

calls-for-an-end-to-centuries-old-practice-of-baby-boxes (дата обращения 05.03.2023).

Сведения об авторах

Р. М. Саттаров* – студент

Л. А. Наумова – ассистент кафедры

Information about the author

R. M. Sattarov* – student

L. A. Naumova - Department assistant

***Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):**

lomonosovolymp28@gmail.com

УДК 577.112.386.2:577.161.3:612.014.464-092.4:615.012

СПОСОБ КОРРЕКЦИИ ОКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО РАВНОВЕСИЯ В ЛЕГКИХ НОВОРОЖДЕННЫХ МОРСКИХ СВИНОК В УСЛОВИЯХ ГИПЕРОКСИИ

Ренат Маратович Саттаров, Анастасия Сергеевна Матюхевич, Жанна

Александровна Рутковская

Кафедра биологической химии

УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Минск, Республика Беларусь

Аннотация

Введение. Бронхолегочная дисплазия (БЛД) – это полиэтиологическое хроническое заболевание морфологически незрелых легких, развивающееся у недоношенных новорожденных в результате интенсивной терапии респираторного дистресс-синдрома. Факторами риска БЛД являются недостаточность антиоксидантов и сурфактанта на фоне действия высоких концентраций кислорода при проведении искусственной вентиляции легких. Дефицит витамина Е способствует избыточному образованию активных форм кислорода и усугубляет острое гипероксическое повреждение легких. Несмотря на многочисленные исследования по изучению БЛД недоношенных, поиск наиболее оптимальных способов коррекции этой патологии остается актуальным. **Цель исследования** – изучить влияние токоферола в составе липосом при ингаляционном введении на состояние системы оксиданты-прооксиданты у новорожденных животных в условиях гипероксии. **Материал и методы.** Использовали новорожденных морских свинок, которые находились в условиях экспериментальной гипероксии. Липосомы с α -токоферолом вводили ингаляционно с помощью небулайзера. В бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ) определяли содержание продуктов окислительной модификации липидов и белков, ферментативных антиоксидантов и активность глутатионзависимых ферментов. **Результаты.** Введение липосом с α -токоферолом новорожденным морским свинкам, которые подверглись длительной гипероксии, повышает содержание витамина Е и небелковых SH-соединений, а также увеличивает активность глутатионпероксидазы в БАЛЖ. На фоне роста активности антиоксидантов снижается содержание продуктов

перекисного окисления липидов и карбонильных производных белков в БАЛЖ. **Выводы.** Ингаляционное введение липосом с токоферолом нормализует оксидантно-антиоксидантное равновесие в легких новорожденных морских свинок в условиях длительной гипероксии.

Ключевые слова: липосомы, α -токоферол, новорожденные морские свинки, гипероксия.

METHOD FOR CORRECTION OF OXIDANT-ANTIOXIDANT EQUILIBRIUM IN LUNGS OF NEWBORN GUINEA PIGS UNDER HYPEROXY

Renat M. Sattarov, Anastasiya S. Matyukhevich, Zhanna. A. Rutkovskaya

Department of Biological Chemistry

Belarusian state medical university

Minsk, Republic of Belarus

Abstract

Introduction. Bronchopulmonary dysplasia (BPD) is a polyetiological chronic disease of morphologically immature lungs that develops in premature newborns as a result of intensive care for respiratory distress syndrome. Risk factors for BPD are antioxidant and surfactant deficiency against the background of high oxygen concentrations during mechanical ventilation. Vitamin E deficiency contributes to the excess formation of reactive oxygen species and exacerbates acute lung damage by hyperoxia. Despite numerous studies on the study of BPD in preterm infants, the search for the most optimal ways to correct this pathology remains relevant. **The purpose of the study** – to study the effect of tocopherol in the composition of liposomes upon inhalation administration on the state of the oxidant-prooxidant system in newborn animals under hyperoxia. **Material and methods.** Newborn guinea pigs were used, which were under conditions of experimental hyperoxia. Liposomes with α -tocopherol were administered by inhalation using a nebulizer. In the bronchoalveolar lavage fluid (BALF), the content of products of oxidative modification of lipids and proteins, non-enzymatic antioxidants and the activity of glutathione-dependent enzymes were determined. **Results.** The administration of liposomes with α -tocopherol to newborn guinea pigs that have undergone prolonged hyperoxia increases the content of vitamin E and non-protein SH compounds, and also increases the activity of glutathione peroxidase in BALF. Against the background of an increase in the activity of antioxidants, the content of lipid peroxidation products and protein carbonyl derivatives in BALF decreases. **Conclusions.** Inhalation administration of liposomes with tocopherol normalizes the oxidant-antioxidant balance in the lungs of newborn guinea pigs under prolonged hyperoxia.

Keywords: liposomes, alpha-tocopherol, newborn guinea pigs, hyperoxia

ВВЕДЕНИЕ

Снижение младенческой смертности является одной из важнейших задач современной медицины и обеспечивается, в том числе, выхаживанием недоношенных детей. Из-за морфологической и функциональной

недостаточности легочных структур таким детям проводят искусственную вентиляцию легких (ИВЛ) с высокими концентрациями кислорода. Недостаточность антиоксидантов и незрелость сурфактанта на фоне гипероксии при проведении ИВЛ увеличивает риск развития бронхолегочной дисплазии (БЛД). У плода система антиоксидантной защиты развивается в третьем триместре беременности, поэтому недоношенные младенцы более подвержены воздействию оксидативного стресса.

Патогенетическое лечение БЛД можно реализовать путем введения антиоксидантов, например α -токоферола. Литературные источники указывают на то, что дефицит витамина Е приводит к избыточному образованию активных форм кислорода и усугубляет острое гипероксическое повреждение легких, связанное с воспалением и повышенным окислительным стрессом [1]. Несмотря на многочисленность проведенных клинико-экспериментальных исследований по изучению БЛД недоношенных, поиск наиболее оптимальных способов и средств коррекции этой патологии остается актуальным.

Цель исследования – изучить влияние токоферола в составе липосом при ингаляционном введении на содержание антиоксидантов (α -токоферола, SH-содержащих соединений), активность глутатионпероксидазы (ГП), содержание продуктов липопероксидации и карбонильных производных белков в бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ) и легких новорожденных животных в условиях длительной гипероксии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

При выполнении исследования соблюдались нормы биомедицинской этики. Эксперимент проводился с использованием новорожденных морских свинок, находившихся на стандартном рационе вивария БГМУ.

Использовали 4 группы животных: 1 группа – контрольная (животные дышали обычным воздухом); 2 группа – животные, которые получали ингаляционно α -токоферол в составе липосом (12,5 мг/кг в 0,1 М фосфатном буфере, ингаляции проводили 1 раз в двое суток с помощью компрессорного небулайзера); 3 группа – животные, которые подверглись воздействию гипероксии (для создания условий гипероксии новорожденных животных помещали в плексигласовую камеру, где поддерживали концентрацию кислорода не менее 70%, длительность гипероксии составляла 3 и 14 суток); 4 группа – животные, которые во время воздействия гипероксии получали ингаляционно α -токоферол в составе липосом (ингаляции проводили тем же раствором и с той же частотой, что и в группе 2). По окончании эксперимента животных наркотизировали тиопенталом натрия (15 мг/кг) и для исследования получали бесклеточный супернатант БАЛЖ, в котором определяли активность глутатионпероксидазы (ГП), содержание восстановленного глутатиона и других небелковых SH-соединений, токоферола, а также содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-активные продукты), диеновых конъюгатов (ДК), оснований Шиффа (ОШ) и карбонильных производных белков.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistica 6,0. Анализ осуществлялся с использованием критерия

Колмогорова-Смирнова и непараметрического U-теста Манна-Уитни для независимых выборок. Значения коэффициентов считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Абсолютные значения показателей представлены в таблице 1. Кратковременное воздействие гипероксии продолжительностью 3 суток привело к снижению активности ГП в 2,3 раза ($p < 0,05$) в БАЛЖ и к снижению содержания токоферола в легких в 1,7 раза ($p < 0,05$). В эти же сроки у животных увеличилось содержание ДК и карбонильных производных белков 2,8 раза в 4,6 раза соответственно ($p < 0,05$). Увеличение продолжительности гипероксии до 14 суток привело к снижению содержания небелковых SH-соединений в БАЛЖ более чем на 32%, уменьшению содержания токоферола более чем на 38% и снижению активности ГП более чем на 69%. Содержание карбонильных производных в эти сроки воздействия гипероксии достоверно не изменилось, а концентрация ТБК-активных продуктов и ДК выросла в 1,9 и 1,7 раза соответственно ($p < 0,05$).

Таблица 1

Влияние липосом с α -токоферолом на содержание антиоксидантов и продуктов перекисной модификации липидов и белков в БАЛЖ и легких новорожденных морских свинок в условиях гипероксии

Показатель	Группа		Без коррекции	+ α -токоферол
Небелковые SH-соединения в БАЛЖ, нмоль/мг белка	3 суток	контроль	61,2 (40,4 – 89,3)	49,2 (44,1 – 65,4)
		гипероксия	84,4 (63,7 – 112,4)	69,3 (39,8 – 93,7)
	14 суток	контроль	111,7 (60,2 – 178,6)	145,3 (112,2 – 162,2)
		гипероксия	75,8 (36,7 – 121,3)*	117,9 (113,0 – 125,6)^
Глутатионпероксидаза в БАЛЖ, нмоль/мин/мг белка	3 суток	контроль	86,5 (62,8 – 99,0)	59,1 (50,0 – 63,6)
		гипероксия	37,2 (12,1 – 65,5)*	73,8 (66,4 – 96,2)^
	14 суток	контроль	49,5 (29,5 – 62,1)	95,2 (36,5 – 133,1)
		гипероксия	15,2 (0 – 20,2)*	68,1 (62,5 – 78,1)^
Токоферол, нмоль/мг белка/г ткани	3 суток	контроль	296,3 (222,1 – 410,9)	84,9 (70,9 – 104,0)*
		гипероксия	170,7 (152,7 – 250,6)*	191,7 (117,6 – 264,2)
	14 суток	контроль	305,4 (218,2 – 367,2)	193,2 (138,3 – 238,3)*
		гипероксия	188,3 (133,4 – 314,4)*	376,6 (353,5 – 441,3)^
Диеновые конъюгаты, е.и.о.	3 суток	контроль	1,32 (1,00 – 1,38)	1,88 (1,23 – 2,66)
		гипероксия	3,69 (2,21 – 4,37)*	2,50 (2,08 – 4,50)*
	14 суток	контроль	2,18 (1,45 – 2,42)	1,29 (1,24 – 1,36)*
		гипероксия	3,66 (2,06 – 4,3)*	2,52 (2,19 – 2,89)
ТБК-активные продукты, нмоль/мкмоль о.л.фосфора	3 суток	контроль	8,93 (8,16 – 15,3)	10,19 (9,20 – 13,66)
		гипероксия	12,27 (10,37 – 20,37)	4,32 (4,27 – 13,45)
	14 суток	контроль	4,52 (3,75 – 7,39)	4,83 (3,81 – 5,25)
		гипероксия	8,67 (5,25 – 18,45)*	4,05 (3,18 – 4,44)^
Основания Шиффа, е.и.о.	3 суток	контроль	0,29 (0,24 – 0,30)	0,32 (0,21 – 0,38)
		гипероксия	0,36 (0,27 – 0,92)	0,24 (0,18 – 0,35)
	14 суток	контроль	0	0,01 (0,01 – 0,01)
		гипероксия	0,75 (0,63 – 0,90)*	0,44 (0,23 – 0,65)*^
Карбонильн. производные,	3 суток	контроль	13,18 (10,69 – 7,62)	12,21 (8,04 – 15,76)
		гипероксия	60,09 (26,04 – 73,57)*	51,11 (26,01 – 58,81)

нмоль/мг белка	14 суток	контроль	24,23(20,58 – 25,95)	17,49(16,14 – 18,92)
		гипероксия	33,09(14,39 – 46,25)	15,53(13,09–20,28)*^

Примечание – * - $p < 0,05$ по сравнению с соответствующей группой «контроль без коррекции» (на сером фоне), ^ - $p < 0,05$ по сравнению с соответствующей группой «гипероксия без коррекции» (на сером фоне). α -токоферол – липосомы с α -токоферолом.

После введения липосом с α -токоферолом у морских свинок, подвергавшихся гипероксии в течение 14 суток содержание токоферола возросло в 2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с группой «гипероксия без коррекции» и нормализовались показатели системы глутатион/глутатионзависимые ферменты: содержание небелковых SH-соединений увеличилось более чем в 1,5 раза ($p < 0,05$), а активность ГП возросла в 4,4 раза ($p < 0,05$) по сравнению с группой «гипероксия без коррекции».

В условиях 14-суточной гипероксии введение липосом с α -токоферолом приводило к снижению содержания продуктов, взаимодействующих с ТБК, более чем в 2,1 раза ($p < 0,05$) и оснований Шиффа в 1,7 раза ($p < 0,05$) по сравнению с группой «гипероксия без коррекции» Содержание карбонильных производных белков также снизилось в 2,1 раза в этой группе.

ОБСУЖДЕНИЕ

В литературе повреждающее действие кислорода на легочные структуры связывают с индукцией процессов перекисидации липидов (ПОЛ) и повреждением белков и ДНК активными формами кислорода (АФК). Эти данные согласуются с результатами нашего исследования: уровень ДК увеличивался уже на 3 сутки воздействия гипероксии и оставался высоким через 14 суток, а содержание продуктов, реагирующих с ТБК в БАЛЖ достоверно превышало контрольные значения в 1,9 раза в условиях длительной гипероксии. В этой группе также выявлено увеличение содержания ОШ.

Содержание карбонильных производных аминокислот в белках повышалось в 4,5 раза по сравнению с контролем ($p < 0,05$) на 3-и сутки воздействия гипероксии, а на 14-е сутки соответствовало контрольным значениям. Основными индукторами образования карбонильных производных являются не только АФК, но и продукты липоперекисидации, а модифицированные белки становятся более подверженными протеолизу [2], что может быть причиной уменьшения уровня карбонильных производных в БАЛЖ при увеличении длительности гипероксии. В литературе описано, что у недоношенных детей с признаками развития БЛД, также было выявлено постепенное уменьшение концентрации карбонильных производных в БАЛЖ, начиная с 4-6 дня жизни [3], но снизился уровень неферментативных антиоксидантов (уратов, аскорбата), что расценивалось авторами как признак наличия оксидативного стресса. Снижение содержание α -токоферола и активности ГП на 3-и и 14-е сутки гипероксии привело к достоверному снижению содержания небелковых SH-соединений в БАЛЖ.

Таким образом, можно говорить о постепенном истощении системы как неферментативных, так и ферментативных антиоксидантов в легких под

влиянием длительной гипероксии и усилении окислительного повреждения молекулярных структур легких.

Важнейшим липофильным антиоксидантом в легких является витамин Е. Описаны попытки коррекции недостаточности токоферола у новорожденных путем перорального или внутримышечного введения токоферола или токоферола ацетата [3]. При этом, несмотря на увеличение концентрации токоферола в плазме, улучшения состояния легких не наблюдалось. Возможно, у недоношенных новорожденных нарушены системы доставки токоферола из плазмы в легкие. Suntres Z.E. описал, что при интратрахеальном введении в ткани легких эффективно поступала липосомная форма токоферола, что и определило в нашем исследовании выбор способа введения витамина Е. В качестве липидного компонента липосом мы использовали компонент сурфактанта легких, наименее подверженный окислительному повреждению – дипальмитоилфосфатидилхолин (ДПФХ, Sigma, США).

У новорожденных морских свинок, которые получали ингаляции с липосомами, содержащими α -токоферол, на фоне длительной гипероксии, увеличилось содержание антиоксидантов (токоферола, восстановленного глутатиона) и активность ГП в легких. Так как витамин Е является не только индуктором синтеза ферментов глутатиона, но и снижает скорость окисления в клетках SH-соединений [4], повышение его уровня в легких закономерно привело к повышению концентрации SH-групп. На фоне роста активности антиоксидантов снизилось содержание продуктов ПОЛ и карбонильных производных белков в БАЛЖ.

ВЫВОДЫ

1. По мере увеличения продолжительности действия гипероксии в легких новорожденных морских свинок уменьшается уровень ферментативных и неферментативных антиоксидантов и усиливаются процессы перекисного окисления липидов и белков.

2. Ингаляционное введение липосомной формы α -токоферола эффективно корригирует оксидантно-антиоксидантное равновесие за счет нормализации активности глутатионпероксидазы и уровня SH-соединений в БАЛЖ, уменьшает интенсивность процессов липопероксидации.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Total antioxidant capacity and total oxidant status after surfactant treatment in preterm infants with respiratory distress syndrome / E. A. Dizdar, N. Uras, S. Oguz [et al.] // *Ann Clin Biochem.* – 2011. – Vol. 48, № 5. – P. 462—467.
2. Муравлева, Л.В. Окислительная модификация белков: проблемы и перспективы исследования / Л.Е. Муравьева, В.Б. Молотов-Лучанский, Д.А. Ключев [и др.] // *Фундаментальные исследования.* – 2010. – № 1. – С. 74-78.
3. Oxidative stress in lavage fluid of preterm infants at risk of chronic lung disease / B. Schock, D.G. Sweet, H.L. Halliday // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* – 2001. – Vol. 281, № 6. – P. 1386–1391.
4. Gene-regulatory activity of alpha-tocopherol / G. Rimbach, J. Moehring, P. Huebbe, J.K. Lodge // *Molecules.* – 2010. – Vol. 15 (3). – P. 1746-1761.

Сведения об авторах

Р.М. Саттаров* – студент

А.С. Матюхевич – студент

Ж.А. Рутковская – кандидат медицинских наук, доцент

Information about the author

R.M. Sattarov* – student

A. S. Matyuhevich – student

Zh. A. Rutkovskaya – Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor

***Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):**

lomonosovolymph28@gmail.com