

**Е.А. Малаховская,
М.С. Зайнулина**

Государственный медицинский
университет им. акад. И.П. Павлова,
Санкт-Петербург

ДОНОРЫ ОКСИДА АЗОТА В ТЕРАПИИ ГЕСТОЗА: ВЛИЯНИЕ НА СОСТОЯНИЕ ЭНДОТЕЛИЯ И ГЕМОДИНАМИКУ В ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ СИСТЕМЕ МАТЬ–ПЛАЦЕНТА–ПЛОД

■ Изучено влияние органических нитровазодилататоров на функциональное состояние эндотелия при гестозе на основании определения уровня тромбомодулина, sICAM-1 и sVCAM-1 в сыворотке крови. Произведена оценка изменений плодово-плацентарного и маточно-плацентарного кровотока в результате лечения изосорбида-5-мононитратом и изосорбида динитратом. Показано, что включение доноров оксида азота в комплексную терапию гестоза приводит к улучшению гемодинамических параметров в функциональной системе мать–плацента–плод и не влияет на синтез эндогенного оксида азота.

Проблема выбора наиболее рациональной медикаментозной терапии гестоза остается неизменной и определяется его высокой частотой в популяции, а также вкладом в структуру материнской и перинатальной заболеваемости и смертности.

Современные представления о сущности основных патогенетических звеньев гестоза так или иначе связаны с изменением функционального состояния эндотелия. Согласно данным многих исследователей в основе лежит генерализованное нарушение функции эндотелиоцитов, что иллюстрирует сходство патогенеза гестоза с такими заболеваниями, как артериальная гипертензия, распространенный атеросклероз, ИБС, хроническая легочная гипертензия и сахарный диабет [2, 3]. Комплекс изменений состояния клеток эндотелия при гестозе определен как дисфункция «эндотелия» и представляет собой неадекватное, т. е. сниженное или избыточное образование в эндотелии различных биологически активных веществ [3]. Учитывая основные функции эндотелия, эти изменения представляют собой дисбаланс между продукцией вазодилатирующих и ангиопротективных факторов, с одной стороны, и вазоконстрикторных, протромботических факторов, с другой [2, 3].

Генерализованная дисфункция эндотелия при гестозе связана с повреждением его факторами плацентарного происхождения, высвобождающимися в кровоток в результате гипоксических изменений в этом органе. Нарушение биосинтеза в эндотелии факторов, обеспечивающих регуляцию тонуса сосудов и тромборезистентность сосудистой стенки, приводит к развитию типичных клинических проявлений гестоза, таких как отеки, артериальная гипертензия, протеинурия. Наиболее изученными при гестозе являются нарушение продукции простаноидов — простагландина и тромбоксана, дисбаланс синтеза оксида азота NO и эндотелина-1.

Изменение продукции NO при гестозе привлекает к себе пристальное внимание многих исследователей вследствие участия его в реализации многих физиологических функций, таких как нейротрансмиссия, реакции иммунной системы, регуляция тонуса гладких мышц, в том числе сосудов, а также его дезагрегантное и антиагрегантное действие [1]. Рядом исследователей отмечается дефицит образования NO при гестозе, что подтверждается изменением уровня конечных его метаболитов (нитритов и нитратов) в сыворотке крови и в моче [12, 15]. Кроме того, у беременных гестозом отмечается высокая частота полиморфизма гена эндотелиальной NO-синтазы — конституциональной изоформы фермента, участвующего в синтезе эндогенного NO, и обеспечивающего его базальный уровень в организме [17]. Существующие сведения о снижении экспрессии eNOS в фетоплацентарном комплексе при гестозе подтверждают его возможный дефицит при этом осложнении беременности и диктуют необходимость изучения эффективности нитровазодилататоров как экзогенных доноров оксида азота в его терапии. Эти препараты относятся к группе периферических нитровазодилататоров и имитируют по своему

действию эндотелиальный фактор релаксации, — который идентифицирован как NO, фактически являясь заместительной NO-терапией [11].

Целью нашего исследования явилось изучение влияния экзогенных доноров оксида азота на функциональное состояние эндотелия при гестозе и его продукцию в пределах фетоплацентарной системы.

Материалы и методы

Нами были обследованы 96 беременных с гестозом до и после лечения их органическими нитровазодилаторами (основная группа), 30 беременных, получавших традиционную терапию гестоза (группа сравнения) и 22 беременные с физиологически протекавшей беременностью (группа контроля). Беременным основной группы проводилось лечение:

- 66-ти — с использованием изосорбида-5-моонитрата (моно мак, Генрих Мак, Германия) в дозе 40 мг/сут;
- 30-ти — с использованием изосорбида динитрата (нитросорбид, Акрихин, Россия) в дозе 60 мг/сут.

Пациентки с более тяжелым течением гестоза не были включены в исследование, так как наиболее частым побочным эффектом препаратов группы органических нитровазодилаторов являются головная боль и головокружение, связанные с расширением сосудов головного мозга, что препятствовало бы диагностике возможной гипертензионной энцефалопатии при развитии преэклампсии. Группы беременных, получавших моно мак и нитросорбид, а также общепринятую терапию были сопоставимы по возрасту, паритету, данным соматического и акушерского анамнеза, особенностям течения данной беременности и проводимой традиционной терапии гестоза, куда включались сульфат магния, периферические вазодилаторы, в том числе блокаторы кальциевых каналов, гипотензивные средства центрального действия (клофелин, допегит) и низкомолекулярные гепарины. В исследование включались беременные с отеками и нефропатией I и II степени. В основной группе у 36-ти женщин отмечались отеки беременных (37,5%), у 38-ми — нефропатия I степени (39,6%), у 22-х — нефропатия II степени (22,9%). В группе сравнения отеки беременных отмечались у 8-ми пациенток (25,8%), нефропатия I степени — у 12-ти (38,7%), нефропатия II степени — у 11-ти (35,5%). У беременных с отеками препараты применялись в качестве монотерапии, у больных с нефропатией II степени — в составе комплексного лечения, а в случае нефропатии I степе-

ни — как в виде монотерапии (52,8%), так и в составе комплексной терапии (47,2%). Лечение препаратами моно мак и нитросорбид проводилось в течение не менее 10 дней и в случае комплексной терапии нитропрепараты назначались через несколько дней после начала традиционного лечения.

Оценка функционального состояния эндотелия у беременных основной группы и группы сравнения до и после лечения, а также у беременных контрольной группы проводилась на основании определения в сыворотке крови уровня высокоспецифичных маркеров его дисфункции — тромбомодулина и растворимых форм молекул адгезии ICAM-1 и VCAM-1 иммуноферментным методом с использованием моноклональных сывороток фирмы «Diacclone». Кроме того, проводилось иммуногистохимическое исследование экспрессии эндотелиальной изоформы синтазы оксида азота (eNOS) в синцитиотрофобласте плацент и эндотелии сосудов пуповин у 11-ти пациенток основной группы, 10-ти пациенток группы сравнения и у 8-ми пациенток с физиологически протекавшей беременностью с помощью наборов фирмы DAKO, содержащих первичные антитела и системы визуализации этой же фирмы. Интенсивность окраски синцитиотрофобласта и эндотелия сосудов пуповины у пациенток с физиологически протекавшей беременностью принималась за 100%. Результаты иммуногистохимического исследования оценивались двумя независимыми исследователями. Кроме того, оценка гемодинамических параметров в функциональной системе мать—плацента—плод производилась с помощью доплерометрического исследования.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0. с использованием параметрических методов статистики и определением критерия Стьюдента для оценки достоверности разницы значений.

Результаты исследования и обсуждение

При исследовании уровней тромбомодулина, sICAM-1 и sVCAM-1 у беременных с гестозом и у беременных контрольной группы отмечалось достоверное повышение уровня тромбомодулина и растворимой формы ICAM-1 у беременных с гестозом по сравнению со здоровыми беременными, в то время как уровень растворимой формы VCAM-1 при гестозе оставался в пределах нормальных значений и не отличался от такового при физиологически протекавшей беременности (табл. 1).

Таблица 1

Уровень тромбомодулина, sICAM-1 и sVCAM-1 в крови беременных с гестозом и с физиологически протекающей беременностью

Маркеры	Беременные с гестозом (M ± m) n = 126	Беременные с физиологически протекающей беременностью (M ± m) n = 22
Тромбомодулин, нг/мл	7,79 ± 0,2*	6,77 ± 0,18
ICAM-1, нг/мл	1132,73 ± 41,22**	825,68 ± 43,29
VCAM-1, нг/мл	795,98 ± 15,15	815,39 ± 22,61

* — $p \leq 0,05$; ** — $p \leq 0,01$; *** — $p \leq 0,001$.

Таблица 2

Динамика уровня маркеров дисфункции эндотелия в результате проведенного лечения

Виды терапии	Тромбомодулин, нг/мл		sICAM-1, нг/мл		sVCAM-1, нг/мл	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Моно мак	7,9 ± 0,33	9 ± 0,26*	1127,52 ± 49,85	1563,53 ± 42,3***	867,84 ± 16,14	860,54 ± 17,21
Нитросорбид	7,5 ± 0,28	7,4 ± 0,28	1193,42 ± 37,92	1122,93 ± 34,25	711,74 ± 21,16	740,17 ± 17,05
Традиционное лечение	7,7 ± 0,37	7,9 ± 0,39	1077,26 ± 81,81	966,68 ± 41,64	729,15 ± 40,47	789,46 ± 24,39

* — $p \leq 0,05$; ** — $p \leq 0,01$; *** — $p \leq 0,001$.

Таблица 3

Экспрессия eNOS в синцитиотрофобласте плаценты и эндотелии сосудов пуповины у женщин с физиологическим течением беременности и гестозом

Экспрессия eNOS в:	Физиологическое течение беременности (n = 8)	Гестоз (n = 21)
Синцитиотрофобласт, %	95,81 ± 2,74	58,46 ± 4,45***
Эндотелий сосудов пуповины, %	94,67 ± 2,22	40,43 ± 4,81***

* — $p \leq 0,05$; ** — $p \leq 0,01$; *** — $p \leq 0,001$.

Таблица 4

Экспрессия eNOS в синцитиотрофобласте плаценты и эндотелии сосудов пуповин пациенток с гестозом в зависимости от проведенного лечения

Экспрессия eNOS в:	Терапия с применением нитроглицерина (n = 11)	Традиционное лечение (n = 10)
Синцитиотрофобласт, %	53,18 ± 4,33	64,97 ± 7,9
Эндотелий сосудов пуповины, %	43,89 ± 5,62	36,62 ± 8,15

* — $p \leq 0,05$; ** — $p \leq 0,01$; *** — $p \leq 0,001$.

После проведенного лечения беременных основной группы и группы сравнения отмечено достоверное повышение уровней тромбомодулина и sICAM-1 в крови у беременных только в случае лечения изосорбида-5-мононитратом, тогда как после лечения изосорбида динитратом и традиционного лечения не наблюдалось изменения ни одного из исследуемых маркеров дисфункции эндотелия (табл. 2).

Результаты изучения экспрессии эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) в синцитиотрофобласте ворсин плаценты и эндотелии сосудов пуповины у пациенток с гестозом и физиологически

протекавшей беременностью отражены в табл. 3. Нами было отмечено, что у пациенток с гестозом интенсивность окраски синцитиотрофобласта и эндотелия сосудов пуповины была достоверно ниже, чем у женщин с физиологически протекавшей беременностью. Особого внимания заслуживает идентичность изменений.

При оценке интенсивности окраски на eNOS у пациенток, беременность которых была осложнена гестозом, достоверной разницы средних значений как в случае традиционного лечения, так и в случае включения в терапию органических нитроглицеринаторов не наблюдалось (табл. 4).

Таблица 5

Динамика показателей кривых скоростей кровотока в маточных артериях

Параметры кровотока	Моно мак		Нитросорбид		Традиционное лечение	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
СДО	$2,4 \pm 0,055$	$2,04 \pm 0,44^{**}$	$2,02 \pm 0,045$	$1,89 \pm 0,35^{**}$	$2,29 \pm 0,059$	$2,44 \pm 0,045$
ИР	$0,61 \pm 0,01$	$0,5 \pm 0,011^{**}$	$0,49 \pm 0,011$	$0,47 \pm 0,012$	$0,5 \pm 0,011$	$0,54 \pm 0,011$

* — $p \leq 0,05$; ** — $p \leq 0,01$; *** — $p \leq 0,001$.

Таблица 6

Динамика показателей кривых скоростей кровотока в артерии пуповины

Параметры кровотока	Моно мак		Нитросорбид		Традиционное лечение	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
СДО	$3,09 \pm 0,056$	$2,74 \pm 0,45^{**}$	$2,66 \pm 0,04$	$2,54 \pm 0,35$	$3,15 \pm 0,05$	$3,01 \pm 0,042$
ИР	$0,64 \pm 0,02$	$0,61 \pm 0,011$	$0,61 \pm 0,011$	$0,62 \pm 0,012$	$0,66 \pm 0,021$	$0,62 \pm 0,02$

* — $p \leq 0,05$; ** — $p \leq 0,01$; *** — $p \leq 0,001$.

В результате анализа кривых скоростей кровотока в маточных артериях нами было отмечено, что имеется достоверное снижение резистентности кровотока после лечения изосорбида-5-мононитратом. После лечения изосорбида динитратом отмечалось снижение величины систоло-диастолического отношения, в то время как индекс резистентности не изменялся; после проведения традиционной терапии не отмечалось достоверного изменения ни СДО, ни ИР. При анализе параметров кровотока в артерии пуповины было выявлено, что достоверно изменялось только СДО в результате лечения моно маком, тогда как другие показатели оставались без значимых изменений (табл. 5 и 6).

Анализ полученных нами данных показывает, что в формировании дисфункции эндотелия при гестозе участвуют факторы, приводящие к активации и повреждению эндотелия, что выражается в повышении уровней тромбомодулина и sICAM-1 в сыворотке крови у беременных с гестозом по сравнению с нормой для небеременных женщин и беременных с физиологически протекающей беременностью. Тромбомодулин входит в антикоагулянтную систему протеина С, обеспечивая его активацию при связывании с тромбином. Он относится к маркерам, отражающим повреждение клеток эндотелия, так как являясь по своей сущности трансмембранным белком, появляется в свободной циркуляции при их разрушении. Существуют данные о снижении синтеза тромбомодулина при воздействии на эндотелий провоспалительных цитокинов, таких как TNF- α и интерлейкин-1 β , а также о вкладе гемодинамических факторов в регуляцию экспрессии тромбомодулина. Так, по данным

Takada et al., Braddock et al., установлена роль изменения напряжения сдвига в сосуде, когда при усилении кровотока происходит увеличение синтеза тромбомодулина в сосудистой стенке [5, 10]. Рядом авторов выявлено повышение концентрации этого вещества в сыворотке крови у беременных с гестозом, причем отмечена прямая корреляция между степенью тяжести гестоза и уровнем тромбомодулина [10]. Молекулы адгезии, к которым относятся ICAM-1 (молекула межклеточной адгезии) и VCAM-1 (сосудисто-клеточная молекула адгезии) и отражают активацию эндотелия. Они синтезируются и экспрессируются эндотелиоцитами, в дальнейшем посредством механизма «смыывания» попадая в кровь, где циркулируют в виде растворимых форм. Существует множество данных об изменении содержания адгезивных молекул при гестозе и плацентарной недостаточности, большинство из которых связаны с изолированным повышением уровня ICAM-1 в крови, или реже — обеих адгезивных молекул. Регуляция синтеза ICAM-1 эндотелиоцитами также связана с увеличением напряжения сдвига (в отличие от VCAM-1) экспрессия которой при этом не меняется [5].

По данным нашего исследования наблюдается отсутствие достоверной разницы между средними значениями sVCAM-1 у здоровых беременных и пациенток с гестозом, что подтверждается данными литературы по данному вопросу [8]. Концентрация тромбомодулина и sICAM-1 в сыворотке крови у беременных гестозом после лечения изосорбида-5-мононитратом может свидетельствовать о возрастании экспрессии их в эндотелиоцитах в ответ на рост величины напря-

жения сдвига. Органические нитровазодилаторы обладают мощным сосудорасширяющим действием и в растворах для инфузионного введения используются в отечественном акушерстве в целях достижения эффекта управляемой гипотонии, наряду с ганглиоблокаторами при лечении злокачественной гипертензии. В зарубежной литературе описан положительный опыт применения таблетированных, сублингвальных и депонированных форм нитроглицерина и изосорбида динитрата в лечении гестоза. Авторами отмечается стойкий гипотензивный эффект этих препаратов и улучшение маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровотоков при их применении [6, 13, 14].

При оценке полученных данных доплерометрического исследования нами отмечено снижение сосудистой резистентности в маточно-плацентарной и плодово-плацентарной частях функциональной системы мать—плацента—плод после лечения изосорбида-5-мононитратом. По нашему мнению, именно возрастание скорости кровотока, приводящее к увеличению напряжения сдвига, вызывает ускорение синтеза тромбомодулина и межклеточной молекулы адгезии в функционально измененных при гестозе эндотелиоцитах. Нами не наблюдалось изменения уровня исследуемых маркеров повреждения эндотелия после лечения изосорбида динитратом, что предположительно говорит об отсутствии влияния этого препарата на функциональное состояние эндотелия и свидетельствует о меньшей вазодилатирующей способности данного вещества.

Полученные нами результаты иммуногистохимического исследования экспрессии eNOS в плаценте и пуповине показывают выраженное угнетение синтеза этого фермента при гестозе и, как следствие этого, вероятный дефицит продукции эндотелиального релаксирующего фактора (NO) в пределах фетоплацентарного комплекса. Нами не было отмечено достоверного снижения экспрессии эндотелиальной синтазы оксида азота в синцитиотрофобласте и эндотелии сосудов пуповины как при лечении нитровазодилаторами, так и при традиционной терапии гестоза, что является важным фактором сохранения адекватного синтеза эндогенного оксида азота при применении медикаментозной терапии гестоза.

Таким образом, при гестозе отмечено снижение экспрессии фермента, отвечающего за синтез NO в пределах фетоплацентарного комплекса, что позволяет предполагать дефицит NO при гестозе. Органические нитровазодилаторы улучшают маточно-плацентарный кровоток и, таким образом, являются средствами для проведения заместительной NO-терапии при гестозе.

Литература

1. Ванин А.Ф. Оксид азота в биомедицинских исследованиях // Вестник РАМН. — 2000. — № 4. — С. 3–5.
2. Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция // Под ред. Петрищева Н.Н. — СПб.: Изд-во СПбГМУ. — 2003. — 184 с.
3. Зайнулина М.С., Петрищев Н.Н. Эндотелиальная дисфункция и ее маркеры при гестозе // Журн. акуш. и женск. бол. — 1997. — № 1. — С. 59–62.
4. Милованов А.П. Функциональная морфология и механизмы регуляции маточно-плацентарного кровообращения // Вест. Росс. ассоц. акуш.-гин. — 1997. — № 3. — С. 109–114.
5. Braddock M., Schwachtgen J., Houston P., Dickson M., Lee M., Campbell C.J. Fluid shear stress modulation of gene expression in endothelial cells // News Physiol. Sci. — 1998. — Vol. 13. — P. 241–246.
6. Cacciatore B., Halmesmaki E., Kaaja R., Teramo K., Ylikorkala O. Effects of transdermal nitroglycerin on impedance to flow in the uterine, umbilical, and fetal middle cerebral arteries in pregnancies complicated by preeclampsia and intrauterine growth retardation // Am. J. Obstet. Gynecol. — 1998. — Vol. 79. — P. 40–5.
7. Djurovic S., Schjellein R., Wisloff F., Haugen G., Berg K. Increased levels of intercellular adhesion molecules and vascular cell adhesion molecules in preeclampsia // Br J. Obstet. Gynaecol. — 1997. — Vol. 104(4). — P. 466–70.
8. Higgins R., Papayianni A., Brady H.R., R. N. Darling. Circulating vascular cell adhesion molecule-1 in preeclampsia, gestational hypertension, and normal pregnancy: Evidence of selective dysregulation of vascular cell adhesion molecule-1 homeostasis in preeclampsia // Am. J. Obstet. Gynecol. — 1998. — Vol. 179(2). — P. 346–357.
9. Hsu C.D., Copel J.A., Hong S.F., Chan D.W. Trombomodulin levels in preeclampsia, gestational hypertension and chronic hypertension // Obstet Gynecol. — 1995. — Vol. 86(6). — P. 897–9.
10. Kobayashi H., Sadakata H., Suzuki K., She MY., Shibata S., Terao T. Trombomodulin release from umbilical endothelial cells initiated by preeclampsia plasma-induced neutrophil activation // Obstet. Gynecol. — 1998. — Vol. 92(3). — P. 425–30.
11. Luzi G., Caserta G., Iammarino G., Clerici G., Di Rezo G.C. Nitric oxide donors in pregnancy: fetomaternal hemodynamic effects induced in mild preeclampsia and threatened preterm labor // Ultrasound Obstet. Gynaecol. — 1999. — Vol. 14(2). — P. 101–9.
12. Von Mandach U., Lauth D., Huch R. Maternal and fetal nitric oxide production in normal and abnormal pregnancy // J. Maternal-fetal & Neonatal Med. — 2003. — Vol. 13(1). — P. 22–7.
13. Martinez-Abundis E. Sublingual isosorbide dinitrate in the acute control of hypertension in patients with severe preeclampsia // Gynecol. Obstet. Invest. — 2000. — Vol. 50(1). — P. 39–42.
14. Nakatsuka M., Tada K., Kimura Y., Asagiri K., Kamada Asagiri K., Kamada Y., Takata M., Nakata T. Clinical experience of long-term transdermal treatment with nitric oxide donor for women with preeclampsia // Gynecol. Obstet. Invest. — 1999. — Vol. 47(1). — P. 13–19.
15. Postovir L.M. Does nitric oxide play a role in the aetiology of preeclampsia? // Placenta. — 2001. — Vol. 22. — Suppl A. — P. 51–5.
16. Takada Y., Shinkai F., Kondo S., Yamamoto S., Tsuboi H., Korenaga R., Ando J. Fluid shear stress increases the expression of thrombomodulin by cultured human endothelial cells // Biochem. Biophys. Acta. — 1994. — Vol. 205. — P. 1345–1352.
17. Yoshimura T. Association of the missense Glu298Asp variant of the endothelial nitric oxide synthase gene with severe preeclampsia // J. Soc. Gynecol. Investig. — 2000. — Vol. 7(4). — P. 238–41.

■ **Summary:** We investigated influence of nitrovasodilators on functional status of endothelium in preeclampsia with measuring of thrombomodulin, sICAM-1 and sVCAM-1 plasma levels. Changes in feto-placental and uteroplacental hemodynamics were analysed after treatment with isosorbide mononitrate and isosorbide dinitrate. Our results showed efficacy of nitric oxide donors in complex therapy of preeclampsia.