

МЕТАБОЛИЗМ ПОРФИРИНОВЫХ ФРАКЦИЙ У БЕРЕМЕННЫХ С ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ ПРИ ГИПЕРАНДРОГЕНИИ

Н.А. Габитова¹, Р.Т. Кузнецова², М.А. Габитова³, В.Е. Прокопьев², В.В. Удуд⁴

¹НИИ акушерства, гинекологии и перинатологии СО РАМН, Томск

²Томский государственный университет

³ГОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Росздрава, Томск

⁴НИИ фармакологии СО РАМН, Томск

E-mail: gabitova@rd4.tomsk.ru

METABOLISM OF PORPHYRINIC FRACTIONS OF PREGNANT WOMEN WITH FETOPLACENTAL INSUFFICIENCY WITH HYPERANDROGENISM

N.A. Gabitova¹, R.T. Kuznetsova², M.A. Gabitova³, V.E. Prokopyev², V.V. Udud⁴

¹Institute of Obstetrics, Gynecology and Perinatology of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk

²Tomsk State University

³Siberian State Medical University, Tomsk

⁴Institute of Pharmacology of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk

Цель исследования: изучить зависимость уровня гиперандрогении (ГА) и ряда характеристик метаболизма порфириновых фракций при физиологической беременности и беременности, осложненной плацентарной недостаточностью (ПН) у женщин с гиперандрогенией. Обследовано 62 беременных женщины 18–35 лет во II–III триместрах беременности. Методы исследования: определение уровня дегидроэпиандростерона сульфата (ДГЭАС) и тестостерона, наружная кардиотокография (КТГ), ультразвуковое исследование (УЗИ), доплерография, определение концентрации эндогенных протопорфирина (ПП) и копропорфирина (КП) крови спектрально-флуоресцентным методом; определение микровязкости мембран эритроцитов по степени эксимеризации пирена с измерением спектров флуоресценции. Показано, что соотношения концентраций эндогенных порфиринов крови у здоровых беременных и беременных с ГА статистически значимо различаются. Получена обратная корреляционная зависимость между уровнем ДГЭАС и отношением концентрации протопорфиринов к копропорфиринам. Обнаружено увеличение микровязкости мембран эритроцитов у беременных с ГА. Определено наличие сформировавшейся плацентарной дисфункции у всех женщин с ГА к концу II, началу III триместра беременности. Относительное уменьшение концентрации ПП по отношению к КП у беременных с ГА сопровождается повышением микровязкостных характеристик мембран эритроцитов, что ухудшает показатели фетоплацентарного кровотока и подтверждается клинико-лабораторными маркерами ПН.

Ключевые слова: беременность, гиперандрогения, обмен порфиринов.

The aim of research: to study the dependence of the level of hyperandrogenism and a number of characteristics of the porphyrinic fractions metabolism during physiological pregnancy and pregnancy complicated by fetoplacental insufficiency in women with hyperandrogenism. Research materials: 62 pregnant women 18–35 years old in the II–III trimesters of pregnancy. Methods of research: DHEAS and testosterone level determination, external cardiotocography, ultrasound, Doppler sonography, endogenous protoporphyrin and coproporphyrin of blood concentrations determination by spectral-luminescent method; microviscosity of red blood cells membranes determination by pyren excimerization degree with fluorescent spectra measuring. Results of research: endogenous porphyrins of blood concentrations ratio in healthy expectant mothers and women with hyperandrogenism are quite different. Inverse correlation dependence between dihydroepiandrosterone sulphate level and protoporphyrins to coproporphyrins concentrations ratio is obtained. Increase of red blood cells membranes microviscosity in pregnant women with hyperandrogenism is found. Presence of developed placental dysfunction in all women with hyperandrogenism by the end of II, beginning of III trimester of pregnancy is defined. Conclusion: relative decrease of protoporphyrin concentration to coproporphyrin one in pregnant women with hyperandrogenism is accompanied by the increase of microviscosity characteristics of red blood cells membranes, that deteriorates characteristics of fetoplacental blood flow and is confirmed by clinic-laboratorial markers of placental insufficiency.

Key words: pregnancy, hyperandrogenism, porphyrinic metabolism.

Среди факторов, определяющих высокий уровень плацентарной недостаточности (ПН) и присущих ей осложнений перинатального периода, значима роль гиперандрогении (ГА) различного генеза, эффективная терапия которой формирует условия наступления беремен-

ности [1–3]. Нарушения стероидогенеза на фоне гестации (при ГА) способствуют снижению гормонпродуцирующей функции плаценты, повышению риска развития ПН с характерными морфологическими признаками снижения удельного объема сосудистого русла и межворсин-

чатого пространства, избыточного отложения фибрино-ида, увеличения объема “склеенных” ворсин, наличия выраженного фибриноидного некроза, гиалиноза и склероза сосудистой стенки с изменением просвета сосуда [4–7]. Вне зависимости от причин формирования обозначенных морфологических изменений их результатом является нарушение микроциркуляции [4, 8]. В таких условиях многократно возрастает роль состоятельности реологических характеристик основного клеточного пула крови – эритроцитов, напрямую зависящая от микровязкости их мембран [9]. Современные данные свидетельствуют в пользу выраженной андрогенной стимуляции эритропоэза, что при гестации даже на фоне стертых форм ГА приводит к выраженному увеличению концентрации порфириновых фракций эритроцитов: протопорфиринов (ПП) и копропорфиринов (КП) [10]. В свою очередь, избыточное накопление порфириновых фракций и, в частности, димеров протопорфирина IX (ПП-IX) в мембранах эритроцитов снижает их текучесть [9]. Таким образом, при беременности у женщин с ГА изменение/нарушение обмена порфиринов, характеризующееся увеличением микровязкости мембран эритроцитов, может явиться одной из составляющих механизмов если не инициации, то формирования и усугубления ПН. В связи с этим цель исследования: изучить зависимость уровня гиперандрогении (ГА) и ряда характеристик метаболизма порфириновых фракций при физиологической и осложненной плацентарной недостаточностью (ПН) беременности у женщин с гиперандрогенией.

Материал и методы

Проведено когортное исследование в параллельных группах 62 женщин во II–III триместрах беременности. Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с этическими нормами Хельсинкской Декларации (2000).

В 1-ю (основную) группу вошли 32 женщины со стертыми формами ГА, диагностированной в I триместре беременности, и на момент исследования имевшие компенсированную и субкомпенсированную формы ПН. Эти пациентки получали коррекцию дексаметазоном с первого триместра беременности в зависимости от исходного уровня дегидроэпиандростеронсульфата в сыворотке крови [11]. Поскольку впервые нарушение продукции половых стероидов у всех женщин было диагностировано только во время наблюдаемой беременности в связи с появлением угрозы невынашивания, дифференцировать гиперандрогению на яичниковую и надпочечниковую формы на фоне гестационного процесса не представлялось возможным. Это объясняет унифицированное назначение глюкокортикоидной коррекции всем пациенткам с момента диагностики гиперандрогении и до родов. Определены следующие критерии включения/исключения в 1-ю группу: повышенный уровень тестостерона и дегидроэпиандростерона сульфата (ДГЭАС), гирсутизм, нарушения менструальной и репродуктивной функции в анамнезе; исключались беременные с экстрагенитальными заболеваниями, наличием перинатально значимых инфекций, гестоза средней и тяжелой степени, изосеро-

логической несовместимости крови матери и плода. Контрольную (2-ю) группу составили 30 практически здоровых женщин с неосложненным течением беременности.

Средний возраст обследованных в основной группе составил $26,0 \pm 2,5$, в контрольной – $22,0 \pm 2,7$ года ($p < 0,05$), это доказывает, что при гиперандрогении беременность, достигающая 30-недельного срока, наступает в более позднем возрасте, чем в группе здоровых.

Средний возраст менархе составил в основной группе $15,1 \pm 0,43$, в контрольной – $13,2 \pm 0,27$ лет ($p < 0,05$), что подтверждает более позднее, чем в среднем в популяции, начало менструальной функции у женщин с гиперандрогенией. Первобеременными в основной группе были 8 (27%), а в контроле – 15 (50%) женщин ($p < 0,01$). В анамнезе потери беременности в первой половине гестации имели 15 (47%) пациенток основной группы. В контроле неблагоприятного завершения предыдущих беременностей не отмечено. Обе группы идентичны по социальному составу, уровню образования и сопутствующей экстрагенитальной патологии. Уровень тестостерона и ДГЭАС определяли в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа. Норма для беременных составляет соответственно 0,5–4,3 и 0,2–1,2 мкг/мл. Критериями диагностики ПН служили нарушения фетоплацентарного и маточно-плацентарного кровотока по доплерометрии, появление признаков внутриутробного страдания плода по данным кардиотокограммы (КТГ), внутриутробная задержка развития плода по результатам ультразвукового исследования [12, 13].

Концентрации выделенных из эритроцитов эндогенных ПП и КП определяли спектрально-флуоресцентным методом с расчетом отношения концентраций порфириновых фракций (ОКПФ), ПП/КП [14, 15]. Спектрально-флуоресцентный анализ подкисленных экстрактов, полученных из эритроцитов крови, при возбуждении на 400 нм позволил выявить флуоресценцию в красной области спектра с максимумами интенсивности на длинах волн 606 и 667 нм (для ПП) и 575 и 653 нм (для КП), соответствующих суммарному излучению их протонированных форм. При сравнении этих спектров со спектрами эталонов (растворов химически чистых ПП и КП производства ICN) в аналогичном растворителе, 3N растворе HCl определены соотношения концентраций ПП и КП. В отличие от [15] в данной работе измерение ОКПФ осуществлялось по сравнению интенсивностей в длинноволновом максимуме спектра флуоресценции (653 нм для КП и 667 нм для ПП), что позволяет исключить влияние на результаты спектрально-флуоресцентных исследований присутствующих в крови беременных I группы гормонов.

Параметры микровязкости мембран эритроцитов оценивали по степени эксимеризации пирена с измерениями спектров флуоресценции на длине волны 350 нм, возбуждаемых на длине волны 340 нм [9].

При статистической обработке результатов использовали стандартные программные продукты “MS Excel 2000” и SPSS. Проверка на нормальность распределения выполнялась методом Шапиро–Уилка. Для данных, подчиняющихся закону нормального распределения, рассчитывали средние значения (M) и стандартное отклонение

(Sd); для данных, не подчиняющихся этому закону, – медиану (Me) и квартили (Q25–Q75). По критерию Стьюдента производили сравнение средних значений для параметрических показателей, а по методу Краскела–Уоллиса и Манна–Уитни – для непараметрических данных. Для оценки силы взаимосвязи между показателями определяли коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

Результаты и обсуждение

У пациенток с ГА уровни оцениваемых гормонов статистически значимо превышали таковые в группе контроля (табл. 1).

ПН в стадии компенсации выявлена в 1-й группе у 24 (75%) беременных, в стадии субкомпенсации – у 8 (25%). Основанием для диагностики плацентарной недостаточности были, главным образом, результаты доплерометрии. Нарушение маточно- и (или) фетоплацентарного кровотока отмечалось у 23 (71,9%) беременных основной группы и только у 1 (3,3%) беременной контрольной группы ($p < 0,01$). При этом внутриутробная задержка развития плода (ВЗРП) в основной группе наблюдалась у 10 (31,25%) пациенток: у 8 (25%) – ВЗРП I степени и у 2 (6,25%) – II степени. В контрольной группе фетометрические показатели плодов соответствовали гестационной норме.

По данным кардиотокографии признаки гипоксии плода в 1-й группе определены у 18 (56,25%) женщин. В контроле признаков гипоксии плода не выявлено. Следовательно, у всех женщин с гиперандрогенией к концу II – началу III триместра беременности сформировалась плацентарная дисфункция.

Спектрально-флуоресцентный анализ экстрактов эритроцитов крови беременных позволил определить средние значения ОКПФ для 1-й и 2-й групп, приведенные в таблице 2.

Из таблицы 2 следует, что средние значения ОКПФ в группе беременных с ГА статистически значимо ниже таковых контроля. Для оценки взаимосвязи между ОКПФ и уровнем андрогенов проведен расчет коэффициентов корреляции. Поскольку не все данные подчиняются нормальному распределению, определялся коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Выявлено, что изменения ОКПФ коррелируют с гормональным фоном и маркерами ПН. Наиболее высокая обратная корреляционная связь обнаружена между уровнем ДГЭАС и ОКПФ ($r = -0,758$; $p < 0,001$). В меньшей степени проявлялась обратная корреляция между массой новорожденного и ДГЭАС ($r = -0,535$; $p < 0,001$).

Таким образом, нами выявлены статистически значимые различия между соотношениями концентраций эндогенных порфиринов крови у здоровых беременных и беременных с ГА и наличие обратной корреляции между уровнем ДГЭАС и отношением концентраций порфириновых фракций. Аналогичная обратная корреляционная зависимость обнаружена между ОКПФ и массой плода у беременных с ГА.

Полученные данные статистически значимых различий между группами свидетельствуют о наличии относительного снижения концентрации протопорфирино-

Таблица 1

Содержание тестостерона и дегидроэпиандростерона сульфата у беременных во II и III триместре (M ± Sd)

Показатели	1-я группа n=32	2-я группа n=30	p
Содержание ДГЭАС (мкг/мл)	2,43±0,87	0,87±0,12	p<0,05
Содержание тестостерона (мкг/мл)	4,56±1,79	2,68±0,75	p<0,01

Таблица 2

Отношение концентраций порфириновых фракций (протопорфиринов к копропорфиринам) у беременных во II и III триместре Me (Q25–Q75)

Показатели	1-я группа n=32	2-я группа n=30	p
ОКПФ	4,05 (2,70–5,40)	10,10 (9,90–11,43)	p=0,0001

критерий Манна–Уитни U=15,50

Таблица 3

Микровязкость мембран эритроцитов у беременных во II и III триместре (M±Sd)

Показатели	1-я группа n=32	2-я группа n=30	p
Микровязкость мембран эритроцитов (отн. ед.)	0,653±0,075	0,509±0,045	p<0,05

вой фракции по сравнению с копропорфириновой, что, вероятно, связано с переходом ПП в димеризованное состояние.

Результатом анализа изучения микровязкостных характеристик мембран эритроцитов с использованием эксимерных зондов явилось обнаружение статистически значимого увеличения микровязкости мембран эритроцитов в основной группе, о чем свидетельствуют данные анализа соотношения интенсивности флуоресценции эксимеров и мономеров пирена (табл. 3).

Нарушение стероидогенеза при ГА выступает определенным стимулом неадекватного эритропоэза, сопровождающегося изменениями/нарушениями обмена порфиринов, подтвержденного нами в результатах оценки соотношения концентрации порфириновых фракций крови. Изменение обмена эндогенных порфиринов обуславливает, вероятно, их мембранное накопление, сопровождающееся процессом димеризации протопорфирина IX [10]. Литературные данные о влиянии глюкокортикоидов на обмен порфиринов противоречивы. Имеются указания, что они ингибируют ферменты и угнетают синтез порфиринов в эритроцитах [16]. В других работах не обнаружена зависимость изменения содержания порфиринов от лечения кортикостероидами [17]. Напротив, все литературные источники единодушно связывают действие андрогенов либо со стимуляцией синтеза эритропоэтина, либо с прямой стимуляцией костного мозга [10,

18], что, в конечном итоге, ведет к увеличению концентраций порфириновых фракций. Авторы многочисленных работ, посвященных изучению обмена порфиринов при различных нозологиях, независимо от генеза этих состояний (порфирии, интоксикации, опухолевые процессы), связывают механизм нарушения их метаболизма с ферментативными девиациями, из-за которых количественные пропорции между продуктами биосинтеза нарушаются, и происходит накопление продуктов боковых цепей – безметалльных порфиринов в других количествах, чем в здоровом организме. Их функции до сих пор не установлены, но, тем не менее, организм индивидуально для каждого заболевания регулирует их выведение.

Полученные результаты свидетельствуют в пользу того, что уменьшение концентрации ПП по отношению к КП у беременных с ГА сопряжено с повышением микровязкостных характеристик мембран эритроцитов. Это проявляется в нарушениях состоятельности фетоплацентарного кровотока, подтвержденных результатами доплерометрии и клинико-лабораторными маркерами ПН. Дальнейшие исследования в этом направлении представляются тем более актуальным, поскольку 21-гидроксилаза – фермент, мутация которого является определяющей патогенеза нарушения обмена андрогенов, является цитохромом P450, т.е. порфирином [12]. Кроме того, приведенные данные согласуются с результатами, полученными гистостереометрическими методами, свидетельствующими в пользу снижения удельного объема сосудистого русла фетоплацентарного комплекса у беременных с ГА (за счет облитерационной ангиопатии и малокровия промежуточных и терминальных ворсин хориона) и удельного объема межворсинчатого пространства при увеличении внутриворсинчатого фибриноида [5, 6]. Следовательно, морфологически подтвержденные гемодинамические нарушения в системе “мать – плацента – плод” играют ключевую роль в формировании гипоксии в пределах фетоплацентарного комплекса при ГА [19].

Таким образом, в патогенезе фетоплацентарной недостаточности у беременных с гиперандрогенией присутствует относительно специфическая составляющая, характеризующаяся нарушениями обмена порфиринов и приводящая к нарушениям микровязкостных характеристик мембран эритроцитов, следствием чего является нарушение микроциркуляции в фето-плацентарном бассейне.

Литература

1. Беспалова Т.П. Роль гиперандрогении в невынашивании беременности : автореф. дис. ... канд. мед. наук. – СПб., 1999. – 24 с.
2. Доброхотова Ю.Э., Милованов А.П., Джобава Э.М. и др. Плацентарная недостаточность у беременных с хронической

венозной недостаточностью: некоторые аспекты этиологии, патогенеза и диагностики // Рос. вестн. акушера-гинеколога. – 2007. – № 1. – С. 11–15.

3. Качалина Т.С. Гиперандрогения и невынашивание беременности // Рос. вестн. акушера-гинеколога. – 2004. – № 3. – С. 61–64.
4. Анастасьева В.Г. Морфофункциональные нарушения фетоплацентарного комплекса при плацентарной недостаточности. – Новосибирск, 1997. – 505 с.
5. Габитова Н.А., Агаркова Л.А., Диш О.Г. и др. Морфофункциональное состояние плаценты при гиперандрогении // Хирургия, морфология, лимфология. – 2006. – № 5. – С. 10–14.
6. Логвинов С.В., Агаркова Л.А., Диш О.Г. и др. Особенности строения плаценты у родильниц с гиперандрогенией // Морфология. – 2006. – № 4. – С. 76.
7. Сидорова И.С., Макаров И.О. Клинико-диагностические аспекты фетоплацентарной недостаточности. – М., 2005. – 295 с.
8. Кулаков В.И., Орджоникидзе Н.В., Тютюнник В.Л. Плацентарная недостаточность и инфекция. – М., 2004. – 494 с.
9. Удуг В.В., Гердт Л.В., Прокопьев В.Е. и др. // Бюл. exper. биол. и мед. – 2005. – № 1. – С. 82–85.
10. Крайтон Р., Даниельслн Бо Дж., Гайсер П. Лечение препаратами железа. – Тверь, 2007. – 88 с.
11. Агаркова Л.А., Дикке Г.Б., Габитова Н.А. и др. Новое в диагностике и терапии гиперандрогении различного генеза // Сиб. мед. журн. [Томск]. – 2006. – № 5. – С. 115–117.
12. Габитова Н.А. Динамика концентраций протопорфирина и копропорфирина эритроцитов крови при физиологической и осложненной гестозом беременности : автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Томск, 2000. – 19 с.
13. Стрижаков А.Н., Мусаев А.Н., Мельникова Н.Л. и др. Дифференцированный подход к профилактике гестоза и плацентарной недостаточности у беременных группы высокого риска // Акушерство и гинекология – 2000. – № 3. – С. 14–17.
14. Гуринович И.Ф., Грубина Л.А., Некрашевич С.Ф. и др. Количественный и качественный состав порфиринов в эритроцитах онкологических больных // Вопр. мед. хим. – 1994. – № 5. – С. 34–37.
15. Кузнецова Р.Т., Габитова Н.А. Ранняя диагностика и контроль степени тяжести гестоза по концентрации эндогенных порфиринов // Журн. прикл. спектроскопии. – 2002. – № 4. – С. 502–505.
16. Кузнецова Н.П., Панков Б.С., Чубарова А.С. и др. Порфирии. – М., 1981. – 192 с.
17. Писанец М.П. Биосинтез порфиринов у рожениц и новорожденных // Пробл. гематол. и переливания крови. – 1981. – № 7. – С. 21–23.
18. Сидельникова В.М. Эндокринология беременности в норме и при патологии. – М., 2007. – 352 с.
19. Стрижаков, А.Н., Тимохина Т.Ф., Баев О.Р. Фетоплацентарная недостаточность: патогенез, диагностика и лечение // Вопр. гинекол., акушерства и перинатол. – 2003. – № 2. – С. 53–64.

Поступила 11.06.2010