

Е.П. Малик, З.В. Сиротина, О.В. Кожарская, Т.И. Гульченко

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАРБОКСИМИОГЛОБИНА В ГОМОГЕНАТЕ ПОСЛЕДА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОКСИ-УГЛЕРОДНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН И ЗАВИСИМОСТЬ ЕГО СОДЕРЖАНИЯ ОТ КОМПЕНСАТОРНЫХ РЕАКЦИЙ В ПОСЛЕДЕ

Дальневосточный государственный медицинский университет;
Государственное учреждение здравоохранения "Перинатальный центр",
г. Хабаровск

Более 80% территории лесного фонда в Хабаровском крае относится к первым трем классам природной пожарной опасности [1]. При ухудшении экологической обстановки, в период лесных пожаров, в первую очередь страдает высокораннимая система "мать - плацента - плод" как универсальный индикатор при оценке качества среды обитания [2]. Наряду с изучением морфофункциональных изменений в плацентах, рожденных от женщин, подвергшихся длительному воздействию окиси углерода в атмосферном воздухе, в концентрациях, превышающих среднесуточные ПДК, большую значимость имеет определение карбоксимиоглобина в гомогенате последа, необходимое для диагностики экологически обусловленных состояний у детей в раннем неонатальном периоде. Подана заявка на изобретение: "Способ количественного определения карбоксимиоглобина в гомогенате последа" (приоритет от 23.08.2004, №2004122743). Существующая методика по определению карбоксимиоглобина [3] позволяет определять его количественное содержание в скелетных мышцах и миокарде трупов людей при отравлении угарным газом. Преимущества способа определения карбоксимиоглобина в гомогенате последа: доступность исследуемого материала, получение экстрагированной жидкости без добавления воды и дополнительного отжима.

Целью исследования явились: разработка метода количественного определения карбоксимиоглобина в гомогенате последа, выявление зависимости концентрации карбоксимиоглобина в гомогенате последа от уровня и длительности воздействия окиси углерода, определение уровня карбоксигемоглобина в крови у рожениц и их новорожденных детей.

Материалы и методы

Проведены морфологические исследования 123 рожденных плацент от матерей из исследуемых групп на базе патолого-анатомического отделения ГУЗ "Перинатальный центр". Определены параметры: фракция карбоксигемоглобина фетального - FCOHb(a)F (%) у новорожденных, FCOHb(a)A (%) — фракция карбоксигемоглобина взрослого типа у рожениц, у новорожденных: концентрация

Резюме

С целью дополнительной диагностики экологически обусловленного заболевания у новорожденных - хронической внутриутробной окиси-углеродной интоксикации, предложен способ определения карбоксимиоглобина в гомогенате последа (Е.П. Малик, З.В. Сиротина, 2004). Проведены морфологические исследования последа, рожденных от матерей, подвергшихся в третьем триместре беременности длительному воздействию окиси углерода - токсичного продукта, выделяющегося в атмосферу воздуха при горении лесов, в концентрациях, превышающих среднесуточную предельно-допустимую (3 мг/см³) в 2-9 раз. Определена фракция карбоксигемоглобина - FCOHb(a) (%) в крови у новорожденных и их матерей. Установлена зависимость истощения компенсаторных реакций в последе от длительности воздействия на организм беременной женщины окиси углерода в атмосферном воздухе и содержания карбоксимиоглобина в гомогенате последа от объема сосудистой фракции ворсин парацентральной зоны последа.

E.P. Malik, Z.V. Sirotnina, O.V. Kojarskae,
T.I. Gulchenko

DEFINITION OF CARBOXYMYOGLOBIN IN PLACENTA HOMOGENEOUS IS SUPPLEMENTARY METHOD DIAGNOSIS OF CHRONIC CARBON OXIDE INTOXICATION IN PREGNANT WOMEN

Far Eastern State Medical University, Khabarovsk

Summary

Definition of carboxymyoglobin in placenta homogeneous is supplementary method diagnosis of a chronic carbon oxide intoxication in pregnant women, it allows to talk about level of carboxyhemoglobin in newborn's and women's blood. Comparison of concentration of carboxyhemoglobin and carboxymyoglobin cause development of a chronic carbon oxide intoxication. Volume of regression in placenta influences on distribution of carbon oxide in muscles, blood and endothelium vascular.

лактата — cLactate (a) (моль/л), фетальный гемоглобин — HbF (%), гемоглобин взрослого типа — HbA (%), кислотно-основное состояние крови pH, PaCO₂ (мм рт.ст.) — напряжение углекислоты, PaO₂ (мм рт.ст.) — парциальное давление кис-

лорода, HCO_3^- — концентрация бикарбоната плазмы (ммоль/л), SBE — стандартный избыток оснований (ммоль/л), СОМб — концентрация карбоксимиоглобина в гомогенате последа. Исследования проводились в биохимической лаборатории ГУЗ "Краевая клинической больницы №1 им. проф. С.И. Сергеева", ГУЗ "Перинатальный центр", в химическом отделении судебно-медицинской лаборатории Бюро судебно-медицинской экспертизы Хабаровского края. Использована аппаратура: автоматический газоанализатор фирмы "Радиометр ABL" серии 700, "Easy Blood Gas", фирмы "MEDICA"; КФК-3-01, КФК-3, КФК-2. Забор крови проводился у рожениц в пробах цельной крови с помощью шприца во втором периоде родов; у новорожденных из пупочной вены сразу после отсечения пуповины, со стороны последа, шприцом через пупочный катетер. Анализы крови выполнялись в течение первых 30 мин после забора. Использовался свежий биологический материал — послед, не позднее 2 ч после рождения. Данные по лабораторному контролю окиси углерода в атмосферном воздухе в городах Хабаровске и Комсомольске-на-Амуре получены в Центре Госсанэпиднадзора г. Комсомольска-на-Амуре и ЦГМС — РСМЦ г. Хабаровска. Были сформированы четыре группы новорожденных.

1 группа (контрольная) — 30 здоровых доношенных новорожденных, рожденных от матерей, проживавших с начала беременности до родов в зоне экологического "относительного" благополучия, с физиологическим течением беременности и родов.

2 группа — 35 доношенных новорожденных от матерей, подвергшихся воздействию окиси углерода за 30 сут до родов, в дозах, превышающих ПДК загрязняющих веществ в атмосферном воздухе.

3 группа — 29 доношенных новорожденных, матери которых подверглись воздействию окиси углерода в дозах, превышающих ПДК в течение 60 дней до родов.

4 группа — 29 доношенных новорожденных, матери которых подверглись длительному воздействию окиси углерода в дозах, превышающих ПДК, в третьем триместре гестационного периода, в течение 90 сут до рождения. Регистрируемые среднесуточные концентрации окиси углерода в атмосферном воздухе за исследуемый период (с мая по октябрь 1998 г., октябрь 2001 г.) превышали среднесуточную предельно допустимую концентрацию (3 мг/м^3) в 2-9 раз, колеблясь в пределах 6-27 мг/м^3 .

Матери новорожденных из всех исследуемых групп — в возрасте 20-35 лет, из социально-адаптированных семей, соматически здоровы, с благополучным акушерско-гинекологическим анамнезом, неосложненным течением беременности и нормальных родов в срок 38-41 нед. гестации, с отсутствием вредных привычек и профессиональной вредности, с неотягощенной наследственностью. Матери из 2-4 группы находились в указанные периоды до родов в зоне экологическо-

Кислородное состояние артериальной крови у новорожденных при рождении (пупочная вена), карбоксимиоглобин в гомогенате последа, объем сосудистой фракции в ворсинках последа в исследуемых группах

Показатели	Исследуемые группы			
	1	2	3	4
FCO _{НbF} (а), %	0±0	17±0,5	15±0,47	18±0,5
HbF, %	75±0,1	75,0±0,1	76±0,05	77,1±0,1
HbA, %	25±0,1	25,0±0,1	23,95±0,05	22,9±0,1
CLactate (а), ммоль/л	1,1±0,05	1,4±0,05*	1,7±0,1*	1,9±0,2*
FCO _{НbA} , %	0,8±0,1	15±0,16	14±0,17	16±0,2
PH	7,4±0,03	7,29±0,02*	7,28±0,01*	7,27±0,01*
PaO ₂ , мм рт.ст.	83,0±0,5	70,0±0,3*	50,0±0,1*	41,0±0,2*
PaCO ₂ , мм рт.ст.	35,0±0,1	35,0±0,1	35,0±0,1	35,0±0,1
HCO ₃ , ммоль/л	24,0±0,1	21,0±0,1*	15,6±0,05*	12,4±0,05*
SBE, ммоль/л	-7,5±0,1	-8,5±0,05*	-10,8±0,1**	-13,3±0,1*
СОМб, %	0±0	7,8±0,05	6,9±0,2	6,3±0,05
СОС, %	6,0±0,1	7,8±0,1	5,5±0,1**	5,0±0,05***
SaO ₂ , %	97,0±0,1	97±0,1	95±0,1	90±0,1

Примечания. * — $p < 0,1$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$.

го неблагоприятия — массивных лесных пожаров, охвативших территорию Хабаровского края с конца мая до середины октября 1998 г. и в октябре 2001 г. Исследовался свежий биологический материал — последы ($n=123$). Из парацентральной зоны каждого последа, содержащей высокую объемную фракцию сосудов, исследовали по одному кусочку весом 50 г. Проводили спектрофотометрические определения СОМб. Величина ошибки определения СОМб составляла $\pm 3\%$.

Результаты исследования

В гомогенатах последов всех исследуемых групп максимум светопоглощения наблюдался при $\lambda 561$ нм, что говорило о наличии дезоксиоглобина. Четко прослеживалась зависимость истощения компенсаторных реакций в последе от длительности воздействия на организм беременной женщины окиси углерода в атмосферном воздухе; содержания карбоксимиоглобина в гомогенате последа от объема сосудистой фракции ворсин парацентральной зоны последа; кислородного состояния артериальной крови у новорожденных при рождении (пупочная вена) от уровня СОНб в крови у рожениц в исследуемых группах (табл. 1). Во 2 группе соотношение СОМб в гомогенате последа ($16 \pm 0,05\%$) к СОНб ($15 \pm 0,2\%$) в крови у рожениц составляло 0,52. Максимальное содержание СОНбF в крови у новорожденных отмечалось во 2 и 4 группах. Различия между контрольной и исследуемыми группами статистически достоверны. Преобладание содержания у новорожденных СОНбF над СОНб в крови у рожениц объясняется низкой скоростью диссоциации и большим сродством к окиси углерода фетального гемоглобина, чем гемоглобина взрослого типа. В 1 исследуе-

мой группе у рожениц и новорожденных в крови и в гомогенатах последов СОНб и СОМб отсутствовали. В 3 и 4 группе уменьшилось соотношение СОМб в гомогенате послета к СОНб в крови у рожениц и составило 0,48 и 0,40 соответственно. При морфологическом исследовании послета во 2 группе наблюдалась выраженная компенсаторно-регенеративная реакция, в парацентральной зоне увеличено СОС (сосудистое русло всех ворсин) до $7,8 \pm 0,1$ ($p < 0,001$). В 3 исследуемой группе в плаценте наблюдалась слабая компенсаторная реакция. К дистрофическим регрессивным изменениям, выраженным в послетах 4 группы, относятся ряд признаков, опубликованных нами ранее [4], и общая гиповаскуляризация, анемизация ворсинчатого хориона. Уменьшение объемной фракции сосудов ворсин послета и уровня карбоксимиоглобина в 3 и 4 группах расценивается как признак истощения компенсаторно-приспособительных процессов в плаценте. В связи с декомпенсированной реакцией плаценты в 4 группе и снижением ее барьерной функции, уровень концентрации карбоксигемоглобина в крови у новорожденных составил 18%. Это чрезвычайно важно для клинической оценки новорожденных, поскольку при длительном контакте, даже с низкими концентрациями карбоксигемоглобина, возникают тяжелые повреждения на метаболическом уровне.

Наряду с повышением карбоксигемоглобина в крови матери, у новорожденных достоверно больше содержание карбоксигемоглобина в крови пупочной вены. По мере возрастания карбоксигемоглобина в материнской крови снижается концентрация кислорода в фетальной крови. В физиологических условиях, при концентрации окиси углерода в атмосферном воздухе, не превышающей ПДК, плацентой осуществляется барьерная функция. С увеличением срока гестации, с превышением уровня ПДК окиси углерода, с длительным ее воздействием плацента не справляется со своей барьерной функцией в связи с тем, что P_a окиси углерода в материнской крови больше, чем в вене пуповины, несущей чисто артериальную кровь.

Ключевым параметром для оценки адекватности поступления кислорода является парциальное давление кислорода (pO_2). Транспорт кислорода зависит от уровня гемоглобина в крови, концентрации дисгемоглобинов, парциального давления кислорода в артериальной крови ($pO_2(a)$), сатурации кислорода артериальной крови ($SO_2(a)$). Недостаточно использование одного показателя сатурации кислорода для характеристики его транспорта. В 3 исследуемой группе мы видим, что при $SO_2(a)$ 95 % соотношение между концентрацией карбоксигемоглобина и общим гемоглобином - фракция карбоксигемоглобина (FСОНб) — 15 %. Карбоксигемоглобин не способен к транспорту кислорода и повышает аффинитет гемоглобина к кислороду, нарушая высвобождение кислорода в периферических тканях. Низкие уровни артериальной концентрации кислорода вызывают тканевую гипоксию, при которой повышается продукция молочной кислоты в клетках. У ново-

рожденных из 2 исследуемой группы, за счет компенсированного повышения сердечного выброса, не наблюдается значительного увеличения уровня лактата (сLactate) в крови, как в 3 и 4 группах. Уровень сLactate в крови является маркером дисбаланса между потребностью в кислороде и его поставкой.

По мере увеличения экспозиции окиси углерода на организм беременной женщины снижается способность у плода и новорожденного в раннем неонатальном периоде утилизировать кислород. Выраженная гипоксия тканей при гипоксемии, гипоперфузии (ишемии) вызывает накопление сLactate, поскольку он является конечным продуктом анаэробного метаболизма глюкозы (гликолиза). Дальнейшее нарастание тканевой гипоксии, снижение концентрации бикарбоната плазмы и рН в крови плода в результате лактатацидоза могут стимулировать вдох плода и вызвать аспирацию околоплодными водами. При рождении у новорожденных из всех исследуемых групп отмечался декомпенсированный метаболический ацидоз [5], более выраженный в 3 и 4 группах. Своевременная ранняя коррекция нарушений метаболических сдвигов, оксигенация, АУФОК (аутотрансфузия УФ — облученной крови) при отрицательной пробе на наличие порфиринов в моче и ряд других мероприятий способствовали нормальному течению раннего периода новорожденности.

Выводы

1. Определение карбоксимиоглобина в гомогенатах, полученных из последов, является дополнительным методом диагностики хронической окиси-углеродной интоксикации у беременных женщин, который позволит судить об уровне карбоксигемоглобина в крови у новорожденных и их матерей.
2. Сопоставление концентраций карбоксигемоглобина и карбоксимиоглобина позволяет установить динамику хронической окиси-углеродной интоксикации.
3. На распределение окиси углерода между кровью, мышцами и эндотелием сосудов помимо концентрации окиси углерода во вдыхаемом воздухе и продолжительности действия окиси углерода на организм беременной женщины и ее плода влияет объем дистрофических регрессивных изменений в послете, проявляющихся, в частности, в аваскуляризации ворсин и уменьшении сосудистого русла.
4. Соотношение карбоксимиоглобина в гомогенате послета к карбоксигемоглобину в крови у рожениц при длительном воздействии окиси углерода в атмосферном воздухе на организм беременной женщины зависит от объемной фракции сосудов в парацентральной области послета.
5. Длительное воздействие окиси углерода на организм беременных женщин в любых концентрациях, превышающих среднесуточную ПДК, вызывает в организме плода и новорожденного патологические метаболические изменения, перерастающие в экологически обусловленное заболе-

вание — хроническую окиси-углеродную интоксикацию.

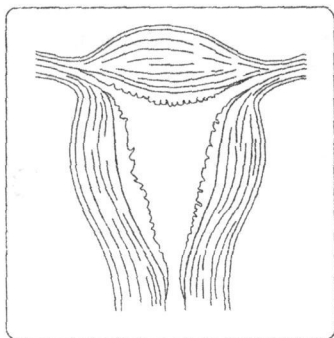
Л и т е р а т у р а

1. Кириленко Л.И. // Охрана лесов от пожаров в Хабаровском крае. Хабаровск, 1999. С.11-12.
2. Лещенко Я.А. // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра. 2003. №2. 200 с.

3. Методические указания о количественном определении карбоксигемоглобина и карбоксимемоглобина. М., 1974. 17 с.

4. Малик Е.П., Сиротина З.В., Кожарская О.В. // Здоровоохранение Дальнего Востока. 2004. Т.11, №3. С.28-32.

5. Шабалов Н.П. Неонатология. СПб.: Спец. лит., 1997. 496 с.



УДК 616 - 091.8 : 618.146 : 616 - 006

Т.Е. Белокриницкая, Ю.Н. Пономарева, Г.М. Ломнева,
Е.П. Маккавеев

ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ПРИ ПРЕДРАКОВЫХ И ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ПОРАЖЕНИЯХ ШЕЙКИ МАТКИ

*Читинская государственная медицинская академия,
Читинский областной диагностический центр,
Читинское областное патолого-анатомическое бюро, г. Чита*

Определение биологического поведения патологических процессов и потенции злокачественного роста является одним из решающих факторов при выборе тактики лечения и прогнозе заболевания [1, 3]. В качестве одного из возможных маркеров опухолевой трансформации может быть использована оценка интенсивности процессов клеточного роста. При изучении пролиферативной активности широкое применение получил иммуногистохимический метод определения белков-регуляторов жизненного цикла клеток. К ним относятся циклины, циклин-зависимые киназы, белки Ki-67, MPM-2, PCNA и др., функции которых сопряжены с митотическим циклом. Согласно современным представлениям, универсальным маркером пролиферации клеток может быть белок, присутствующий во всех фазах митотического цикла и исчезающий по его окончании. Подобные свойства были отмечены при исследовании антигена ядер пролиферирующих клеток (Proliferating Cell Nuclear Antigen) — PCNA, вспомогательного полипептида ДНК-полимеразы, который в настоящее время активно используется для определения пролиферативной активности [5, 6]. Показано, что высокие уровни экспрессии PCNA в эпителиоцитах ассоциированы с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями высокой степени, инфицированием папилломавирусами и хламидиями [2, 4]. В то же время, исследований, посвященных изучению пролиферативных процессов в качестве дифференциально-диагно-

стического критерия патологических процессов шейки матки, в литературе недостаточно и результаты их противоречивы [9-11].

Целью настоящего исследования явилась сравнительная оценка пролиферативной активности клеток при предраковых и злокачественных поражениях шейки матки в зависимости от клинической формы, стадии заболевания, гистологического варианта и рецепторного статуса половых стероидов.

Материалы и методы

Проведено ретроспективное иммуногистохимическое исследование 314 образцов тканей шейки матки, полученных при биопсии и хирургическом лечении пациенток с дисплазией и раком шейки матки, находившихся на обследовании и лечении в Читинском областном онкологическом диспансере в период с 1998 по 2004 г.

Возраст пациенток находился в пределах от 19 до 52 лет и составил в среднем $41,9 \pm 6,9$ года.

Диагностика заболеваний шейки матки включала клинические, кольпоскопические, цитогистологические и иммуногистохимические методы исследования. Стадирование предраковых процессов шейки проводилось в соответствии с общепринятой Международной статистической классификацией болезней (1992), гистологической классификацией опухолей женского полового тракта ВОЗ (1995) и рака шейки матки в соответствии с классификацией по системе TNM и по системе