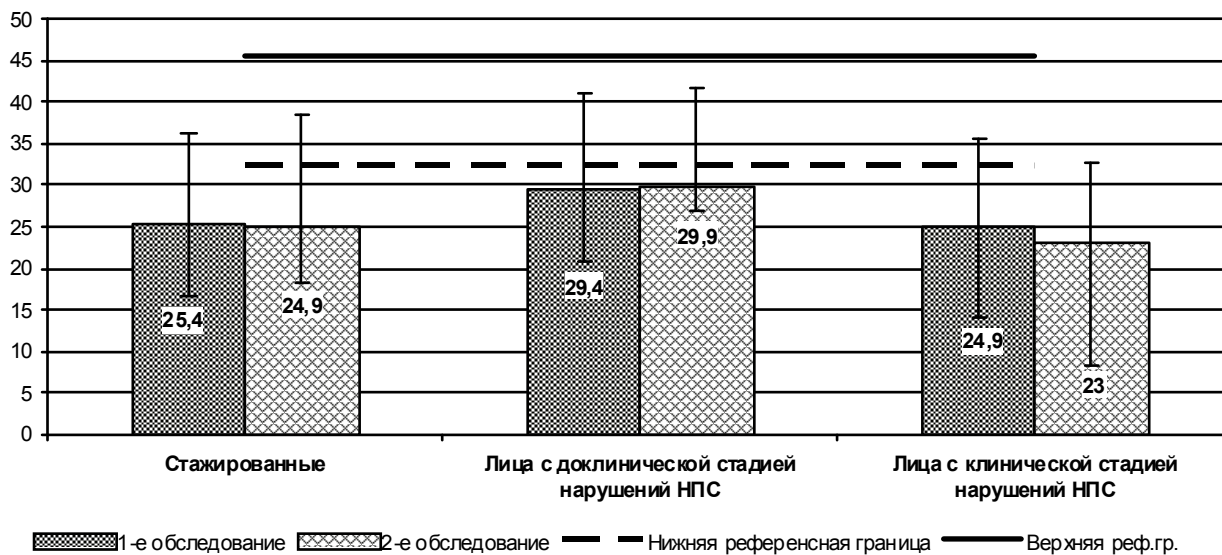


Рис. 3. Содержание оксида азота в крови работающих с разной степенью нарушений нервно-психической сферы, экспонированных винилхлоридом, в динамике обследования. Результаты представлены в виде медианы и интерквартильных отрезков.

эндотелина, препятствует высвобождению норадреналина в синапсах симпатических нейронов, обладает противовоспалительным действием и др. [1], и его увеличение в пределах референсных границ способствует сохранению нормальной гемодинамики. При воздействии ртути как более сильного токсиканта зарегистрировать аналогичную реакцию не удалось. Вполне возможно, что в этом случае она возникает гораздо раньше — в первые годы экспозиции.

Вторым установленным фактом является снижение уровня NO_x в динамике воздействия и ртути, и ВХ у лиц с разной степенью клинического риска, которое приобретало статистическую значимость, начиная с клинической стадии нарушений НПС, и сохранялось у обследованных с ТЭ. При этом степень его изменения при одной и той же стадии патологии нервной системы у работающих в

контакте с ВХ была меньше, чем при экспозиции ртутью. Необходимо отметить, что снижение концентрации NO в крови рассматривается как один из факторов риска развития ишемических нарушений, АГ и других заболеваний. В частности, при гипертонии отмечается уменьшение уровня NO_x , обусловленное снижением активности эндотелиальной синтазы NO (eNOS) [7]. Учитывая, что ее индукция зарегистрирована и в эндотелии микрососудов, располагающихся внутри астроцитов островков, и на их границе с окружающей тканью [9], можно предположить, что даже локальное снижение уровня NO может способствовать развитию ишемических нарушений в мозге и провоцировать увеличение проницаемости ГЭБ. В то же время следует отметить, что NO обладает и цитотоксическим эффектом, который потенцируется при взаимодействии с супероксидным радикалом с образо-

ванием пероксинитрита. Последний распадается на высокореактивные свободные радикалы ОН и NO₂ — окончательные эффекторы токсичности NO, вызывающие, в том числе, нейродеструкцию [9], которая сопровождается формированием и прогрессированием ТЭ.

Обсуждая возможные механизмы изменения уровня NO у лиц, экспонированных производственными нейротоксикантами, следует отметить, что зарегистрированная у них гиперхолестеринемия [5] может рассматриваться как компенсаторный механизм поддержания уровня NO в период до формирования клинической стадии нарушений НПС. В то же время снижение уровня холестерина (ХС) липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) и увеличение ХС липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), также установленные у данных работающих [5], являются факторами риска снижения уровня NO. В частности, показано, что окисленные ЛПНП тормозят высвобождение NO эндотелиальными клетками и уменьшают эндотелий-зависимую вазодилатацию за счет нарушений в передаче сигналов на уровне мембран, подавления образования NO и увеличения скорости его инактивации [15]. Кроме того, окисленные ЛПНП подавляют синтез NO в тромбоцитах, стимулируют их агрегацию, образование тромбоксана А₂ и серотонина, обладающих вазоконстрикторными свойствами. Другим важным механизмом снижения уровня NO, вызываемым ЛПНП, является нарушение ими сопряжения L-аргинина и eNOS; создание условий, препятствующих осуществлению реакции окисления eNOS L-аргинина [6]. При этом окисленные ЛПНП лишают кавеолы (специализированные Q-образные участки длиной 50 – 100 нм в эндотелиальных клетках плазматической мембраны) ХС, что приводит к вытеснению eNOS из них, и нарушается процесс ее активации, подавляя образование NO. ЛПВП, наоборот, поддерживают нормальное содержание ХС в кавеолах (способствуя поглощению его эфиров), повышая образование NO [14].

Учитывая все вышеизложенное, необходимо отметить, что выяснение механизмов развития дисфункции эндотелия (ДЭ) при воздействии нейротоксикантов, изучение в этом процессе роли NO и атерогенных эффектов окисленных ЛПНП представляют не только теоретический, но и практический интерес. Успехи в данной области могут служить основой для разработки методов профилактики и лечения атеросклероза и ДЭ, а также заболеваний, основой развития или прогрессирования которых являются данные патологические процессы.

В настоящее время существуют немедикаментозные и медикаментозные методы коррекции уровня NO в крови. К первым относится озонотерапия. Установлено, что озон влияет одновременно на несколько звеньев: поддержание равновесия в окислительно-антиоксидантной системе, регуляцию эндотелиальной NO-продукции, снижение адгезивно-агрегационной активности тромбоцитов [13]. Имеются свидетельства об NO-синтезирующем

эффекте при применении неполяризованного света, а также при динамической электронейростимуляции [10]. Одним из наиболее эффективных, безопасных и легко осуществимых методов повышения уровня NO, устранения его дефицита и вызываемой этим дефицитом ДЭ сосудов считается введение в организм L-аргинина [8]. Среди медикаментозных методов коррекции уровня NO следует отметить применение ингибиторов ангиотензинконвертирующего фермента, антигипертензивный эффект которых тесно связан с функцией NO; β₁-адреноблокатора Небилета с NO-опосредованными вазодилатирующими свойствами за счет активации ГМФ и стимуляции β₃-адренорецепторов и эстрогеновых рецепторов; блокаторов рецепторов ангиотензина-2, основной механизм действия на систему NO у которых заключается в блокаде ангиотензин-1-рецепторов, приводящей к снижению продукции супероксидных радикалов, уменьшению связывания NO и его накоплению [6, 11]. Кроме этого, важной является коррекция и профилактика нарушений липидного обмена, не только включающая снижение концентрации ЛПНП, но и способствующая увеличению уровня ЛПВП.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установленное снижение концентрации метаболитов оксида азота у работающих в контакте с ртутью и винилхлоридом с клинической стадией нарушений нервно-психической сферы и у обследованных с ртутной интоксикацией в отдаленном периоде является фактором риска развития и прогрессирования, а также точкой приложения патогенетической терапии и профилактики как основного заболевания (токсическая энцефалопатия), так и сопутствующей сосудистой патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ванин А.Ф. Оксид азота в биомедицинских исследованиях // Вестник РАМН. — 2000. — № 4. — С. 3–5.
2. Волин М.С., Дэвидсон К.А. Механизмы передачи сигнала оксидант — оксид азота в сосудистой ткани // Биохимия. — 1998. — Т. 63, № 7. — С. 958–965.
3. Голиков П.П., Николаева Н.Ю. Метод определения нитрита/нитрата (NO_x) в сыворотке крови // Биомедицинская химия. — 2004. — № 1. — С. 79–85.
4. Катаманова Е.В. Нарушения функциональной активности мозга при профессиональном воздействии нейротоксикантов: автореф. дис. Д-ра мед. наук. — Иркутск, 2012. — 47 с.
5. Кудалева И.В., Бударина Л.А., Маснавиева Л.Б. Закономерности нарушений биохимических процессов при воздействии нейротоксичных веществ различной природы // Медицина труда и промышленная экология. — 2008. — № 8. — С. 7–12.
6. Малахов В.О. Начальные стадии хронических церебральных ишемий (патогенез, клиника, лечение, профилактика). — Харьков, 2004. — 228 с.

7. Манухина Е.Б. Оксид азота в сердечно-сосудистой системе: роль в адаптационной защите // Вестник РАМН. — 2000. — № 4. — С. 16–21.

8. Марков Х.М. L-аргинин — оксид азота в терапии болезней сердца и сосудов // Кардиология. — 2005. — № 6. — С. 87–95.

9. Раевский К.С. Оксид азота — новый физиологический мессенджер: возможная роль при патологии центральной нервной системы // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1997. — Т. 123, № 5. — С. 53–64.

10. Сеченкова Н.М. Динамика клинико-биохимических показателей в процессе комплексного лечения неспецифических люмбалгий: автореф. дис. ... канд. мед наук. — Пермь, 2010. — 30 с.

11. Тащук В.К. V Международный конгресс «Оксид азота и его роль в сердечно-сосудистой

патологии // Новости медицины и фармации. — 2007. — № 10. — С. 7–9.

12. Boger R.H. Biochemical evidence for impaired nitric oxide synthesis in patients with peripheral arteriolar occlusive disease // Circulation. — 1997. — Vol. 95. — P. 2068–2074.

13. Bogousslavsky J. The global stroke initiative, setting the context with the International Stroke Society // J. Neurol. Sciences. — 2005. — Vol. 238, N1. — P. 166.

14. Gerova M. Nitric oxide compromised hypertension: facts and enigmas // Physiol. Res. — 2000. — Vol. 49. — P. 27–35.

15. Zamora R., Vodovotz V., Billiar T.R. Inducible nitric oxide synthase and inflammatory diseases // Molec. Med. — 2000. — Vol. 6, N 5. — P. 347–373.

Сведения об авторах

Кудаева Ирина Валерьевна — кандидат медицинских наук, доцент, заведующая клинико-диагностической лабораторией, руководитель лаборатории биохимии Ангарского филиала ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН — НИИ медицины труда и экологии человека (665827, г. Ангарск, а/я 1170; тел.: 8 (3955) 55-96-63; e-mail: kudaeva_irina@mail.ru)

Попкова Ольга Вячеславовна — младший научный сотрудник лаборатории биохимии Ангарского филиала ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН — НИИ медицины труда и экологии человека (тел.: 8 (3955) 55-40-86; e-mail: angpovolga@mail.ru)