

© З. Р. Хайбуллина, Ч. К. Собиржанова

УДК 616.153.915 + 616.831 + 005.07

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ДЕЙСТВИЯ СВЕРХМАЛЫХ ДОЗ АНТИОКСИДАНТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ ПЛОДА

З. Р. Хайбуллина, Ч. К. Собиржанова (Ташкент, Узбекистан)

Статья посвящена анализу изменений фосфолипидного состава и активности ферментов антиоксидантной системы в мозговой ткани на фоне введения сверхмалых доз антиоксидантов животным, перенесшим внутриутробную гипоксию. Актуальность проводимого экспериментального исследования обусловлена тем, что гипоксия плода, вызывая задержку внутриутробного развития и церебральную ишемию у новорожденного, вносит вклад в рост инвалидности детей. Концепция нейропротекции антиоксидантами активно применяется при лечении ишемического инсульта у взрослых, однако не используется у новорожденных, вероятно, в виду отсутствия фундаментальных разработок, доказывающих ее эффективность. Тем более не исследовано действие сверхмалых доз (СМД), хотя в настоящее время уже не вызывает сомнений реальное существование способности веществ различной природы, примененных в дозах 10^{-10} – 10^{-17} М, оказывать эффект на различные биообъекты на молекулярном уровне. Обнаружено, что у животных, перенесших внутриутробную гипоксию, на 1-5 сутки жизни в мозговой ткани происходит накопление малонового диальдегида (МДА), угнетается активность супероксиддисмутазы (СОД), снижается абсолютное количество легкоокисляемых и функционально важных ФЛ: фосфатидилсерина (ФС) и фосфатидилинозитола (ФИ). При введении СМД водорастворимого антиоксиданта фенозана снижение МДА до контрольного уровня наблюдается к 10 суткам, при введении жирорастворимого альфа-токоферола – на 12 сутки, без введения – на 21 сутки. Активность СОД при введении СМД фенозана восстанавливается значительно быстрее, становясь сравнимой с контролем с 5 суток жизни, активность каталазы – с 8 суток жизни, тогда как при введении альфа-токоферола активность СОД и каталазы становилась сравнимой с контролем лишь на 21 сутки жизни. На 7–14 сутки постгипоксического периода в мозговой ткани отмечено уменьшение структурных ФЛ – фосфатидилхолина (ФХ), фосфатидилинозитола (ФЭА). Изменения содержания сфингомиелина (СФМ) проявились в ранние сроки его увеличением, что указывает на повышение ригидности мембран и их насыщенности, а в поздние сроки – уменьшением, что указывает на нарушения миелинизации. После 10 суток жизни отмечалось максимально выраженное снижение содержания кардиолипина (КЛ), что создает предпосылки для нарушения развития митохондрий и энергообмена в мозговой ткани. Полученные результаты доказывают, что водорастворимый антиоксидант фенозан в сверхмалых дозах обладает высокой эффективностью в мозговой ткани,

Хайбуллина Зарина Руслановна – доктор медицинских наук, доцент кафедры Биологической химии Ташкентского Педиатрического медицинского института.

E-mail: zr-khaybullina@rambler.ru

Собиржанова Чарос Кахрамон кизи – студентка 5 курса педиатрического факультета Ташкентского педиатрического медицинского института.

т.к. приводит к ранней нормализации фосфолипидного состава и активности ферментов антиоксидантной системы в мозге, создавая благоприятные условия для развития мозговых функций и нейропластичности в постгипоксическом периоде.

Ключевые слова: гипоксия плода, антиоксиданты, сверхмалые дозы, фосфолипиды мозга, каталаза, супероксиддисмутаза.

Актуальность проблемы.

Около 10 % новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию, составляют группу риска по смертности в остром периоде, а среди выживших 30 % имеют риск развития нарушений нервно-психических функций, эпилепсии, шизофрении, аутизма [1]. Примерно 0,2–0,4 % всех живорожденных страдают перинатальной ишемией-гипоксией [2], которая обуславливает развитие неврологического дефицита и школьной неуспеваемости у детей. Указанное диктует необходимость поиска оптимальной нейропротекции, основанной на молекулярных механизмах повреждения при гипоксии плода. Концепция нейропротекции антиоксидантами активно применяется при лечении ишемического инсульта у взрослых [3–5], однако не используется у новорожденных, вероятно, в виду отсутствия фундаментальных разработок, доказывающих ее эффективность. Тем более не исследовано действие сверхмалых доз (СМД), хотя в настоящее время уже не вызывает сомнений реальное существование способности веществ различной природы, примененных в дозах 10^{-10} – 10^{-17} М, оказывать эффект на различные биообъекты на молекулярном уровне [6]. Выявлены некоторые общие характерные закономерности низкоинтенсивных воздействий как химических, так и физических факторов – нелинейная, немонотонная, полимодальная зависимость эффекта от дозы, зависимость эффекта от начальных характеристик биообъекта, изменение чувствительности биообъектов к последующим

воздействиям [7]. Особенности воздействия сверхмалых доз биологически активных веществ (БАВ) являются сложная полимодальная зависимость доза – эффект, когда вещество проявляет активность при концентрации 10^{-3} М и 10^{-14} М, а в промежутке между этими концентрациями образуется «мертвая зона» с отсутствием эффекта; преимущественное действие на уровне биологических мембран, воздействие на различные сигнальные системы клеточной регуляции [6–7]. Молекулярные механизмы действия сверхмалых – «нанодоз» антиоксидантов на структурно-функциональные параметры биологических мембран при внутриутробной гипоксии плода не исследованы, хотя именно повреждение мембран под действием активных форм кислорода (АФК) лежит в основе патогенеза гипоксии плода и гибели нейроцитов [8].

Целью работы явилось исследование становления антиоксидантной системы (АОС) и уровня генерации АФК, динамики фосфолипидного (ФЛ) спектра в тотальных гомогенатах мозга в различные сроки постнатального периода после внутриутробной гипоксии плода, а также сравнительная оценка динамики этих параметров на фоне введения антиоксидантов различных классов в СМД.

Материалы и методы.

Моделирование хронической внутриутробной гипоксии: беременным крысам-самкам со второй недели гестации в хроническом эксперименте проводилась путем общей гипобарической гипоксии. Животных ежедневно в течение 10 дней погружали в специ-

альную камеру, снабженную манометром, предохранительным клапаном, смотровым окошком, щелочным поглотителем для устранения избытка углекислого газа, где создавалось давление 41,1 кПа (308 мм. рт. ст.), что соответствует подъему на высоту 7000 м над уровнем моря. Скорость компрессии и декомпрессии – 0,5 кПа/мин (в течение 80 мин). Экспозиция в условиях разрежения воздуха – 1 час под контролем содержания O_2 и CO_2 в воздухе. Выбранная модель является адекватной, т.к. в результате высотной гипобарической гипоксии происходит нарушение плацентарного кровотока у самок, что является основной причиной фето-плацентарной недостаточности у беременных женщин [9]. Именно плацентарная недостаточность и внутриутробная гипоксия обуславливают нарушения нервно-психического развития и поведения, имея неблагоприятные отдаленные последствия, механизмы развития которых полностью не известны [10–11].

В группах для каждой серии экспериментов использовано по 7–16 животных. Распределение опытных крысят на группы производилось следующим образом. Контрольная группа – интактные крысята в возрасте 0–21 дня. Опытная группа – крысята, перенесшие хроническую внутриутробную гипоксию плода, аналогичного возраста. Группа наблюдения – крысята, перенесшие хроническую внутриутробную гипоксию плода, получавшие фенозан (препарат синтезирован в Институте химической физики АН СССР, относится к экранированным пространственно затрудненным фенолам) в СМД ($10^{-16}M$ в 0,1 мл). Группа сравнения – крысята, перенесшие хроническую внутриутробную гипоксию плода, получавшие альфа-токоферол в СМД ($10^{-15}M$ в 0,1 мл).

СМД фенозана получали путем последовательного дробного разведения рабочей смеси, состоявшей из 27,8 мг калиевой соли фенозана, доведенной до 1,0 л 0,036M раствора гидроксида калия (раствор фенозана $10^{-12}M/л$). Животным группы наблюдения ежедневно в течение 5 первых дней жизни вводили по 0,1мл этого раствора, содержащего $10^{-16}M$ фенозана. Для введения внутрь пищевода использовали длинную иглу с накопником.

Аналогичным способом животным группы сравнения в течение первых 5 дней жизни вводили жирорастворимый антиоксидант альфа-токоферол. Масляный 5 % раствор альфа-токоферола разводили дробно последовательно в растительном масле до концентрации $10^{-15}M$ в 0,1 мл.

После родов произведено обследование новорожденных крысят: при рождении, на 1, 3, 5, 8, 10, 12, 21 дни жизни. Забой животных проводили путем декапитации под эфирным наркозом с соблюдением этических требований Международной конвенции о гуманном обращении с животными. Из мозга крысят готовили гомогенаты. Среда выделения состояла из 0,125M KCl. Экстракцию общих липидов проводили по методу Фолча с рекомендациями (Кейтс М., 1975), с использованием хлороформ-метаноловой смеси в соотношении 2:1. Фракционирование фосфолипидов (ФЛ) проводили методом тонкослойной хроматографии на силикагеле. О количестве общих ФЛ и их отдельных фракций судили по содержанию фосфора в них по методу Васьковского. Количество малонового диальдегида (МДА) определяли тестом с тиобарбитуровой кислотой по методу Стальной И. Д. и соавт. (1977), активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли по скорости аутоокисления адреналина по Mirsa P.H., Fridovich I. в

модификации О. С. Брусова с соавт. (1976), каталазы – перманганатометрически по С. М. Зубковой и соавт. (1976).

Результаты.

В период с момента рождения до 21 дня жизни крыс, что аналогично периоду от рождения до первых 4-5 лет жизни у человека, происходят существенные перестройки как в составе мембранных ФЛ, так и уровня МДА,

активности ферментов антиоксидантной защиты, что можно рассматривать как следствие созревания мозговых структур и синхронизации активности АОС с уровнем генерации АФК. Продукция АФК в мозге усиливается на 8–10 сутки жизни в 1,2–1,4 раза, а активность СОД и каталазы в эти сроки достоверно увеличивается в 1,8–2,1 и 1,3–1,4 раза относительно аналогичных показателей при рождении соответственно (таблица 1).

Таблица 1

Динамика уровня МДА (нмоль/мг белка x мин) в мозговой ткани при коррекции антиоксидантами различных классов в СМД

Сутки жизни	1 час	24 часа	3 сут	5 сут	8 сут	10 сут	12 сут	21 сут
Контрольная гр., P1	3,86 ±0,09	4,10 ±0,11	4,21 ±0,12	4,15 ±0,12	4,53 ±0,11	5,42 ±0,10	5,43 ±0,08	5,50 ±0,09
Опытная группа, P2	5,33 ±0,09	8,34 ±0,09	7,67 ±0,07	7,83 ±0,08	6,12 ±0,06	5,80 ±0,12	5,70 ±0,07	5,57 ±0,07
Гр.наблюдения (фенозан), P3	-	8,00 ±0,12	6,17 ±0,08	6,19 ±0,07	5,73 ±0,08	5,51 ±0,06	5,49 ±0,05	5,54 ±0,05
Гр. сравнения (токоферол), P4	-	8,12 ±0,11	6,87 ±0,11	6,80 ±0,14	5,90 ±0,11	5,86 ±0,15	5,53 ±0,11	5,56 ±0,09
P1:2	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,05	<0,05	>0,05
P 1:3	-	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	>0,05	>0,05	>0,05
P 1:4	-	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05
P 2:3	-	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05
P 2:4	-	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
P 3:4	-	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05

Эти данные свидетельствуют об определенном уровне АФК, необходимом для развития синаптогенеза и гиппокампальной активности, лежащих в основе формирования когнитивных функций и памяти. АФК являются участниками рецепторных функций центральной нервной системы (ЦНС) – N-метил-D-аспаратат (NMDA), глутаматных и других рецепторных систем, широко распространенных в постсинаптических дендритах ЦНС, кортикальных астроцитах, базальных ганглиях, гиппокампе [12]. При введении СМД водорастворимого антиоксиданта фено-

зана снижение МДА до контрольного уровня наблюдается раньше – к 10 суткам, при введении жирорастворимого альфа-токоферола – на 12 сутки, без введения – на 21 сутки.

Активность СОД при введении СМД фенозана восстанавливается значительно быстрее, становясь сравнимой с контролем, начиная с 5 суток жизни, активность каталазы – с 8 суток жизни, тогда как при введении альфа-токоферола в СМД активность СОД и каталазы становилась сравнимой с контролем лишь на 21 сутки жизни (таблица 2).

Таблица 1

Активность СОД (Е/мг белка) в мозговой ткани при введении СМД антиоксидантов

Сутки жизни	1 час	24 часа	3 сут	5 сут	8 сут	10 сут	12 сут	21 сут
Контрольная гр., P1	0,53 ±0,04	0,58 ±0,05	0,57 ±0,07	0,72 ±0,05	0,95 ±0,03	1,11 ±0,06	1,31 ±0,11	1,36 ±0,09
Опытная группа, P2	0,96 ±0,07	0,31 ±0,02	0,36 ±0,02	0,47 ±0,03	0,72 ±0,06	1,06 ±0,07	1,37 ±0,07	1,32 ±0,07
Гр. наблюдения (фенозан), P3	-	0,34 ±0,02	0,36 ±0,03	0,64 ±0,03	0,89 ±0,02	1,12 ±0,08	1,11 ±0,03	1,18 ±0,05
Гр. сравнения (токоферол), P4	-	0,32 ±0,02	0,39 ±0,01	0,51 ±0,05	0,65 ±0,06	0,86 ±0,05	0,99 ±0,04	1,33 ±0,06
P1:2	<0,001	<0,001	<0,05	<0,001	<0,01	>0,05	>0,05	>0,05
P 1:3	-	<0,001	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
P 1:4	-	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05
P 2:3	-	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05	>0,05
P 2:4	-	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05
P 3:4	-	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05

У животных, перенесших гипоксию, в мозговой ткани было обнаружено накопление МДА, выраженное угнетение СОД на 1–5 сутки жизни, которые сопровождались снижением в первую очередь легкоокисляемых и функционально важных фосфатидилсерина (ФС) и фосфатидилинозитола (ФИ) – на 5 сутки. Снижение количества ФС указывает на его окисление и экстернализацию, приводящие к апоптозу. Стабильно низкое содержание ФС является предпосылкой для гибели нейронов путем апоптоза на протяжении первых 5 суток постнатального периода, а после 8 суток жизни – может рассматриваться как фактор хронизации поражения мозговой ткани за счет активации под действием ФС иммунной реакции [13], что ведет к задержке развития мозга.

На второй неделе жизни постгипоксические изменения в мозге проявились уменьшением структурных ФЛ – фосфатидилхолина (ФХ), фосфатидилинозитола (ФЭА): содержание ФХ достоверно изменялось после 8

суток как по молярной доле, так и количественно. Изменения содержания сфингомиелина (СФМ) проявились в ранние сроки его увеличением, что указывает на повышение регидности мембран и их насыщенности, а в поздние сроки – уменьшением, что указывает на нарушения миелинизации. После 10 суток жизни отмечалось максимально выраженное снижение содержания кардиолипина (КЛ), что создает предпосылки для нарушения развития митохондрий и энергообмена в мозговой ткани. Возможно, это привело к торможению биосинтеза фосфолипидов и их взаимопревращений на 12 сутки жизни, о чем свидетельствует увеличение молярной доли фосфатидной кислоты (ФК), ФЭА, СФМ.

Под действием СМД фенозана в мозговой ткани изменение в сторону нормализации молярной доли индивидуальных ФЛ начинается с 3 суток жизни, когда имеются достоверные отличия показателей СФМ, ФХ, ФЭА, КЛ между опытной группой, и группой, получавшей фенозан в СМД. Не смотря на это,

статистически сравнима с контролем в этот срок только молярная доля ФИ. На 5 сутки жизни, являющиеся критическими для развития постгипоксических изменений в мозге, молярные доли ФС и ФИ увеличиваются, однако не достигают контрольных величин, при этом достоверно отличаясь от показателей в опытной группе. Эта разница также достоверна для молярной доли ЛФХ, ФЭА, ФК.

Фенозан и альфа-токоферол в СМД приводят к нормализации количественного содержания суммарных и индивидуальных ФЛ к 12 суткам жизни, что создает морфологическую основу для нормального развития

мозга и формирования нейропластичности. При введении СМД фенозана содержание молярной доли ЛФХ, ФХ, ФЭА, КЛ, ФК на 12 сутки жизни достоверно не отличается от контрольного. Молярная доля СФМ при этом значительно ниже, чем в контрольной (в 1,6 раза) и опытной группе (1,2 раза). Вероятно, это обусловлено замедлением превращений ФХ в СФМ, либо перераспределением ЦДФ-холина в пользу синтеза ФХ, молярная доля которого превышает контрольные показатели на 11 %, хотя это различие статистически недостоверно (табл. 3).

Таблица 3

Содержание ФЛ фракций в мозговой ткани при введении СМД антиоксидантов на 12 сутки постнатального периода (%), сумма – 100 %

Группа животных	ЛФХ	СФМ	ФХ	ФС	ФИ	ФЭА	КЛ	ФК
Контрольная группа (n=8), P1	0,92± 0,12	4,32± 0,32	42,22±3 ,51	12,27±0 ,45	4,86± 0,37	28,72±5 ,24	4,12± 0,32	2,57± 0,19
Опытная группа (n=8), P2	1,34± 0,02	3,33± 0,15	37,99±0 ,31	9,00± 0,15	4,49± 0,06	35,87±0 ,34	3,91± 0,07	4,07± 0,17
Группа наблюдения (фенозан) (n=8), P3	1,03± 0,02	2,73± 0,22	47,03±0 ,63	13,87±0 ,40	3,39± 0,10	26,37±0 ,53	3,50± 0,24	2,08± 0,28
Группа сравнения (альфа-токоферол) (n=8), P4	1,11± 0,01	3,36± 0,03	36,24±0 ,49	9,27± 0,08	5,60± 0,05	37,41±0 ,29	3,55± 0,03	3,46± 0,03
P1:2	<0,01	<0,05	>0,05	<0,001	>0,05	>0,05	>0,05	<0,001
P 1:3	>0,05	<0,01	>0,05	<0,05	<0,01	>0,05	>0,05	>0,05
P1:4	>0,05	<0,01	>0,05	<0,001	>0,05	>0,05	>0,05	<0,01
P 2:3	<0,001	<0,05	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	>0,05	<0,001
P 2:4	<0,001	>0,05	<0,05	>0,05	<0,001	<0,01	<0,01	<0,01
P 3:4	<0,01	<0,05	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	>0,05	<0,01

Таким образом, использование СМД фенозана в мозговой ткани способствовало восстановлению активности СОД – на 5 суток, каталазы – на 8 суток, МДА – на 10 суток и ФЛ состава на 12 сутки жизни. При введении СМД альфа-токоферола отмечаются разнонаправленные сдвиги содержания единич-

ных фракций ФЛ в течение 1-10 суток; на 12 сутки постнатального периода происходит достоверное увеличение до уровня контроля молярной доли ЛФХ, ФХ, ФИ, ФЭА, КЛ, ФК и содержания МДА, тогда как активность СОД и каталазы нормализуются к 21 суткам жизни. Это указывает на специфическое вза-

имодействие альфа-токоферола в СМД с фосфолипидами мозговой ткани. При использовании СМД водорастворимого антиоксиданта фенозана в мозговой ткани в постгипоксическом периоде происходит достоверное восстановление активности СОД – на 5 сутки, снижение до уровня контроля МДА – на 10 сутки, чем обусловлены положительные сдвиги содержания отдельных ФЛ фракций: ЛФХ, ФХ, ФЭА, КЛ, ФК на 12 сутки постгипоксического периода.

Полученные результаты свидетельствуют о преимущественном влиянии СМД фенозана на ферментативное звено защиты от АФК в мозговой ткани, способствующей снижению окисления ФЛ в течение постнатального периода и созданию благоприятных условий для развития мозга. Примечательно, что в процессе коррекции нарушений ФЛ состава антиоксидантами в СМД происходит нормализация молярной доли и оптимизация до нормы соотношения фосфолипидных фракций, тогда как их абсолютное содержание (ммоль Р/кг ткани) не восстанавливается. Это указывает на стимуляцию компенсаторных свойств мозга и восстановление клеточного гомеостаза за счет ремоделирования мембран на фоне снижения интенсивности биосинтеза ФЛ.

Полученные данные о различной эффективности фенозана и альфа-токоферола в мозговой ткани согласуются с ранее выявленными фундаментальными представлениями о механизмах действия антиоксидантов в зависимости от дозы [14]. Существуют данные, что эффекты фенозана в СМД обусловлены его прямым влиянием на ферменты, суперактивацией протеинкиназы С, а также реакцией с пероксирадикалами, активными

формами кислорода, рецепторными взаимодействиями, параметрическим резонансом, структурной памятью воды [6]. Возможно, обнаруженное нами увеличение активности СОД и каталазы под действием СМД антиоксидантов указывает на их модулирующие свойства в отношении этих ферментов. Понижение концентрации конечного продукта липопероксидации МДА под действием СМД фенозана, возможно, обусловлено снижением его образования за счет обрыва цепи в результате реакции самонейтрализации (рекомбинации) свободных радикалов, что в свою очередь может быть обусловлено свойствами особых структур воды, упорядоченной фенозаном. Мы полагаем, что нормализация редокс-статуса в мозговой ткани под действием СМД фенозана приводит к снижению перекисления ФЛ и оптимизации их биосинтеза, что проявляется нормализацией содержания отдельных ФЛ фракций.

Выводы

1. В постгипоксическом периоде в мозговой ткани отмечается высокое содержание МДА и низкая активность СОД, которые обусловили снижение функционально значимых, а затем и структурных ФЛ, торможение биосинтеза ФЛ мозговой ткани, следствием чего стало понижение суммарных ФЛ и дисбаланс ФЛ фракций.

2. Водорастворимый антиоксидант фенозан в СМД обладает высокой эффективностью в мозговой ткани, т.к. приводит к ранней нормализации фосфолипидного состава и активности ферментов антиоксидантной системы в мозге, создавая благоприятные условия для развития мозговых функций в постгипоксическом периоде.



СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Mwaniki M.K., Atieno M., Lawn J.E., Newton C.R.** Long-term neurodevelopmental outcomes after intrauterine and neonatal insults: a systematic review. *Lancet*, 2012, no. 379(9814), pp. 445–452.
2. **Gill M.B., Bockhorst K., Narayana P., Perez-Polo J.R.** Wax shuttling after neonatal hypoxia-ischemia: hyperoxia effects. *J Neurosci Res*, 2008, no. 86(16), pp. 3584–3604.
3. **Володин Н.Н., Медведев М.И., Горбунов А.В.** Клинические синдромы нарушения нейрональной пролиферации – семиотика и современная диагностика // Вопросы практической педиатрии. – 2009. – № 4(3). – С. 12–19.
4. **Суслина З.А., Максимова М.Ю.** Концепция нейропротекции: новые возможности ургентной терапии ишемического инсульта // Нервные болезни. – 2004. – № 3. – С. 4–7.
5. **Hannah C. Glass, David Glidden, Rita J. Jeremy, A. James Barkovich, Donna M. Ferriero, Steven P. M.** Clinical Neonatal Seizures are Independently Associated with Outcome in Infants at Risk for Hypoxic-Ischemic Brain Injury. *The Journal of Pediatrics*, 2009, vol. 155, no. 3, pp. 318–323.
6. **Burlakova E.B., Konradov A.A., Mal'tseva E.L.** The Effect of Ultra Low Doses of Biologically Active Substances and Low Rate Physical Factors. *LIFE and MIND – In Search of the Physical Basis*, Ed. S. Savva. MISAHA, Trafford Publishing, ISBN 1–4251–1090–8, 2007, pp. 79–113.
7. **Бурлакова Е.Б.** Биоантиоксиданты. Наномир слабых воздействий – «карликов», его законы, общность и различия с миром «гигантов» // Биоантиоксидант: Тез. докл. VIII Междунар. конференции 4-6 окт. 2010, Москва, 2010, С. 69–71.
8. **Northington F.J., Zelaya M.E., O'Riordan D.P., Blomgren K., Flock D.L., Hagberg H., Ferriero D.M., Martin L.J.** Failure to complete apoptosis following neonatal hypoxia-ischemia manifests as "continuum" phenotype of cell death and occurs with multiple manifestations of mitochondrial dysfunction in rodent forebrain. *Neuroscience*, 2007, vol. 149, no. 4, pp. 822–833.
9. **Moore L.G., Charles S.M., Julian C.G.** Humans at high altitude: hypoxia and fetal growth. *Respir Physiol Neurobiol*, 2011, no. 178(1), pp. 181–190.
10. **Anastario M., Salafia C.M., Fitzmaurice G., Goldstein J.M.** Impact of fetal versus perinatal hypoxia on sex differences in childhood outcomes: developmental timing matters. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*, 2012, no. 47(3), pp. 455–464.
11. **Morton J.S., Rueda-Clausen C.F., Davidge S.T.** Flow-mediated vasodilation is impaired in adult rat offspring exposed to prenatal hypoxia. *J Appl Physiol*, 2011, no. 110(4), pp. 1073–1082.
12. **Chang J.Y., Lee K.S., Hahn W.H., Chung S.H., Choi Y.S., Shim K.S., Bae C.W.** Decreasing trends of neonatal and infant mortality rates in Korea: compared with Japan, USA, and OECD nations. *J Korean Med Sci*, 2011, no. 26(9), pp. 1115–1123.
13. **Chaurio R.A., Janko C., Muñoz L.E., Frey B., Herrmann M., Gaipf U.S.** Phospholipids: key players in apoptosis and immune regulation. *Molecules*, 2009, vol. 14, no. 12, pp. 4892–4914.
14. **Хайбуллина З.Р., Ибрагимов У.К.** Биохимическое обоснование применения сверхмалых доз биологически активных веществ (обзор) // Инфекция, иммунитет, фармакология. – 2013. – № 4. – С. 64–68.

© Z. R. Khaybullina, Ch. K. Sobirjanova

UDC 616.153.915 + 616.831 + 005.07

ULTRA LOW CONCENTRATIONS OF ANTIOXIDANTS AT EXPERIMENTAL HYPOXIA OF FETUS – SOME ASPECTS OF ACTION MECHANISM

Z. R. Khaybullina, Ch. K. Sobirjanova (Tashkent, Uzbekistan)

The article is devoted to the analyzes the changes in phospholipids composition and activity of antioxidant enzymes in brain tissue in animals undergoing intrauterine hypoxia and treatment by ultra-low doses of antioxidants in postnatal period. Urgency of problem. Fetal hypoxia causes fetal growth retardation and cerebral ischemia in newborn. The concept of neuroprotection by antioxidants is actively used in the treatment of ischemic stroke in adults, but it is not used in infants, probably due to lack of fundamental research to prove its effectiveness. Especially there are not studied the action of ultra-low doses (ULD), despite of there was established the ability of many substances to have an effects in ultra low doses of 10^{-10} – 10^{-17} M on various biological objects at the molecular level. Results. It was studied the changes of phospholipids (PL) composition and antioxidant system activity in brain tissues during the postnatal period in normal conditions and after intrauterine hypoxia. Accumulation of malondialdehyde (MDA), low activity of superoxide dismutase (SOD), decreasing the absolute amount of easily oxidized and functionally important PL (phosphatidylserine (PS) and phosphatidylinositol (PI)) in brain tissues were founded after intrauterine hypoxia at 1–5 days of life. After treatment with the water-soluble antioxidant phenazan in ULD caused decreasing of MDA concentration, that is observed at 10 day. After treatment with the fat-soluble antioxidant alpha-tocopherol decreasing of MDA level was observed at 12 day, without treatment – at 21 day. SOD and catalase activities after treatment with phenazan at ULD recovered significantly faster, then after alpha-tocopherol treatment and becomes comparable to the control, starting from 5 and 8 days of life, whereas after alpha-tocopherol introduction the SOD and catalase activity is comparable to the control only on 21 day of life. Decreasing of structural FL – phosphatidylcholine (PC), phosphatidylinositol (PEA) at 7–14 day of postnatal period after intrauterine hypoxia in brain tissues. Changes in the content of sphingomyelin (SPM) at postnatal period indicates its increasing in the first week after birth, and decreasing in the later, that's causing an increase in rigidity of membranes and their saturation, which changes to myelination disorders in the later stages of postnatal period. Cardiolipin (CL) amount was decreased at 10 day of post hypoxic period, that creates of energy metabolism disorders in mitochondria of the brain tissues. The results demonstrate that the water-soluble antioxidant phenazan in ultralow doses is highly effective in brain tissue, as leads to early normalization of phospholipids composition and activity of antioxidant enzymes in the brain, creating favorable conditions for the development of brain function and neuroplasticity in the post hypoxic period.

Keywords: fetal hypoxia, antioxidants, ultra-low doses, brain phospholipids, catalase, superoxide dismutase.

REFERENCES

1. Mwaniki M.K., Atieno M., Lawn J.E., Newton C.R. Long-term neurodevelopmental outcomes after intrauterine and neonatal insults: a systematic review. *Lancet*, 2012, no. 379(9814), pp. 445–452.
2. Gill M.B., Bockhorst K., Narayana P., Perez-Polo J.R. Bax shuttling after neonatal hypoxia-ischemia: hyperoxia effects. *J Neurosci Res*, 2008, no. 86(16), pp. 3584–3604.
3. Volodin N.N., Medvedev M.I., Gorbunov A.V. Klinicheskie sindromy narusheniya neuronal'noi proliferatsii – semiotika i sovremennaya diagnostika [Clinical syndromes of neuronal proliferation disturbances, it's semiotics and modern diagnostics]. *Questions practical pediatric*, 2009, no. 4(3), pp. 12–19.
4. Suslina Z.A., Maksimova M.Yu. Kontseptsiya neiroproteksii: novye vozmozhnosti urgentnoi terapii ishemicheskogo insul'ta [The new opportunities of ischemic stroke therapies by neuroprotection conception]. *Nervous illnesses*, 2004, no. 3, pp. 4–7.
5. Hannah C. Glass, David Glidden, Rita J. Jeremy, A. James Barkovich, Donna M. Ferriero, Steven P. M. Clinical Neonatal Seizures are Independently Associated with Outcome in Infants at Risk for Hypoxic-Ischemic Brain Injury. *The Journal of Pediatrics*, 2009, vol. 155, no. 3, pp. 318–323.
6. Burlakova E.B., Konradov A.A., Mal'tseva E.L. The Effect of Ultra Low Doses of Biologically Active Substances and Low Rate Physical Factors. *LIFE and MIND – In Search of the Physical Basis*, Ed. S. Savva. MISAHA, Trafford Publishing, ISBN 1–4251–1090–8, 2007, pp. 79–113.
7. Burlakova E.B. Bioantioksidanty. Nanomir slabykh vozdeistvii – «karlikov», ego zakony, obshchnost' i razlichiya s mirom «gigantov» [Bioantioxidants. Nanoworld of low influences - "Dwarfs", its laws, a generality and distinctions with the world of "giants"]. *The VIII International conference "Bioantioxidants" Theses of reports*, 2010, pp. 69–71.
8. Northington F.J., Zelaya M.E., O'Riordan D.P., Blomgren K., Flock D.L., Hagberg H., Ferriero D.M., Martin L.J. Failure to complete apoptosis following neonatal hypoxia-ischemia manifests as "continuum" phenotype of cell death and occurs with multiple manifestations of mitochondrial dysfunction in rodent forebrain. *Neuroscience*, 2007, vol. 149, no. 4, pp. 822–833.
9. Moore L.G., Charles S.M., Julian C.G. Humans at high altitude: hypoxia and fetal growth. *Respir Physiol Neurobiol*, 2011, no. 178(1), pp. 181–190.
10. Anastario M., Salafia C.M., Fitzmaurice G., Goldstein J.M. Impact of fetal versus perinatal hypoxia on sex differences in childhood outcomes: developmental timing matters. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*, 2012, no. 47(3), pp. 455–464.
11. Morton J.S., Rueda-Clausen C.F., Davidge S.T. Flow-mediated vasodilation is impaired in adult rat offspring exposed to prenatal hypoxia. *J Appl. Physiol.*, 2011, no. 110(4), pp. 1073–1082.
12. Chang J.Y., Lee K.S., Hahn W.H., Chung S.H., Choi Y.S., Shim K.S., Bae C.W. Decreasing trends of neonatal and infant mortality rates in Korea: compared with Japan, USA, and OECD nations. *J Korean Med. Sci.*, 2011, no. 26(9), pp. 1115–1123.
13. Chaurio R.A., Janko C., Muñoz L.E., Frey B., Herrmann M., Gaipl U.S. Phospholipids: key players in apoptosis and immune regulation. *Molecules*, 2009, vol. 14, no. 12, pp. 4892–4914.



14. Khaybullina Z.R., Ibragimov U.K. Biokhimicheskoe obosnovanie primeneniya sverkhmalykh doz biologicheski aktivnykh veshchestv (obzor) [Biochemical substantiation of using biologically active substances in ultra low doses (review)]. *Infection, immunity and pharmacology*, 2013, no. 4, pp.64–68.

Khaybullina Zarina Ruslanovna, the doctor of medicine, the head of biochemistry and microbiology department, Republican Specialized Center of Surgery at academician V. Vakhidov.

E-mail: zr-khaybullina@rambler.ru

Sobirzganova Charos Kahramon kizi, the student of pediatric department, Tashkent Medicine Pediatric Institute.

E-mail: zr-khaybullina@rambler.ru