

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

ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ ЛИПИДОВ И БЕЛКОВ В ЛЕГКИХ И ПЛАЗМЕ КРОВИ НОВОРОЖДЕННЫХ МОРСКИХ СВИНОК В ДИНАМИКЕ ГИПЕРОКСИИ

Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Изучено влияние длительной гипероксии на содержание продуктов перекисного окисления липидов, карбонильных производных аминокислот в белках и витамина E в легких и плазме крови новорожденных животных. Через 3 суток содержания новорожденных морских свинок в условиях гипероксии в БАЛЖ происходит накопление продуктов ПОЛ и увеличение содержания карбонильных производных аминокислот в белках. На 7 сутки наблюдается подавление процессов пероксидации в легочной ткани, вероятно, за счет значительного увеличения содержания витамина E в легких новорожденных. Однако ресурсы токоферола быстро истощаются и через 2 недели и в легких, и в крови увеличивается содержание продуктов пероксидации белков и липидов. Дисбаланс в оксидантно-антиоксидантной системе, вызванный воздействием высокой концентрации кислорода во вдыхаемом воздухе, может быть одной из причин повреждения легочных структур у новорожденных, которые ведут к развитию бронхолегочной дисплазии.

Ключевые слова: *новорожденные морские свинки, гипероксия, перекисное окисление липидов, карбонильные производные аминокислот, токоферол.*

Zh.A. Rutkovskaya, I.L. Kotovich, A.D. Taganovich

Oxidative modification of lipids and proteins in lungs and plasma of newborn guinea pigs in the dynamics of hyperoxia.

The effect of prolonged hyperoxia on the content of lipid and protein oxidation products, vitamin E in the lung and the blood plasma of newborn animals have been studied. Exposure to hyperoxia for 3 days resulted in the increase of lipid peroxidation products and protein carbonyls in BALF. On the 7th day of exposure the inhibition of peroxidation in lung tissue was observed, probably due to significant increase of vitamin E content. However, tocopherol resources quickly become depleted and following 2 weeks of hyperoxia lipid peroxidation products and protein carbonyls in the lungs and blood increase. The disbalance in the oxidant-antioxidant system caused by exposure to high concentrations of inspired oxygen, may be one of the causes of lung injury in newborns, which lead to the development of bronchopulmonary dysplasia.

Key words: newborn guinea pigs, hyperoxia, lipid peroxidation, protein carbonyls, tocopherol.

Патология недоношенных является актуальной проблемой современной неонатологии. Для становления функции дыхания у новорожденных детей с экстремально низкой массой тела используется оксигенотерапия. Искусственная вентиляция легких с использованием высоких концентраций кислорода проводится у таких детей в связи с морфологической и функциональной незрелостью легочных структур, что способствует лучшей оксигенации органов и тканей [1]. К сожалению, высокая концентрация кислорода во вдыхаемом воздухе оказывает и токсическое действие. Это способствует развитию патологических процессов в легких, в частности, бронхолегочной дисплазии (БЛД) [2]. Несмотря на такое, устоявшееся уже мнение, конкретные молекулярные механизмы патогенетического влияния гипероксии на легкие носят большей частью гипотетический характер. Одним из факторов, которые способствуют развитию этой патологии, наряду с незрелостью тканей легких, баротравмой и волюмотравмой, может являться токсическое действие высоких доз кислорода.

Молекула кислорода, в силу своих структурных особенностей, легко вступает в реакции с образованием свободных радикалов, избыток которых ведет к развитию окислительного стресса. В условиях гипероксии может происходить усиление процессов перекисного окисления липидов, окислительная модификация остатков аминокислот в белках, повреждение других макромолекул [3]. Данные литературы о состоянии системы перекисного окисления липидов у новорожденных противоречивы. Результаты одних исследований свидетельствуют об увеличении продуктов перекисидации в крови недоношенных детей в период искусственной вентиляции легких [4]. В других исследованиях показано, что содержание продуктов перекисного окисления липидов в подобных условиях не изменяется [5,6]. Отсутствуют сведения об изменении состояния процессов перекисного окисления липидов и белков при длительном воздействии высоких концентраций кислорода и в динамике гипероксии.

Целью настоящего исследования было изучить в эксперименте содержание карбонильных производных аминокислот в белках и продуктов перекисного окисления липидов в легких, бронхоальвеолярной лаважной жидкости и плазме крови у новорожденных морских свинок в динамике длительной гипероксии.

Материалы и методы.

В работе использовались новорожденные морские свинки, которые находились на стандартном рационе вивария БГМУ. Эксперимент проводили с соблюдением этических норм и правил проведения работ с лабораторными животными. После рождения животных опытной группы ($n = 4-7$) помещали в камеру, в которой в течение всего времени инкубации поддерживали концентрацию кислорода не менее 75% (температура 20-25°C, относительная влажность 50-80%). Длительность инкубации в условиях гипероксии составляла 1, 3, 7 и 14 суток. Контрольные животные ($n = 4-7$) в течение такого же периода времени дышали обычным воздухом. По окончании инкубации животных обеих групп наркотизировали тиопенталом натрия (15 мг/кг интраперитонеально) и проводили промывание легких через эндотрахеальный зонд раствором 0,9% NaCl (трижды по 8 мл). Полученную жидкость центрифугировали (900 об/мин, 4 °C) для осаждения клеток. В качестве материала для исследования использовали бесклеточный супернатант бронхоальвеолярной лаважной жидкости, плазму крови и гомогенаты легких.

Для получения плазмы собирали в пробирки с 5% раствором ЭДТА и центрифугировали 10 мин при 3000 об/мин для осаждения эритроцитов.

Для получения гомогената легкие растирали в стеклянном гомогенизаторе на холоду (+2 - +4 °C) в 2,0 мл физиологического раствора.

В полученном материале определяли содержание продуктов ПОЛ (перекисного окисления липидов): диеновых конъюгатов, сопряженных триенов, оснований Шиффа, ТБК-активных продуктов, карбонильных производных аминокислот в белках.

Для определения содержания диеновых конъюгатов, сопряженных триенов и оснований Шиффа использовали метод, основанный на экстракции этих соединений смесью равных объемов гептана и изопропанола [7]. Для исследования использовали изопропанольную фазу, в которую экстрагируются продукты пероксидации фосфолипидов [8]. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре против соответствующего контроля при 220 нм (соединения с изолированными двойными связями), 232 нм (диеновые конъюгаты – ДК), 278 нм (сопряженные триены - СТ и кетодиены - КД), 400 нм (основания Шиффа – ОШ). О количественных изменениях продуктов ПОЛ судили по величине отношения оптической плотности (Е): E232/E220 (для ДК), E278/E220 (для СТ), E400/E220 (для ОШ). Результат выражали в единицах индекса окисления (е.и.о.).

Использованный метод определения окислительной модификации белков основан на реакции взаимодействия карбонильных производных окисленных аминокислотных остатков белков с 2,4-динитрофенилгидразином [9]. Образование окрашенных 2,4-динитрофенилгидразонов регистрировали спектрофотометрически при 360 нм. Для расчета использовали коэффициент молярной экстинкции $22 \cdot 10^3$ моль⁻¹см⁻¹. Концентрацию карбонильных производных выражали в нмоль/мг белка/мл БАЛЖ и в нмоль/мг белка в легких.

Определение концентрации витамина Е проводили спектрофлуориметрическим методом [10] и выражали в нмоль/г ткани или в нмоль/мл плазмы.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ Statistica 6,0. Для оценки достоверности различий между группами использовали непараметрический тест Манна-Уитни для независимых выборок. Данные представлены в виде медиан и интерквартильных размахов (медиана: 25 перцентиль – 75 перцентиль). Отличия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты. Спустя 1 сутки гипероксии ни один из определяемых показателей не претерпел существенных изменений. Через 3 суток нахождения новорожденных морских

свинок в условиях гипероксии в составе БАЛЖ значительно выросла концентрация диеновых конъюгатов (в 4,4 раза), сопряженных триенов (в 4,2 раза) и оснований Шиффа (в 3,8 раза) (табл. 1). В этот же период гипероксии в плазме крови экспериментальных животных уровень диеновых конъюгатов был существенно (в 4 раза) ниже контрольного. Несмотря на то, что концентрация сопряженных триенов и оснований Шиффа при этом в плазме крови не изменилась по сравнению с контролем, она значительно уменьшилась по отношению к группе животных, которые находились в условиях гипероксии в течение 1 суток. Существенно более низкий уровень этих показателей имел место и в соответствующей контрольной группе животных (дышали атмосферным воздухом с нормальной концентрацией кислорода в течение 3 суток) по сравнению с контрольной группой, соответствующей 1 сут гипероксии.

Через 7 суток гипероксии уровень диеновых конъюгатов в БАЛЖ статистически значимо не отличался от контрольного, но был значительно (в 3,3 раза) ниже, чем через 3 суток гипероксии. Спустя 14 суток значение этого показателя у опытной группы животных статистически достоверно отличалось не только по отношению к таковому через 3 суток гипероксии (снижение), но и по отношению к соответствующему контролю (увеличение).

Характерные изменения в аналогичный период гипероксии имели место для показателей, характеризующих уровень сопряженных триенов и оснований Шиффа в составе БАЛЖ. Они заключались в резком падении через 7 суток по сравнению с продолжительностью гипероксии – 3 суток. Снижение по сравнению с соответствующим контролем также было статистически достоверно. В случае сопряженных триенов через 14 суток гипероксии происходил невыраженный подъем их концентрации, которого, однако, было достаточно, чтобы превысить контрольный уровень. Этому способствовало то обстоятельство, что в данный период развития организма в БАЛЖ контрольных новорожденных морских свинок определялась самая низкая концентрация как сопряженных триенов, так и оснований Шиффа.

В плазме крови экспериментальных животных через 7 и 14 сут гипероксии имел место постепенный подъем значений вышеназванных трех показателей. Наиболее выражен он был через 14 суток. В этот период концентрация диеновых конъюгатов превысила контрольный уровень в 3,3 раза, сопряженных триенов – в 12,3 раза, оснований Шиффа – в 6,2 раза. Такой мощный подъем обусловлен был не только нарастанием количества продуктов перекисного окисления липидов в опытных группах животных, но и снижением концентрации сопряженных триенов и оснований Шиффа у контрольных животных.

В БАЛЖ животных, подвергнутых гипероксии, отмечаются существенные изменения концентрации карбонильных производных аминокислот (рис. 1). Ее значительный подъем имеет место спустя 3 суток гипероксии (медиана - 40,2; интерквартильный размах - 36,2 - 46,3 нмоль/мг белка/мл; контроль, соответственно, 23,3; 20,6 - 24,6 нмоль/мг белка/мл). Через 7 суток разница по сравнению с контролем еще большая (3,1 раза) и сохраняется таковой через 14 суток.

Аналогичная динамика наблюдается в гомогенате легких (рис. 2) за исключением группы животных через 14 суток гипероксии. Уровень карбонильных производных аминокислот у них в этот период значительно ниже контрольного. Снижение относительно значений этого показателя у животных, подвергнутых менее длительной гипероксии (3, 7 суток), также статистически достоверно.

В гомогенате легких контрольных животных в течение 14 суток также происходят количественные изменения этого показателя. В частности, его значения через 7 и 14 суток гораздо выше, чем через 3 суток (рис. 2). Однако колебания этого показателя у опытной группы животных выражены в большей степени.

Обращает внимание резкое увеличение (на 168%) концентрации витамина Е в легких новорожденных морских свинок, подвергнутых гипероксии в течение 7 суток. Через 14 суток гипероксии значения этого показателя столь же резко упали до уровня 65% от контрольного

в легких. В эти сроки концентрация токоферола резко снизилась и в плазме крови (64% от контроля).

Обсуждение результатов.

Полученные данные показывают, что у новорожденных морских свинок, подвергнутых длительной гипероксии, в плазме крови, воздухопроводящих путях и ткани легких происходят разноплановые изменения уровня продуктов перекисного окисления липидов и белков. Основные события принимают выраженный характер, начиная с трех суток гипероксии. В составе БАЛЖ – это значительный подъем концентрации первичных, вторичных и конечных продуктов ПОЛ, карбонильных производных аминокислот. При этом в сыворотке крови уровень продуктов ПОЛ спустя 3 суток гипероксии снижается, а затем, по мере удлинения сроков содержания животных в условиях гипероксии, неуклонно нарастает, достигая максимальных значений через 14 суток.

В такой динамике обращают на себя внимание несколько обстоятельств. Одно из них - разнонаправленное изменение показателей ПОЛ в БАЛЖ (повышение) и в плазме крови (снижение) спустя 3 суток гипероксии. Через 7 суток гипероксии наоборот, значительно снижается уровень всех продуктов ПОЛ, по отношению к 3 суткам гипероксии в БАЛЖ, и увеличивается - в сыворотке крови. Несмотря на всестороннее внимание исследователей к изучению влияния гипероксии на организм новорожденных, в настоящей работе, похоже, впервые отмечается подобная особенность. На данном этапе причины ее неясны, в особенности это относится к обнаруженным изменениям в сыворотке крови через 3 суток гипероксии.

Существенный подъем уровня продуктов ПОЛ в бронхоальвеолярной лаважной жидкости является следствием событий, происходящих в этот период в легочной ткани. В самом деле, именно в это время в составе БАЛЖ, как было обнаружено ранее, увеличена концентрация активных форм кислорода, снижен уровень восстановленного глутатиона, имеется тенденция к снижению активности компонента антиоксидантной защиты - глутатионперок-

сидазы [12]. Еще раньше, через 1 сутки гипероксии снизилась активность супероксиддисмутаза [12]. По данным литературы в БАЛЖ новорожденных детей в условиях гипероксии в ранние сроки также отмечалось снижение содержания восстановленного глутатиона [13] и активности каталазы [14], супероксиддисмутаза [15]. Этих данных достаточно, чтобы аргументировать наличие в бронхоальвеолярном пространстве легких новорожденных животных условий, способствующих свободнорадикальному окислению липидов и белков.

Среди липидов, как известно, перекисному окислению подвержены ненасыщенные. Ранее нами действительно было показано постепенное снижение концентрации фосфолипидов БАЛЖ у новорожденных морских свинок в динамике гипероксии. Сначала, через 3 суток, это была тенденция, которая нарастала и к 14 суткам перерастала в выраженное изменение [16]. При этом существенно увеличивалась доля насыщененных фосфатидилхолинов в опытной группе животных. Это происходило, в том числе, за счет снижения уровня фосфатидилхолинов, содержащих ненасыщенные жирные кислоты.

Согласно полученным результатам, у животных, которые находились в условиях гипероксии в течение 7 суток, содержание диеновых конъюгатов в БАЛЖ нормализуется, а содержание сопряженных триенов и оснований Шиффа снижается в 2,9 раза и 2,5 раза соответственно по сравнению с контролем. Для лучшего представления указанных событий концентрация продуктов ПОЛ была пересчитана не только на миллиграмм белка и миллилитр БАЛЖ, но и на мкг липидного фосфора. Данные представлены в процентах от контрольного уровня на рис. 4. Последовательность изменений стала более четкой, через 7 суток гипероксии прослеживается безусловное снижение абсолютного и относительного количества ранних и поздних продуктов ПОЛ по сравнению с животными, которые подверглись воздействию гипероксии в течение 3 сут. В этот же период в сыворотке крови уровень этих продуктов превысил контрольный уровень.

Мы полагаем, что обнаруженная динамика связана с перераспределением фонда α -токоферола, который является неферментативным антиоксидантом и защищает, в основном, ненасыщенные жирные кислоты от повреждения свободными радикалами [17]. В самом деле, концентрация витамина E, как показывают результаты проведенного исследования, значительно нарастает в легочной ткани именно в этот период гипероксии. В сыворотке крови она наоборот, демонстрирует четкую тенденцию к снижению, которая через 14 суток гипероксии перерастает в выраженное уменьшение этого показателя. Причем, обнаруженное ранее выраженное уменьшение концентрации витамина A (ретинола) в сыворотке крови через 7 суток содержания новорожденных животных в условиях гипероксии, очевидно, также способствует подъему в этот период сывороточного уровня продуктов ПОЛ [12].

Вместе с тем в БАЛЖ и в гомогенате легких через 7 суток гипероксии остается увеличенным уровень карбонильных производных, в 3,1 раза и в 1,8 раза соответственно, что свидетельствует о продолжающейся стимуляции процессов пероксидации в организме новорожденных морских свинок после воздействия гипероксии в этот период. Примечательно, что через 14 суток гипероксии концентрация карбонильных производных в БАЛЖ у экспериментальных животных оставалась высокой и составляла 54,5 (46,6; 63,5) нмоль/мг белка против 23,1 (18,5; 33,9) нмоль/мг белка в контроле, а в гомогенате легких – уменьшилась в 1,7 раза по сравнению с контрольной группой. В литературе отсутствуют сведения о содержании карбонильных производных белков в гомогенате легких новорожденных при длительной гипероксии. В тоже время исследователи отмечают, что под действием гипероксии в БАЛЖ увеличивается содержание не только карбонильных производных аминокислот, но и ортоитрозина, метатитрозина и нитротитрозина [18], которые также относят к маркерам оксидативного повреждения протеинов [19]. Не исключено, что снижение содержания карбонильных производных в гомогенате легких наблюдается благодаря активации системы протеолиза и последующим удалением поврежденных белков [20, 21].

Другой причиной может быть ускорение клеточного обновления в легких [22] и, вследствие этого, поступление модифицированных белков в кровь из поврежденных клеток легких, поскольку в плазме крови у новорожденных повышается уровень карбонильных производных белков [23, 24].

Полученные результаты показывают, что через 14 суток гипероксии в легких новорожденных морских свинок стимулируются процессы перекисного окисления липидов, о чем свидетельствует увеличение содержания в БАЛЖ диеновых конъюгатов, сопряженных триенов и оснований Шиффа по сравнению с контрольной группой животных, в особенности, в пересчете на мкг липидного фосфора. В этот период в сыворотке крови также резко возрастает содержание всех продуктов перекисного окисления липидов: ДК – в 3,3 раза; СТ – в 12 раз, а ОШ – в 6,2 раза. Основания Шиффа представляют собой продукты конъюгации липидных пероксидов (в основном, альдегидов) с белками и углеводами [23]. Поэтому повышение их уровня следует расценивать не только как стимуляцию процессов перекисного окисления липидов, но и как повреждение других макромолекул клетки.

Параллельно изменению продуктов ПОЛ и перекисного окисления белков через 14 суток гипероксии заметно падает концентрация α -токоферола как в ткани легкого, так и в плазме крови. Это, по-видимому, является свидетельством истощения фонда столь важного неферментативного антиоксиданта в организме животных. Мы усматриваем взаимосвязь между этим событием и стимуляцией свободнорадикальных процессов в организме в этот период гипероксии.

Выявленный дисбаланс в оксидантно-антиоксидантной системе, вызванный воздействием высокой концентрации кислорода во вдыхаемом воздухе, может быть одной из причин повреждения легочных структур у новорожденных, которые ведут к развитию бронхолегочной дисплазии. Он проявляется уже через 3 суток содержания новорожденных морских свинок в условиях гипероксии. В дальнейшем происходит перераспределение витамина Е для

сдерживания процессов пероксидации в легочной ткани. Однако ресурсы истощаются и через 2 недели, по-видимому, компенсаторные механизмы уже не в состоянии обеспечить поддержание баланса хотя бы на локальном уровне. Отсюда складывается перспектива использования антиоксидантов в качестве средства профилактики и, возможно, лечения бронхолегочной дисплазии у недоношенных новорожденных. Последующие исследования призваны подтвердить или опровергнуть сделанное предположение.

Литература

1. Антонов А.Г. Дыхательные расстройства у новорожденных // Национ. рук-во по неонатологии М. 2007. С. 246-287.
2. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах // Природа, 1997, №4, С.47-54.
3. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах, М.: Наука, 1972, 252 с.
4. Волчегорский И.А. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропаноловых экстрактах крови. // Вопросы мед. химии. 1989. т.35, № 1. С.127-135.
5. Горюнов И.А., Джигоев И.Г. Особенности состояния перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности при респираторном дистресс-синдроме у новорожденных // Вестник МАНЭБ. 2009. Т.14, №5. С.208-211.
6. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток. Жизнь и смерть, созидание и разрушение // С-Пб, «Медицинская пресса». 2006. 400 с.
7. Дубинина, Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток. Жизнь и смерть, созидание и разрушение / Е.Е. Дубинина // С-Пб, «Медицинская пресса». 2006. 400 с..

8. Каганова Т.И., Романова-Салмина В.Д. Значение перекисного окисления липидов и антиоксидантов в развитии бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей// Успехи современного естествознания. 2010. №5 С.109-111.
9. Козарезов С. Н. Состояние перекисного окисления липидов и уровень витаминов А и Е у детей с бронхолегочной дисплазией в стадии хронической болезни / С. Н. Козарезов [и др.] // Актуальные проблемы педиатрии: сб. Материалов XVI съезда педиатров России. М., 2009. С.186–187.
10. Котович И.Л., Рутковская Ж.А., Стовба А.А., Кончиц Е.С., Таганович А.Д. Изменения фосфолипидного и белкового компонентов бронхоальвеолярной жидкости в условиях экспериментальной гипероксии // Сб. науч. трудов «Здоровье и окружающая среда», Минск: ГУ РНМБ, 2011. вып.17. С.89-95.
11. Котович И.Л., Рутковская Ж.А., Таганович А.Д. Состояние ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной системы легких у новорожденных морских свинок при длительной гипероксии // Весці НАН Беларусі. 2011. № 4. С.16-24.
12. Овсянников Д.Ю., Давыдова И.В. Бронхолегочная дисплазия: вопросы терминологии и классификации// Рос. Педиатр. Жур. 2008. С.18-22.
13. Плацер З., Видлакова М., Кужела Л.// Чехосл. Мед. обзор. 1970. т.16. №1. С.30-41.
14. Самохин П.А. Цветкова Ю.В. Морфологические проявления бронхолегочной дисплазии новорожденных и клеточное обновление легких при ней // Архив патологии, 2010. N 1. С.30-32.
15. Friguet B., Bulteau A.L., Chondrogianni N., Conconi M., Petropoulos I. Protein degradation by the proteasome and its implications in aging.// Ann NY Acad Sci - 2000, 908: 143-154.
16. Lamb NJ, Gutteridge JMC, Baker C, et al. Oxidative damage to proteins of bronchoalveolar lavage fluid in patients with acute respiratory distress syndrome: evidence for neutrophil-mediated hydroxylation, nitration and chlorination. Intens Care Med 1999;25:1738–1744.

17. Loeckie L, Dezwart, John H. N. Meermah, Jann. M. C. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans // *Free Radical Biology & Medicine*. 1999. Vol. 26, Nos. 1/2, pp. 202–226.
18. Oury TD, Schaefer LM, Fattman CL, Choi A, Weck KE, Watkins SC. Depletion of pulmonary EC-SOD after exposure to hyperoxia. // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol Physiol*. 283:777–784, 2002.
19. Packer L. Protective role of vitamin E in biological systems. // *Am. J. Clin. Nutr.* 1991. 53:1050S-1055S.
20. Shringarpure R., Grune T., Mehlhase J., Davies K.J. Ubiquitin conjugation is not required for the degradation of oxidized proteins by proteasome.// *J. Biol Chem*. 2003, 278: 311- 318.
21. Taylor S.L. Sensitive fluorimetric method for tissue tocopherol analysis // *Lipids*. 1976. Vol.11, N 7. P. 350 - 358.
22. Tölle, A. Effect of hyperoxia on the composition of the alveolar surfactant phospholipids, cholesterol, plasmalogens and vitamin E / A. Tölle [et al] // *Biochim. Biophys. Acta – Lipids and Lipid Metab*. 1997. Vol. 1346, №2. P. 198-204.
23. Varsila E, Pesonen E, Andersson S. Early protein oxidation in the neonatal lung is related to development of chronic lung disease // *Acta Paediatr*. 1995. Nov; 84(11):1296-9.
24. Vento M., Moro M., Escrig R., et al. Preterm Resuscitation With Low Oxygen Causes Less Oxidative Stress, Inflammation, and Chronic Lung Disease. *Pediatrics* 2009;124:e439-e449