



УДК 616.24-008.4-053.31:577.1

БУРЯК О.Г., ЯЩЕНКО Ю.Б.

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНЕ ОКИСНЕННЯ ТА НІТРОКСИДЕРГІЧНИЙ ДИСБАЛАНС У НОВОНАРОДЖЕНИХ ІЗ ГОСТРОЮ ДИХАЛЬНОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ

Резюме. У даному дослідженні проведено вивчення оксидативного та нітроксидергічного статусу при синдромі гострої дихальної недостатності в 45 новонароджених. Вивчено активність вільнорадикального окиснення, рівень білкових карбонілів, малонового діальдегіду та активність антиоксидантного захисту за рівнем каталази в конденсаті повітря, що видихається. Показано, що у новонароджених за умов виникнення окисного та нітроксидергічного стресу відбувається зростання показників оксидантно-прооксидантної системи та накопичення метаболітів оксиду азоту.

Ключові слова: гостра дихальна недостатність, новонароджені, оксид азоту, вільнорадикальне окиснення.

Вступ

Синдром гострої дихальної недостатності (ГДН) у дітей — досить поширена патологія в практиці відділень реанімації будь-якого профілю, що становить серйозну проблему та часто стає причиною смерті хворих. Особливе значення в патогенезі ГДН має окисний стрес, основною причиною якого є дисбаланс у системі «оксиданти — антиоксиданти», що виявляється в надмірному утворенні активних форм кисню (АФК) і ослабленні ефективності антиоксидантного захисту [6, 11]. За даними Baldwin і співавт. та Carpenter і співавт., підтверджується припущення про залучення АФК в патофізіологічний процес при ГДН [1]. Унаслідок окисного стресу виникають різноманітні ушкодження у зв'язку з надмірним виділенням в організмі АФК, що ініціює пероксидне окиснення білків та ліпідів [12]. Разом із цим їх роль у формуванні та перебігу критичних станів залишається маловивченою [8].

У зв'язку з урахуванням фізіологічних особливостей дітей неонатального віку спектр дослідження спрямовано на пошук, перш за все, неінвазивних методів діагностики синдрому, а саме використання конденсату видихуваного повітря (КВП) та дослідження найбільш чутливих і специфічних його маркерів на підставі сучасних уявлень про патогенетичні основи розвитку синдрому.

Метою нашого дослідження було дослідити у конденсаті повітря, що видихається, маркери порушень легеневого оксидативного та нітроксидергічного статусу в новонароджених при гострій дихальній недостатності.

Матеріали та методи

Під нашим спостереженням перебували 45 новонароджених із синдромом дихальних розладів на фоні

різної неонатальної патології, які лікувалися у відділенні інтенсивної терапії новонароджених обласної дитячої клінічної лікарні № 1 м. Чернівці і склали основну групу спостереження.

До групи контролю в нашому дослідженні увійшли 15 соматично та неврологічно здорових дітей, які знаходилися під реабілітаційним спостереженням у відділенні патології новонароджених у зв'язку з гіпоксично-ішемічним ураженням центральної нервової системи легкого ступеня.

Для застосування терміну «гостра дихальна недостатність» ми користувалися такими критеріями: знижена резистентність до оксигенотерапії та необхідність проведення штучної вентиляції легенів; клінічні та параклінічні ознаки, а також рентгенологічні прояви паренхіматозного легеневого ушкодження; наявність тригерних факторів розвитку синдрому (асфіксія в пологах різного ступеня, постасфіктичний синдром із розвитком тяжкої дихальної недостатності, сепсис, пневмонія, поліорганна недостатність).

Активність нейтрофільних гранулоцитів крові оцінена за показниками фагоцитарної активності (ФА) та фагоцитарного числа нейтрофілів крові [5], а їх оксидантна мікробіцидність — за даними НСТ-тесту в спонтанному та стимульованому його варіантах, за методом В.Н. Park і співавт. у модифікації В.В. Климова і співавт. [2, 13].

Окисна модифікація білків вивчалася методом спектрофотометричного аналізу карбонільних груп, що утворюються при взаємодії АФК із залишками амінокислот із використанням 2,4-динітрофенілгідрозину [10].

Оцінку стану пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) проводили спектрофотометрично за визначенням уміс-

ту малонового діальдегіду (МДА), а також за активністю ферменту антиоксидантного захисту — каталази [3, 7, 9]. Уміст метаболітів оксиду азоту (NO) в легневих експіратах визначали методом фотометрії, використовуючи реактив Грейса, що дає малинове забарвлення за наявності метаболітів NO в рідині [10].

Під час дослідження активності процесів окисної модифікації білків, ліпопероксидації та антиоксидантного захисту застосовували КВП, оскільки біологічні молекули, які формуються при випаровуванні рідини і потрапляють безпосередньо з бронхіального й альвеолярного аерозолів, належать до ендотеліальної вистилки. Легневі експірати збирали з системи дихального контуру апарата штучної вентиляції легенів (на видиху). У дітей контрольної групи легневі експірати збирали за методом Г.І. Сидоренко і співавт. (1980), використовуючи модифікований прилад [4].

Результати дослідження та їх обговорення

Вважається, що основою синдрому ГДН є неспецифічна запальна реакція на рівні мікросудин легенів з порушенням легеневого гомеостазу, що ініціюється активацією нейтрофільних гранулоцитів крові. При ретроспективному аналізі історій хвороб новонароджених, які перебували на лікуванні у відділенні інтенсивної терапії новонароджених з приводу тяжкої дихальної недостатності, виявлено, що під час розвитку ГДН активація нейтрофілів крові відбувається неспецифічно та незалежно від основного патологічного фону. Показники фагоцитарної активності, фагоцитарного числа та НСТ-тесту в спонтанному та стимульованому його варіантах зображені на рис. 1.

Легені в умовах нейтрофільної активації є органом ураження першої лінії внаслідок розвинутого русла мікроциркуляції, де при гіпоксії відбувається секвестрація активованих нейтрофілів.

Ураховуючи наявну вірогідну відмінність показників у групах порівняння (постасфіктичний синдром, неонатальна інфекція), було досліджено діагностичну цінність даних показників у діагностиці інфекційних процесів у новонароджених при критичних станах із тяжкою дихальною недостатністю. Так, для ФА нейтрофільних гранулоцитів крові при діагностичній точці 70 % чутливість тесту становить 85 %, а специфічність — 89 %.

Результатом метаболічної активності нейтрофільних гранулоцитів крові є респіраторний вибух та генерація АФК, ушкоджуюча дія яких спрямована на білки та ліпиди базальних мембран.

Під час проведення кореляційного аналізу встановлено вірогідний корелятивний зв'язок між показниками НСТ-тесту та активністю пероксидного окиснення білків (ПОБ) ($r = -0,523$, $p = 0,045$), що певною мірою підтверджує уявлення про участь нейтрофілів у виділенні АФК у позаклітинне середовище в дітей із дихальними розладами та про активацію ПОБ.

Оскільки окисний стрес формується в умовах неконтрольованої генерації АФК, а оксид азоту є однією з форм АФК, що в умовах окисного стресу взаємодіє з супероксидним аніоном з утворенням пероксинітриту

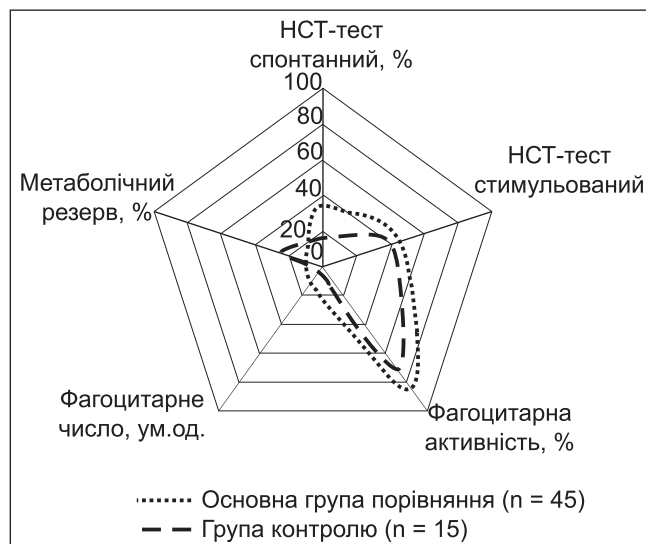


Рисунок 1. Показники киснезалежного метаболізму нейтрофільних гранулоцитів крові

(ONOO⁻), нами вирішено дослідити рівень метаболітів оксиду азоту в дітей груп спостереження.

За нашими дослідженнями, рівень оксиду азоту в основній групі порівняння був у 2 рази вищим, ніж у групі контролю ($2,3 \pm 0,3$ проти $1,2 \pm 0,2$ мкмоль/л; $p < 0,01$). Надмірну продукцію метаболітів оксиду азоту на початкових етапах розвитку ГДН можна розцінювати як захисну реакцію організму дитини, що виникає внаслідок впливу прозапальних цитокінів, ендотоксинів та оксидантів на індукцибельну NO-синтазу. З іншого боку, надмірна генерація NO стає додатковим джерелом АФК за умов процесів перетворення NO на ONOO⁻, що активізує процеси пероксидного окиснення.

Методом кореляційного аналізу був встановлений вірогідний корелятивний зв'язок порівняння між показниками вмісту метаболітів NO та ПОБ у КВП ($r = -0,452$; $p = 0,026$) у дітей основної групи, що свідчить про участь оксиду азоту в процесах окисації білків. Від'ємний корелятивний зв'язок підтверджує наші припущення про залучення метаболітів оксиду азоту в перетворенні на ONOO⁻. З огляду на отримані дані нами вирішено дослідити процеси окисної модифікації білків у дітей груп спостереження.

При проведенні дослідження у відповідних групах порівняння вміст білкових карбонілів у легневому експіраті у дітей із дихальною недостатністю становив $2,35 \pm 0,15$ ммоль/г білка, що вдвічі більше, ніж у практично здорових дітей ($1,15 \pm 0,08$ ммоль/г білка; $p < 0,001$).

Отже, отримані результати дослідження показують, що у новонароджених із ГДН відзначається підвищення рівня окисної модифікації білків у КВП, а також можна говорити про загальну закономірність зростання окисного потенціалу у хворих при критичних станах із тяжкою дихальною недостатністю.

За даними нашого дослідження, ПОБ відбувається одночасно з процесами ПОЛ, що підтверджується результатами кореляційного аналізу між показниками вмісту білкових карбонільних груп та малонового діальдегіду ($r = 0,381$, $p = 0,034$).

Про активацію ПОЛ у новонароджених при гострому ураженні легенів свідчать дані про зростання рівня МДА в основній групі в КВП порівняно зі здоровими дітьми вдвічі ($1,35 \pm 0,1$ проти $0,6 \pm 0,03$ нмоль/мг білка; $p < 0,001$). Саме по собі ПОЛ є нормальним метаболічним процесом, проте під час надмірного виділення АФК в організмі та безпосередньо продуктів ПОЛ до роботи включається антиоксидантна система, що спрямована на інактивацію наслідків надмірної ліпопероксидації.

Стан антиоксидантної системи під час окисного стресу в новонароджених ми оцінювали за рівнем у КВП каталази, за допомогою якої відбувається пряме знешкодження АФК, що запобігає ушкодженню ними тканин організму. Під час дослідження виявлено, що при надмірному рівні МДА активується ферментативна ланка антиоксидантної системи, доказом чого є збільшення вмісту каталази в основній групі в 3 рази порівняно з контролем ($36,8 \pm 2,7$ проти $9,51 \pm 0,94$ мкмоль/хв/мг білка; $p < 0,001$). За даними наших досліджень, активація ПОБ і ПОЛ спостергалась у всіх дітей основної групи незалежно від клінічного стану (постасфіктичний синдром, неонатальна інфекція), що свідчить про однаковість даних процесів при окисному стресі у новонароджених із ГДН.

Висновки

1. Напруженість неспецифічного імунітету у новонароджених із дихальними розладами виникає на фоні різноманітної патології та незалежно від основного захворювання.

2. При розвитку синдрому ГДН відбувається інтенсифікація окисної модифікації білків і як наслідок накопичення її продуктів у вигляді карбонільних білків.

3. У новонароджених із ГДН спостерігається посилення процесів ліпопероксидації з подальшим накопиченням продуктів ПОЛ.

4. Першими у відповідь на окисний стрес у новонародженого з ГДН виступають саме білки і лише потім ініціюється пероксидне окиснення ліпідів (вірогідний корелятивний зв'язок даних показників становить $r = 0,381$; $p = 0,034$).

Буряк А.Г., Яценко Ю.Б.

Буковинский государственный медицинский университет,
г. Черновцы

СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ И НИТРОКСИДЕРГИЧЕСКИЙ ДИСБАЛАНС У НОВОРОЖДЕННЫХ С ОСТРОЙ ДЫХАТЕЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

Резюме. В данном исследовании проведено изучение оксидативного и нитроксидагического статуса при синдроме острой дыхательной недостаточности у 45 новорожденных. Изучены активность свободнорадикального окисления, уровень белковых карбониллов, малонового диальдегида и активность антиоксидантной защиты по уровню каталазы в конденсате выдыхаемого воздуха. Показано, что у новорожденных в условиях окислительного и нитроксидагического стресса происходит рост показателей оксидантно-прооксидантной системы и накопления метаболитов оксида азота.

Ключевые слова: острая дыхательная недостаточность, новорожденные, оксид азота, свободнорадикальное окисление.

Список літератури

1. Анаев Э.Х., Чучалин А.Г. Исследование конденсата выдыхаемого воздуха в пульмонологии (обзор зарубежной литературы) // Пульмонология. — 2002. — № 2. — С. 57-65.
2. Климов В.В., Котовкина Т.В. Тест восстановления нитросинего тетразолия, стимулированный пирогеналом // Лабораторное дело. — 1982. — № 10. — С. 48-49.
3. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. и др. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. — 1988. — № 1. — С. 16-18.
4. 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.
5. Ройтберг Г.Е., Струтынский А.В. Лабораторная и инструментальная диагностика заболеваний внутренних органов: Уч. пособие для студ. мед. вузов. — М.: БИНОМ, 1999. — 622 с.
6. Соодаева С.К. Окислительный стресс и антиоксидантная терапия при заболеваниях органов дыхания // Пульмонология. — 2006. — № 5. — С. 122-126.
7. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. — М.: Медицина, 1977. — С. 66-68.
8. Титов И.И., Ерстенюк Г.М., Близняк Д.В. Стан окиснотворительной модификации белков та ліпідів у хворих у гострий період ішемічного інсульту // Біль, знеболювання й інтенсивна терапія. — 2007. — № 3. — С. 61-64.
9. Федотов О.В., Гавриленко Г.В. Ріст та каталазна активність штамів гриба *Pleurotus (Fr.) Kunt* // Ученые записки Таврического национального университета. — 2001. — Т. 14(53), № 1. — С. 54-56.
10. Яценко Ю.Б. Биомаркеры синдрому гострого повреждения легень у новонароджених при сепсисі // Буковинський медичний вісник. — 2006. — Т. 10, № 2. — С. 86-90.
11. Aarti S. Mahajan, Babbar Rashmi, Kansal. Nisheeth. Antihypertensive and Antioxidant Action of Amlodipine and Vitamin C in Patients of Essential Hypertension // J. Clin. Biochem. Nutr. — 2007. — Vol. 40(2). — P. 141-147.
12. Görenek Levent, Acar Ali, Aydin Ahmet et al. Oxidative stress and antioxidant defense in patients with chronic hepatitis C patients before and after pegylated interferon alpha-2b plus ribavirin therapy // J. Transl. Med. — 2006. — Vol. 4. — P. 25.
13. Park B.H., Fikring S.M., Smithwick E.M. Infection and nitrobluetetrasolium reduction by neutrophils — a diagnostic aid // Lancet. — 1968. — Vol. 11, № 7567. — P. 532-534.

Отримано 08.05.09 □

Buryak O.G., Yashchenko Yu.B.

Bukovinian State Medical University, Chernivtsi,
Ukraine

FREE RADICAL OXIDATION AND NITROXYDERGIC IMBALANCE IN NEWBORNS WITH ACUTE RESPIRATORY FAILURE

Summary. The given research presents the study of oxidative and nitroxydergic state at acute respiratory failure syndrome in 45 newborns. The activity of free radical oxidation, the level of protein carbonyls, malonic dialdehyde and the activity of antioxidative defense by the level of catalase in the expiratory air condensate have been studied. Under conditions of oxidative and nitroxydergic stress the newborns have been found to develop increase of the indices of the oxidative-prooxidative system and accumulation of nitrogen oxide metabolites.

Key words: acute respiratory failure, newborns, nitrogen oxide, free radical oxidation.