та. Использование магнитно-резонансной томографии в оценке эффективности гистохрома // Доклады Академии наук. - 2005.- Т. 405, № 5. - С. 696-698.

14. Lebedev A.V., Ivanova M.V., Levitsky D.O. Iron chelators and free radical scavengers in naturally occurring polyhydroxylated 1,4-naphthoquinones // Hemoglobin. - 2008. - Vol. 32, №1. - P. 165-179.

15. Lebedev A.V., Ivanova M.V., Levitsky D.O. Echinochrome, a naturally occurring iron chelator and free radical scavenger in artificial and natural membrane systems // Life Sci. - 2005. - Vol. 76, №8. - P. 863-875.

Координаты для связи с авторами: Козлов В.К. — e-mail: zdorovye@mail.redcom.ru

❑❑❑

УДК 612.015.11 : 616.24 - 002.2-06] - 053.2

О.Е. Гусева, О.А. Лебедько, В.К. Козлов

ОСОБЕННОСТИ БИОГЕНЕЗА СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЛЕГКИХ НА ФОНЕ ДЕФЕКТОВ ОРГАНОГЕНЕЗА РЕСПИРАТОРНОЙ СИСТЕМЫ

Институт охраны материнства и детства СО РАМН,
680022, ул. Воронежская, 49, кор. 1, тел.: 8(4212)-98-05-91, г. Хабаровск

Болезни органов дыхания стабильно занимают в России, в том числе в Дальневосточном федеральном округе, первое место в структуре общей заболеваемости детей и подростков [4], значительный удельный вес среди них составляют хронические воспалительные заболевания легких (ХВЗЛ). В 5-20% случаев ХВЗЛ формируются на фоне пороков развития легких, принимая при этом тяжелый, непрерывно рецидивирующий характер течения [3, 6]. По мнению [5], в основе прогредиентности данного вида патологии лежат недостаточно изученные биологические дефекты основополагающих механизмов саногенеза, что диктует необходимость углубленного изучения механизмов сигнальной трансдукции, опосредующих персистирующее течение заболевания.

Известно, что в качестве мессенджеров межклеточной и внутриклеточной сигнализации радикальные дериваты кислорода регулируют морфогенез органов дыхания, обеспечивая реализацию антагонистических процессов детерминации, пролиферации, дифференцировки, редукции и интеграции [9, 13]. Кроме того, свободные радикалы или непосредственно, или через формирование продуктов липидной пероксидации, активируя редокс-чувствительные факторы транскрипции и каскады стресс-киназ, являются триггерами воспалительных процессов в респираторной системе [12]. Тем не менее, данных о процессинге свободных радикалов при ХВЗЛ на фоне дефектов органогенеза у детей нами в доступной литературе не обнаружено.

Целью настоящей работы явилась оценка биогенеза свободных радикалов в сыворотке крови и мембранах эритроцитов у детей в периоды обострения и ремиссии ХВЗЛ на фоне дефектов органогенеза респираторной системы.

Материалы и методы

На базе клиники НИИ охраны материнства и детства было проведено исследование, в которое были включены 43 пациента 12-17 лет с ХВЗЛ в периоды обострения по бронхитическому типу и клинико-лабораторной ремиссии на фоне пороков развития легких. Контрольную группу составили 23 ребенка I и II группы здоровья. Анализируемые группы были сопоставимы по возрастно-половому составу. Диагноз ХВЗЛ установлен на основании комплексного клинического обследования по дифференциально-диагностическому алгоритму, включая трансторакальную биопсию с морфологическим исследованием биоптатов легких. В 100% подтвержден порок развития легких (гипо- и дисплазия легких).

Забор крови у детей обеих групп для исследования свободнорадикального статуса осуществлялся натощак, в утренние часы. Для интегральной оценки процессов биогенеза свободных радикалов в сыворотке крови и мембранах эритроцитов использовали метод хемилюминесценции (ХЛ). Регистрацию ХЛ осуществляли на люминесцентном спектрометре LS 50B «PERKIN ELMER» по методикам [1, 2, 7]. При исследовании спонтанной и индуцированной Fe^{2+} ХЛ определяли: S-sp как светосумму за 1 мин спонтанной ХЛ, величина которой коррелирует с интенсивностью генерации свободных радикалов; Sind-1 как светосумму за 2 мин Fe^{2+}-индуцированной ХЛ, величина которой отражает интенсивность накопления перекисных радикалов. Определяли Sluc — светосумму за 1 мин люцигенин-зависимой ХЛ, величина которой прямо коррелирует с содержанием супероксиданион-радикала. Кинетику ХЛ, инициированную H_2O_2 в присутствии люминола, анализировали по параметрам: S-lum — светосумме за 1 мин люминол-зависимой ХЛ, вели-

чина которой находится в прямой зависимости от интенсивности продукции гидроксил-радикала, Sind-2 — по светосумме за 2 мин H_2O_2-индуцированной ХЛ, величина которой обратна активности антиоксидантной антирадикальной системы защиты (АОРЗ). Полученные данные обработаны статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Интегральная ХЛ-активность сыворотки крови дает представление об организменном уровне биогенеза свободных радикалов. Результаты исследования свидетельствуют о том, что в сыворотке крови пациентов с ХВЗЛ в период обострения (табл. 1) имело место достоверное повышение генерации свободных радикалов, в целом показатель Ssp превышал аналогичный в контроле в 4,9 раза, при этом продукция супероксид-радикала (Sluc) возросла в 4 раза, гидроксил-радикала (Slum) — в 4,6 раза, скорость накопления перекисных радикалов липидной природы (Sind-1) — в 4,4 раза. Нарушение биогенеза свободных радикалов было обусловлено угнетением антиоксидантной системы защиты — показатель (Sind-2), значение которого обратно активности АОРЗ, возросло в 4,3 раза.

В мембранах эритроцитов детей этой клинической группы также имели место нарушения биогенеза свободных радикалов, однонаправленные с выявленными в сыворотке крови (табл. 2). Так, значения всех исследуемых показателей в мембранах эритроцитов достоверно превышали контрольные: Ssp — в 5,8 раза, Sluc — в 4,0 раза, Slum — в 3,5 раза, Sind-1 — в 6,1 раза, Sind-2 — в 4,0 раза.

В сравнении с периодом обострения, в периоде ремиссии в сыворотке крови пациентов с ХВЗЛ зарегистрировано снижение уровней генерации свободных радикалов, в целом показатель Ssp снизился в 2,51 раза, супероксид-анион радикалов (Sluc) — в 2,5 раза, гидроксил-радикалов (Slum) — в 2,8 раза, перекисных радикалов (Sind-1) — в 2,5 раза. При этом активность АОРЗ повысилась, о чем свидетельствовало снижение параметров Sind-2 в 2,7 раза.

Таблица 1

Показатели ХЛ сыворотки крови у пациентов с ХВЗЛ на фоне дефектов органогенеза респираторной системы (M±m)

Показатель	Контроль	ХВЗЛ-обострение	ХВЗЛ-ремиссия
Ssp (отн.ед.)	0,056±0,003	0,251±0,010*	0,100±0,005*,**
Sind-1 (отн.ед.)	0,132±0,008	0,581±0,030*	0,229±0,011*,**
Sluc (отн.ед.)	0,049±0,003	0,200±0,012*	0,078±0,005*,**
Slum (отн.ед.)	0,074±0,005	0,340±0,019*	0,120±0,009*,**
Sind-2 (отн.ед.)	0,212±0,013	0,920±0,053*	0,340±0,023*,**

Примечания. * — p<0,05 по отношению к группе контроля; ** — p<0,05 по отношению к группе ХВЗЛ-обострение.

Таблица 2

Показатели ХЛ мембран эритроцитов у пациентов с ХВЗЛ на фоне дефектов органогенеза респираторной системы (M±m)

Показатель	Контроль	ХВЗЛ-обострение	ХВЗЛ-ремиссия
Ssp (отн.ед.)	0,42±0,02	2,46±0,11*	1,31±0,05*,**
Sind-1 (отн.ед.)	0,95±0,04	5,83±0,27*	3,16±0,11*,**
Sluc (отн.ед.)	0,37±0,02	1,49±0,09*	0,89±0,04*,**
Slum (отн.ед.)	0,55±0,03	1,94±0,12*	1,12±0,06*,**
Sind-2 (отн.ед.)	1,80±0,12	7,27±0,44*	4,91±0,24*,**

Примечания. * — p<0,05 по отношению к группе контроля; ** — p<0,05 по отношению к группе ХВЗЛ-обострение.

В мембранах эритроцитов пациентов с ХВЗЛ в период ремиссии выявлены изменения аналогичной направленности: в сравнении с периодом обострения, значения Ssp, Sluc, Slum, Sind-1 и Sind-2 снизились в 1,9; 1,67; 1,7; 1,8 и 1,5 раза соответственно.

Однако в период ремиссии ХЛ-параметры исследуемых биосубстратов продолжали достоверно превышать контрольные значения. Так, в сыворотке крови пациентов генерация свободных радикалов в целом (Ssp), наработка супероксиданион-радикала (Sluc), гидроксил-радикала (Slum), интенсивность образования перекисных радикалов (Sind-1) превышали контрольные значения в 1,8-1,6 раза. При этом сохранялось угнетение АОРЗ, значения Sind-2 превышали показатели в группе контроля в 1,6 раза.

Но наиболее выраженные нарушения биогенеза свободных радикалов у детей с ХВЗЛ в период ремиссии наблюдались в мембранах эритроцитов. Несмотря на снижение, в сравнении с периодом обострения, значения

Резюме

С помощью хемилюминесцентного анализа изучали биогенез свободных радикалов при хронических воспалительных заболеваниях легких на фоне дефектов органогенеза респираторной системы у детей. В сравнении с контрольным уровнем, в периоде обострения заболевания в сыворотке крови и мембранах эритроцитов значительно повышалась генерация свободных радикалов, в том числе супероксид-анион-, гидроксил- и перекисных радикалов. В периоде ремиссии наблюдались аналогичные, но менее выраженные изменения, регистрируемые преимущественно на мембранном уровне.

Ключевые слова: **свободные радикалы, дети, легкие, мембраны, сыворотка крови.**

O.E. Guseva, O.A. Lebedko, V.K. Kozlov

CHARACTERISTICS OF FREE RADICALS BIOGENESIS OF CHILDREN WITH CHRONIC INFLAMMATORY BRONCHOPULMONARY DISEASES WITH LUNG DEFECTS

Scientific research institute of Mother and Child Care, Khabarovsk

Summary

In this research, analysis of free radicals biogenesis in children with chronic inflammatory bronchopulmonary disease with lung defects was carried out by chemiluminescence's method. In comparison with the control level at period of disease exacerbation generation of free radicals, including superoxide-anion-, hydroxyl- and peroxyl- radicals greatly increases in blood serum and membranes of erythrocyte. At period of remission similar, but more marked changes occur, registered mainly on membrane level.

Key words: **free radicals, children, lung, membranes, blood serum.**

исследуемых ХЛ-параметров в мембранах эритроцитов у детей в состоянии ремиссии существенно превышали аналогичные в контрольной группе: Ssp — в 3,12 раза, Sluc — в 2,4 раза; Slum — в 2 раза, Sind-1 — в 3,3 раза. Напряженность процессинга свободных радикалов в мембранах эритроцитов сочеталась с ослаблением АОРЗ — показатель Sind-2 превышал соответствующие контрольные значения в 2,7 раза.

Известно, что легкие представляют собой наиболее крупную биологическую мембрану организма [8]. Общность строения плазматических мембран различных органов и тканей [10] дает основание предполагать, что выявленные нами особенности биогенеза свободных радикалов в эритроцитарной мембране в значительной мере отражают изменения в мембранах тканевых структур органов дыхания.

Полученные нами результаты, свидетельствующие о том, что в состоянии ремиссии у детей имеет место гиперпродукция супероксид-аниона (являющегося пусковым фактором каскада реакций свободнорадикального окисления), гидроксил-радикалов (наиболее агрессивных метаболитов кислорода), перекисных радикалов (токсичных дериватов мембранных фосфолипидов), позволяют утверждать, что одной из причин персистирующего воспаления и непрерывно рецидивирующего течения при данной патологии является нарушение процессинга свободных радикалов.

Полученные нами сведения о биогенезе свободных радикалов у данного контингента больных позволят не только оценить эффективность существующих, но и наметить новые пути формирования патогенетически обоснованных лечебно-реабилитационных мероприятий.

Выводы

1. В период обострения по бронхитическому типу при ХВЗЛ на фоне дефектов органогенеза респираторной системы у детей значительно повышается интенсивность генерации свободных радикалов, в том числе супероксид-анион-, гидроксил- и перекисных радикалов как в сыворотке крови, так и в мембранах эритроцитов.

2. В сравнении с периодом обострения, в период ремиссии у детей с ХВЗЛ на фоне дефектов органогенеза респираторной системы показатели процессинга свободных радикалов снижаются, но превышают аналогичные величины в группе контроля.

3. Нарушения биогенеза свободных радикалов у детей с ХВЗЛ в период ремиссии на фоне дефектов органогенеза респираторной системы наиболее выражены в мембранах эритроцитов.

Литература

1. Арутюнян А.В. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: методические рекомендации. - СПб.: Наука, 2000. - 198 с.

2. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в живых системах // ВИНИТИ АН СССР: Итоги науки и техники, сер. Биофизика. - М., 1991. - Т. 29. - 147с.

3. Кокосов А.Н. Хроническая обструктивная патология легких у взрослых и детей. - СПб.: Спецлит, 2004. - 303 с.

4. Манаков Л.Г., Колосов В.П., Еничева Е.А. и др. Эпидемиология болезней респираторной системы на территории Дальневосточного региона // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. - 2007. - Вып. 27. - С. 30-32.

5. Непомнящих Л.М. Итоги и перспективы развития государственного учреждения «Научно-исследовательский институт региональной патологии и патоморфологии СО РАМН» // Бюл. СО РАМН. - 2008. - №6 (134). - С. 6-13.

6. Середа Е.В. Современные принципы противовоспалительной терапии при хронических воспалительных бронхолегочных заболеваниях у детей // Вопросы современной педиатрии. - 2002. - Т.1, №2. - С. 33-38.

7. Шерстнев М.П. Разработка хемилюминесцентных методик исследования плазмы и клеток крови для оценки состояния больных: Автореф. дис. … д-ра мед. наук. - М., 1997. - 43 с.

8. Dworski R. Oxidant stress in asthma // Thorax. - 2000. - Vol.55, №2. - P. S51-S53.

9. Haddad JJ. Oxygen-sensing mechanisms and the regulation of redoxresponsive transcription factors in development and pathophysiology // Respir Res. - 2002. - Vol.3, №1. - P. 26-35.

10. Merker M.P., Pitt B.R., Choi A.M. et al. Lung redox homeostasis: emerging concepts // Am. J. Phsiol. Lung. - 2000. - Vol. 279, Issue 3. - P. L413-L417.

11. Nadeem A., Masood A., Siddiqui N. Oxidant-antioxidant imbalance in asthma: scientific evidence, epidemiological data and possible therapeutic options // Ther Adv Respir Dis. - 2008. - Vol. 2, №4. - P. 215-35.

12. Rahman I. Oxidative Stress, Chromatin Remodeling and Gene Transcription in Inflammation and Chronic Lung Diseases // J. Biochem. and Mol. Biol. - 2003. - Vol. 36, №1. - P. 95-109.

13. Shi T., Duffin P.J. Borm H. et al. Hydroxyl-radical-dependent DNA damage by ambient particulate matter from contrasting sampling locations // Environ Res. - 2006. - Vol. 101, №1. - P. 18-24.

14. Wood L.G., Gibson P.G., Garg M.L. Biomarkers of lipid peroxidation, airway inflammation and astma // Eur. Respir. J. - 2003. - Vol. 21. - P. 177-186.

15. Yao H., Yang S.R., Yao H. et al. Redox regulation of lung inflammation: role of NADPH oxidase and NF-kappaB signalling // Biochem Soc Trans. - 2007. - №5. - P. 1151-1155.

Координаты для связи с авторами: Гусева О.Е. — e-mail: o.guseva@bk.ru