

ПАТОГЕНЕТИЧНА РОЛЬ СУРФАКТАНТНОГО ПРОТЕЇНУ В У ФОРМУВАННІ ЛЕГЕНЕВОЇ ПАТОЛОГІЇ У ТВАРИН ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИНІНДУКОВАНОМУ ДІАБЕТІ

Вступ. На сьогодні більшість дослідників вважає легені однією з головних мішеней при цукровому діабеті. За даними літератури, легеневий сурфактант, зокрема сурфактантний протеїн В (SP-B), відіграє важливу роль у патогенезі захворювань органів дихання.

Мета дослідження – встановити патогенетичну роль сурфактантного протеїну В у формуванні легеневої патології у тварин при стрептозотоциніндукованому діабеті.

Методи дослідження. Експерименти виконано на 88 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 170–210 г. Тварин поділили на 3 групи: 1-ша – інтактна (n=10); 2-га – контрольна (n=40); 3-тя – дослідна (n=38) з моделлю цукрового діабету, який відтворювали шляхом внутрішньочеревного введення стрептозоточину фірми "Sigma" (США), розведеного в 0,1 М цитратному буфері з рН 4,5, з розрахунку 60 мг/кг маси тіла. Тваринам контрольної групи внутрішньочеревно вводили еквівалентну дозу 0,1 М цитратного буферного розчину з рН 4,5. Усі дослідження виконували під тіопентал-натрієвим наркозом із розрахунку 60 мг/кг маси тіла. Забір крові для біохімічного дослідження проводили через 14, 28, 42 і 70 діб після ін'єкції стрептозоточину. Вміст SP-B у сироватці крові визначали імуноферментним методом з використанням наборів "Rat ELISA Kits" ("Elabscience", США) відповідно до інструкції фірми-виробника.

Результати й обговорення. Проведені біохімічні дослідження сироватки крові показали, що у щурів із стрептозотоциніндукованим діабетом вміст SP-B збільшувався на всіх етапах експерименту. Зокрема, через 14 діб він зріс на 8,5 %, через 28 діб – на 37,0 %, через 42 доби – на 54,2 %, через 70 діб – на 74,5 % порівняно з показниками тварин контрольної групи.

Висновок. Стрептозотоциніндукований діабет протягом усього періоду дослідження супроводжується збільшенням у сироватці крові вмісту сурфактантного протеїну В і відіграє ключову роль у патогенезі легеневого ушкодження при цій патології.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: стрептозотоциніндукований діабет; легенева патологія; сурфактантний протеїн В.

ВСТУП. На сьогодні цукровий діабет (ЦД) є важливою соціальною, епідеміологічною та економічною проблемою [1–3]. У всьому світі відмічають величезне зростання захворюваності на цукровий діабет, особливо в країнах, що розвиваються. Поширеність ЦД у всіх вікових групах у всьому світі становила 2,8 % у 2000 р. і, за оцінками науковців, досягне 4,4 % до 2030 р. Прогнозується, що кількість діабетиків збільшиться зі 171 мільйона у 2000 р. до 366 мільйонів у 2030 р. [4].

Цукровий діабет – це метаболічний розлад з виснажливим впливом на багато органів. Протягом останніх років у літературі з'являється все більше повідомлень про ушкодження респіраторної системи при ЦД. Більшість авторів вважає легені однією з головних мішеней при цій патології [5, 6]. Молекулярну основу асоціації діабет-

ту з легенями ще належить повністю вивчити та зрозуміти.

Стрімке зростання захворюваності органів дихання все більше потребує акцентування уваги на дослідженнях легеневого сурфактанта, який, безумовно, бере участь у механізмах розвитку патологічних процесів бронхолегеневої системи. Відомо, що легеневий сурфактант – це важливий багатомолекулярний комплекс, який складається з фосфоліпідів (90 %) і сурфактантних протеїнів (SP) (10 %), синтез і секрецію якого здійснюють альвеолоцити II типу [7, 8].

Усі SP поділяють на гідрофільні – SP-A і SP-D, які забезпечують функцію імунного захисту, і гідрофобні – SP-B і SP-C, необхідні для поверхнево-активної функції сурфактанта легень. Одним із ключових протеїнів для підтримання повноцінної функції легеневого сурфактанта є SP-B [9, 10]. Вагома роль SP-B зумовлена здат-

ністю знижувати поверхневий натяг на межі повітря – рідина, зменшуючи роботу дихання та запобігаючи альвеолярному колапсу [11, 12]. Він також спонукає до Ca^{2+} -залежної секреції АТФ через вивільнення з альвеолоцитів II типу. Це доводить ще одну вагому функцію SP-B у підтримці альвеолярного гомеостазу, здійснюючи аутокринну та паракринну клітинну стимуляцію [8].

Мета дослідження – встановити патогенетичну роль сурфактантного протеїну В у формуванні легеневої патології у тварин при стрептозотозиндукованому діабеті.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти виконано на 88 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 170–210 г, яких утримували на стандартному харчовому раціоні з вільним доступом до води. Тварин поділили на 3 групи: 1-ша – інтактна ($n=10$); 2-га – контрольна ($n=40$); 3-тя – дослідна ($n=38$) з моделлю цукрового діабету, який відтворювали шляхом внутрішньочеревного введення стрептозотозину фірми “Sigma” (США), розведеного в 0,1 М цитратному буфері з рН 4,5, з розрахунку 60 мг/кг маси тіла. Тваринам контрольної групи внутрішньочеревно вводили еквівалентну дозу 0,1 М цитратного буферного розчину з рН 4,5.

Утримували щурів та проводили дослідження на них відповідно до положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), Закону України “Про захист тварин від жорстокого поводження” (2006), Загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених на П’ятому національному конгресі з біоетики (Київ, 2013).

Усі дослідження виконували під тіопентал-натрієвим наркозом із розрахунку 60 мг/кг маси тіла. Забір крові для біохімічного дослідження проводили через 14, 28, 42 і 70 днів після ін’єкції стрептозотозину. Вміст SP-B у сироватці крові визначали імуноферментним методом з використанням наборів “Rat ELISA Kits” (“Elabscience”, США) відповідно до інструкції фірми виробника.

При проведенні статистичної обробки отриманих результатів було використано програму STATISTICA 10. За допомогою можливостей описової статистики всі одержані в дослідженні кількісні дані спочатку перевірили на тип їх розподілу за тестом Шапіро – Уїлка. Оскільки абсолютна більшість цих даних відповідала нормальному закону Гауса, для описання центральної тенденції обрано середнє арифметичне \pm стандартна похибка ($M \pm m$), а для оцінки достовірності відмінностей отриманих результатів у групах

порівняння (дослідній і контрольній) та перевірки нульової гіпотези – параметричний t-тест (критерій Стьюдента). З метою оцінки достовірності змін даних у динаміці (14, 28, 42, 70 днів) усередині кожної з груп порівняння застосували непараметричний метод для трьох і більше груп порівняння – дисперсійний аналіз Фрідмана та коефіцієнт конкордантності Кендала (Friedman ANOVA and Kenall Coef. of Concordance).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Отримані дані показали, що у щурів на тлі змодельованого ЦД вміст SP-B у сироватці крові збільшувався на всіх етапах дослідження порівняно з показниками тварин контрольної групи (рис.).

При цьому було встановлено, що рівень SP-B у сироватці крові через 14 днів після початку експерименту зріс на 8,5 % ($p < 0,05$) порівняно зі щурами контрольної групи. Через 28 днів дослідження вміст SP-B у сироватці крові достовірно перевищував показник тварин контрольної групи на 37,0 % ($p < 0,001$). Зі збільшенням терміну дослідження (42 доби) спостерігали подальше зростання рівня SP-B у сироватці крові. Було встановлено, що величина SP-B у сироватці крові перевищувала аналогічний показник щурів контрольної групи на 54,2 % ($p < 0,001$). Визначення вмісту SP-B у сироватці крові через 70 днів за умов змодельованого ЦД показало подальше збільшення цього показника. Зокрема, було встановлено, що рівень SP-B у сироватці крові на даний період дослідження перевищував аналогічний показник тварин контрольної групи на 74,5 % ($p < 0,001$).

Результати проведених досліджень показали, що за умов змодельованого стрептозотозиндукованого діабету визначається суттєве підвищення рівня SP-B у сироватці крові порівняно з показниками тварин контрольної групи. Отримані дані дозволяють стверджувати, що причиною зростання вмісту SP-B у сироватці крові є ушкодження структурних компонентів аерогематичного бар’єру і збільшення їх проникності для макромолекул, у тому числі й сурфактантних протеїнів. Це підтверджують результати досліджень ряду науковців, які вказують на те, що при ушкодженні альвеолярної стінки вагома кількість гідрофобного протеїну В потрапляє у сироватку крові й за інших патологічних станів [13, 14].

ВИСНОВКИ. Стрептозотозиндукований діабет протягом усього періоду дослідження супроводжується збільшенням у сироватці крові вмісту сурфактантного протеїну В і відіграє ключову роль у патогенезі легеневого ушкодження при цій патології.

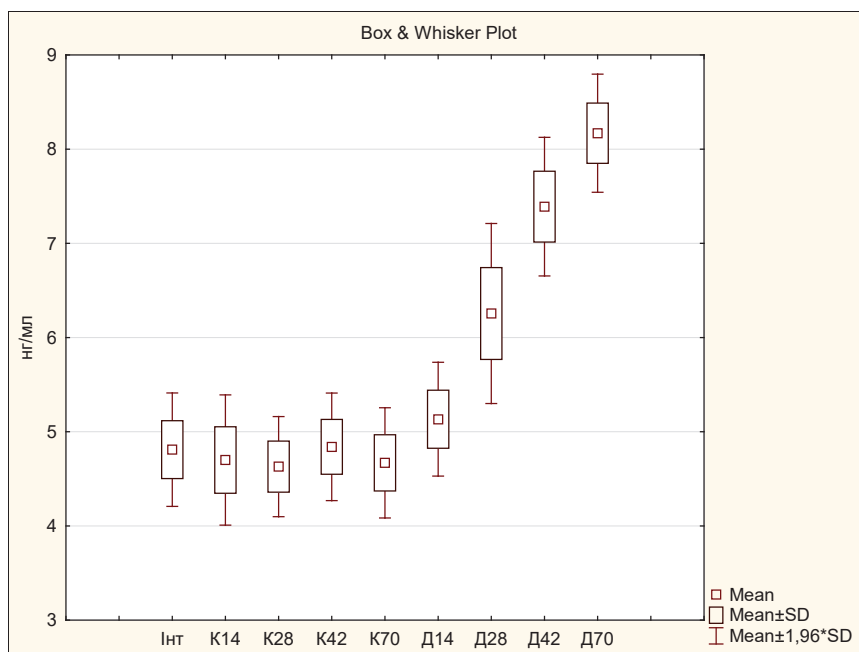


Рис. Динаміка вмісту сурфактантного протеїну В (нг/мл) у сироватці крові білих щурів при стрептозотозиніндукованому діабеті.

Примітки:

1. Групи тварин: Інт – інтактна; К – контрольна; Д – дослідна.
2. 14, 28, 42, 70 – доби експерименту.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Long-term administration of angiotensin (1-7) prevents heart and lung dysfunction in a mouse model of type 2 diabetes (db/db) by reducing oxidative stress, inflammation and pathological remodeling / A. M. Papinska, M. Soto, C. J. Meeks, K. E. Rodgers // *Pharmacol. Res.* – 2016. – **107**. – P. 372–380. DOI:10.1016/j.phrs.2016.02.026.
2. Interstitial lung disease and diabetes / V. Rajasurya, K. Gunasekaran, S. Surani // *World Journal of Diabetes.* – 2020. – **11** (8). – P. 351–357. DOI: 10.4239/wjd.v11.i8.351.
3. Looking for solutions to lung dysfunction in type 2 diabetes / R. Simo, A. Lecube // *Ann. Transl. Med.* – 2020. – **8** (8). – P. 521. DOI: 10.21037/atm.2020.03.225
4. Impact of diabetes mellitus on functional exercise capacity and pulmonary functions in patients with diabetes and healthy / K. Kuziemski, W. Slominski, E. Jassem // *BMC Endocrine Disorders.* – 2019. – **19**. – P. 2. – DOI: 10.1186/s12902-018-0328-1.
5. Potential biochemical mechanisms of lung injury in diabetes / H. Zheng, J. Wu, Z. Jin, L-J. Yan // *Aging and Disease.* – 2017. – **1** (8). – P. 7–16. DOI: 10.14336/AD.2016.0627
6. Diabetes and obesity effects on lung function / X-F. Chen, L-J. Yan, A. Lecube, X. Tang // *Frontiers in Endocrinology.* – 2020. – **11** (462). – P. 1–2. DOI: 10.3389/fendo.2020.00462.
7. Surfactant protein – a function: Knowledge gained from SP-A knockout mice / L. Depicolzuane, D. S. Phelps, J. Floros // *Frontiers in Pediatrics.* – 2022. – **9**. – P. 799693. DOI: 10.3389/fped.2021.799693.
8. Pulmonary surfactant protein SP-B promotes exocytosis of lamellar bodies in alveolar type II cells / M. Martinez-Calle, B. Olmeda, P. Dietl [et al.] // *FASEB J.* – 2018. – **32** (8). – P. 4600–4611. DOI:10.1096/fj.201701462RR.
9. A small key unlocks a heavy door: The essential function of the small hydrophobic proteins SP-B and SP-C to trigger adsorption of pulmonary surfactant lamellar bodies / N. Hobi, M. Giolai, B. Olmeda [et al.] // *Biochimica et Biophysica Acta.* – 2016. – **1863**. – P. 2124–2134. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.04.028>
10. Lopez-Rodriguez E. Structure-function relationships in pulmonary surfactant membranes: From biophysics to therapy / E. Lopez-Rodriguez, J. Perez-Gil // *Biochimica et Biophysica Acta.* – 2014. – **1838**. – P. 1568–1585. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamem.2014.01.028>.
11. Surfactant protein B and RAGE increases in the plasma during cardiopulmonary bypass: a pilot study / P. Agostoni, C. Banfi, M. Brioschi [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 2011. – **37**. – P. 841–847. DOI: 10.1183/09031936.00045910.
12. All-atom molecular dynamics simulations of dimeric lung surfactant protein B in lipid multilayers / N. A. S. Robichaud, M. H. Khatami, I. Saika-Voivod, V. Booth // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – **20** (16). – P. 3863. <https://doi.org/10.3390/ijms20163863>.

13. Opposite behavior of plasma levels surfactant protein type B and receptor for advanced glycation end products in pulmonary sarcoidosis / D. Magri, S. Mariotta, C. Banfi [et al.] // *Respiratory Medicine*. – 2013. – **107**. – P.1617-1624. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rmed.2013.07.019>.

14. Interactions between smoking, pulmonary surfactant protein B, and atherosclerosis in the general population: The Dallas Heart Study / A. B. Nguyen, A. Rohatgi, C. K. Garcia [et al.] // *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.* – 2011. – **31** (9). – P. 2136–2143. DOI:10.1161/ATVBAHA.111.228692.

REFERENCES

1. Papinska, A.M., Soto, M., Meeks, C.J., & Rodgers, K.E. (2016). Long-term administration of angiotensin (1-7) prevents heart and lung dysfunction in a mouse model of type 2 diabetes (db/db) by reducing oxidative stress, inflammation and pathological remodeling. *Pharmacol. Res.*, 107, 372-380. DOI:10.1016/j.phrs.2016.02.026.

2. Rajasurya, V., Gunasekaran, K., & Surani, S. (2020). Interstitial lung disease and diabetes. *World Journal of Diabetes*, 11 (8), 351-357. DOI: 10.4239/wjd.v11.i8.351.

3. Simo, R., & Lecube, A. (2020). Looking for solutions to lung dysfunction in type 2 diabetes. *Ann. Transl. Med.*, 8 (8), 521. DOI: 10.21037/atm.2020.03.225

4. Kuziemski, K., Slominski, W., & Jassem, E. (2019). Impact of diabetes mellitus on functional exercise capacity and pulmonary functions in patients with diabetes and healthy. *BMC Endocrine Disorders*, 19, 2. DOI: 10.1186/s12902-018-0328-1.

5. Zheng H, Wu J, Jin Z, Yan L-J. (2017). Potential biochemical mechanisms of lung injury in diabetes. *Aging and Disease*, 1 (8), 7-16. DOI: 10.14336/AD.2016.0627

6. Chen, X.-F., Yan, L.-J., Lecube, A., Tang, X.. (2020). Editorial: Diabetes and obesity effects on lung function. *Frontiers in Endocrinology*, 11 (462), 1-2. DOI: 10.3389/fendo.2020.00462.

7. Depicolzuane, L., Phelps, D.S., Floros, J. (2022). Surfactant protein – a function: Knowledge gained from SP-A knockout mice. *Frontiers in Pediatrics*, 9, 799693. DOI: 10.3389/fped.2021.799693.

8. Martinez-Calle, M., Olmeda, B., Dietl, P., Frick, M., Perez-Gil, J. (2018). Pulmonary surfactant protein SP-B promotes exocytosis of lamellar bodies in alveolar type II cells. *FASEB J.*, 32 (8), 4600-4611. DOI:10.1096/fj.201701462RR.

9. Hobi, N., Giolai, M., Olmeda, B., Miklavc, P., Felder, E., Walther, P. (2016). A small key unlocks a heavy door: The essential function of the small hydrophobic proteins SP-B and SP-C to trigger adsorption of pulmonary surfactant lamellar bodies. *Biochimica et Biophysica Acta.*, 1863, 2124-2134. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.04.028>

10. Lopez-Rodriguez, E., Perez-Gil, J. (2014). Structure-function relationships in pulmonary surfactant membranes: From biophysics to therapy. *Biochimica et Biophysica Acta.*, 1838, 1568-1585. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamem.2014.01.028>.

11. Agostoni, P., Banfi, C., Brioschi, M., Magri, D., Sciomer, S., Berna, G. et al. (2011). Surfactant protein B and RAGE increases in the plasma during cardiopulmonary bypass: a pilot study. *Eur. Respir. J.*, 37, 841-847. DOI: 10.1183/09031936.00045910.

12. Robichaud, N.A.S., Khatami, M.H., Saika-Voivod, I., Booth, V. (2019). All-atom molecular dynamics simulations of dimeric lung surfactant protein B in lipid multilayers. *Int. J. Mol. Sci.*, 20 (16), 3863. <https://doi.org/10.3390/ijms20163863>.

13. Magri, D., Mariotta, S., Banfi, C., Ricotta, A., Onofri, A., Ricci, A. et al. (2013). Opposite behavior of plasma levels surfactant protein type B and receptor for advanced glycation end products in pulmonary sarcoidosis. *Respiratory Medicine*, 107, 1617-1624. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rmed.2013.07.019>.

14. Nguyen, A.B., Rohatgi, A., Garcia, C.K., Ayers, C.R., Das, S.R., Lakoski, S.G. et al. (2011). Interactions between smoking, pulmonary surfactant protein B, and atherosclerosis in the general population: The Dallas Heart Study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 31 (9), 2136-2143. DOI:10.1161/ATVBAHA.111.228692.

PATHOGENETIC ROLE OF SURFACTANT PROTEIN B IN THE FORMATION OF PULMONARY PATHOLOGY IN ANIMALS WITH STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES

Summary

Introduction. Nowadays, most researchers consider the lungs to be one of the main targets of diabetes mellitus. According to the literature data, pulmonary surfactants, particularly surfactant protein B play the leading role in the pathogenesis of respiratory diseases.

The aim of the study – to establish the pathogenetic role of surfactant protein B (SP-B) in the formation of lung pathology in animals with streptozotocin-induced diabetes.

Research Methods. The experiments were performed on 88 white male Wistar rats weighing 170–210 g. Animals were divided into three groups: 1 – intact (n=10); 2 – control (n=40); 3 – experimental (n=38) with a model of diabetes mellitus, which was reproduced by intraperitoneal injection of streptozotocin by “Sigma” company (USA), diluted in 0.1 M citrate buffer with a pH of 4.5, at a rate of 60 mg/kg body weight. The control group of animals received an intraperitoneal injection with an equivalent dose of 0.1 M citrate buffer solution with a pH of 4.5. SP-B content in blood serum was determined by Rat enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (Elabscience, the USA) 14, 28, 42, and 70 days after streptozotocin injection.

Results and Discussion. Biochemical studies of blood serum showed an increase in SP-B levels in animals with streptozotocin-induced diabetes at all stages of the research. In particular, serum SP-B levels increased by 8.5 % in 14 days, 37.0 % in 28 days, 54.2 % in 42 days and 74.5 % in 70 days compared to the control group of animals.

Conclusions. During the entire study period, streptozotocin-induced diabetes is accompanied by an increase of surfactant protein B levels in the blood serum which plays a key role in the pathogenesis of lung injury in this pathology.

KEY WORDS: streptozotocin-induced diabetes; surfactant protein B.

Отримано 08.11.22

Адреса для листування: Ю. В. Федорченко, Івано-Франківський національний медичний університет, вул. Грушевського, 7, Івано-Франківськ, 76000, Україна, e-mail: juliakozubash@gmail.com.