

А.В. Дубейко

**ВЛИЯНИЕ РЕТИНОИДОВ В СОСТАВЕ ЛИПОСОМ НА СОДЕРЖАНИЕ
КОЛЛАГЕНА В ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ НОВОРОЖДЕННЫХ МОРСКИХ
СВИНОК**

Научный руководитель: канд. мед. наук, доц. Ж.А. Рутковская

Кафедра биологической химии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

A.V. Dubeyko

**THE EFFECT OF RETINOIDS IN THE COMPOSITION OF LIPOSOMES ON
THE CONTENT OF COLLAGEN IN THE LUNG TISSUE OF NEWBORN
GUINEA PIGS**

Tutor: PhD, associate professor Zh.A. Rutkovskaya

Department of Biological chemistry

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. Ингаляционное введение ретиноидов в составе липосом ведет к увеличению содержания коллагена в ткани легкого у новорожденных морских свинок, которые подверглись воздействию высоких концентраций кислорода.

Ключевые слова: гипероксия, коллаген, ретиноиды, липосомы.

Resume. Inhalation of retinoids in liposomes increases collagen content in lung tissue in newborn guinea pigs exposed to high oxygen concentrations.

Keywords: hyperoxia, collagen, retinoids, liposomes.

Актуальность. В современной неонатологии постоянно создаются и улучшаются различные методы, которые значительно увеличивают выживаемость недоношенных детей. На фоне слабого развития тканей и органов дыхательной системы часто применяется респираторная поддержка новорожденных, в том числе с использованием высоких концентраций кислорода [6]. Одним из современных методов оксигенотерапии является искусственная вентиляция легких (ИВЛ). Использование ИВЛ и высоких концентраций кислорода на фоне незрелости антиоксидантной системы новорожденных является основным фактором патогенности в развитии нарушений обмена веществ и в последующем заболеваний. Повреждение легких сопровождается развитием воспалительной реакции с последующей репарацией в виде пролиферации фибробластов. Это ведет к нарастанию фиброзных изменений в легочной ткани [2].

Коллаген – основной белок межклеточного матрикса, который составляет около 15% массы легкого. Молекула фибриллярного белка коллагена (тропоколлагена) состоит из трех левозакрученных полипептидных цепей, содержащих различные аминокислотные остатки, среди которых доминирует глицин. Коллаген синтезируется разными клетками соединительной ткани (фибробластами, хондробластами, остеобластами), эпителиоцитами и эндотелиоцитами. Поскольку именно коллаген составляет основу соединительной ткани альвеолярной стенки, от его содержания будет зависеть прочность стенок альвеол и способность сохранять свою целостность. Высокие концентрации кислорода, оказывая повреждающее

действие на структурное и функциональное состояние клетки легочной ткани, приводят к нарушению синтеза коллагена [4]. В этом случае патогенетически оправдано использование антиоксидантов, которые предотвращают губительное воздействие свободных радикалов кислорода на клетку. Витамин А не только обладает выраженной антиоксидантной функцией, но и играет важную роль в процессах развития и репарации ткани легкого [3]. Одним из способов, повышающим эффективность препаратов, считается их включение в липосомы, что облегчает проникновение в клетки и увеличивает продолжительность их действия. Липосомы представляют собой искусственно созданные сферические везикулы, которые имеют один или несколько слоев фосфолипидных мембран. По факту они являются определенной копией фосфолипидной мембраны клеток и органелл [1]. При заболеваниях легких липосомы могут быть эффективным средством доставки веществ к клеткам альвеолярного эпителия. Ингаляционное введение ретиноидов в составе липосом в литературе не описано.

Цель: изучить влияние ретиноидов включенных в состав липосом на содержание коллагена в легочной ткани новорожденных морских свинок в динамике гипероксии.

Задачи:

1. Определить содержание коллагена в гомогенате легких новорожденных морских свинок в динамике гипероксии.
2. Оценить влияние ретиноидов в составе липосом на содержание коллагена в гомогенате легких новорожденных морских свинок в условиях гипероксии.

Материалы и методы. Эксперимент проводили с использованием новорожденных морских свинок, которые содержались в стандартных условиях вивария БГМУ. Было сформировано 4 группы животных (по 4-5 особей в каждой): контроль, гипероксия, контроль + ретиноиды, гипероксия + ретиноиды. Для создания условий гипероксии животных в течение суток после рождения помещали в плексигласовую камеру, в которой в течение всего времени инкубации поддерживали концентрацию кислорода не менее 70%. Длительность воздействия гипероксии составляла 3 и 14 суток.

Для ингаляционного введения препарата использовали компрессорный небулайзер Comp Air (NE-C28-E, Omron, Китай). Для ингаляций использовали свежеприготовленную смесь мультиламеллярных липосом, содержащих ретинол (6 мг/кг), ретиноевую кислоту (0,6 мг/кг), ДПФХ (45 мг/кг) и натрий-фосфатный буфер (0,1 моль/л) с ЭДТА (0,1 ммоль/л), pH=7,4. По окончании эксперимента животных наркотизировали тиопенталом натрия и получали материал для исследования не ранее чем через 22 часа после последнего введения препарата. В качестве материала для исследования использовали гомогенат легких.

Для определения содержания коллагена в гомогенатах легких использовали метод экстракции его кислыми растворителями после предварительного удаления примесей растворимых неколлагеновых белков. Содержание коллагена в гомогенатах выражали в мкг/г ткани/24 часа.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistica 8,0. Сравнение выборок, распределение которых было отличным

от нормального, проводили при помощи непараметрического критерия Манна-Уитни (U-тест). Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Повышенные концентрации кислорода при ИВЛ оказывают токсическое действие на ткань легких за счет образования активных форм кислорода, вызывая ряд деструктивных изменений [2].

В наших исследованиях показано, что кратковременная гипероксия (в течение 3 суток) не приводила к снижению концентрации коллагена в гомогенате легких новорожденных морских свинок. Однако при увеличении сроков гипероксии до 14 суток выявлено уменьшение содержания коллагена в легких опытных животных в 1,4 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем (табл. 1).

Табл. 1. Содержание коллагена

Показатель	Группа		Без коррекции	+ Ретиноиды
Коллаген, мкг/г ткани/24 часа	3 суток	контроль	501,6 (451,1 – 593,5)	597,1 (496,3 – 723,5)
		гипероксия	633,9 (564,9 – 809,4)*	544,7 (461,7 – 587,5)
	14 суток	контроль	512,8 (443,2 – 563,5)	558,6 (460,5 – 658,9)
		гипероксия	364,9 (242,9 – 453,3)*	878,3 (728,4 – 904,3)*^

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с соответствующей группой «контроль без коррекции», ^ - $p < 0,05$ по сравнению с соответствующей группой «гипероксия без коррекции».

По нашему мнению, это может быть следствием токсического воздействия кислорода, который, как известно из литературы, приводит к формированию воспалительной реакции [6]. Появляющиеся в очаге воспаления нейтрофилы выделяют протеолитические ферменты, разрушающие коллаген. Также деструкция коллагена может быть обусловлена нарушением баланса в системе протеаза/антипротеаза, вызванного повреждением белков активными формами кислорода.

При проведении коррекции с использованием липосом с ретиноидами содержание коллагена в гомогенате легких новорожденных животных, подвергшихся длительной гипероксии, увеличилось более чем в 2,5 раза ($p < 0,05$) по сравнению с опытной группой без коррекции (табл. 1).

Витамин А, как известно из литературы, оказывает не только антиоксидантное, но и противовоспалительное действие, регулируя продукцию провоспалительных медиаторов и хемокинов [3]. Также известно, что ретиноиды являются индукторами синтеза эластина и коллагена [5]. Этим может объясняться тот факт, что уровень коллагена у опытных животных с коррекцией ретиноидами был выше, чем у контрольных животных.

Выводы:

1. При длительной гипероксии (14 суток) у новорожденных морских свинок уменьшается содержание коллагена в гомогенатах легких, что свидетельствует о деструктивных процессах в ткани.

2. Ингаляционное введение ретиноидов в составе липосом животным, подвергшимся длительному воздействию гипероксии, способствует увеличению содержания коллагена в ткани легких новорожденных морских свинок.

Литература

1. Королева, М. Ю. Наноэмульсии: свойства, методы получения и перспективные области применения / М. Ю. Королева, Е. В. Юртов // Успехи химии. 2012. Т. 81. № 1. – С. 21-43.
2. Aleksandrovich Y.S. Modern concepts of noninvasive respiratory support in neonatology / Aleksandrovich Y.S., Pshenishnov K.V., Chijenas V. – Baden-Baden: Deutscher Wissenschafts-Verlag, 2015. – 68 с.
3. Ambalavanan, N. Vitamin A supplementation for extremely low birth weight infants: outcome at 18 to 22 months / N. Ambalavanan, J.E. Tyson, K.A. Kennedy [et al.] // Pediatrics. – 2005. – Vol.115, No. 3. – P. e249-e254.
4. Bishop, J. E. Increased collagen synthesis and decreased collagen degradation in right ventricular by pressure over load / J. E. Bishop // Cardiovasc. Res. 1994. № 28. – P. 1501-1505.
5. Pierce, R.A. Retinoids increase lung elastin expression but fail to alter morphology or angiogenesis genes in premature ventilated baboons / R.A. Pierce, B. Joyce, S. Officer [et al.] // Pediatr. Res. – 2007. – Vol. 61 (6). – P. 703-709.
6. Walkey, A. J. Acute respiratory distress syndrome : epidemiology and management approaches / A. J. Walkey [et al.] // Clinical Epidemiology. 2012. № 4. – P. 159-169.