

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ, АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КРОВИ И СОСТОЯНИЯ ЭНДОТЕЛИЯ У ПАЦИЕНТОВ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ЗАДЕРЖКИ РОСТА ПЛОДА

КОВАЛЁВ Е.В., ЗАНЬКО Ю.В., ЯРОЦКАЯ Н.Н.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Республика Беларусь

Резюме.

Целью настоящего исследования явилось изучение особенностей протекания процессов перекисного окисления липидов, а также состояния эндотелия у пациентов при наличии задержки роста плода (ЗРП) и при физиологической беременности. Для этого нами в III триместре было обследовано 40 беременных с задержкой роста плода (основная группа) и 43 женщины с нормально протекающей беременностью. Для оценки процессов липопероксидации изучали показатели: S (полная светосумма хемилюминисценции, мВ/с), I_{max} (значение максимальной интенсивности за время опыта, мВ/с). Активность антиоксидантных систем оценивали по показателю tg 2 (tg угла максимального наклона кривой к оси времени) и коэффициентам Z и K. В качестве маркера эндотелиальной дисфункции было выбрано определение количества циркулирующих эндотелиальных клеток по методу Hladovec J. и др.

Было определено, что беременности с ЗРП достоверно чаще сопровождались перенесёнными простудными заболеваниями в I триместре (55,8% и 32,5%, соответственно), экстрагенитальной патологией (51,2% и 27,5%), в первую очередь за счёт хронического пиелонефрита (16,3% и 7%).

ЗРП сочеталась с достоверным повышением активности процессов липопероксидации и антиоксидантной активности крови беременных (рост показателя S на 7,7%, I_{max} на 6,7%, tg 2 на 6,7%, p<0,05), а также эндотелиальной дисфункцией (количество ЦЭК=21 (18; 25) в основной группе и 12 (9; 15) в контрольной, p<0,001).

Системный анализ корреляционных связей показал, что при формировании ЗРП за счёт образования нетипичных межсистемных связей происходит формирование новой функциональной системы, деятельность которой направлена на обеспечение роста и развития плода.

Ключевые слова: задержка роста плода, липопероксидация, эндотелиальная дисфункция, беременность.

Abstract.

The purpose of the present study was to examine the features of the processes of lipid peroxidation, as well as the state of the endothelium in patients in the presence of intrauterine growth retardation (IUGR) and in physiological pregnancy. The first group consisted of 40 female patients with the diagnosed IUGR, in the second one there were 43 female patients with normal pregnancy. Venous blood samples in the 3rd trimester were collected. To assess lipid peroxidation processes the following parameters were studied: S (total chemiluminescence light sum, mV/s), I_{max} (the maximum intensity during the experiment, mV/s). The activity of antioxidant systems was evaluated according to tg 2 index (tg of the angle of maximum inclination of the curve to the time axis) as well as Z and K coefficients. As a marker of endothelial dysfunction the quantification of circulating endothelial cells (CEC) by the method of Hladovec J. et al. was chosen.

It was determined that the pregnancies complicated by IUGR significantly more often were accompanied by the suffered acute respiratory diseases during the 1st trimester (55,8% and 32,5%, respectively), extragenital pathology (51,2% and 27,5%, respectively), primarily due to chronic pyelonephritis (16,3% and 7%, respectively).

IUGR was combined with a significant increase in the activity of lipid peroxidation processes and antioxidant activity of the blood of pregnant women (the S index was higher by 7,7%, I_{max} was higher by 6,7%, and tg 2 - by 6,7% in 1st group (p<0,05)), and endothelial dysfunction (CEC number =21 (18 ; 25) in the main group and 12 (9; 15) in the control one, p<0,001).

Systemic analysis of correlations showed that on the formation of IUGR due to atypical interconnections the

foundation of a new functional system takes place the activity of which is aimed at the ensurance of the fetal growth and development.

Key words: hypotrophy, lipid peroxidation, endothelial dysfunction, pregnancy.

В настоящее время общепризнано, что оксидативный стресс (ОС) лежит в основе патофизиологии ряда осложнений беременности, включая задержку роста плода (ЗРП). Оксидативный стресс представляет собой преобладание процесса образования активных форм кислорода над внутренними антиоксидантными механизмами. Активные формы кислорода играют важную роль вторичных передатчиков во множестве внутриклеточных сигнальных каскадов, целью которых является поддержание клеток в состоянии устойчивого гомеостаза с их непосредственным окружением. Избыточное накопление активных форм кислорода ведёт к необратимому повреждению биологических молекул с последующей потерей их функции клеток вплоть до цитолиза.

Экспериментальными исследованиями было продемонстрировано, что плацентация идёт при преимущественном выделении кислорода эндометриальными железами, чем поступлении его из материнского кровотока [1]. Развитие эмбриона проходит в условиях относительной гипоксии, что является защитным адаптивным антитератогенным механизмом [2]. Результатом окончательно сформировавшегося маточно-плацентарного кровообращения является более чем в три раза рост концентрации кислорода в плаценте, при этом содержание естественных антиоксидантов в плацентарной ткани остаётся на относительно низком уровне.

Имеются единичные сообщения, касающиеся роли плацентарного оксидативного стресса при наличии ЗРП. Показано, что уровень ОС при данном осложнении беременности ниже, чем при гестозе, однако достаточный для супрессии синтеза белка. ОС, действующий продолжительное время, обуславливает низкую траекторию роста плаценты с последующей неполной реализацией потенциала роста плода [4]. При этом подчёркивается, что в формировании ЗРП важную роль играет нестабильный маточно-плацентарный кровоток в большей степени, нежели сама гипоксия.

Кроме того, активация перекисного

окисления липидов (ПОЛ) усиливает выработку тромбосана, что усиливает агрегацию тромбоцитов, эритроцитов, стимулирует вазоконстрикцию периферических сосудов, приводит к нарушению микроциркуляции. Спазм сосудов в разной степени вызывает местную ишемию, что в свою очередь способствует повышению интенсивности процессов ПОЛ.

Другим важным патогенетическим аспектом формирования ЗРП является эндотелиальная дисфункция (ЭД). С точки зрения биохимии ЭД можно характеризовать как нарушенную способность эндотелия к захвату и метаболизму аминокислоты L-аргинина, основного субстрата для синтеза оксида азота (NO) посредством NO-синтазы [5]. В свою очередь, снижение образования NO приводит к нарушению вазодилатации в сосудах плаценты и гипоксии. Кроме того, NO ингибирует адгезию, активацию, секрецию и агрегацию тромбоцитов, определяет образование эндотелина-1, фактора активации тромбоцитов и др. Развитие ЭД при ЗРП объясняется избыточным воспалительным ответом материнского организма на беременность [6].

Современные методы оценки тяжести эндотелиальной дисфункции, равно как интенсивности процессов перекисного окисления липидов и уровня антиоксидантной активности имеют ряд ограничений по использованию по причине высокой стоимости и/или трудоёмкости процесса определения. Поэтому поиск альтернативных доступных и воспроизводимых методик является актуальной задачей.

Целью настоящего исследования являлась оценка дисфункции эндотелия, а также изучение показателей перекисного окисления липидов и общей антиоксидантной активности у пациенток, беременность у которых осложнилась ЗРП.

Методы

Было обследовано 83 беременных женщин в сроке беременности 30-37 нед. Обследованные пациентки были разделены на 2 груп-

пы: первую группу составили 43 пациентки, родивших детей с массо-ростовыми характеристиками ниже 10% для соответствующего гестационного срока, вторую группу составили 40 пациенток, новорождённые у которых соответствовали по массе и длине тела сроку гестации. Для сопоставления массо-ростовых показателей гестационному возрасту использовались перцентильные таблицы Н.К.Р. Робертон (1998). Критерием исключения в первой группе явилось наличие у плода генетической патологии, верифицированной в постнатальном периоде. Во второй группе дополнительным критерием исключения было наличие выставленного диагноза ЗРП с последовавшим за ним курсом метаболической терапии на любом сроке беременности.

Средний возраст пациенток основной группы составил $28,7 \pm 5,3$ года. Настоящая беременность была первой у 21 женщины (48,8% [95% ДИ 34,3; 63,3]), первородящими являлись 29 женщин (67,4% [95% ДИ 52,5; 79,6]). Простудные заболевания на ранних сроках беременности перенесли 24 беременные (55,8% [95% ДИ 41,1; 69,6]), нарушение жирового обмена отмечалось у 16 (37,2% [95% ДИ 24,3; 53,2]) женщин. Средняя прибавка массы тела за беременность равнялась 9,0 (3,2; 14,1). Гинекологическая патология отмечалась у 12 (27,9% [95% ДИ 16,6; 42,8]) женщин, экстрагенитальная - у 22 (51,2% [95% ДИ 36,8; 65,4]) пациентов. Угроза прерывания беременности была у 25 пациенток (59,5% [95% ДИ 43,3; 71,6]). Срок выставления диагноза ЗРП составил $32,5 \pm 2,7$ недели. Маловодие отмечалось у 23 (53,5%) женщин, нарушение маточно-плацентарного кровотока - у 16 (37,2%). Вес новорождённых у женщин основной группы составил $2341,5 \pm 367,8$ г, рост 47 ± 3 см.

Средний возраст пациенток контрольной группы равнялся $27,1 \pm 4,3$ года. Первая беременность была у 22 женщин (55,0% [95% ДИ 39,8; 69,3]), первородящими являлись 24 женщины (60,0% [95% ДИ 44,6; 73,7]). Простудные заболевания на ранних сроках беременности перенесли 13 (32,5% [95% ДИ 20,0; 48,1], $p=0,036$) пациенток. Нарушение жирового обмена было у 14 (35,0% [95% ДИ 22,1; 50,6], $p>0,05$) беременных. Средняя прибавка массы тела за беременность равнялась 13,0 (7,0; 21), что было достоверно ниже, чем в основной группе ($p<0,001$). Гинекологическая патоло-

гия имелась у 6 женщин (15,0% [95% ДИ 6,7; 29,5], $p>0,05$), экстрагенитальная - у 11 женщин (27,5% [95% ДИ 15,9; 43,0], $p=0,03$). Угроза прерывания беременности имела место у 15 пациенток (37,5% [95% ДИ 24,2; 53,0]), $p=0,048$). Вес новорождённых у женщин контрольной группы составил $3597,5 \pm 366,5$ г, рост 52 ± 2 см.

Для оценки интенсивности ПОЛ изучали показатели: S (полная светосумма хемилюминисценции) в мВ/с; I max (значение максимальной интенсивности за время опыта в мВ/с) методом индуцированной хемилюминисценции (ХЛ) сыворотки крови на биохемилуцинометре БХЛ-06. Об активности антиоксидантных систем судили по tg 2 (тангенс угла максимального наклона кривой к оси времени) без учёта знака (-) и коэффициентам $Z=S/I \text{ max}$ и $K=I \text{ max}/S$.

В качестве маркера эндотелиальной дисфункции было выбрано определенное количество циркулирующих эндотелиальных клеток в сыворотке венозной крови, забранной натощак. Количество циркулирующих эндотелиальных клеток в крови беременных определяли по методу Hladovec J. et al. [7]. Метод основан на изоляции клеток эндотелия вместе с тромбоцитами с последующим осаждением последних с помощью аденозиндифосфата. Подсчет количества ЦЭК проводили во всем объеме камеры Горяева (10 мкл). Жизнеспособные эндотелиальные клетки просматривались как большие (35×50 мкм) полигональные клетки с овальным, расположенным в центре ядром и более бледной окраской по сравнению с нежизнеспособными клетками эндотелия (каркасы эндотелиоцитов). От одной пациентки считали 10 проб по 10 мкл обогащенной клетками плазмы, суммировали данные и находили количество ЦЭК (жизнеспособных и нежизнеспособных) в 100 мкл обогащенной клетками плазмы.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета прикладных программ «Statistica 6.0». Результаты исследования представлены в виде Me (25%; 75%), где Me - медиана, (25%; 75%) - верхняя и нижняя квартили. При сравнении независимых групп с отличным от нормального распределением признаков использовался непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Для анализа взаимосвязи признаков применяли метод непараметрического корреляционного анализа

(ранговая корреляция по Спирмену – R). Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости p принимали равным 0,05. Системный анализ совокупности изучаемых признаков выполнялся с помощью метода корреляционных структур [8]. Суть данного метода состоит в анализе корреляционной матрицы с изображением имеющихся связей в виде графики, узлами которой являются признаки, а рёбрами – достоверные ($p < 0,05$) связи между ними. При этом, согласно правилам системного анализа, обязательен расчёт следующих показателей: коэффициента лабилизации (КЛ) и показателей корреляционного различия (ПКР). КЛ характеризует относительное количество связей в структуре и определяется по формуле:

$$\text{КЛ} = \frac{n}{N(N-1)} \cdot 100\%, \quad (1)$$

где n – сумма всех значимых связей, образованных каждым параметром корреляционной структуры; N – общее число параметров системы.

ПКР определяет степень качественного различия сравниваемых корреляционных структур и вычисляется следующим образом:

$$\text{ПКР} = \frac{H - C}{H + C} \cdot 100\%, \quad (2)$$

где H – число совпадающих связей в сравниваемых структурах; C – число совпадающих связей.

Результаты и обсуждение

Показатели ПОЛ, общей АОА, а также количество ЦЭК у обследованных женщин представлены в таблице 1.

Как видно из данных, представленных в таблице, у женщин, беременность которых осложнилась ЗРП медианное значение показателя S было равно 11,27 (10,34; 11,79) мВ/с, что на 7,7% выше соответствующего показателя в контрольной группе (10,43 (9,23; 11,33) мВ/с, $p=0,003$).

Медиана показателя $I \max$, отражающего активность ПОЛ у женщин основной группы составила 1,27 (1,15; 1,38) мВ/с, что на 6,7% выше, чем у женщин контрольной группы (1,19 (1,06; 1,34) мВ/с, $p=0,032$).

Медианное значение $\text{tg } 2$ у пациенток при формировании ЗРП (0,32 (0,28; 0,36)) было на 6,7% выше, чем у пациенток с физиологически протекавшей беременностью (0,30 (0,26; 0,33), $p=0,004$).

Таким образом, у пациенток с ЗРП отмечается повышенная активность процессов липопероксидации при одновременном возрастании потенциала антиоксидантной защиты. Данное явление, вероятно, является адаптивным механизмом в организме матери с одной стороны и повреждающим фактором для плаценты с другой, что обуславливает плацентарную недостаточность у указанной группы пациенток и таким образом препятствует реализации генетически обусловленного потенциала роста плода.

Количество ЦЭК в сыворотке венозной крови у пациенток при формировании ЗРП было достоверно выше, чем у пациенток кон-

Таблица 1 – Показатели ПОЛ, общей АОА, а также количество ЦЭК у обследованных женщин (Me (25%; 75%))

Показатель	Группы обследованных женщин	
	Основная группа (n=43)	Контрольная группа (n=40)
S , мВ/с	11,27 (10,34; 11,79) $p=0,003$	10,43 (9,23; 11,33)
$I \max$, мВ/с	1,27 (1,15; 1,38) $p=0,032$	1,19 (1,06; 1,34)
$\text{tg } 2$	0,32 (0,28; 0,36) $p=0,004$	0,30 (0,26; 0,33)
$Z = S/I \max$	8,94 (8,45; 9,40) $p=0,33$	8,81 (8,46; 9,18)
$K = I \max/S$	0,11 (0,11; 0,12) $p=0,33$	0,11 (0,11; 0,12)
Количество ЦЭК	21 (18; 25) $p < 0,001$	12 (9; 15)

Примечание: p – вероятность справедливости нулевой гипотезы при сравнении с контрольной группой (U-критерий Манна-Уитни).

трольной группы 21 (18; 25) и 12 (9; 15) соответственно, $p < 0,001$, что свидетельствует об имеющейся эндотелиальной дисфункции. Уве-

личение количества ЦЭК, равно как и повышение напряжённости процессов ПОЛ/АОА крови пациенток основной группы является

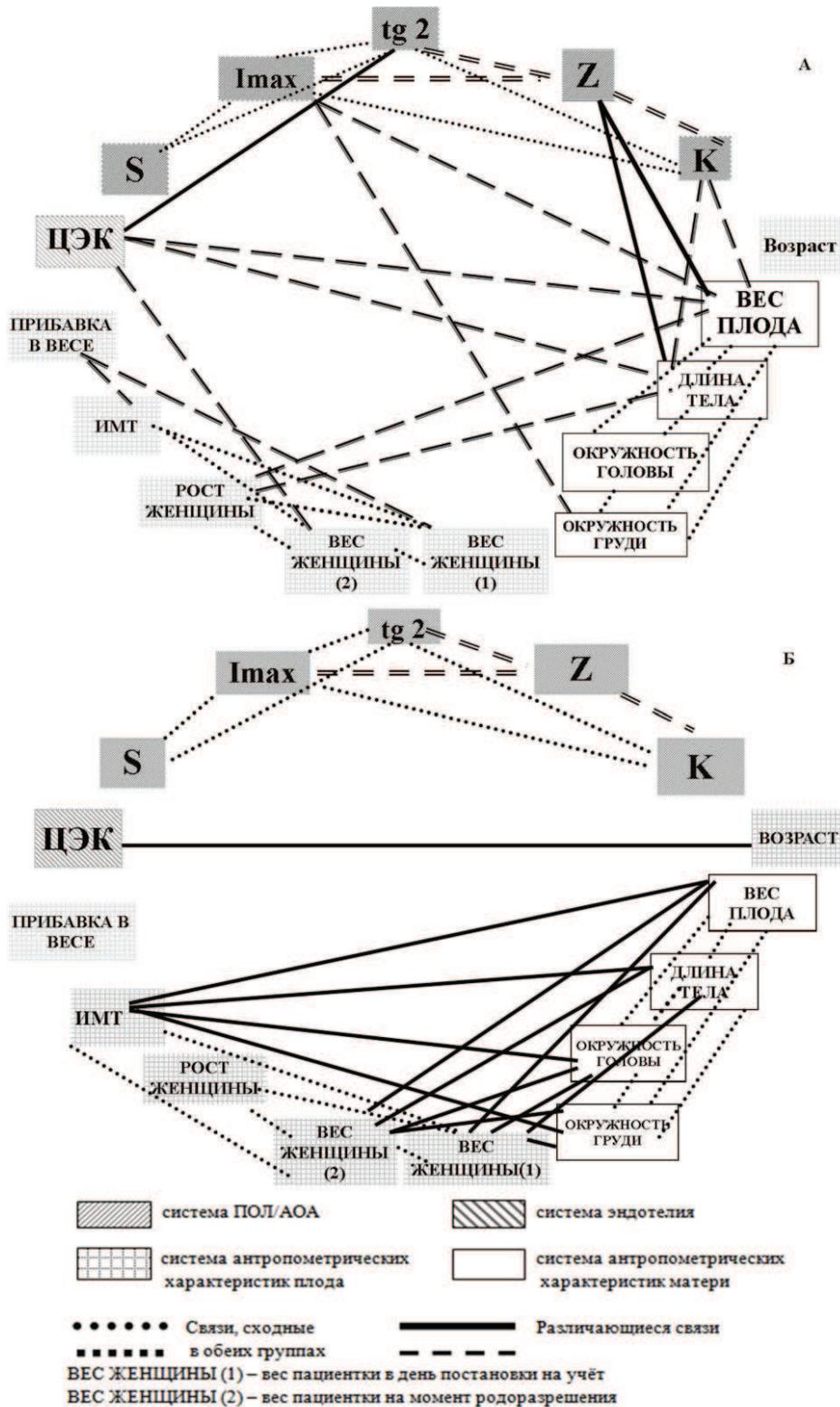


Рисунок 1 – Корреляционные структуры показателей ПОЛ/АОК, данных массо-ростовых характеристик беременных и новорождённых в основной (А) и контрольной (Б) группах.

Таблица 2 – Количественные характеристики корреляционных структур

Показатель	Основная группа	Контрольная группа
КЛ ₀ , %	25,8	24,5
КЛ _{пл} , %	100	100
КЛ _м , %	40	33,3
КЛ _{ПОЛ}	80,0	80,0
КЛ _{м/пл}	4,4	22,2
КЛ _{э/м}	4,8	2,2
КЛ _{э/пл}	20,0	0
КЛ _{ПОЛ/пл}	16,6	0

Примечание: КЛ₀ – коэффициент лабализации всей структуры, КЛ_{пл} – коэффициент лабализации внутрисистемных связей плода, КЛ_м – коэффициент лабализации внутрисистемных связей матери, КЛ_{ПОЛ} – коэффициент лабализации внутрисистемных связей процессов ПОЛ/АОА, КЛ_{м/пл} – коэффициент лабализации межсистемных связей «мать-плод», КЛ_{э/м} – коэффициент лабализации межсистемных связей «эндотелий-мать», КЛ_{э/пл} – коэффициент лабализации межсистемных связей «эндотелий-плод», КЛ_{ПОЛ/пл} – коэффициент лабализации межсистемных связей «ПОЛ/АОА – плод».

итоном патологических изменений в организме женщин, беременность которых достоверно чаще протекала на неблагоприятном фоне (простудные заболевания, хронические воспалительные заболевания почек).

С целью выяснения патогенетических связей, образованных 4 условными системами (система ПОЛ/АОА, система эндотелия, функциональная система антропометрических характеристик плода и матери), нами был проведен системный анализ этих взаимоотношений с помощью метода корреляционных структур (рис. 1, табл. 2).

Беременность сопровождается формированием новой функциональной системы, деятельность которой направлена на обеспечение роста и развития плода. Общий КЛ равен 25,8% в основной и 24,5% в контрольной группе, что говорит о формировании сопоставимых по напряженности структур. При этом ПКР, равный 74,2%, указывает на то, что процессы адаптации в данных группах реализованы за счет разных биологических процессов.

КЛ в системе ПОЛ/АОА у женщин обеих групп равен 80%, что свидетельствует об отсутствии функциональных перестроек взаимосвязей в системе защиты организма от избыточного оксидативного стресса при формировании ЗРП. При формировании гипотрофии плода наблюдается усиление напряжения процессов ПОЛ/АОА, что представляет собой типовой адаптивный ответ на имеющиеся ги-

поксические повреждения фето-плацентарной системы. Данные повреждения у пациенток с ЗРП можно объяснить следствием перенесенных простудных заболеваний (55,8% [95% ДИ 41,1; 69,6] пациентов в основной группе и 32,5% [95% ДИ 20,0; 48,1] в контрольной, $p=0,036$) во время первой и/или второй волн плацентации, а также имеющихся хронических очагов инфекции в организме матери (хронический пиелонефрит 16,3% в основной группе и 7% в контрольной, ОШ=4,3 [95% ДИ 0,8; 22,3], $p=0,08$).

КЛ связей между системами ПОЛ/АОА и системой плода в основной группе равен 16,6% и в контрольной – 0%, что говорит об отсутствии взаимосвязи между процессами липопероксидации/антиоксидантной защиты и конституциональными характеристиками плода при физиологически протекающей беременности. При увеличении активности ПОЛ у пациенток основной группы наблюдается появление обратной связи между показателем I_{max} и весом плода ($r=-0,32$, $p<0,05$) и окружностью груди ($r=-0,33$, $p<0,05$). Следует отметить и образующиеся связи между коэффициентами Z , K и массо-ростовыми показателями плода. Интегральные показатели Z и K характеризуют общую антиоксидантную защиту, которая при формировании ЗРП не в состоянии компенсировать возросшую активность процессов ПОЛ. При физиологической беременности реализация плодом своего генетически детерминированного потенциала роста находится

в значимо более напряжённой взаимосвязи с конституционными характеристиками матери, о чём говорит КЛ=22,2% в контрольной группе против 4,4% в основной.

Сходная ситуация наблюдается и при анализе взаимосвязей системы эндотелия и системы плода. КЛ в основной группе составил 20,0%, в то время как в контрольной группе межсистемных связей «эндотелий матери-плод» не было. Этот факт свидетельствует о значимом влиянии эндотелиальной дисфункции на формирование гипотрофии плода. В контрольной группе количество ЦЭК было напрямую связано только с возрастом матери ($r=0,43$, $p=0,05$), что указывает на возрастные изменения эндотелия у данной группы пациентов.

Заключение

1. ЗРП сопровождается повышением активности процессов ПОЛ/АОА крови (рост показателя S на 7,7%, I_{max} на 6,7% и tg 2 на 6,7%), а также эндотелиальной дисфункцией (количество ЦЭК в основной группе 21 (18; 25) и 12 (9; 15), $p<0,001$).

2. Установлено, что ЗРП сочетается с перенесённой во время настоящей беременности острой респираторной инфекцией (ОШ=3,46 [95% ДИ 1,40; 8,58], $p=0,007$).

3. Формирование новой функциональной системы, в которой происходит перестройка межсистемных связей в системе ПОЛ/АОА, приводит к формированию ЗРП.

Литература

1. Onset of maternal arterial blood flow and placental oxidative stress. A possible factor in human early pregnancy failure / E. Jauniaux [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2000 Dec. – Vol. 157, N 6. – P. 2111-2122.
2. Burton, G. J. Oxygen, early embryonic metabolism and free radical-mediated embryopathies / G. J. Burton, J. Hempstock, E. Jauniaux // *Reprod. Biomed. Online.* – 2003 Jan-Feb. – Vol. 6, N 1. – P. 84-96.
3. Cartwright, J. E. Hypoxia and placental remodelling / J. E. Cartwright, R. J. Keogh, M. C. Tissot van Patot // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2007. – Vol. 618. – P. 113-126.
4. Burton, G. J. Oxidative stress / G. J. Burton, E. Jauniaux // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* – 2011 Jun. – Vol. 25, N 3. – P. 287-299.
5. Fetoplacental Vascular Endothelial Dysfunction as an Early Phenomenon in the Programming of Human Adult Diseases in Subjects Born from Gestational Diabetes Mellitus or Obesity in Pregnancy [Electronic resource] / A. Leiva [et al.] // *Exp. Diabetes. Res.* – 2011. – Mode of access: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3226353>. – Date of access: 7.10.2014.
6. PTX3 as a potential endothelial dysfunction biomarker for severity of preeclampsia and IUGR / V. Cozzi [et al.] // *Placenta.* – 2012 Dec. – Vol. 33, N 12. – P. 1039-1044.
7. Circulating endothelium as an indication of vascular injury / C. A. Bouvier [et al.] // *Thrombos. Diathes. Haemorrh.* – 1970. – Vol. 40, (Suppl.). – P. 163-168.
8. Сиренко, А. Н. Диагностическая значимость иммуногормональных взаимосвязей у подростков в раннем периоде первичной туберкулезной инфекции / И. А. Сиренко, А. Н. Зосимов // *Проблемы туберкулеза и болезней легких.* – 2004. – № 2. – С. 41-45.

Поступила 10.11.2014 г.

Принята в печать 05.12.2014 г.

Сведения об авторах:

Ковалев Е.В. – аспирант кафедры акушерства и гинекологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Занько Ю.В. – к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Яроцкая Н.Н. – младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра акушерства и гинекологии. Тел. моб.: +375 (29) 713-29-58, e-mail: kovalev-egor@mail.ru – Ковалев Егор Владимирович.