

© О. В. Ковальчук–Ковалевская,
В. М. Прокопенко, А. В. Арутюнян

ГУ НИИ акушерства и гинекологии
им. Д. О. Отта СЗО РАМН

ОСОБЕННОСТИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКИСЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ТРОМБОЦИТОВ У ДЕТЕЙ С ЗАДЕРЖКОЙ ВНУТРИУТРОБНОГО РАЗВИТИЯ

УДК: 616-053.3:618.33-007.12]-07

■ Показано, что у новорожденных детей с задержкой внутриутробного развития в первые часы после рождения имеется дисбаланс системы СРО/АОЗ в тромбоцитах. Повышение интенсивности перекисного окисления липидов и снижение буферной емкости антиокислительной системы играет важную роль в повреждении нервных клеток, что обуславливает затруднение периода постнатальной адаптации у детей с задержкой внутриутробного развития и способствует развитию неврологических нарушений в последующем.

■ **Ключевые слова:** перекисное окисление липидов; новорожденный; задержка внутриутробного развития.

Введение

В последние годы наблюдается увеличение числа новорожденных с задержкой внутриутробного развития (ЗВУР), для которых характерны высокая перинатальная заболеваемость и значительные отклонения нервно-психического и соматического развития в последующие годы жизни [17].

Известно, что задержка внутриутробного развития возникает при наличии хронической плацентарной недостаточности, при которой плод развивается в условиях хронической гипоксии [2, 6]. Считают, что новорожденные дети, внутриутробное развитие которых протекало в условиях хронической плацентарной недостаточности, подвержены высокому риску реализации токсического действия активных форм кислорода (АФК) и продуктов их метаболизма [9, 11, 15]. Наиболее благоприятные условия для развития перекисного окисления липидов (ПОЛ) существуют в ЦНС, что обусловлено ее анатомо-физиологическими особенностями — высоким содержанием воды и липидов, наличием развитой системы мембран, высоким потреблением кислорода и низкой активностью антиоксидантных ферментов [7]. В связи с этим представляет интерес изучение процессов перекисного окисления липидов и антиокислительной системы ЦНС у новорожденных детей с задержкой внутриутробного развития в раннем неонатальном периоде.

С учетом недоступности исследования нейронов в клинической практике, сходство нейронов по многим своим характеристикам с тромбоцитами позволяет рассматривать тромбоцит как модель нейрона [19, 20, 21].

В литературе мы не встретили данных о состоянии перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиокислительной системы в тромбоцитах новорожденных детей с задержкой внутриутробного развития.

Цель исследования

Изучение особенностей перекисного окисления липидов и антиокислительной системы тромбоцитов у детей с задержкой внутриутробного развития.

Материалы и методы исследования

Обследовано 20 новорожденных детей с тяжелыми формами ЗВУР. Из них 13 детей имели асимметричную форму ЗВУР III степени — отставание массы тела от должной — <3%, а 7 детей — симметричную форму ЗВУР — отставание массы тела и роста от должных величин <3%. Диспластический вариант ЗВУР в исследование не включен. Гестационный возраст составил 36–40 недель. Причина ЗВУР — развитие плода в условиях рано сформировавшейся хронической плацентарной недостаточности у женщин, имеющих патологию трех и более

Таблица 1

Показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ), общей антиокислительной активности (ОАА) тромбоцитов у новорожденных в зависимости от способа родоразрешения

	ПОЛ, отн. ед/10 ⁶ тромбоцитов	ОАА, отн.ед
Дети, рожденные через естественные родовые пути, n=14	0,439±0,09 n=12	0,210±0,03 n=12
Дети, рожденные путем операции кесарева сечения, n=8	0,731±0,09 n=7	0,246±0,03 n=7
p	>0,05	>0,05

функциональных систем (эндокринной, иммунной, сердечно-сосудистой, мочевыделительной, пищеварительной и т. д.) и осложнение беременности гестозом. Рождение каждого второго ребенка произошло с помощью операции кесарева сечения.

Масса тела новорожденных составила 2279,5±73,4 г (от 1660 г до 2970 г), длина тела — 46,5±0,5 см (от 42 см до 52 см). Оценка по шкале Апгар — 7 баллов.

Контрольную группу составили 22 доношенных новорожденных ребенка, масса тела которых составила 3438,2±103,4 г, рост 51,4±0,5 см. Оценка по шкале Апгар составила 7–8 баллов. При этом 14 детей родились через естественные родовые пути, 8 детей были извлечены путем операции планового кесарева сечения по показаниям со стороны. Ранний неонатальный период у всех детей протекал без осложнений.

У всех детей в первый день жизни производили забор крови из периферической вены в объеме 1,0 мл в пробирку с 3,8% цитратом натрия в соотношении 1:9. Для получения богатой тромбоцитами плазмы (БТП) кровь центрифугировали 5 минут при 1000 об/мин. После определения количества тромбоцитов, при повторном центрифугировании в течение 20 минут при 4000 об/мин из БТП получали тромбоцитарную взвесь. Полученную тромбоцитарную взвесь промывали в 2,0 мл физиологического раствора (при центрифугировании в течение 20 минут при 4000 об/мин), после чего физиологический раствор удаляли. Интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и общую антиокислительную активность (ОАА) определяли в тромбоцитах методом хемилюминисцентного диализа. Регистрацию свечения осуществляли на люминометре БХЛ-06-М (Нижний Новгород, Россия) в реактивной смеси, содержащей 200 мкл фосфатного буфера (pH 7,4), 200 мкл 0,01 мМ раствора сульфата железа и 20 мкл тромбоцитарной взвеси. Для инициации процесса в пробу вводили 100 мкл 2% перекиси водорода. Сигнал регистрировали в течение 50 секунд, получаемую информацию выводили на дисплей компьютера в виде непрерывной кинетической кривой.

Интенсивность процесса ПОЛ определяли при комнатной температуре по величине светосуммы за 30 секунд и измеряли в относительных единицах, которые соответствовали милливольтам в секунду на 10⁶ тромбоцитов в БТП. Общую антиокислительную активность в тромбоцитах выражали в относительных единицах, коррелирующих с величиной показателя тангенса угла наклона кривой на стадии максимального убывания вспышки.

Статистическая обработка материала проведена с помощью стандартного приложения прикладных программ «Statistica» для персонального компьютера IP 166 ММХ. Достоверность различий оценена с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Результаты исследований (таблица 1) показали, что у здоровых новорожденных детей в первые часы после рождения интенсивность ПОЛ в тромбоцитах составила 0,546±0,09 отн. ед/10⁶ тромбоцитов, а ОАА в тромбоцитах — 0,223±0,02 отн.ед. Следует отметить большой индивидуальный разброс показателей антиоксидантной защиты и свободнорадикального окисления в тромбоцитах: ПОЛ — от 0,021 отн.ед/10⁶ тромбоцитов до 1,66 отн.ед/10⁶ тромбоцитов, ОАА — от 0,09 отн. ед. до 0,383 отн. ед. Ранее было показано, что наличие как низких, так и высоких значений ПОЛ сыворотки крови у здоровых новорожденных детей отражает генетически детерминированное разнообразие адаптивных реакций ребенка при переходе в новые условия окружающей среды [18].

Известно, что существенным моментом, определяющим течение ранней постнатальной адаптации новорожденного, является влияние родового акта. Родовой стресс является одной из причин активации процессов свободнорадикального окисления вследствие интенсивного выброса катехоламинов и глюкокортикоидов в кровь плода, приводящего к повышению активности фосфолипаз и накоплению жирных кислот [10]. Поэтому мы сопоставили показатели активности свободнорадикального окисления

Таблица 2

Показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ), общей антиокислительной активности (ОАА) тромбоцитов у новорожденных с ЗВУР

	ПОЛ, отн. ед/10 ⁶ тромбоцитов	ОАА, отн. ед
Дети с ЗВУР, n=20	1,615±0,05 n=20	0,141±0,03 n=19
Здоровые новорожденные дети, n=22	0,546±0,09 n=19	0,223±0,02 n=19
p	<0,001	<0,01

и состояния системы антиоксидантной защиты тромбоцитов у здоровых новорожденных, рожденных через естественные родовые пути и извлеченных путем операции кесарева сечения (табл. 1).

Из таблицы видно, что показатели активности свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты тромбоцитов у новорожденных детей не зависят от влияния родового стресса. Это согласуется с данными наших предыдущих исследований, не выявивших различий между показателями ПОЛ и ОАА в сыворотке крови у новорожденных детей, рожденных через естественные родовые пути и извлеченных путем операции кесарева сечения [13], и свидетельствует о том, что антиокислительная система формируется как система, устойчивая к экстремальным воздействиям.

Известно, что у новорожденных, перенесших внутриутробную гипоксию, наблюдается дисбаланс системы ПОЛ-АОЗ: повышение активности процессов ПОЛ и снижение антиокислительной активности плазмы по сравнению со здоровыми новорожденными [3, 5, 11, 15]. Имеются данные, что в условиях хронической гипоксии, провоцирующей высокую активность процессов перекисидации на фоне низкого уровня антиокислительной защиты, мембраны тромбоцитов оказываются несостоятельными. [12] Поскольку объективным критерием тяжести внутриутробного страдания плода в условиях хронической плацентарной недостаточности является наличие задержки его внутриутробного развития, представляло интерес оценить состояние ПОЛ и АОЗ в тромбоцитах новорожденных детей с задержкой внутриутробного развития.

Результаты исследований (таблица 2) показали, что у новорожденных детей с задержкой внутриутробного развития в первые часы после рождения имеется дисбаланс системы СРО/АОЗ в тромбоцитах. Интенсивность перекисного окисления липидов в тромбоцитах детей с задержкой внутриутробного развития достоверно выше, чем в тромбоцитах здоровых новорожденных детей, при этом общая антиокислительная активность снижена.

Сопоставление полученных данных с клиническим состоянием детей с ЗВУР в период ранней

постнатальной адаптации показало, что у всех детей на первый план в клинической картине выступала неврологическая симптоматика. Наблюдался синдром угнетения функций ЦНС (снижение мышечного тонуса и физиологических рефлексов), который сочетался с длительно сохраняющейся (по данным НСГ) гиперэхогенностью перивентрикулярных зон боковых желудочков мозга. Отставание формирования активного, пассивного, постурального тонуса и рефлекторных реакций ЦНС отмечалось у всех детей.

Известно, что первая реакция на гипоксию — повышение активности ферментов АОЗ. В условиях длительного гипоксического воздействия происходит их истощение [8, 9]. Результаты настоящего исследования свидетельствуют о токсическом действии АФК на клетки в условиях длительной хронической внутриутробной гипоксии, сопровождающейся интенсификацией свободнорадикальных процессов и снижением активности системы антиокислительной защиты, нарушением ее мобилизации в ответ на повышение активности прооксидантной системы. Это согласуется с данными литературы о снижении активности супероксиддисмутазы в тромбоцитах у новорожденных с последствиями хронической гипоксии в раннем неонатальном периоде, что свидетельствует об истощении резервов компенсации [12].

Интенсивность процессов перекисидации рассматривают как показатель деструкции клеточных мембран, а состоятельность антиокислительной защиты (АОЗ) — как свидетельство клеточной адаптации к стрессовым воздействиям [1, 5, 14, 16]. Наши исследования указывают на дестабилизацию мембран в результате хронической гипоксии. В литературе имеются данные об угнетении при хронической гипоксии в тромбоцитах новорожденных активности всех ферментов трансмембранного транспорта (Na⁺, K⁺-АТФазы, Mg²⁺, Ca²⁺-АТФазы), что способствует увеличенному току ионов кальция внутрь клетки [12] и неконтролируемому каскаду Ca²⁺-зависимых реакций (активация протеолитических ферментов, липаз, эндонуклеаз, НО-синтазы). Происходит активация лизосомальных ферментов, что приводит к интенсивному разрушению клеток. Активация фосфолипазы А2 сопровождается освобождением таких сигнальных

молекул, как арахидоновая кислота, и включением ферментов «неконтролируемого каскада» арахидоновой кислоты. С каскадом арахидоновой кислоты связано образование 4-гидрокси-2-ноненала, который повреждает ключевые ферменты клетки: Na^+ , K^+ -АТФазу, глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназу, различные киназы, стимулирует стресс-активируемые протеинкиназы, такие как JNK и p38. Таким образом, в результате метаболизма арахидоновой кислоты происходит генерация АФК и продуктов перекисидации липидов, что приводит к нарушению метаболизма фосфолипидов клеточных мембран. Считается, что интенсивный распад фосфолипидов клеточных мембран является ранним признаком развивающейся нейродегенерации [18]. Активация цикло- и липооксигеназного путей в тканях сопровождается накоплением лейкотриенов, тромбоксанов и простагландинов, которые способствуют спазму сосудов. Генерация активных форм кислорода является причиной нарушения митохондриального энергетического метаболизма, приводящего к увеличению гибели нейронов [4]. Все описанные процессы обуславливают неврологическую симптоматику в период ранней постнатальной адаптации и вызывают последующие неврологические нарушения у детей с задержкой внутриутробного развития.

Литература

1. Бурмистров С. О., Дубинина Е. Е., Арутюнян Е. В. Перекисное окисление липидов, белков и активность антиоксидантной системы сыворотки крови новорожденных и взрослых // Акушерство и гинекология. — 1997. — №6. — С. 36–40.
2. Гармашева Н. Л. Введение в перинатальную медицину. — М.: Медицина, 1978. — 296 с.
3. Диагностика гипоксии плода по данным показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности / Мусаев А. Т. [и др.] // Педиатрия. — 1991. — № 12. — С.88.
4. Дубинина Е. Е. Роль окислительного стресса при патологических состояниях нервной системы // Успехи функциональной нейрхимии / ред. С. А. Дамбинова, А. В. Арутюнян. — СПб.: Изд-во СПбГУ, 2003. — С. 285–301.
5. Дубинина Е. Е., Раменская Н. П., Софронова Л. Н. Особенности антиоксидантной системы крови у новорожденных с асфиксией // Педиатрия. — 1986. — №5. — С. 75
6. Евсеев Д. А., Ещенко Ю.В. Изменения в фетоплацентарном комплексе при острой и хронической внутриутробной гипоксии // Педиатрия. — 2002. — № 1. — С. 5–9.
7. Зозуля Ю. А., Барабой В. А., Сутковой Д. А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга. — М.: Знание-М, 2000. — 344 с.
8. Кузнецова В. А. Клинико-метаболические проявления энергетической недостаточности у плода и новорожденного, развивавшихся при нарушении маточно-плацентарного и плодового кровообращения: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1992. — 43 с.
9. Павлова Т. А. Структурно-функциональные свойства клеточных мембран и их коррекция у новорожденных, перенесших острую гипоксию: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 1992.
10. Паллади Г. А., Робу А. И., Дондюк Ю. В. Родовой стресс и постнатальная адаптация новорожденных при кесаревом сечении // Акушерство и гинекология. — 1992. — №3–7. — С.27.
11. Пасенюк Т. А. Клиническое значение фосфолипидного спектра, перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у новорожденных с перинатальным поражением нервной системы: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Одесса, 1988. — 22 с.
12. Роль структурно-функциональных нарушений клеточных мембран в клинико-патогенетических проявлениях перинатальной гипоксии у новорожденных, пути коррекции / Петрушина А. Д. [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. — 2000. — № 1. — С. 22–23.
13. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная система у здоровых доношенных новорожденных детей / Косов М. Н. [и др.] // Физиология человека. — 2001. — Т. 27, №3. — С. 133–136.
14. Свободнорадикальное окисление и механизмы клеточной адаптации у новорожденных / Камиллов Ф. Х. [и др.] // Здравоохранение Башкортостана. — 1999. — № 3. — С. 94–98.
15. Свободнорадикальное окисление у доношенных новорожденных детей с различной патологией / Евсюкова И. И. [и др.] // Педиатрия. — 1996. — №1. — С. 13–16.
16. Состояние перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у новорожденных / Забродина Л. В. [и др.] // Педиатрия. — 1992. — №2. — С. 34–37.
17. Яцык Г. В., Бомбардинова Е. П. Состояние здоровья детей первого года жизни в России // Права ребёнка. — 2004. — № 1. — С. 42–43.
18. Farooqui A. A., Ong W. Y., Horrocks L. A Biochemical aspects of neurodegeneration in human brain: involvement of neural membrane phospholipids and phospholipases A2 // Neurochem.Res. — 2004. — Vol. 29, №1. — P. 1961–1977.
19. Langer S. Z., Glazin A. M. Studies on the serotonin transporters in platelets // Experientia. — 1988. — Vol. 44. — P. 127–131.
20. Lesch K. P., Wolozin B. L., Murphy D. L. Primary structure of the human platelet serotonin uptake site Identify with the brain serotonin transporter // J. Neurochem. — 1993. — Vol. 60. — P. 2319–2322.
21. Muscettola G., Di Lauro A., Giannini C. P. Blood cells as biological trait markers in affective disorders // J. Psychiatr. Res. — 1984. — Vol. 18. — P. 447–456.

Статья представлена В. В. Абрамченко
 ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта,
 Санкт-Петербург

PECULIARITY OF PLATELET LIPID PEROXIDATION
AND ANTIOXIDANT SYSTEM IN NEWBORN
WITH INTRAUTERINE GROWTH RETARDATION

Kovalchuk-Kovalevskaya O. V., Prokopenko V. M.,
Arutjunyan A. V.

■ **Summary:** The imbalance of platelet lipid peroxidation and antioxidant system was showed among the newborn with intrauterine growth retardation. The lipid peroxidation increase and the antioxidant system reduction play a significant role in the injury of the neurons, and cause a difficulty of newborn with intrauterine growth retardation adaptation. It promote the neurologic damages in the future.

■ **Key words:** lipid peroxidation; newborn; intrauterine growth retardation.

■ **Адреса авторов для переписки**

Ковальчук-Ковалевская Ольга Владимировна — к. м. н., с. н. с. отделения физиологии и патологии новорожденных детей.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: kovkolga@yandex.ru

Прокопенко Валентина Михайловна — к. б. н., с. н. с. лаборатории биохимии.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: vmp47@mail.ru

Арутюнян Александр Вартанович — д. б. н., проф. рук. лаборатории биохимии.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: arutjunyan@aa3703.spb.edu

Kovalchuk-Kovalevskaya Olga Vladimirovna — PhD, Department of Physiology and Pathology of newborns.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS.
199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3.

E-mail: kovkolga@yandex.ru

Prokopenko Valentina Mikhailovna — PhD, lab of biochemistry.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS.
199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3.

E-mail: vmp47@mail.ru

Arutjunyan Alexandr Vartanovich — Dr. Sci., Head of the department of biochemistry.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS.
199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3.

E-mail: arutjunyan@aa3703.spb.edu