

СОДЕРЖАНИЕ ПРОДУКТОВ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ ЛИПИДОВ И БЕЛКОВ В ЛЕГКИХ ПРИ ИНГАЛЯЦИОННОМ ВВЕДЕНИИ N-АЦЕТИЛЦИСТЕИНА НА ФОНЕ ГИПЕРОКСИИ

Котович И.Л., Рутковская Ж.А., Таганович А.Д.

Белорусский государственный медицинский университет

Актуальность. Токсическое действие кислорода и окислительный стресс являются важными патогенетическими факторами повреждения легких у недоношенных новорожденных, которые способствуют длительному персистированию воспалительного процесса и, в итоге, формированию хронической патологии – бронхолегочной дисплазии (БЛД) [1]. Эффективные методы фармакотерапии и фармакопрофилактики БЛД до настоящего времени не разработаны. Одним из перспективных направлений исследований представляется изучение фармакологического потенциала средств, обладающих антиоксидантной активностью.

N-ацетилцистеин является известным антиоксидантом, действие которого обусловлено наличием сульфгидрильной группы в его составе, а также способностью усиливать синтез глутатиона. Однако, в ранее проведенных исследованиях было выявлено, что при пероральном приеме N-ацетилцистеина существенного изменения уровня тиолсодержащих соединений в ткани легких и бронхоальвеолярной жидкости не происходит [2]. Ингаляционный путь введения позволяет избежать элиминации лекарственного средства при прохождении через печень и доставлять практически всю вводимую дозу непосредственно в легкие. Мы предположили, что N-ацетилцистеин при ингаляционном введении будет эффективен в плане защиты молекулярных структур легких от окислительного повреждения. В данной работе мы использовали общепризнанную гипероксическую модель БЛД для исследования влияния N-ацетилцистеина на перекисное окисление липидов и белков в легких.

Цель. Изучить влияние N-ацетилцистеина при ингаляционном введении на содержание продуктов перекисного окисления липидов и белков в легких в условиях гипероксии.

Материалы и методы исследования. Эксперимент проводили с соблюдением этических норм и правил работы с лабораторными животными. Новорожденные морские свинки вивария БГМУ были разделены на группы «контроль», «гипероксия», «гипероксия+N-ацетилцистеин» (в каждой группе n=8-10). Контрольные животные дышали обычным воздухом. Для создания условий гипероксии животных помещали

в плексигласовую камеру, в которой за счет постоянной подачи кислорода поддерживали концентрацию O_2 не ниже 70%. Длительность инкубации составляла 3 и 14 суток. N-ацетилцистеин вводили один раз в два дня с использованием компрессорного небулайзера ComrAir (NE-C28-E, Omron, Китай). Ингаляционная смесь содержала N-ацетил-цистеин (20% раствор для ингаляций, Белмедпрепараты, Беларусь) из расчета 250 мг/кг и натрий-фосфатный буфер (0,1 М) с ЭДТА (0,1 мМ), pH=7,4.

В качестве материала для исследования использовали бронхоальвеолярную лаважную жидкость (БАЛЖ), которую получали путем промывания легких раствором 0,9% NaCl через эндотрахеальный зонд после наркотизации животных. Клеточные элементы БАЛЖ осаждали путем центрифугирования (10 мин, 200 g, 4 °C); в супернатанте БАЛЖ стандартными спектрофотометрическими методами определяли содержание первичных, вторичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов (диеновых конъюгатов, малонового диальдегида и других продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), и Шиффовых оснований соответственно) и продуктов окислительной модификации белков (карбонильных производных). Содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) пересчитывали на мкМ фосфолипидов в БАЛЖ и выражали в отн. ед., содержание карбонильных производных – в нМ/мг белка.

Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0. Для оценки различий между группами применяли непараметрический U-тест Манна-Уитни, отличия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Данные представлены в виде: медиана (25 процентиль – 75 процентиль).

Результаты. Воздействие гипероксии в течение 3-х суток приводило к росту уровня первичных продуктов ПОЛ в БАЛЖ до 3,7 (2,2–4,4) отн. ед. ($p < 0,05$ по сравнению с 1,3 (1,0–1,4) отн. ед. в группе «контроль 3 суток»). Увеличения содержания продуктов, реагирующих с ТБК, и оснований Шиффа в легких на данном сроке наблюдения выявлено не было, что свидетельствует о начальной стадии активации ПОЛ в легких. Было обнаружено значительное (в 4,5 раза, $p < 0,05$) увеличение уровня карбонильных производных в БАЛЖ в группе, подвергавшейся действию гипероксии в течение 3-х суток, что подтверждает усиление окислительной модификации белков в бронхоальвеолярном пространстве в условиях гипероксии. У животных, подвергавшихся действию гипероксии в течение 3-х суток и получавших ингаляции с N-ацетилцистеином, уровень диеновых конъюгатов оставался повышенным и составил 3,3 (2,1–4,2) отн. ед. ($p < 0,05$ по сравнению с группой «контроль 3 суток»), а содержание карбонильных производных уменьшилось до 33,7 (33,2–33,4) нМ/мг белка (по сравнению с 13,2 (10,7–37,6) нМ/мг белка в группе «контроль 3 суток»).

разница недостоверна). Таким образом, введение N-ацетилцистеина на фоне 3-х дневной гипероксии не влияло на процесс ПОЛ, но способствовало подавлению окислительной модификации белков в легких.

Воздействие гипероксии в течение 14 суток сопровождалось выраженным усилением процессов ПОЛ в легких, что подтверждается значимым увеличением уровня как диеновых конъюгатов (до 3,7 (2,1–4,3) отн. ед. по сравнению с 2,2 (1,5–2,4) в соответствующей группе «контроль», $p < 0,05$), так и продуктов, реагирующих с ТБК (8,7 (5,3–18,5 отн. ед. по сравнению с 4,5 (3,7–7,4) отн. ед. в группе «контроль 14 суток», $p < 0,05$) и оснований Шиффа (их уровень составил 0,75 (0,63–0,90) отн. ед., тогда как в группе «контроль 14 суток» основания Шиффа не обнаруживались). Отмечалась тенденция к повышению содержания карбонильных производных в БАЛЖ спустя 14 суток гипероксии, которая, однако, не была достоверной (33,1 (14,4–46,2) нМ/мг белка в группе «гипероксия 14 суток» по сравнению с 24,2 (20,6–25,9) нМ/мг белка в соответствующей группе «контроль»). Снижение уровня карбонильных производных в БАЛЖ по мере увеличения продолжительности гипероксии ранее отмечалось и другими исследователями и, вероятно, обусловлено усилением протеолиза поврежденных белков [3]. Результатом введения N-ацетилцистеина на фоне 14-дневной гипероксии было достоверное снижение диеновых конъюгатов и продуктов, реагирующих с ТБК, до уровней контрольных значений; уровень оснований Шиффа также снизился и составил 0,15 (0,11–0,71) отн. ед. ($p < 0,05$ по сравнению с группой «гипероксия»). Существенного изменения содержания карбонильных производных в БАЛЖ вследствие введения N-ацетилцистеина на этом сроке воздействия гипероксии выявлено не было.

Выводы. Ингаляционное введение N-ацетилцистеина в условиях трехдневного воздействия гипероксии подавляет окислительную модификацию белков в легких, о чем свидетельствует нормализация уровня карбонильных производных в БАЛЖ, тогда как уровень первичных продуктов ПОЛ (диеновых конъюгатов) остается повышенным. В условиях длительной гипероксии (14 суток) введение N-ацетилцистеина способствует снижению интенсивности процессов ПОЛ и уменьшению уровней продуктов липопероксидации в легких.

Литература

1. Wang, J. Oxidative stress and bronchopulmonary dysplasia / J. Wang, W. Dong // Gene, 2018. – Vol. 678. – P. 177–183.
2. Effect of N-acetylcysteine on the concentrations of thiols in plasma, bronchoalveolar lavage fluid, and lung tissue / M. M. E. Bridgeman [et al.] // Thorax. – 1994. – Vol. 49. – P. 670–675.
3. Окислительная модификация белков: проблемы и перспективы исследования / Л. Е. Муравлева [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2010. – № 1. – С. 74–78.