

## МАРКЕРЫ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ПЛАЗМЕ ПУПОВИННОЙ КРОВИ НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ

<sup>1</sup>Н.М. Козлова, <sup>1</sup>Ю.М. Гармаза, <sup>2</sup>М.В. Артюшевская,  
<sup>1</sup>В.А. Петрович, <sup>2</sup>А.В. Сапотницкий, <sup>2</sup>Г.А. Шишко, <sup>1</sup>Е.И. Слобожанина  
<sup>1</sup>Минск, ИБиКИ НАН Беларуси  
<sup>2</sup>Минск, БелМАПО

Окислительный стресс определяется как нарушение баланса прооксиданты/антиоксиданты в пользу первых, которое может привести к клеточному повреждению, основной вклад в его развитие вносят активные формы кислорода (АФК). Они могут нарушать экспрессию ген/белок путем воздействия на внутриклеточные сигнальные каскады, изменять фенотип и функцию клеток и, более того, могут напрямую окислять клеточные компоненты, приводя к повреждению клетки и внося, таким образом, вклад в развитие или прогрессирование заболевания. Известно, что новорожденные более склонны к окислительному стрессу, чем дети в более позднем возрасте. Но если у доношенных новорожденных скорость образования АФК компенсируется системой антиоксидантной защиты, то в случае патологии беременности избыточная генерация свободных радикалов подавляет ее активность. Поэтому недоношенность является первостепенной причиной неонатальной смертности и развитием долгосрочной заболеваемости.

Последнее десятилетие исследователи всего мира попытались ответить на вопрос: действительно ли окислительный стресс играет ключевую роль при неблагоприятном исходе беременности? Но, несмотря на то, что дисбаланс в системе прооксиданты/антиоксиданты признается сегодня од-

ним из важнейших этиопатогенетических факторов перинатальной гипоксии, на сегодняшний день существуют лишь немногочисленные литературные данные, демонстрирующие взаимосвязь между антиоксидантным статусом клеток крови и исходом беременности [1–3].

Целью данной работы явилось изучение маркеров окислительного стресса (уровень АФК, окисленность SH-групп белков) и их связи с общей антиоксидантной активностью плазмы пуповинной крови у недоношенных детей.

**Материал и методы.** В работе была использована плазма пуповинной крови новорожденных детей. Клиническое обследование и наблюдение новорожденных проводилось в УЗ «Родильный дом Минской области». В группу обследования вошло 13 недоношенных детей – гестационный возраст составил от 28 до 35 недель, масса тела от 1100 до 2400 грамм. В контрольную группу были включены 11 доношенных детей, родившихся в гестационном возрасте от 38 до 41 недель с массой тела от 3120 до 4410 грамм.

Плазма была отделена от форменных элементов путем центрифугирования крови при  $800 \times g$ , 15 мин. Уровень АФК в плазме крови оценивали с помощью флуоресцентного зонда 5-(6)-хлорометил-2',7'-дихлородигидрофлуоресцеин диацетата (CM-H<sub>2</sub>DCFDA, Molecular Probes). Для определения уровня сульфгидрильных групп белков плазмы крови новорожденных детей использовали флуоресцирующий SH-реагент N-(1-пирен)maleимид (ПМ, Sigma). Измерение общей антиоксидантной активности (ОАА) плазмы крови проводили с помощью коммерческого набора “Antioxidant assay kit” (Sigma) согласно протоколу.

Флуоресцентные исследования были выполнены на спектрофлуориметре CM2203 (СОЛАР, Беларусь), фотометрические – на универсальном анализаторе Victor2™ (Perkin Elmer, США). Результаты анализировали методом вариационной статистики с использованием непараметрических критериев Манна-Уитни и Спирмена.

**Результаты и их обсуждение.** С помощью флуоресцентного зонда CM-H<sub>2</sub>DCFDA изучен уровень АФК плазмы крови обследованных групп новорожденных. Обнаружено статистически достоверное ( $p < 0,05$ ) увеличение интенсивности флуоресценции зонда в плазме пуповинной крови недоношенных новорожденных в среднем на 20–35 % по сравнению со значениями данного показателя в контрольной группе. Так как используемый нами зонд на АФК становится окисленным в системе  $H_2O_2 + Fe^{2+}$ , в результате которой образуется гидроксильный радикал ( $OH^\bullet$ ), то полученные результаты свидетельствуют о повышенном образовании в плазме недоношенных детей таких свободнорадикальных соединений, как  $H_2O_2$  и  $OH^\bullet$ .

Известно, что белки плазмы крови играют важную физиологическую роль, поэтому исследование их структурного состояния предоставляет общую информацию, отражающую состояние органов и систем. Так как о последнем можно судить по количеству SH-групп, нами была проведена оценка их уровня в белках плазмы крови обследованных групп и обнаружено достоверное снижение интенсивности флуоресценции ПМ в среднем на 10–16 % ( $p < 0,05$ ) в группе недоношенных новорожденных. Полученные результаты свидетельствуют об АФК-индуцируемых окислительных изменениях в белковых компонентах плазмы крови у детей с патологиями, приводящих к снижению уровня SH-групп, и как следствие, к возможной кон-

формационной модификации антиоксидантных белков плазмы. В частности, окисление сульфгидрильных групп белков или пептидов может явиться причиной снижения общей антиоксидантной активности плазмы крови. С целью выяснения этого, следующим этапом нашей работы явилась оценка ОАА плазмы крови у обследованных групп новорожденных. Для этого был использован метод “тролокс-эквивалент антиоксидантной активности” (ТЭАА), основанный на модельной системе “метмиоглобин – H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – АБТС– тролокс”. Обнаружено достоверное (p<0,001) 50%-ное снижение ОАА плазмы пуповинной крови недоношенных новорожденных по сравнению с доношенными детьми.

**Заключение.** Проведенный корреляционный анализ выявил взаимосвязи между изученными маркерами окислительного стресса в плазме пуповинной крови исследованных групп новорожденных:

1) Обнаружена обратная статистически значимая зависимость между уровнем АФК и уровнем SH-групп белков плазмы как в группе доношенных новорожденных, так и у недоношенных детей;

2) Обнаружена положительная корреляция между уровнем SH-групп и ОАА в группе доношенных детей, но обратная статистически значимая корреляция в группе недоношенных новорожденных;

3) Обнаружена достоверная положительная корреляция между ОАА плазмы крови и уровнем АФК в плазме в группе недоношенных новорожденных, но не выявлено такой корреляции в группе доношенных новорожденных.

#### Список литературы

1. Ishihara O., Hayashi M., Osawa H., Kobayashi K., Takeda S., Vessby B., Basu S. Isoprostanes, prostaglandins and tocopherols in pre-eclampsia, normal pregnancy and non-pregnancy // *Free Radic. Res.* – 2004. Vol. 38. – P. 913–918.
2. Гармаза Ю.М., Белевич Е.И., Сапотницкий А.В., Артюшевская М.В., Козлова Н.М., Слобожанина Е.И. Изменение состояния антиоксидантной системы эритроцитов у новорожденных при перинатальной гипоксии // *Медико-социальная экология личности: состояние и перспективы: материалы VI Международной конференции, Минск, 4–5 апреля 2008 г. : в 2 ч. / Мин-во образ. Республики Беларусь, Белорус. Гос. ун-т ; ред.: В.А. Прокашева [и др.]. – Минск, 2008. – Ч. 1. – С. 115–118.*
3. Сапотницкий А.В., Гармаза Ю.М., Белевич Е.И., Шишко Г.А., Козлова Н.М., Артюшевская М.В., Слобожанина Е.И. Активность ферментов антиоксидантной защиты эритроцитов и гликемия у недоношенных новорожденных // *Новые технологии в анестезиологии и интенсивной терапии: материалы VI съезда анестезиологов-реаниматологов: Выпуск VI / под ред. Г.В. Илюковича. – Мн.: БелМАПО. – Минск, 2008. – С. 151–152.*