

7. Кан Н.Е., Орджоникидзе Н.В. // Журн. рос. общества акушеров-гинекологов. 2004. № 1. С. 7–10.
8. Макаров О.В., Козлов П.В., Насырова Д.В. // Рос. вестн. акушера-гинеколога. 2003. № 6. С. 18–22.
9. Bischof P., Meisser A., Campana A. // J. Reprod. Fertil. 2000. Vol. 55. Suppl. 65–71.
10. Афанасьева Н.В., Игнатко И.В. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2003. Т. 2. № 4. С. 15–19.
11. Боровкова Е.И. // Рос. вестн. акушера-гинеколога. 2005. Т. 4. № 5. С. 50–54.
12. Титченко Л.И., Власова Е.Е., Чечнева М.А. // Вестн. Рос. ассоциации акушеров-гинекологов. 2000. № 1. С. 18–21.
13. Шаповаленко С.А. // Вестн. Рос. ассоциации акушеров-гинекологов. 2001. № 2. С. 43–47.
14. Бичуль О.К., Сагамонова К.Ю., Мелконов Э.Ю. // Пренатальная диагностика и беременность высокого риска: Материалы пленума Рос. ассоциации акушеров-гинекологов. Ростов н/Д, 2003. С. 157–160.
15. Мелконов Э.Ю. Роль микробиологического мониторинга в снижении акушерских и перинатальных потерь: Дис. ... канд. мед. наук. Ростов н/Д, 2004.

Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии

25 сентября 2006 г.

УДК 618.346.-008.8+616-037

## ДИНАМИКА ПРОДУКЦИИ ОКСИДА АЗОТА В ПЛАЦЕНТЕ И ПУПОВИНЕ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ ВЫСОКОГО РИСКА

© 2006 г. И.И. Крукиер, В.В. Авруцкая, Т.Н. Погорелова, Н.А. Друккер

In the development of physiological pregnancy placental production NO grows. At placental insufficiency with the women, not informing pregnancy, activity NO-synthase and amount of nitrites in a placenta and a umbilical cord are reduced concerning the normal amounts. In case of wearing out of the complicated pregnancy the production of NO in these fabrics is increased as a compensation.

Важной проблемой современного акушерства и перинатологии является плацентарная недостаточность. Высокая частота этого осложнения беременности (до 45 %) связана с широким спектром факторов риска, приводящих к ее развитию [1]. Основными проявлениями плацентарной недостаточности являются гипоксия и внутриутробная задержка роста плода, обуславливающие достаточно высокие показатели перинатальной и неонатальной заболеваемости.

Нарушение функций плаценты, обеспечивающей взаимосвязь организмов матери и плода, во многом зависит от изменения характера ангиогенеза, снижения плацентарной гемодинамики и маточно-плацентарного кровотока на ранних сроках гестации. К числу факторов, регулирующих эти процессы, относятся вазоактивные вещества, влияющие на сосуды плаценты и пуповины.

Ранее проведенные нами исследования выявили изменения в вышеуказанных объектах концентрации такого мощного вазоконстриктора, как эндотелин [2]. Не менее важное значение в регуляции тонуса сосудов маточно-плацентарно-плодного комплекса играют вазодилаторы, среди которых особое место занимает оксид азота, идентичный эндотелиальному фактору релаксации. Роль оксида азота в поддержании сосудистого гомеостаза наряду с регуляцией тонуса сосудов заключается в ингибировании адгезии, агрегации тромбоцитов, регуляции пролиферации, апоптоза, оксидантных процессов [3].

Экспериментально доказана способность плацентарного трофобласта, эндотелия сосудов плаценты и пуповины продуцировать оксид азота, который кроме вазорелаксирующего эффекта обладает свойствами вторичного мессенджера в системе цитомембранного аппарата. По сравнению с другими медиаторами имеется несомненное преимущество NO в том, что он свободно проходит через клеточные мембраны и при этом действует не только как переносчик межклеточного сигнала, но и как внутриклеточный эффектор.

Для плаценты, не имеющей иннервационного аппарата, именно гуморальные медиаторы являются главными механизмами, регулируемыми материнско-плацентарные взаимоотношения. В чрезвычайно широкий спектр биорегуляторного действия NO определен вклад вносит также свободнорадикальная природа этой молекулы, влияющей на баланс активных кислородных метаболитов в клетке, и следовательно, на характер кислородзависимых процессов.

Образование NO в плаценте лимитируется прежде всего эндотелиальной NO-синтазой [4–6]. Однако исследование этого фермента в процессе развития гестационных тканей носит фрагментарный характер.

В связи с вышеизложенным целью настоящей работы явилось изучение продукции метаболитов оксида азота и активности NO-синтазы в разные сроки физиологической беременности и при плацентарной недостаточности. Объектами исследования служили ткани хориона, плаценты и пуповины 105 женщин в возрасте 22–29 лет. В первую группу вошли 15 пациенток, беременность которых была прервана по их желанию в 6–10 недель, во вторую – 7 пациенток, у которых беременность была прервана в 20 недель по социальным показаниям, в третью – 17 пациенток с нормально протекающей беременностью, закончившейся родами в срок (39–40 нед.). Четвертую, пятую и шестую группы составили соответственно 10, 12 и 20 женщин с осложненной беременностью, самопроизвольно прервавшейся в 6–10, 20–24 и 36–37 недель. У 24 женщин беременность была доношена, но осложнилась плацентарной недостаточностью (седьмая группа). Диагноз плацентарной недостаточности был поставлен на основании комплексного обследования, включающего ультразвуковую фетоплацентометрию, гормональные исследования и определение активности специфических плацентарных изоферментов щелочной фосфатазы и глутаматдегидрогеназы [7].

Ткани хориона (6–10 нед.), плаценты (20–40 нед.), взятые сразу после прерывания беременности или по-

сле родов, отмывали от крови (при 0–4 °С) и готовили 10 % экстракты на физиологическом растворе. Аналогичные экстракты получали из пуповины после преждевременных и срочных родов. Активность NO-синтазы определяли по увеличению продукции NO, используя в качестве субстратов 1 mM L-аргинин и 1 mM НАДФ-Н. Перед введением субстратов в тканевые экстракты добавляли растворы диэтилдитиокарбомата в диметилформамиде и FeS (в конечной концентрации 1 мг/мл). Пробы инкубировали 30 мин при 37 °С. Аликвоты инкубированных смесей помещали в стеклянные трубки, которые переносили в охлажденный жидким азотом сосуд Дьюара для ЭПР-спектроскопии. Сигналы ЭПР регистрировали на спектрометре ER-9 (Carl Zeiss). Концентрация парамагнитных молекул, ответственных за наблюдаемый спектр (4 линии со средним g-фактором 2,028), оценивалась по интенсивности и ширине наиболее узкой и яркой линии регистрируемого квартета. Используемая методика позволяет сравнивать концентрации однотипных парамагнитных центров нескольких образцов с использованием соотношения:

$$n/n_3 = Y/Y_3 \times (\Delta H)^2/(\Delta H_3)^2 \times m_3/m,$$

где  $n$  и  $n_3$  – концентрации парамагнитных центров, отнесенные к единице массы, в двух сравниваемых между собой образцах, один из которых условно принят за эталон;  $Y$  и  $Y_3$ ,  $\Delta H$  и  $\Delta H_3$  – интенсивность и ширина спектральных компонентов сравниваемых образцов;  $m_3$  и  $m$  – массы образцов.

Для получения абсолютных значений содержания комплекса ДЭТК–Fe–NO приготавливали стандартный образец известной концентрации таких же геометрических параметров, что и опытный образец. Эндогенное содержание метаболитов оксида азота ( $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ), обозначенное  $\text{NO}_x$ , определяли с помощью реактива Грисса [8].

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью лицензионного пакета программ Statistica (версия 5.1, фирмы StatSoft, Inc.). Однородность дисперсий оценивали по критерию Фишера. Для оценки статистической значимости различий между сравниваемыми группами использовали критерий Стьюдента и непараметрический критерий Манна–Уитни. Достоверными считались различия при  $p < 0,05$ .

Результаты исследования представлены в таблицах. Как видно из табл. 1, по мере развития физиологической беременности плацентарная продукция NO значительно возрастает, что находит свое отражение в увеличении активности NO-синтазы и количества метаболитов NO во II триместре гестации по сравнению с аналогичными величинами в I триместре почти в 2 раза. Именно в этот период плацента формируется в орган, достигающий функциональной зрелости, а в организме плода происходят значительные преобразования процессов биохимической и морфологической дифференцировки, требующие формирования адекватного плацентарно-плодового кровотока. Усиление продукции NO в плаценте, очевидно, способствует улучшению гемодинамических параметров и обеспечению возрастающих потребностей трофики плода. В более поздние сроки показатели стабилизируются и остаются практически без изменения до момента родов. Содержание  $\text{NO}_x$  в пуповине при доношенной беременности ниже, чем в плаценте, но значительно

превышает их величины в сыворотке крови и амниотической жидкости [9]. Последнее свидетельствует о собственной продукции NO эндотелием сосудов пуповины и как следствие об ее участии в регуляции фетоплацентарного кровообращения.

Таблица 1

**Содержание  $\text{NO}_x$  и активность NO-синтазы в хорионе, плаценте и пуповине при физиологической беременности ( $M \pm m$ )**

Показатель, нмоль/г	Хорион	Плацента			Пуповина
	Группа				
	1	2	3	3	
$\text{NO}_x$	7,64±0,48	12,15±0,84*	11,82±0,67**	4,21±0,20	
NO-синтаза	3,20±0,18	4,92±0,41*	4,71±0,26**	2,70±0,12	

**Примечание.** Достоверные отличия между показателями: \* – 1 и 2-й; \*\* – 1 и 3-й групп.

В плаценте, развивающейся в условиях ее функциональной недостаточности, продукция NO отличается от физиологических величин на протяжении всего процесса гестации (табл. 2). Уже в раннем хорионе (6–10 нед.), полученном после самоаборта у женщин с привычным невынашиванием в анамнезе на фоне верифицированной плацентарной недостаточности (четвертая группа), активность NO-синтазы в 1,8 раза, а содержание  $\text{NO}_x$  в 3 раза ниже, чем при нормальной беременности (первая группа).

Таблица 2

**Содержание  $\text{NO}_x$  и активность NO-синтазы в хорионе, плаценте и пуповине при плацентарной недостаточности ( $M \pm m$ )**

Показатель, нмоль/г	Хорион	Плацента				Пуповина	
	Группа						
	4	5	6	7	6	7	
$\text{NO}_x$	2,51±0,11*	9,82±0,60**	8,81±0,62*	14,5±0,81*	3,32±0,15*	5,08±0,25*	
NO-синтаза	1,71±0,09*	3,22±0,18**	3,30±0,21*	3,80±0,24*	2,26±0,12*	3,21±0,14*	

**Примечание.** Достоверные отличия между показателями: \* – 1 и 4-й; \*\* – 2 и 5-й; • – 3 и 6-й; ♦ – 3 и 7-й групп.

Аналогичная направленность изменений обнаружена и при прерывании беременности в 20 недель (пятая группа), однако их степень менее выражена: для NO-синтазы снижение составляет 35, для  $\text{NO}_x$  – 19,3 %. При недонашивании беременности в III триместре (шестая группа) так же наблюдается уменьшение продукции NO в плаценте в среднем на 25–30 %.

Выявленная динамика показателей цикла NO свидетельствует о несомненном вкладе снижения этого вазодилатора в нарушение плацентарной гемодинамики, приводящее в конечном итоге к невынашиванию беременности. Причем наиболее значимое уменьшение количества метаболитов NO приводит к прерыванию гестации на ранних сроках ее развития.

Снижение продукции NO при невынашивании беременности имеет место не только в плаценте, но и в пуповине (на 20 % относительно контроля). Последнее усугубляет нарушение баланса вазоактивных веществ в фетоплацентарной системе.

В случае донашивания осложненной беременности (седьмая группа) содержание  $\text{NO}_x$  и активность

NO-синтазы в плаценте в отличие от ранее описанных групп повышены по сравнению с физиологическими показателями в среднем на 20 %. Увеличение продукции NO при доношенной беременности, хотя и протекающей с угрозой невынашивания, установлено и в пуповине. Очевидно, такое изменение генерации оксида азота носит компенсаторный характер и способствует поддержанию плодово-плацентарной гемодинамики за счет уменьшения спазма сосудов и усиления кровотока в условиях внутриутробной гипоксии, имеющей место при плацентарной недостаточности. Среди биохимических механизмов, обеспечивающих возможность доношивания осложненной беременности, усилению образования NO несомненно принадлежит важное значение. Являясь кислородным радикалом, NO в то же время может тормозить развитие радикальных окислительных реакций, связываясь со свободными и входящими в состав гема ионами  $Fe^{2+}$ , а также перехватывая радикалы  $RO_2^{\bullet}$  [10]. Кроме того, оксид азота способен ингибировать НАДФН-оксидазу, тем самым снижая прооксидантные эффекты этого фермента [11].

Резюмируя полученные данные, можно заключить, что плацентарная недостаточность и самопроизвольное прерывание беременности развиваются на фоне на-

рушенной генерации оксида азота, регулирующего гемодинамические показатели фетоплацентарного кровотока.

#### Литература

1. Стрижаков А.Н., Тимохина Т.Ф., Баев О.Р. // Вопросы гинекол., акуш. и перинатол. 2003. № 2. С. 53–63.
2. Крукиер И.И., Погорелова Т.Н. // Бюл. экспер. биол. и мед. 2006. Т. 142. № 2. С. 177–179.
3. Walford G., Loscalzo J. // J. Thromb. Haemost. 2003. № 1 (10). P. 2112–2118.
4. Mc Laughlin M.K., Conrad K.P. // Clin. Exp. Pharmacol. 1995. Vol. 22. P. 164–171.
5. Di Iulio Y.L. et al. // Reprod. Fertil. Develop. 1995. Vol. 7. P. 1505–1508.
6. Погорелова Т.Н. и др. Пренатальная диагностика и беременность высокого риска. Ростов н/Д, 2003. С. 65–66.
7. Погорелова Т.Н., Крукиер И.И., Длужевская Т.С. // Открытия и изобретения. 1991. № 6. С. 143.
8. Guevara Y. et. al. // Clin. Chim. Acta. 1998. Vol. 274. № 2. P. 177–178.
9. Орлов В.И. и др. Околоплодные воды. Химический состав и биологические функции. Ростов н/Д, 1998.
10. Kanner Y., Harel S., Granit R. // Arch. Biochem. and Biophys. 1991. Vol. 289. P. 130–136.
11. Clancy R.M., Leszczynska-Piziak Y., Abramson S.B. // J. Clin. Invest. 1992. Vol. 90. P. 1116–1121.

Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии

25 сентября 2006 г.

УДК 618.2:618.36:618.29+615.272.6

## ФАКТОР РОСТА ПЛАЦЕНТЫ И НЕЙРОКИНИН Б В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОК ПРИ ОСЛОЖНЕННОЙ ГЕСТОЗОМ БЕРЕМЕННОСТИ

© 2006 г. А.Ю. Пономарева, С.В. Рыжков, М.Н. Уманский, О.В. Гащенко, А.В. Евсеев

The maintenance of the placental growth factor (PLGF) and neurokinin B (NKB) in serum of a women blood is investigated, in I, II and III trimesters of the pregnancy complicated EPH by the mild degree, conducting which sign was the hypertension. The lowest production PLGF during all period of the pregnancy and NKB in I and III trimesters is revealed. Reduced concentration NKB in serum of a patients blood with EPH by the mild degree breaks adequacy of reactionary ability of spiral arterias (dilatation) that strengthens a hypoxia caused by change of production PLGF, underlying structurally functional infringements of vascular system of a placenta.

Гестоз до настоящего времени остается чрезвычайно важной проблемой, так как нередко приводит к материнской и перинатальной заболеваемости и смертности [1]. Наибольшие метаболические изменения как в процессе физиологической беременности, так и при осложненном ее течении имеют место в ранние сроки гестационного периода [2, 3]. При этом выявлено, что изменения нормальных параметров структурно-функциональной характеристики плаценты, обнаруженные в I триместре при патологическом течении беременности, сохраняются и в доношенной плаценте [4]. Современное акушерство использует достижения молекулярной биологии, позволяющие изучать патогенез различных осложнений беременности, в том числе и гестоза. Исследования последних лет показали, что развитие беременности невозможно без четкого функционирования плацентарной сосудистой системы, формирование которой регулируется наряду с другими внутриклеточными компонентами факторами роста [3].

Целью исследования явилось изучение роли фактора роста плаценты (ФРП) и нейрокина Б (НКБ) в развитии сосудистых нарушений при гестозе легкой степени, ведущим симптомом которого являлась гипертензия.

Проведенное исследование выполнено при наблюдении за 30 женщинами с физиологическим течением беременности и 106 пациентками с гестозом легкой степени, ведущим симптомом которого была гипертензия. В контрольной группе женщин, состоящей из 30 пациенток, 13 (42,3 %) были первобеременные, 17 (57,7 %) – повторнобеременные. 106 женщин с гипертензией и незначительной протеинурией, проявившиеся в III триместре, представлены 44 (41,5 %) первобеременными и 62 (58,5 %) – повторнобеременными. Средний возраст пациенток в контрольной группе составил  $27,57 \pm 0,83$ , в группе женщин с осложненным течением беременности –  $27,05 \pm 0,53$ . Сравнительный анализ гинекологических заболеваний у наблюдаемых пациенток обеих групп не выявил достоверных отличий. Удельный вес воспалительных заболеваний гениталий у женщин с гипертензией встречался в 2,3 раза чаще по сравнению с данными контрольной группы. У женщин контрольной группы беременность завершилась физиологическими родами у 20 (66,6 %), программированными у 10 (33,4 %). В то же время у пациенток с гестозом нормальные роды отмечены у 34 (32,1 %), а программированные – у 37 (34,9 %), кеса-