

И. В. Лакизо

**ВЛИЯНИЕ ЛИПОСОМ, СОДЕРЖАЩИХ РЕТИНОИДЫ, НА УРОВЕНЬ
ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ
И ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ
В БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОЙ ЛАВАЖНОЙ ЖИДКОСТИ
НОВОРОЖДЕННЫХ МОРСКИХ СВИНОК В УСЛОВИЯХ
ГИПЕРОКСИИ**

Научный руководитель канд. мед. наук, доц. И. Л. Котович

Кафедра биологической химии,

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Резюме: *Использование высокой концентрации кислорода при искусственной вентиляции легких рассматривается как одна из причин развития бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей. В исследовании изучалась возможность ингаляционного применения липосом, содержащих ретиноиды, для уменьшения интенсивности перекисного окисления липидов и снижения уровня продуктов окислительной модификации белков в бронхоальвеолярной жидкости.*

Ключевые слова: *гипероксия, легкие, ретинол, ретиноевая кислота.*

Resume: *Using high concentrations of oxygen during mechanical ventilation is considered to be one of the reasons of bronchopulmonary dysplasia development in premature infants. The study examined the possibility of inhalation application of liposomes, containing retinoids, to reduce the intensity of lipid peroxidation and to reduce the level of products of protein oxidative modification in the bronchoalveolar fluid.*

Keywords: *hyperoxia, lungs, retinol, retinoic acid.*

Актуальность. Бронхолегочная дисплазия (БЛД) — это полиэтиологическое хроническое заболевание морфологически незрелых легких, развивающееся у недоношенных новорожденных. В патогенезе БЛД важную роль играет незрелость сурфактантной системы, а также оксидантный стресс, вызванный токсическим действием кислорода и ассоциированный с развивающимся воспалением [1]. Подходы к фармакотерапии и профилактике БЛД на сегодняшний день еще не разработаны.

Устранение дефицита антиоксидантной защиты у новорожденных может препятствовать развитию бронхолегочной дисплазии. Так как уровень витамина А у новорожденных, у которых впоследствии развивается БЛД, значительно ниже, чем у тех, у которых проявления БЛД отсутствуют, для решения этой задачи можно использовать ретиноиды. Они обладают не только антиоксидантными свойствами, но и оказывают влияние на процесс формирования легких, в связи с чем мы и выбрали их как средство коррекции повреждений, развивающихся в условиях гипероксии [1].

Ретинол и его активный метаболит ретиноевая кислота стимулируют рост и дифференцировку клеток, участвуют в процессах регенерации легких. Также ретиноиды увеличивают экспрессию эластина в альвеолярных миофибробластах, что имеет значение для образования межальвеолярных перегородок и увеличения числа альвеол [3].

Цель: изучение влияния липосом, содержащих ретиноиды, на уровень про-

дуктов перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков в бронхоальвеолярной лаважной жидкости при экспериментальной гипероксии.

Задачи: 1. Воссоздать модель повреждений, наблюдаемых при бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей, на животных. 2. На основании анализа данных литературы выбрать оптимальный путь введения ретиноидов. 3. Изучить закономерности изменения уровня продуктов перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков в условиях гипероксии без применения ретиноидов и с их применением.

Материал и методы. В эксперименте использовались новорожденные морские свинки. Были сформированы 3 группы наблюдения: «контроль», «гипероксия», «гипероксия+ретиноиды_{лип}». Морские свинки опытных групп в течение суток после рождения помещались в плексигласовую камеру, в которой в течение всего времени инкубации поддерживали концентрацию кислорода не менее 70% (температура 20-25°C, относительная влажность 50-80%). Длительность воздействия гипероксии составляла 14 суток. В течение такого же периода времени контрольные животные дышали обычным воздухом. В каждой экспериментальной группе находилось 4-5 животных.

Липосомы, содержащие ретинол и ретиноевую кислоту, вводились ингаляционно. Для ингаляций использовали свежеприготовленную смесь мультиламеллярных липосом, содержащих ретинол (6 мг/кг), ретиноевую кислоту (0,6 мг/кг), дипальмитоилфосфатидилхолин (45 мг/кг).

В качестве материала для исследования использовали бронхоальвеолярную лаважную жидкость (БАЛЖ). Полученную БАЛЖ центрифугировали для осаждения клеток. В надосадочной жидкости (супернатанте) определяли следующие показатели: содержание общего белка; содержание первичных, вторичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) (диеновых конъюгатов, продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), и оснований Шиффа, соответственно) и карбонильных производных аминокислотных остатков в белках.

Для определения общего белка, продуктов ПОЛ и окислительной модификации белков использовали спектрофотометрические методы.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistica 10. Данные приведены в виде: Медиана (25%; 75%).

Результаты и их обсуждение. Как можно увидеть на рисунках 1-4, содержание продуктов перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков в БАЛЖ новорожденных морских свинок в условиях двухнедельной гипероксии достоверно повысилось ($p < 0,05$). Количество диеновых конъюгатов возросло до 3,66 (2,06; 4,3) отн.ед., что достоверно выше, чем в контроле (2,18 (1,45; 2,42) отн.ед., $p < 0,05$). Также увеличилось содержание продуктов, реагирующих с ТБК и карбонильных производных белков (8,67 (5,25; 18,45) нмоль/мкмоль общего липидного фосфора и 33,09 (14,39; 46,25) нмоль/мг белка соответственно) по сравнению с контролем (4,52 (3,75; 7,39) нмоль/мкмоль общего липидного фосфора и 24,23 (20,58;

25,95) нмоль/мг белка соответственно). Основания Шиффа, которые в контроле не определялись, в условиях гипероксии возросли до 0,75 (0,63; 0,90) отн.ед. Все вышесказанное свидетельствует об увеличении интенсивности окислительных процессов в легких при гипероксии.

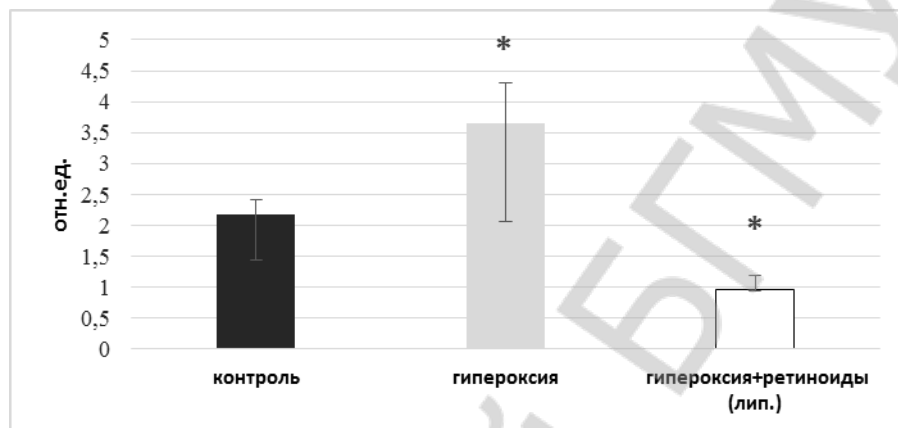


Рисунок 1 - Содержание диеновых конъюгатов в БАЛЖ животных при гипероксии.
Примечание - * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

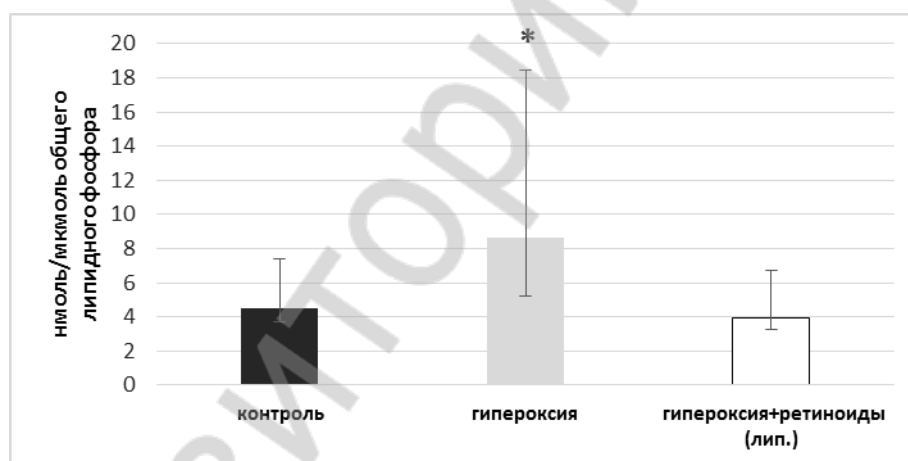


Рисунок 2 - Содержание продуктов, реагирующих с ТБК в БАЛЖ.
Примечание - * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

После введения липосом, содержащих ретиноиды, животным, находившимся в условиях гипероксии на протяжении 14 суток, отмечалось значительное уменьшение уровня продуктов ПОЛ (диеновых конъюгатов, ТБК-реактивных продуктов и оснований Шиффа) в БАЛЖ.

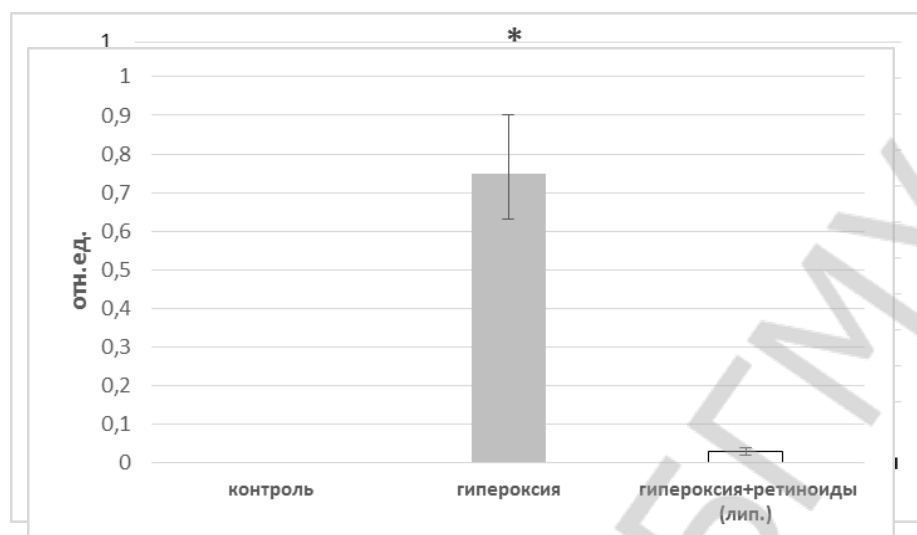


Рисунок 3 - Содержание оснований Шиффа в БАЛЖ.
Примечание - * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Достоверные различия в содержании продуктов, реагирующих с ТБК, и оснований Шиффа у животных контрольной группы и группы «гипероксия + ретиноиды-лип.» отсутствовали. Уровень диеновых конъюгатов становился даже ниже, чем в контроле (0,97 (0,95; 1,19) отн.ед. и 12,38 (10,87; 15,65) нмоль/мг белка соответственно, $p < 0,05$).

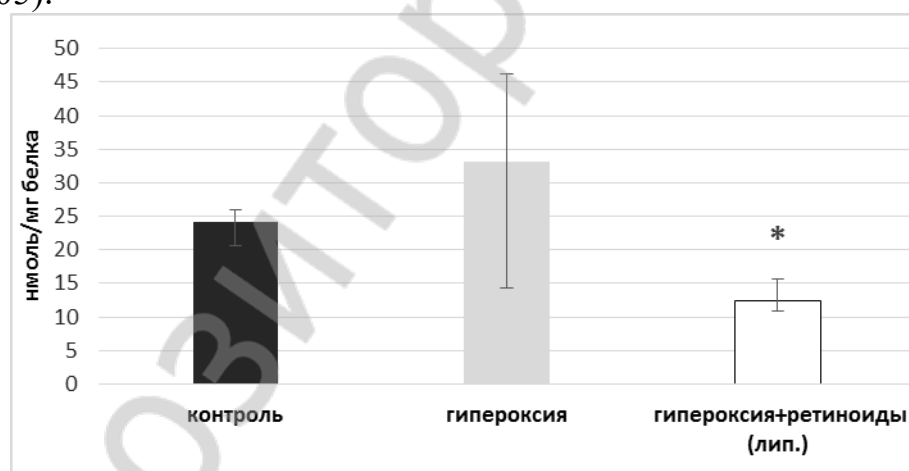


Рисунок 4 - Содержание карбонильных производных в БАЛЖ.

Примечание - * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Содержание общего белка в бронхоальвеолярной жидкости в условиях гипероксии повышалось практически в 2 раза по сравнению с контролем (164,2 (113,3; 192,5) мг/л бронхоальвеолярной жидкости), и составило 314,8 (262,1; 383,7) мг/л бронхоальвеолярной жидкости, что представлено на рисунке 5. Можно предположить, что увеличение уровня белка в альвеолярном пространстве произошло вследствие трансудации белков плазмы крови (альбуминов). Это характерно для отека

легких, а также для воспалительных процессов [2].

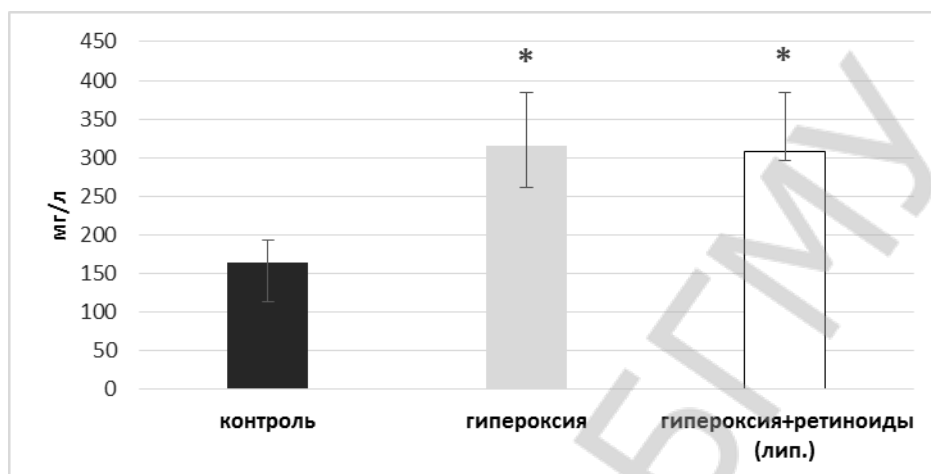


Рисунок 5 - Содержание общего белка в БАЛЖ.
Примечание - * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Несмотря на то, что уровень белка в БАЛЖ животных при введении липосом с инкорпорированными ретиноидами на фоне длительной гипероксии остается повышенным по отношению к контролю (308,5 (296,3 – 384,5) мг/л ($p < 0,05$)) – рисунок 5, содержание продуктов их окислительной модификации в лаважной жидкости достоверно снижалось (12,38 (10,87; 15,65) нмоль/мг белка, $p < 0,05$), что представлено на рисунке 4.

Выводы. Данные, полученные в ходе эксперимента, позволяют говорить о том, что введение ретинола и ретиноевой кислоты новорожденным морским свинкам, уменьшает повреждающее действие кислорода на легкие. Снижается интенсивность перекисного окисления липидов, о чем свидетельствует значительное уменьшение уровня продуктов ПОЛ в БАЛЖ. Несмотря на то, что уровень общего белка остается повышенным, признаки их окислительной модификации уменьшаются, о чем говорит снижение уровня карбонильных производных белков в БАЛЖ.

Используемый нами ингаляционный путь введения ретиноидов, инкорпорированных в липосомы, является менее инвазивным и более безопасным, чем инъекционные способы введения, которые применялись ранее.

I. V. Lakizo

**THE INFLUENCE OF LIPOSOMES CONTAINING RETINOIDS ON THE
LEVEL OF LIPID AND PROTEIN OXIDATIVE MODIFICATION PRODUCTS
IN BRONCHOALVEOLAR FLUID OF NEWBORN GUINEA PIGS
IN EXPERIMENTAL HYPEROXIA**

Tutor PhD, associate professor I. L. Kotovich

*Department of Biological Chemistry,
Belarusian State Medical University, Minsk*

70-я Международная научно-практическая конференция студентов и молодых учёных
"Актуальные проблемы современной медицины и фармации - 2016"

Литература

1. Шишко Г. А. Современные подходы к ранней диагностике и лечению бронхолегочной дисплазии : учебно-методическое пособие для врачей / Г.А. Шишко, Ю.А. Устинович.- Мн.: БелМАПО, 2006. – 25 с.
2. Reynolds, H. Y. Bronchoalveolar lavage / H. Y. Reynolds // Am. Rev. Respir. Dis. - 1987. - Vol. 135, № 1. - P. 250-263.
3. Victor R. Preedy Vitamin A and Carotenoids: Chemistry, Analysis, Function and Effects.- 2012. – P. 540-546.