

© С.В. Хлыбова, В.И. Циркин,
С.А. Дворянский

Государственная медицинская академия:
кафедра акушерства и гинекологии и
кафедра нормальной физиологии,
г. Киров

СОДЕРЖАНИЕ СВОБОДНОГО L-АРГИНИНА В КРОВИ У ЖЕНЩИН С ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

■ Содержание аргинина в сыворотке крови, которое оценивали методом хроматографии с использованием анализатора аминокислот LC5001, у здоровых беременных возрастает во II триместре, а к моменту родов снижается до уровня, характерного для небеременных. При хронической плацентарной недостаточности (ПН) с нарушением созревания плаценты оно не меняется, но снижается (в 1,4–1,6 раза), если имеется урогенитальная инфекция, синдром задержки развития плода (СЗРП) или гипоксия плода. Выявлена связь между содержанием аргинина в крови и рядом клинико-лабораторных показателей. Все это указывает на то, что содержание аргинина определяет клинические проявления ПН и тактику лечения.

■ **Ключевые слова:** система L-аргинин–NO; беременность; плацентарная недостаточность; урогенитальная инфекция

Введение

В последние годы большое внимание уделяется системе L-аргинин–NO в патогенезе различных акушерских осложнений, в том числе плацентарной недостаточности (ПН) и синдрома задержки развития плода (СЗРП) [7, 9, 10, 12–14]. Это предположение основано на данных о снижении при ПН и СЗРП содержания нитритов и активности NO-синтазы в плаценте [10], экспрессии eNOS и iNOS в клетках трофобласта [9], содержания аргинина [13] и метаболитов NO в крови [7, 12], а также NO в амниотической жидкости [7].

Цель

С учетом малочисленности данных литературы о содержании аргинина в крови при беременности и ПН в работе изучалось содержание в крови свободного L-аргинина у здоровых женщин в динамике беременности и при хронической ПН в зависимости от клинических особенностей ее течения.

Материал и методы исследования

Содержание аргинина определяли у 99 беременных в возрасте от 17 до 33 лет, разделенных на 4 группы. Группы 1, 2 и 3 включали здоровых женщин со сроком беременности (нед.), соответственно ($M \pm m$) $8,1 \pm 0,3$ ($n = 30$), $28,2 \pm 0,7$ ($n = 15$) и $38,3 \pm 0,2$ ($n = 15$), а группа 4 — 39 женщин в III триместре с хронической ПН. В связи с особенностями течения ПН группа 4 разделена на три подгруппы, в том числе на подгруппу 4.1 — 12 женщин, страдающих ПН с преждевременным созреванием плаценты по данным УЗИ ($35,6 \pm 0,8$ нед.); подгруппу 4.2 — 17 женщин с ПН и СЗРП ($34,0 \pm 0,8$ нед.); подгруппу 4.3 — 10 женщин с ПН и гипоксией плода ($36,6 \pm 0,5$ нед.). Диагноз СЗРП устанавливался при отставании размеров плода на 2 недели по данным УЗ-биометрии (AU3 Partner Advanced Ultrasonography ESAOTE Boimedica); диагноз гипоксии плода — при СДО в аа. uterinae $> 2,4$, в аа. umbilicalis $> 3,0$ (по данным доплерометрии) и при оценке КТГ < 8 баллов (Feta Scan Air-Shields 1200). Кроме того, все женщины группы 4 были разделены на подгруппу 4А, которую составили 17 беременных с ПН без инфекции ($34,6 \pm 0,9$ нед.), и подгруппу 4Б, в которую вошли 22 женщины ($34,9 \pm 0,8$ нед.) с неспецифическими и специфическими урогенитальными инфекциями.

Женщины с ПН (подгруппы 4.1, 4.2 и 4.3) отличались ($p < 0,05$) от женщин с неосложненным течением беременности (группа 3) по ряду показателей. Среди женщин с ПН было больше первобеременных ($57,1 \pm 13,2$ % в 4.1 и $58,3 \pm 10,1$ % в 4.2 против $33,3 \pm 6,9$ % в группе 3); в анамнезе у них была выше частота абортс ($60,0 \pm 15,5$ % в 4.3 против $33,3 \pm 6,9$ %), экстрагенитальной патологии ($54,1 \pm 10,2$ % в 4.2. и $60,0 \pm 15,5$ % в 4.3 против $16,6 \pm 7,6$ %), хронической урогенитальной инфекции (ХУГИ)

($54,1 \pm 10,2$ % в 4.2 против $20,8 \pm 8,3$ %); при данной беременности у них чаще развивался гестоз ($50,0 \pm 13,4$ % в 4.1 и $60,0 \pm 15,4$ % в 4.3 против 0,0 %), маловодие ($21,4 \pm 10,9$ % в 4.1 против 0,0 %); была меньше общая прибавка массы тела ($9,3 \pm 0,8$ кг в 4.2 против $11,7 \pm 0,5$ кг), выше показатели среднего АД ($97,7 \pm 1,7$ мм рт. ст. в 4.3 против $89,8 \pm 1,4$ мм рт. ст.) и СДО в артериях пуповины ($2,76 \pm 0,05$ в 4.1, $2,90 \pm 0,06$ в 4.2 и $3,20 \pm 0,05$ в 4.3 против $2,54 \pm 0,04$); гематокрит ($36,4 \pm 0,8$ % в 4.3 против $31,6 \pm 0,5$ %), протромбиновый показатель ($98,1 \pm 1,9$ % в 4.3 против $89,3 \pm 2,8$ %), содержание гемоглобина ($115,6 \pm 1,6$ г/л в 4.2 и $118,3 \pm 2,8$ г/л в 4.3 против $102,6 \pm 3,2$ г/л) и белка в моче ($0,06 \pm 0,01$ г/л в 4.1, $0,08 \pm 0,01$ г/л в 4.2 и $0,10 \pm 0,02$ г/л в 4.3 против $0,03 \pm 0,01$ г/л). В родах у них была выше частота гипоксии плода ($37,5 \pm 9,9$ % в 4.2 против $8,4 \pm 4,1$ %) и кесарева сечения ($41,6 \pm 10,1$ % в 4.2 и $50,0 \pm 15,8$ % в 4.3 против $12,5 \pm 6,7$ %). Их новорожденные имели меньшую массу (2586 ± 90 г в 4.2 и 3036 ± 148 г в 4.3 против 3389 ± 59 г) и длину тела ($47,0 \pm 1,8$ см в 4.2 и $50,5 \pm 0,6$ см в 4.3 против $52,1 \pm 0,3$ см), оценку по шкале Апгар на 1 минуте ($5,6 \pm 0,6$ балла в 4.2 и $5,9 \pm 0,6$ балла в 4.3 против $7,3 \pm 0,2$ балла) и чаще переводились на II этап выхаживания ($34,0 \pm 6,9$ % в 4.2 и $29,2 \pm 9,3$ % в 4.3 против $4,2 \pm 2,9$ %). У женщин с ПН был меньше диаметр плаценты ($15,6 \pm 2,0$ см в 4.2 и $17,4 \pm 0,9$ см в 4.3 против $24,5 \pm 0,8$ см), ее масса (457 ± 54 г в 4.2 и 501 ± 34 г в 4.3 против 634 ± 44 г) и толщина ($2,4 \pm 0,3$ см в 4.2 и $2,3 \pm 0,2$ см в 4.3 против $3,0 \pm 0,2$ см). Однако в подгруппе 4.1 толщина плаценты была больше ($3,5 \pm 0,2$ см), чем в группе 3. У женщин подгруппы 4Б в сравнении с женщинами подгруппы 4А при данной беременности чаще развивался гестоз ($50,0 \pm 10,7$ % и $23,5 \pm 10,3$ %) и СЗРП ($54,5 \pm 10,6$ % и $23,5 \pm 10,3$ %), были выше средние показатели АД ($101,0 \pm 2,5$ мм рт. ст. и $91,0 \pm 3,2$ мм рт. ст.), СДО в артериях пуповины ($2,97 \pm 0,10$ и $2,68 \pm 0,10$) и ряд других показателей (СОЭ, протромбиновый показатель, содержание лейкоцитов, палочкоядерных нейтрофилов, эозинофилов, сахара в крови, белка в моче), но ниже масса (2870 ± 89 г и 3250 ± 128 г), длина новорожденного ($49,8 \pm 0,6$ см и $52,6 \pm 0,7$ см), его оценка по шкале Апгар на 1 минуте ($6,7 \pm 0,2$ балла и $7,2 \pm 0,1$ балла) и диаметр плаценты ($15,3 \pm 1,5$ см и $20,0 \pm 1,2$ см).

Венозную кровь (по 5 мл) забирали из локтевой вены. Сыворотку крови получали при спонтанном образовании сгустка и хранили до момента исследования от 10 до 90 дней при $-43...-45$ °С в морозильной камере DERBY D-LT. Содержание свободного аргинина (наряду с другими аминокислотами) определяли по стандартной методике [1] с помощью анализатора аминокислот LC5001

фирмы «Биотроник» (Германия) путем разделения всех аминокислот на хроматографической колонке диаметром 3,2 мм, наполненной сферической катионообменной смолой из сульфированного полистирола ВТС-2710. Высота столба смолы в колонке составляла 210 мм. Пробы готовили по методу De Wolfe M. и соавт. [1]. Элюирование аминокислот, нанесенных на ионообменную смолу с помощью инжектора, осуществляли по программе разделения гидролизатов белков, задаваемой процессором анализатора. При этом последовательно использовали 5 натрий-цитратных буферных растворов с pH от 3,45 до 10,5 при изменении температуры разделительной колонки от 48 °С до 70 °С. Расчет площадей пиков, определение концентрации и идентификацию аминокислот осуществляли с помощью системы обработки данных C-R3A, программирование которой проводили по результатам анализа стандартной смеси аминокислот (фирма «Сигма-Олдрич») для калибровки анализаторов AA-S-18 и A-2S08.

Авторы выражают благодарность сотрудникам НИИ микробиологии МО РФ (г. Киров) д. м. н. А.В. Ежову и к. м. н. В.В. Роману за помощь в проведении исследования.

Результаты исследования обрабатывали методами вариационной статистики и представляли в виде $M \pm m$, а различия оценивали по критерию Стьюдента, считая их достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Установлено, что в I триместре нормально протекающей беременности уровень аргинина в крови составляет $23,06 \pm 2,29$ мг/л, во II триместре возрастает до $51,93 \pm 5,25$ мг/л ($p < 0,05$), а в конце III триместра снижается до $29,76 \pm 3,53$ мг/л. У беременных с ПН, протекающей с нарушением созревания плаценты (по данным УЗИ), но без СЗРП и гипоксии плода (подгруппа 4.1), содержание аргинина составило $28,24 \pm 2,95$ мг/л, т. е. было таким же, как в III триместре неосложненной беременности (группа 3). У беременных, имеющих ПН с СЗРП (подгруппа 4.2) или с гипоксией плода (подгруппа 4.3), содержание аргинина было ниже (соответственно $18,43 \pm 1,16$ мг/л и $21,33 \pm 0,89$ мг/л; $p < 0,05$), чем у женщин группы 3, а различия между подгруппами 4.2 и 4.3 носили недостоверный характер ($p > 0,1$).

С учетом того, что уровень свободного аргинина в крови может зависеть от его утилизации микроорганизмами [3], нами оценено содержание аргинина в сыворотке крови в зависимости от наличия у женщин хронической инфекции, частота которой в подгруппах 4.1, 4.2 и 4.3 составила

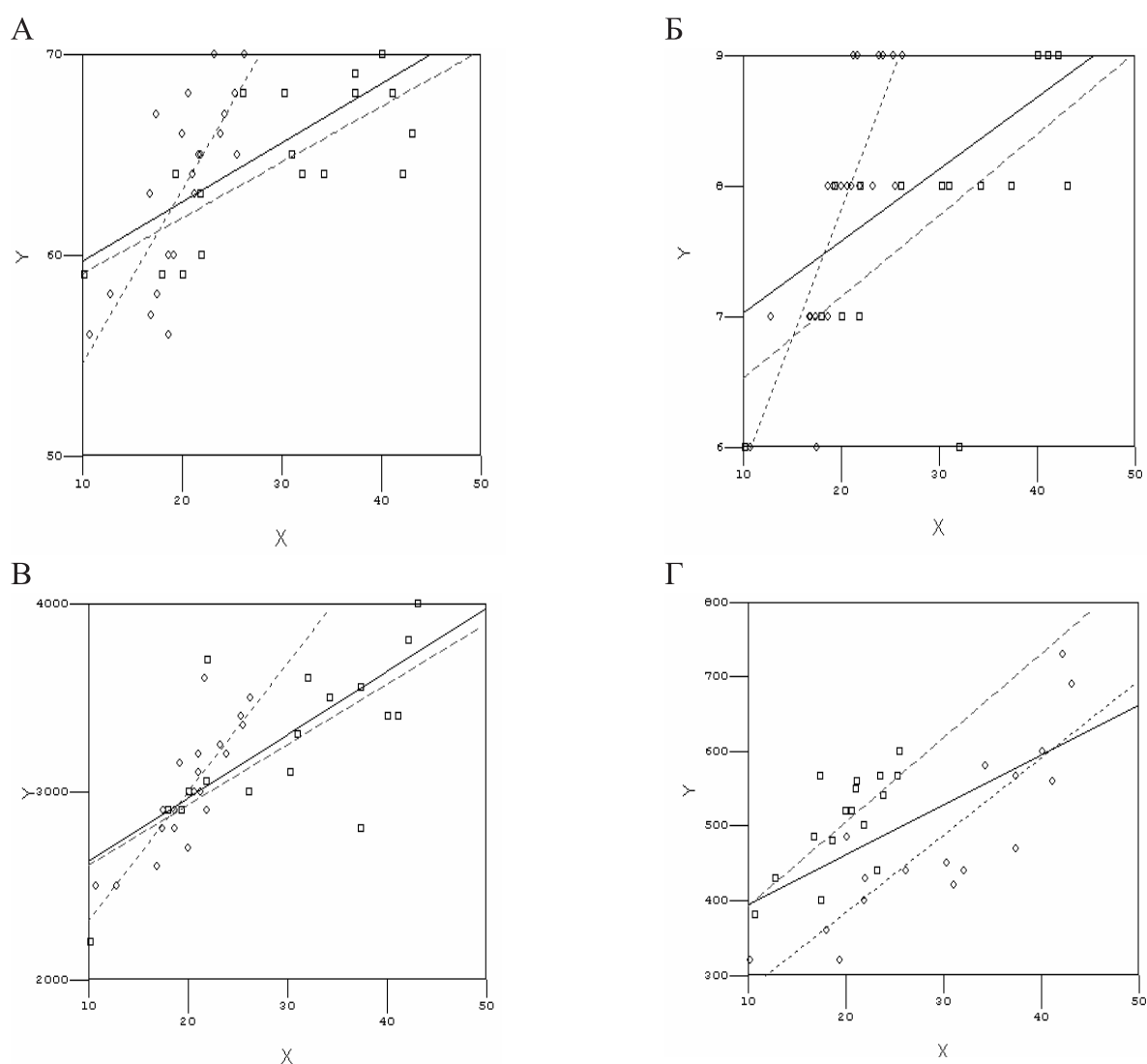


Рис. Зависимость ряда показателей от содержания свободного L-аргинина в сыворотке крови у женщин с плацентарной недостаточностью без урогенитальной инфекции (подгруппа 4А — пунктир), на ее фоне (подгруппа 4Б — точечная линия) и в целом (группа 4 — сплошная линия). По оси абсцисс (на всех панелях) — концентрация аргинина в мг/л; по оси ординат на панели А — содержание общего белка в крови, г/л; на панели Б — суммарная оценка состояния плода по данным КТГ (баллы по W. Fisher); на панели В — масса новорожденного, г; на панели Г — масса плаценты, г

соответственно 58,3 %, 58,8 % и 60,0 %, а в группе 3 — 20,8 %. Установлено, что при наличии ХУГИ уровень аргинина в подгруппах 4.1, 4.2 и 4.3 составил соответственно $21,6 \pm 1,8$ мг/л, $18,7 \pm 1,7$ мг/л и $19,3 \pm 0,7$ мг/л, а в группе 4 в целом (подгруппа 4Б) — $20,1 \pm 0,8$ мг/л. При отсутствии ХУГИ содержание аргинина было выше и составило в подгруппах 4.1, 4.2 и 4.3 соответственно $31,6 \pm 3,7$ мг/л, $26,0 \pm 2,5$ мг/л и $28,4 \pm 4,0$ мг/л, а в целом в группе 4 (подгруппа 4А) — $30,8 \pm 2,4$ мг/л (различия достоверны для подгрупп 4.1 и 4.2 и в целом для группы 4, $p < 0,05$). Следовательно, наиболее низкий уровень аргинина у женщин с ПН наблюдается в том случае, если у них имеется хроническая инфекция.

Регрессионный и корреляционный анализ

данных, полученных при исследовании женщин без ХУГИ (подгруппа 4А) и при наличии ХУГИ (подгруппа 4Б), выявил (рис.), что в обеих группах ряд показателей зависел от уровня аргинина в крови. Так, с уменьшением содержания аргинина в сыворотке крови линейно повышается общая прибавка массы тела за беременность, САД, ДАД, среднее АД, СДО в артериях пуповины, протромбиновый индекс, гематокрит, содержание фибриногена и сахара крови и линейно снижаются такие параметры как время свертывания крови, содержание белка в крови (рис., панель А), число эритроцитов, оценка функционального состояния плода по данным КТГ (рис., панель Б), масса (рис., панель В) и длина новорожденного, оценка

по шкале Апгар, а также диаметр, толщина и масса (рис., панель Г) плаценты.

Обсуждение результатов

По нашим данным, содержание свободного L-аргинина в сыворотке крови при неосложненном течении беременности не меняется в I триместре и возрастает во II, что совпадает с данными L. Goodrum и соавт. [8]. Повышение уровня аргинина во II триместре указывает на возможность увеличения синтеза NO. Последнее отмечено рядом авторов [8, 10]. Полагаем, что повышение содержания в крови аргинина обеспечивает оптимальный уровень синтеза NO и способствует физиологическому течению беременности. Нами впервые показано, что накануне родов содержание аргинина снижается, что может иметь отношение к индукции родовой деятельности.

В нашем исследовании установлено, что при ПН, протекающей с УЗ-признаками нарушения созревания плаценты, но без СЗРП и гипоксии плода (подгруппа 4.1), содержание аргинина такое же, как у здоровых беременных. Это означает, что ПН может формироваться под влиянием других причин, не связанных с системой L-аргинин–NO. Более того, сохранение при этом оптимального уровня синтеза NO, вероятно, может препятствовать развитию СЗРП и гипоксии плода. На это указывают данные A. Tranquilli и соавт. [7] о повышении содержания NO в околоплодных водах, что рассматривается ими как компенсаторный процесс на определенных этапах развития ПН. В то же время нами установлено, что при ПН, протекающей с СЗРП или с гипоксией плода, содержание свободного L-аргинина как предшественника NO снижено (в 1,6 и в 1,4 раза). Подобное снижение отмечено и P. Sieroszewski и соавт. [13]. Как известно, при СЗРП и гипоксии плода синтез NO снижен [7, 9, 10, 12, 14], что объясняется уменьшением активности NO-синтаз [9, 10], развитием ацидоза [14], повреждением транспортных систем для L-аргинина в плаценте [9] и дефицитом алиментарного L-аргинина [13, 14]. Мы склонны считать, что помимо указанных причин снижению синтеза NO при СЗРП и гипоксии плода способствует и гипоаргининемия. Независимо от причин, вызывающих снижение синтеза NO, дефицит NO, вероятнее всего, приводит к нарушению кровотока, что вызывает задержку развития плода и его гипоксию.

Снижение содержания аргинина в крови матери может быть связано с недостаточным его поступлением с пищей, неэффективным всасыванием в кишечнике, а также с утилизацией аргинина микрофлорой. Как известно [4, 6], при беремен-

ности возрастает инфицированность женщины, что подтверждают и наши данные. Нами впервые показано, что наличие ХУГИ снижает содержание аргинина в крови женщин с ПН в 1,5 раза. С учетом данных литературы [3], это, вероятно, связано с тем, что возбудители воспалительных заболеваний гениталий (в частности, энтеробактерии, микоплазмы) используют аргинин в качестве основного источника питания. Не исключено, что одновременно снижается и транспорт аргинина на фоне развития плацентита и хориоамнионита.

Выявленная нами взаимосвязь между уровнем аргинина и рядом клинико-лабораторных показателей у женщин с ПН согласуется с данными литературы о важной роли аргинина в развитии плода [5, 12, 13], в поддержании агрегатного состояния крови [2, 15] и адекватного кровотока у матери и плода [11].

Результаты исследований подтверждают мнение [5, 12, 13] о целесообразности включения в терапию ПН аргинина или других доноров NO. Полагаем, что также эффективно будет назначение средств, повышающих синтез аргинина в печени (гепатотропные препараты, ионы магния как активаторы ферментов орнитинового цикла), а при ПН, протекающей на фоне ХУГИ, антибактериальная терапия должна предшествовать назначению указанных средств.

Выводы

1. При физиологической беременности содержание аргинина возрастает во II триместре, а к моменту родов снижается до уровня, характерного для небеременных женщин.
2. Содержание аргинина в крови не меняется при ПН с нарушением созревания плаценты, но снижается при ПН с СЗРП или с гипоксией плода (в 1,4–1,6 раза) и на фоне ХУГИ (в 1,5 раза по сравнению с ПН при отсутствии инфекции).
3. У женщин с ПН при уменьшении содержания аргинина в крови ухудшаются показатели гемодинамики, системы гемостаза, а также параметры, отражающие состояние фетоплацентарного комплекса.
4. Гипоаргининемия имеет прямое отношение к формированию СЗРП и гипоксии плода при ПН, особенно при наличии инфекции. Это обосновывает целесообразность включения в комплексную терапию ПН средств, повышающих содержание L-аргинина и NO в организме матери.

Литература

1. Бенсон Дж. Хроматографический анализ аминокислот и пептидов на сферических смолах и его применение в биохимии и медицине / Бенсон Дж., Патерсон Дж. // Новые методы анализа аминокислот, пептидов и белков: пер.

- с англ. / Под ред. Овчинникова Ю.А. [и др.]. — М.: Мир, 1974. — С. 9–84.
2. Влияние L-аргинина на агрегацию тромбоцитов, функцию эндотелия и толерантность к физической нагрузке у пациентов со стабильной стенокардией напряжения / Созыкин А.В., Ноева Е.А., Балахонова Т.В. [и др.] // Тер. архив. — 2000. — № 8. — С. 24–27.
 3. Определитель бактерий Берджи: в 2-х т. / Ред. Хоулт Дж., Криг Н., Снит П.; Пер. с англ. под ред. Г.А. Заварзина. — М.: Мир, 1997.
 4. Цинзерлинг В.А. Перинатальные инфекции. (Вопросы патогенеза, морфологической диагностики и клинко-морфологических сопоставлений): практическое руководство / Цинзерлинг В.А., Мельникова В.Ф. — СПб.: Элби СПб, 2002. — 352 с.
 5. Эффективность применения L-аргинина в комплексной терапии ФПН / Буштырева И.О., Курочка М.П., Хоменко Ю.Б. [и др.] // Материалы VII Российского форума: «Мать и дитя». — М., 2005. — С. 38–39.
 6. Стан мікроекології статевих шляхів у практично здорових вагітних та при замерлій вагітності / Жабченко І.А., Лісяна Т.О., Коломійцева А.Г. [и др.] // Педіатрія, акушерство та гінекол. — 2000. — № 2. — С. 90–92.
 7. Amniotic levels of nitric oxide in women with fetal intrauterine growth restriction / Tranquilli A., Bezzeccheri V., Giannubilo S. [et al.] // J. Matern. Fetal Neonatal Med. — 2003. — Vol. 13, N 2. — P. 115–118.
 8. Arginine flux and nitric oxide production during human pregnancy and postpartum / Goodrum L., Saade G., Belfort M. [et al.] // J. Soc. Gynecol. Investig. — 2003. — Vol. 10, N 7. — P. 400–405.
 9. Casanello P., Sobrevia L. Intrauterine growth retardation is associated with reduced activity and expression of the cationic amino acid transport systems y+/hCAT-1 and y+/hCAT-2B and lower activity of nitric oxide synthase in human umbilical vein endothelial cells / Casanello P., Sobrevia L. // Circ. Res. — 2002. — Vol. 91, N 2. — P. 127–134.
 10. Krukier I. Production of NO and oxidative destruction of proteins in the placenta during normal pregnancy and placental insufficiency / Krukier I. // Bull. Exp. Biol. Med. — 2003. — Vol. 136, N 4. — P. 369–371.
 11. Neri I. Effects of acute L-arginine infusion on non-stress test in hypertensive pregnant women / Neri I., Blasi I., Facchinetti F. // Matern. Fetal Neonatal Med. — 2004. — Vol. 16, N 1. — P. 23–26.
 12. Nitric oxide activity in women with intrauterine growth restriction treated by L-arginine / Karowicz-Bilinska A., Kowalska-Koprek U., Suzin J. [et al.] // Ginekol Pol. — 2003. — Vol. 74, N 8. — P. 612–617.
 13. Sieroszewski P. Ultrasound evaluation of intrauterine growth restriction therapy by a nitric oxide donor (L-arginine) / Sieroszewski P., Suzin J., Karowicz-Bilinska A. // J. Matern. Fetal Neonatal Med. — 2004. — Vol. 15, N 6. — P. 363–366.
 14. Small for gestational age: A new insight? / Stearns M., Jackson C., Landauer J. [et al.] // Med. Hypotheses. — 1999. — Vol. 53, N 3. — P. 186–189.
 15. Walter R. Pharmacological concentrations of arginine influence human whole blood viscosity independent of nitric oxide synthase activity in vitro / Walter R., Mark M., Reinhart W. // Biochem. and Biophys. Res. Commun. — 2000. — Vol. 3. — P. 687–691.

Статья представлена А.В. Арутюняном
НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН,
Санкт-Петербург

THE FREE L-ARGININ BLOOD CONCENTRATION IN WOMEN WITH PLACENTAL INSUFFICIENCY

Chlybova S.V., Tsirkin V.I., Dvoryanskiy S.A.

■ **Summary:** The concentration of arginin in blood serum estimated by means of chromatography using aminoacid analysator LC5001 increased during second trimester in healthy pregnant women but before delivery decreased till the level of non-pregnant. In chronic placental insufficiency (PI) the concentration of arginin did not change but decreased (1,4–1,6 times) in presence of urogenital infection, IUGR or fetal hypoxia. There was revealed the connection between arginin blood concentrations and some clinical-laboratory indices. All of it indicates that arginin concentrations determinate clinical symptoms of PI and treatment tactics.

■ **Key words:** system L-arginin–NO; pregnancy; placental insufficiency; urogenital infection