

© А. А. Андреева, Т. И. Опарина

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

ПРОДУКЦИЯ ОКИСИ АЗОТА У НОВОРОЖДЕННЫХ, ПЕРЕНЕСШИХ ВНУТРИУТРОБНУЮ ГИПОКСИЮ

УДК: 618.33-008.922.1:616-053.3-06]-07

■ Показано, что у доношенных новорожденных, перенесших хроническую гипоксию, в два раза увеличена продукция окиси азота (NO) по сравнению со здоровыми детьми. Стойкое повышение NO у этих детей в раннем неонатальном периоде играет существенную роль в генезе церебральной ишемии.

■ **Ключевые слова:** окись азота; новорожденный; гипоксия.

Введение

В последнее десятилетие наблюдается рост у детей соматических и нервно-психических заболеваний, истоки которых лежат в патологии антенатального развития и раннего неонатального периода жизни [1, 8, 5]. Наиболее высока частота неблагоприятных последствий у детей, перенесших хроническую внутриутробную гипоксию. Известно, что у них значительно затруднен процесс постнатальной адаптации, нарушено становление функций нервной и других функциональных систем организма [1, 5]. В связи с этим актуальной проблемой является изучение патогенеза неблагоприятного влияния гипоксии с целью разработки адекватных подходов к профилактике, ранней коррекции выявленных нарушений и оптимальной реабилитации.

Известно, что в механизмах адаптации к гипоксии и развития постреанимационной болезни существенная роль принадлежит окиси азота (NO) [10, 18, 19]. Окись азота играет важную роль в обеспечении жизнедеятельности и развития плода в единой системе «мать–плацента–плод» [11, 18, 12, 25]. Как избыточная, так и недостаточная продукция окиси азота может явиться причиной патологических изменений в организме. Избыточная продукция NO приводит к образованию таких токсичных продуктов, как пероксинитрит (-ONOO), гидроксирадикал (HO[•]) — мощных инициаторов перекисного окисления липидов [2, 21, 24]. В то же время недостаточная продукция способствует формированию патологии фето-плацентарного комплекса и внутриутробной гипоксии плода [20].

Участие окиси азота в регуляции сосудистого тонуса обеспечивает прежде всего кровоснабжение жизненно важных органов плода, их нормальное развитие и постнатальную адаптацию новорожденных детей [11, 17].

Учитывая ведущую роль нарушений гемодинамики и, в частности, мозгового кровообращения в генезе перинатальных поражений центральной нервной системы (ЦНС) и их неблагоприятных исходов, представляется целесообразным выяснить особенности продукции окиси азота в сопоставлении с клиническим состоянием у доношенных новорожденных детей, перенесших внутриутробную гипоксию.

Материалы и методы

Обследовано 129 доношенных новорожденных, из которых 55 детей перенесли внутриутробную гипоксию. В зависимости от длительности и тяжести гипоксии они были разделены на следующие группы:

I группа — 15 новорожденных детей, внутриутробное развитие которых протекало без осложнений, но во время родового акта наблюдались симптомы угрожающей гипоксии плода (выявление мекония в околоплодных водах или нарушение

функционального состояния плода по данным КТГ в виде единичных вариабельных или поздних децелераций любой степени тяжести или только сглаженной кривой, зарегистрированной после начала родовой деятельности и не связанной с введением медикаментов). Оценка по шкале Апгар составила ≥ 7 баллов. Масса тела детей 3200 ± 205 г, рост — $50,1 \pm 1,8$ см.

II группа — 12 детей, внутриутробное развитие которых протекало без осложнений, но во время родов наблюдались симптомы начавшейся гипоксии плода (нарушение функционального состояния плода по данным КТГ в виде неоднократных децелераций). Кроме того, все дети родились в асфиксии (оценка по шкале Апгар 4–6 баллов). Масса тела детей была 3230 ± 210 г, рост — $52,1 \pm 1,8$ см.

III группа — 10 новорожденных, перенесших хроническую внутриутробную гипоксию в результате осложнения беременности гестозом и хронической плацентарной недостаточностью, подтвержденной гистологическим исследованием последа. Оценка по шкале Апгар составила ≥ 7 баллов. Масса тела детей была 3150 ± 75 г, рост — $50,1 \pm 1,0$ см.

IV группа — 18 детей, перенесших внутриутробную хроническую гипоксию и родившихся в асфиксии. Оценка по шкале Апгар 4–6 баллов. Масса тела детей 3100 ± 100 г, рост — $50,1 \pm 0,5$ см.

В контрольную группу вошли 74 здоровых новорожденных ребенка, внутриутробное развитие которых, рождение и ранний неонатальный период протекали без осложнений. Масса тела 3420 ± 112 г, рост — $52 \pm 0,5$ см. Оценка по шкале Апгар 8–9 баллов. Все дети были выписаны домой на 5–6-й день жизни под наблюдение педиатра. Продолжительность и тяжесть внутриутробного страдания ребенка оценивали на основании изучения особенностей течения беременности и родового акта, а также результатов гистологического исследования последа. Обращали особое внимание на динамику показателей доплерометрии и кардиотокографии.

Обследование детей включало оценку в динамике клинического состояния с определением степени тяжести поражений ЦНС, данных лабораторных исследований (клинический анализ крови, показатели кислотно-основного состояния и др.). Результаты ультразвукового исследования мозга, а также микробиологических и вирусологических обследований для исключения инфицирования матери и ребенка.

О продукции окиси азота в организме ребенка судили на основании определения суммарной концентрации в моче нитратов и нитритов с помощью метода, описанного F. Madueno и M. G. Guerro (1991) с использованием реактива Грисса [16].

Сбор мочи у детей производили в первые и четвертые сутки жизни отдельно в дневное (9.00–21.00) и ночное (21.00–9.00) время суток.

Статистическая обработка материала проведена с помощью стандартного приложения прикладных программ Statgraphica 6,0. Достоверность различий между средними величинами параметров определяли с помощью t-критерия Стьюдента, а для независимых выборок использовали непараметрический критерий U Вилкоксона–Манна–Уитни. Качественные различия признаков оценивали по точному методу Фишера.

Результаты исследований

Результаты исследования показали, что у доношенных новорожденных, перенесших внутриутробную гипоксию, сохранялся суточный ритм суммарной концентрации нитратов и нитритов в моче, как и у здоровых детей. При этом уровень суммарной концентрации зависел от тяжести и длительности перенесенной гипоксии (рис. 1).

Установлено, что самые высокие показатели продукции окиси азота отмечались у детей I и II групп, перенесших угрожающую и умеренную асфиксию при рождении. У этих детей отмечалось быстрое снижение (в 2–3 раза) суммарной концентрации к 4-му дню жизни. В то же время у новорожденных, развивавшихся в условиях хронической гипоксии (группы III и IV), повышение суммарной концентрации нитратов и нитритов сохранялось в динамике на прежнем уровне в течение всего раннего неонатального периода (таблица 1).

Сопоставление полученных результатов с клиническим состоянием новорожденных показало, что у детей I и II групп в раннем неонатальном периоде наблюдалась умеренная неврологическая симптоматика в виде возбуждения ЦНС до 3–4-го дня жизни. Нейросонографическое исследование патологии не выявило. В динамике неврологическая симптоматика регрессировала и дети были выписаны домой под наблюдение педиатра.

Все дети III и IV группы имели неврологические нарушения средней и тяжелой степени, что выражалось в угнетении центральной нервной системы более 7–10 дней. По данным нейросонографии наблюдался длительно сохраняющийся перивентрикулярный или диффузный отек паренхимы мозга. Большинство детей этой группы были переведены в больницу для дальнейшего лечения с диагнозом церебральная ишемия II степени.

Из экспериментальных исследований известно, что в ответ на гипоксию наблюдается резкое возрастание продукции окиси азота, что способ-

Таблица 1

Суммарная концентрация нитратов и нитритов в моче у новорожденных, перенесших острую и хроническую гипоксию (мкМ)

Группы	Дни	1-е сутки		P1	4-е сутки		P2
		день	ночь		день	ночь	
Острая гипоксия (n=27)		15,7±3,2***	35,8±3,6*** ^	< 0,001	8,8±2,2*	19,2±4,5**	< 0,001
Хроническая гипоксия (n=28)		11,0±1,3*	24,5±2,8***	< 0,02	8,8±2,1*	19,8±2,4**	< 0,001
Контрольная группа (n=74)		3,2±0,4	10,4±1,1	< 0,05	3,02±0,8	10,5±2,5	< 0,05

Примечание: Достоверность различий между показателями дневной и ночной концентрации в 1 и 4 дни жизни — P1, P2; ***p<0,001, **p<0,01, * p<0,05 — с контролем; ^ — p<0,05 — достоверность различий между показателями концентрации при острой и хронической гипоксии.

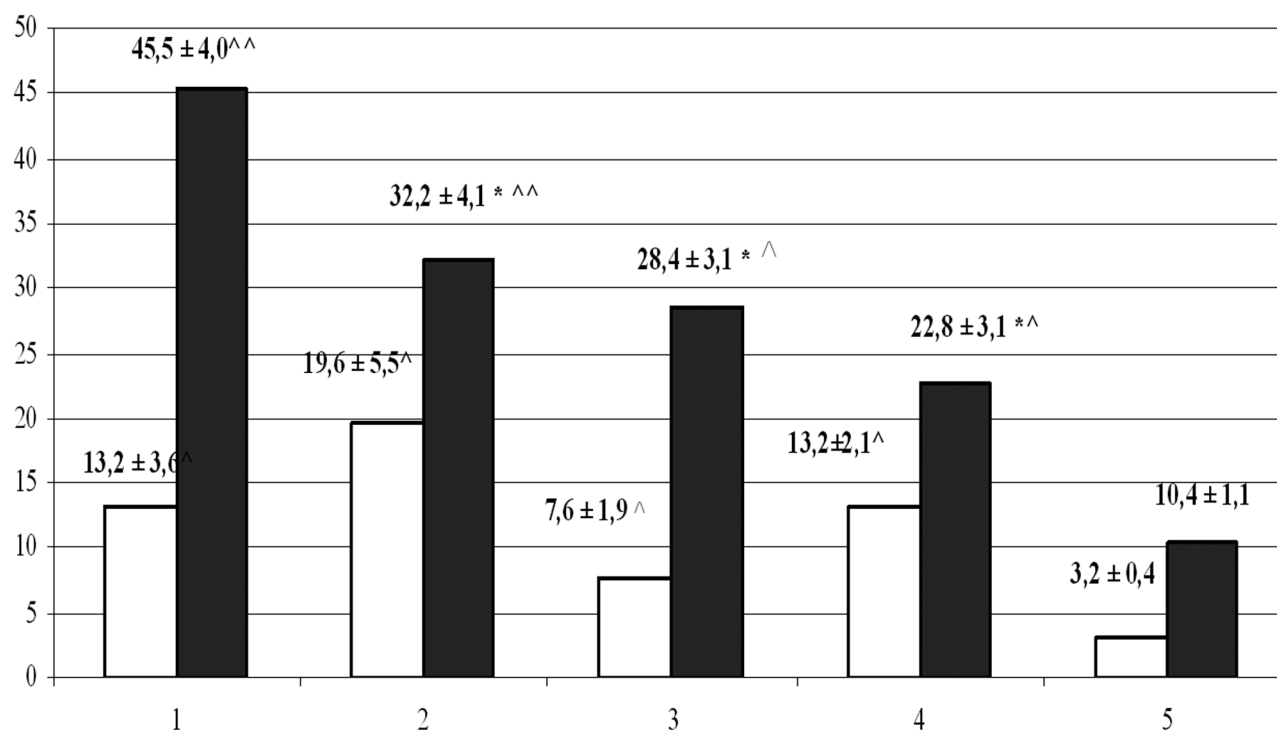


Рис. 1. Суммарная концентрация нитратов и нитритов (мкМ) в моче новорожденных детей в первые сутки жизни в зависимости от тяжести перенесенной гипоксии. 1 — угрожающая гипоксия плода (n=15), 2 — начавшаяся гипоксия + асфиксия при рождении (n=12), 3 — хроническая гипоксия до рождения (n=10), 4 — хроническая гипоксия + асфиксия при рождении (n=18), 5 — контроль (n=74).

□ — дневная концентрация, ■ — ночная концентрация.

* — p < 0,05 — достоверность различий показателей с таковыми у детей 1 группы; ^ — p < 0,05, ^ ^ — p < 0,01 — достоверность различий показателей с таковыми у здоровых детей.

ствует поддержанию кальциевого гомеостаза клеток, защищая их от гибели [7, 14]

Кроме того, повышенная продукция NO в условиях гипоксии способствует снижению тонуса пиаальных артерий головного мозга, улучшению микроциркуляции и питания нервных клеток, ингибированию избытка образующихся свободных радикалов [13, 9].

Таким образом, повышение и последующее быстрое снижение продукции NO у детей, перенесших острую гипоксию, можно рассматривать как срочную компенсаторно-приспособительную реакцию, направленную на защиту нервной системы от неблагоприятного влияния в острый период адаптации.

Однако в случае длительной гипоксии происходит истощение продукции окиси азота из предшественника L-аргинина, так как эта реакция может осуществляться только в присутствии кислорода. Мы полагаем, что в этих условиях активируется более древний механизм продукции NO из нитратов и нитритов — нитритредуктазный путь, который на определенном этапе способствует нормализации состояния клеточных мембран [7].

Показано, что длительная гипоксия приводит к окислительной модификации белков, нарушает связывание с ионами NO²⁻, уменьшает образование NO, а следовательно, нарушает функции ферментов, регулирующих электролитный обмен

[6]. В этих условиях даже не столь значительное повышение продукции окиси азота может оказывать отрицательное влияние вследствие цитотоксического действия. Токсический эффект NO обусловлен связыванием его с супероксидным анионом ($O_2^{\cdot-}$) и образованием долгоживущего аниона пероксинитрита ($ONOO^-$) — мощного инициатора процессов ПОЛ [26, 3]. В отличие от окиси азота, пероксинитрит стимулирует захват Ca^{2+} митохондриями, разобщая тем самым процессы тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования, что в итоге обуславливает падение энергетического потенциала клеток, повреждение клеточного ДНК и гибель клеток [22, 23]. Возрастание активности NO-синтазы и снижение уровня глутатионпероксидазы приводит к избыточному образованию свободных радикалов, повышению перекисного окисления липидов [4]. Это способствует вазоконстрикции, тромбообразованию, повышению вязкости крови и ведет к нарушению микроциркуляции в тканях и органах, возникновению ишемических поражений. Все эти факторы играют важную роль в генезе нарушений постнатальной адаптации у детей II группы, а также тяжести и длительности неврологических расстройств у новорожденных III и IV группы.

Заключение

Результаты исследований показали, что у новорожденных детей, перенесших гипоксию в период внутриутробного развития и/или рождения, повышена продукция окиси азота, что на определенном этапе является компенсаторно-приспособительной реакцией. Однако в условиях длительной гипоксии она может играть существенную роль в генезе тяжести неврологических расстройств и нарушений адаптации новорожденных.

Литература

1. Баращнев Ю. И. Перинатальная неврология. — М.: Триада-Х, 2001.
2. Ванин А. Ф. Оксид азота в биомедицинских исследованиях // Вестник РАМН. — 2000. — № 4. — С. 3–5.
3. Васильева Е. М., Марков Х. М. Влияние системы L- аргинина NO на активность АТФаз и ПОЛ эритроцитов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1999. — Т. 125, № 9. — С. 321–324.
4. Дубинина Е. Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток. — СПб., 2006.
5. Евсюкова И. И. Проблемы перинатальных поражений мозга, их ранней диагностики и профилактики // Актуальные вопросы физиологии и патологии репродуктивной функции женщин: материалы XXV научной сессии НИИ АГ им. Отта / Под ред. Э. К. Айламазяна. — СПб., 1996–1997. — С. 60–63.
6. Манухина Е. Б., Лапишина А. В., Машина С. Ю. Функциональное состояние эндотелия и продукция окиси азота в организме крыс, адаптированных к периодической гипоксии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1995. — № 11. — С. 495–496.
7. Реутов В. П., Сорокина Е. Г., Охотин В. Е. Циклическое превращение окиси азота в организме млекопитающих. — М.: Наука, 1997. — 155 с.
8. Шабалов Н. П. Неонатология: Учебное пособие. В 2 т. — М.: МЕДпресс-информ, 2004.
9. Allen J. D., Gow A. J. Nitrite, NO and hypoxic vasodilation // Br. J. Pharmacol. — 2009. — Vol. 157, № 8. — P. 1523–1530.
10. Baader S. L., Bucher S., Schilling K. The developmental expression of neuronal nitric oxide synthase in cerebellar granule cells is sensitive to GABA and neurotrophins // Dev. Neurosci. — 1997. — Vol. 19, N3. — P. 283–290.
11. Endothelial nitric oxide synthase in placental villous tissue from normal, pre-eclamptic and intrauterine growth restricted pregnancies / Myatt L. [et al.] // Hum. Reprod. — 1997. — Vol. 12, № 1. — P. 167–172.
12. eNOS, NO, and the activation of ERK and AKT signaling at mid-gestation and near-term in an ovine model of intrauterine growth restriction / Arroyo J.A. [et al.] // Syst. Biol. Reprod. Med. — 2010. — Vol. 56, № 1. — P. 62–73.
13. Fleming I., Gray G. A., Schott C. Inducible but not constitutive production of nitric oxide by vascular smooth muscle cells // Eur. J. Pharmacol. — 1991. — Vol. 200. — P. 375–376.
14. Kaur C., Foulds W. S., Ling E. A. Hypoxia-ischemia and retinal ganglion cell damage // Clin. Ophthalmol. — 2008. — Vol. 2, № 4. — P. 879–889.
15. Kindom J. C. P., Macara L. M., Whittle M. J. Fetoplacental circulation in health and disease // Arch. Dis. Child. — 1994. — Vol. 70. — P. 161–162.
16. Madueno F., Guerro M. G. Use of a mutant strain of the cyanobacterium *Synechococcus* R2 for the determination of nitrate // Anal. Biochem. — 1991. — Vol. 198, № 1. — P. 200–202.
17. Marin J., Rodrigues-Martinez M. A. Role of vascular NO in physiological and pathological conditions // Pharmacol. Ther. — 1997. — Vol. 75, N2. — P. 111–134.
18. Moncada S., Palmer R. M., Higgs E. A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology // Pharmacol. Rev. — 1991. — Vol. 43, N 2. — P. 109–142.
19. Nathan C., Xie Q. W. Regulation of biosynthesis of nitric oxide // J. Biol. Chem. — 1994. — Vol. 269, N 19. — P. 13725–13728.
20. Nitric oxide synthase (NOS) in the human umbilical cord vessels. An immunohistochemical study / Dikranian K. [et al.] // Acta Histochem. — 1994. — Vol. 96. — P. 145–149.
21. Peryor W. A., Squadrio G. L. The chemistry of peroxynitrite — oxide with superoxide // Am. J. Physiol. — 1995. — Vol. 286. — P. L669–L722.
22. Radi R., Cassina A., Hodara R. Nitric oxide and peroxynitrite interactions with mitochondria // Biol. Chem. — 2002. — Vol. 383. — P. 401–409.
23. Schwartz S. M. Cell death and caspase cascade // Circulation. — 1998. — Vol. 97. — P. 227–229.

24. *Taylor C. T., Moncada S.* Nitric oxide, cytochrome C oxidase, and the cellular response to hypoxia // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2010. — Vol. 30, № 4. — P.643-647.
25. *Tikvica A., Kusanjukić M., Pintarić I.* Nitric oxide synthesis in placenta is increased in intrauterine growth restriction and fetal hypoxia // *Coll. Antropol.* — 2008. — Vol. 32, № 2. — P.565-570.
26. *Vioii F., Morioka N., Milite M. T.* Nitric oxide and role lipid peroxidation // *Diabetes Melab. Res. Rev.* — 1999. — Vol. 15, № 4. — P.283-288.

Статья представлена Э. К. Айламазяном,
ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта,
Санкт-Петербург

NITROGEN OXIDE FORMATION WITH THE NEW-BORN WHO HAD INTRAUTERINE HYPOXIA

Oparina T. I., Andreyeva A. A.

■ **Summary:** Nitrogen oxide formation has been shown to be two times higher with the full-term new-born who had chronic hypoxia, when compared to the group consisting of healthy babies. The steady increase in nitrogen oxide formation with these children in the early neonatal period plays an important role in the genesis of cerebral ischemia.

■ **Key words:** nitrogen oxide; newborn; hypoxia.

■ Адреса авторов для переписки

Андреева Анна Алексеевна — к. м. н., с. н. с. отделения физиологии и патологии новорожденных.

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

E-mail: annaandreeva@list.ru

Опарина Татьяна Ивановна — 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: oparinat@mail.ru

Andreeva Anna Alekseevna — 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: annaandreeva@list.ru

Oparina Tatiana Ivanovna — PhD, lab of biochemistry.

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

E-mail: oparinat@mail.ru