

ЗНАЧЕННЯ ПРОЦЕСІВ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ ПРИ ДИХАЛЬНІЙ НЕДОСТАТНОСТІ У НОВОНАРОДЖЕНИХ

О.Г. Буряк

*Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці
Кафедра пропедевтики дитячих хвороб (зав. - проф. Ю.М. Нечитайло)*

Реферат

У 45 новонароджених з дихальною недостатністю встановлено активацію вільнорадикального окиснення внаслідок ініціації процесів ліпопероксидації, нітрокиснення; активацію антиоксидантного захисту на рівні аерогематичного бар'єру. Показано, що при дихальній недостатності відбувається збільшення малонового діальдегіду та метаболітів оксиду азоту в легневих експіратах, що можна використовувати для діагностики дихальних розладів легеневого походження.

Ключові слова: пероксидне окиснення ліпідів, дихальна недостатність, новонароджені, легневий гомеостаз

Abstract

IMPORTANCE OF LIPOPEROXIDATION PROCESSES IN NEWBORNS WITH RESPIRATORY FAILURE

O.G. BURIK

The Bukovinian State Medical University in Chernivtsi

The data of 45 newborns with respiratory failure were examined with respect to the activation of free radical oxidation due to the initiation of lipoperoxidation and nitroxigenation; the activation of the antioxidant defense at the level of the air-blood barrier was studied. It was found that respiratory failure was marked by increased levels of malonic dialdehyde and nitric oxide metabolites in the lung expirate. This information can be used to diagnose respiratory disorders of pulmonary origin.

Key words: lipid peroxide oxidation, respiratory failure, newborns, lung homeostasis

Вступ

Проблема респіраторних розладів у новонароджених в практиці неонатальних відділень інтенсивної терапії, на даний час, є достатньо серйозною та актуальною, що пов'язано із високою летальністю хворих даної групи. За частотою виникнення дихальні розлади посідають 5 місце у загальній структурі захворюваності новонароджених в Україні. Водночас, дихальна недостатність є провідною причиною неонатальної смертності (28%) [1, 2]. Для порівняння, у США приблизно в 2% новонароджених спостерігається дихальна недостатність, а кількість померлих у цій групі дітей складає приблизно третину всіх випадків неонатальної смерті [10]. Зважаючи на

все вищевказане, сучасна неонатологія потребує нових методик діагностики, профілактики ускладнень та технологій інтенсивної терапії дихальних розладів у немовлят.

Дихальна недостатність по легеневого типу діагностують за допомогою рентгенологічного дослідження органів грудної клітки на підставі специфічних рентгенологічних ознак. Проте в більшості випадків, особливо на початкових стадіях розвитку дихальних розладів легеневого походження, рентгенологічна картина паренхіматозного легеневого ушкодження запізнюється порівняно з клінічною. Тому використання новітніх методик ранньої діагностики дихальної недостатності паренхіматозного типу залишається актуальною.

Дослідження останніх років патогенетичних ланок розвитку дихальної недостатності показують, що серед ушкоджуючих факторів легень у хворих при критичних станах слід виділити окисний стрес з розвитком ендогенної інтоксикації, який формується в умовах неконтрольованої генерації "активованих форм кисню" (АФК) [11, 12, 13]. Внаслідок підвищеного утворення АФК, поряд із окисною модифікацією білків, вони здатні викликати пероксидне окиснення ліпідів, що в свою чергу призводить до порушення рівноваги між процесами інактивації АФК та виникають хвилеподібні реакції пероксидації, які призводять до порушення структури і функції клітинних мембран та закінчується загибеллю клітини [6].

Метою дослідження є вивчення причин легеневої активації процесів пероксидного окиснення ліпідів при розвитку дихальних розладів у новонароджених за легневим типом.

Матеріал і методи

Під нашими спостереженням перебувало 45 новонароджених, які склали основну групу спостереження, з дихальними розладами на фоні різної неонатальної патології. За нозологічними

характеристиками до основної групи увійшли діти з постасфіктичним синдромом внаслідок важкої асфіксії в пологах (16 новонароджених), новонароджені з внутрішньоутробним інфікуванням (8 дітей з неонатальним сепсисом; 5 - з вродженою пневмонією; 3 - з неонатальним сепсисом на фоні постасфіктичного синдрому), діти з травматичним ушкодженням внаслідок тяжкої пологової травми (4 новонароджених), гемолітичної хвороби новонароджених (2 дитини). Змішана нозологічна патологія спостерігалася в 7 дітей.

Групою контролю в нашому дослідженні стало 15 соматично та неврологічно здорових дітей, які знаходилися під реабілітаційним спостереженням у відділенні патології новонароджених.

Активність нейтрофільних гранулоцитів крові оцінена за даними НСТ-тесту в спонтанному та стимульованому його варіантах, за методом Park B.N. та співавт. в модифікації Клімова В.В. та співавт. [3, 14].

При вивченні процесів ліпопероксидації у легенях, та активності локального антиоксидантного захисту досліджували легеневі експірати, оскільки біологічні молекули, які формуються при випаровуванні рідини, що видихається потрапляють безпосередньо з бронхіального і альвеолярного аерозолів і належать до ендотеліальної вистилки. Легеневі експірати збирали з системи дихального контуру апарата штучної вентиляції легень (на видиху). Серед контрольної групи дітей конденсат повітря, що видихається (КПВ) дитиною збирали за методом Сидоренко Г.І. та співавт. (1980), використовуючи модифікований прилад [5].

Пероксидне окиснення білків (ПОБ) вивчалось методом спектрофотометричного аналізу. Дослідження окисної модифікації білків проводилося за визначенням вмісту карбонільних груп у КПВ, що утворюються при взаємодії активних форм кисню (АФК) із залишками амінокислот із використанням 2,4-динітрофенілгідрозину [9].

Оцінку стану пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) проводили за визначенням вмісту продуктів ПОЛ - малонового діальдегіду (МДА), а також по оцінці стану ферментів антиоксидантного захисту - каталази. Принцип методу визначення малонового альдегіду полягає у здатності

тіабарбітурової кислоти вступати в реакцію з ліпополісахаридами, вуглеводами, проте основним продуктом цієї взаємодії є малоновий альдегід. При визначенні активності каталази досліджують здатність пероксиду водню утворювати із солями молібдену стійкий забарвлений комплекс [4, 7, 8].

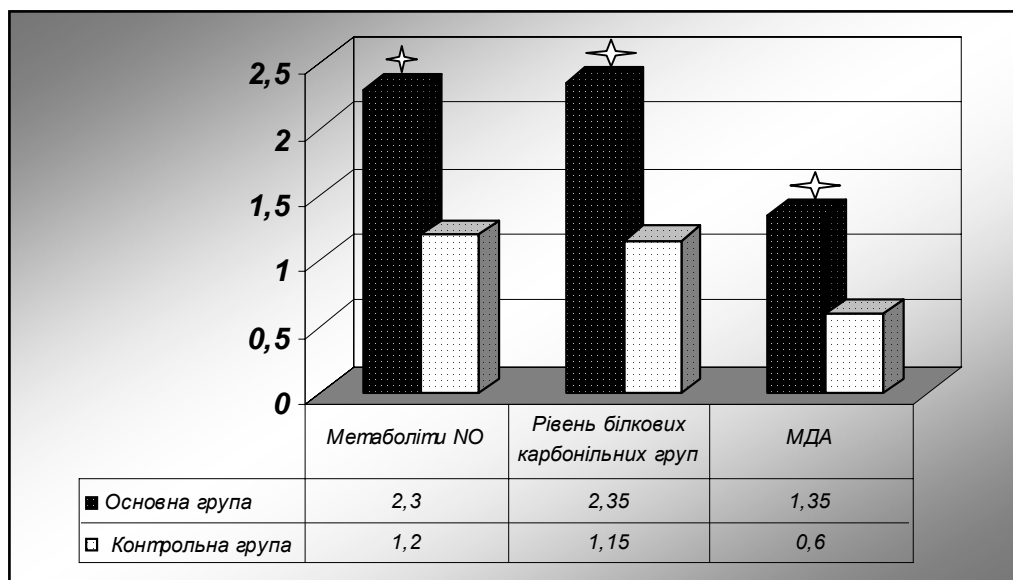
Вміст метаболітів оксиду азоту (NO) в легневих експіратах визначали методом фотометрії, використовуючи реактив Грейса, який дає малинове забарвлення за наявності метаболітів NO в рідині [9].

Результати й обговорення

При аналізі даних виявилось, що реакція нейтрофілів крові спонтанного відновлення нітросинього тетразолію підвищується в 2 рази в порівнянні з групою контролю ($35,4 \pm 5,95\%$ проти $16,29 \pm 0,7\%$, $p < 0,05$), що вказує про метаболічну активацію нейтрофілів. Між показниками стимульованого НСТ-тесту серед новонароджених з дихальною недостатністю порівняно зі здоровими дітьми відсутня вірогідна відмінність, що може свідчити про те, що в дітей основної групи на фоні даних патологій відбувається зниження резервних можливостей нейтрофільних гранулоцитів крові, що несприятливо впливає на перебіг захворювання. Це підтверджується результатами порівняння показників метаболічного резерву нейтрофільних гранулоцитів у групах спостереження ($10,2 \pm 2,56\%$ проти $23,9 \pm 2,1\%$, $p < 0,05$). Результати дослідження активності нейтрофільних гранулоцитів крові за НСТ-тестом певним чином підтверджують теорію про те, що саме активація киснезалежного метаболізму нейтрофілів крові призводить до стимуляції вільнорадикального окиснення на фоні гіпоксії, що в свою чергу призводить до ушкодження клітинних структур внаслідок активації пероксидного окиснення білків та ліпідів.

NO являється однією з форм АФК, який в умовах окисного стресу взаємодіє з супероксидним аніоном з утворенням пероксинітриду (ONOO-). Вважають, що саме з ONOO- пов'язана пошкоджуюча дія NO на біологічні макромолекули, перш за все, на білки та ліпіди, що стимулює підвищення ферментативної активності антиоксидантної системи (рис. 1).

У хворих I групи має місце активація про-



✧ - $p < 0,01$ - вірогідність відмінностей досліджуваних показників порівняно з контролем.

✨ - $p < 0,001$ - вірогідність відмінностей досліджуваних показників порівняно з контролем.

цесів пероксидації ліпідів. Це підтверджується результатами вивчення МДА, рівень якого збільшений більш ніж у 2 рази ($1,35 \pm 0,1$ проти $0,6 \pm 0,03$ нмоль/мг білка відповідно, $p < 0,001$), що перевищує аналогічні показники у групі здорових дітей, що свідчить про істотні пошкодження структури ліпідів.

Також відмічаються зміни ферментної ланки антиоксидантної системи (рівень каталази в дітей I групи в 3 рази перевищував аналогічний показник в групі здорових дітей ($36,8 \pm 2,7$ проти $9,51 \pm 0,94$ мкмоль/хв·мг білка відповідно, $p < 0,001$) обумовлені, на нашу думку, надлишком утворення продуктів ПОЛ.

Також аналізуючи дані власних досліджень та досліджень різних авторів про те, що саме білки першими реагують на окисний стрес і по мірі прогресування основного захворювання потім виникає ПОЛ, був встановлений достовірний корелятивний зв'язок у дітей з дихальними розладами між показниками вмісту білкових карбонільних груп та малонового діальдегіду ($r = 0,381$, $p = 0,034$), що певною мірою вказує про

участь ПОБ у запуску ПОЛ у новонароджених при критичних станах, які супроводжуються дихальними розладами.

Методом основних компонентів багатofакторним аналізом проведено вивчення значимості даних імунологічних та біохімічних змін у розвитку процесів ліпопероксидації у легенях при розвитку дихальної недостатності у новонароджених (табл. 1).

Отримана факторна модель підтверджує результати нашого дослідження:

$$\text{ПОЛ} = F_1(0,62)[0,84x_1 + (0,89)x_2 + (-0,94)x_3] + F_2(0,17)[0,96x_4].$$

Про залучення нейтрофільних гранулоцитів крові у процесах пероксидації ліпідів при респіраторному дистресі свідчить факторне навантаження НСТ-тесту в стимульованому та спонтанному його варіантах. Наявність від'ємного факторного навантаження свідчить про зменшення активних форм нейтрофільних гранулоцитів в периферичній крові у новонароджених з дихальною недостатністю у зв'язку з їх надмірним споживанням в легеновому руслі мікроциркуляції.

Таблиця 1

Зв'язок факторних навантажень та рівня ПОЛ

Показники	Фактор 1	Фактор 2
Метаболіти оксиду азоту	0,034079	0,965292*
Каталаза	0,845557*	-0,273007
Спонтанний нст-тест	-0,895913*	-0,330280
Стимульований нст-тест	-0,942419*	0,073016
Пероксидне окиснення ліпідів	0,621106	0,177922

* - відмічені навантаження більш, ніж 0,7000

Однолінійний зв'язок показника ферментативної активності антиоксидантної системи (каталази) свідчить про активацію антиоксидантного захисту у новонароджених з дихальними розладами на тлі ПОЛ.

Висновок

Згідно отриманих результатів, можна припустити, що у новонароджених з дихальною недостатністю процеси ліпопероксидації проходять з активацією нейтрофільних гранулоцитів крові, метаболітів оксиду азоту та з ініціацією утворення активних форм кисню та посиленням антиоксидантного захисту.

Література

1. Безруков Л. О. Окисний стрес у новонароджених при критичних станах із розвитком тяжкої дихальної недостатності. Принципи патогенетичного лікування / Л. О. Безруков, Ю. Б. Яценко, О. Г. Буряк // Одеський медичний журнал. - 2007. - №6 (104). - С. 65-68.
2. Добрянський Д. О. Сучасні пріоритети медичної допомоги новонародженим з дихальними розладами / Д. О. Добрянський // Фізіологія і патологія новонароджених: наук.-прак. конф. з міжнарод. участю, 15-16 березня 2007 р.: тези допов. - К., 2007. - С. 46-52.
3. Климов В. В. Тест восстановления нитросинего тетразолия, стимулированный пирогеналом / В. В. Климов, Т. В. Котовкина // Лабораторное дело. - 1982. - №10. - С. 48-49.
4. Метод определения активности каталазы / М. А. Королук, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // Лабораторное дело. - 1988. - №1. - С. 16-18.
5. Пат. 627820 СССР, МКИ А61В5/08. Дыхательная маска / Сидоренко Г.И., Зборовский Э.И., Вдовичева Д.И.; заявитель и патентообладатель Минский гос. мед. ин-т. - №2483459/28-13; заявл. 28.04.77; опубл. 15.10.78, Бюл. №38.
6. Показники окисної модифікації білків у конденсаті видихуваного повітря під час різних патологічних станів у школярів / О. К. Колоскова, Т. М. Воротняк, В. В. Білоус [та ін.] // Галицький лікарський вісник. - 2008. - Т. 5, №3. - С. 46-48.
7. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии. - М. : Медицина, 1977. - С. 66-68.
8. Федотов О. В. Ріст та каталазна активність штамів гриба *Pleurotus (Fr.) Kumm* / О. В. Федотов, Г. В. Гавриленко // Ученые записки Таврического национального университета. - 2001. - Т. 14 (53), №1. - С. 54-56.
9. Яценко Ю. Б. Біомаркери синдрому гострого пошкодження легень у новонароджених при сепсисі / Ю. Б. Яценко // Буковинський медичний вісник. - 2006. - Т.10, №2. - С. 86-90.
10. Angus D.C. Epidemiology of neonatal respiratory failure in the United States / D. C. Angus, W. T. Linde-Zwirble, G. Clermont [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. - 2006. - V. 164. - P. 1154-1160.
11. Claudia C. Dos Santos. Hyperoxic acute lung injury and ventilator-induced/associated lung injury: new insights into intracellular signaling pathways / C. Dos Santos Claudia // Crit. Care. - 2007. - Vol. 11(2). - P. 126.
12. Oxidative stress and acute lung injury / C. Chow, M. Abreu, T. Suzuki [et al.] // Am. J. of Respiratory Cell and Molecular Biology. - 2003. - Vol. 29. - P. 427-431.
13. Oxidative stress is increased in critically ill patients according to antioxidant vitamins intake, independent of severity: a cohort study / Abiles Jimena, Perez de la Cruz Antonio, Jose Castano [et al.] // Crit. Care. - 2006. - Vol. 10(5). - P. 146.
14. Park B. H. Infection and nitrobluetetrasolium reduction by neutrophils - a diagnostic aid / B. H. Park, S. M. Fikring, E. M. Smithwick // Lancet. - 1968. - Vol. 11, №7567. - P. 532-534.