

ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ В КРОВИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ КАК МАРКЕР ПОВРЕЖДЕНИЯ ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ, ОСЛОЖНЕННОЙ ГЕСТОЗОМ

КИСЕЛЕВА Н.И.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра акушерства и гинекологии

Резюме. Целью исследования явилась оценка содержания циркулирующих эндотелиальных клеток в крови как маркера дисфункции эндотелия у беременных с неосложненным и осложненным гестозом течением беременности.

Обследована 131 беременная с различными клиническими проявлениями гестоза, 33 женщин с физиологическим течением беременности в сроки беременности от 30 до 39 недель. Количество циркулирующих эндотелиальных клеток в крови беременных определяли по методу Hladovec J. et al. (1978). При наличии гестоза у беременных по сравнению со здоровыми пациентками выявлено статистически значимое повышение количества свободных эндотелиальных клеток в крови при снижении процента жизнеспособных ЦЭК. При этом увеличение количества циркулирующих в крови эндотелиальных клеток коррелировало со степенью тяжести патологии ($r=0,72$, $p<0,05$). Минимальный уровень циркулирующих эндотелиальных клеток наблюдался у беременных с водянкой (40 ± 18 кл/100 мкл, $p<0,001$), тогда как при нефропатии легкой степени данный показатель возрастал в 1,8 раза ($p<0,001$), при нефропатии средней и тяжелой степени – в 2,1 раза ($p<0,001$). Выявлена корреляционная зависимость между уровнем циркулирующих в крови эндотелиальных клеток и сроком беременности, при котором возникли первые клинические проявления гестоза ($r=-0,47$, $p<0,05$), длительностью течения гестоза ($r=-0,41$, $p<0,05$), показателями артериального давления, протеинурией ($r=0,39$, $p<0,05$) и выраженностью отеков ($r=0,42$, $p<0,05$).

Таким образом, определение ЦЭК позволяет оценить степень повреждения сосудистой стенки при гестозе.

Ключевые слова: гестоз, дисфункция эндотелия, циркулирующие эндотелиальные клетки.

Abstract. The study was aimed at the analysis of the concentration of circulating endothelial cells in blood as marker of endothelial dysfunction in pregnant women with physiological and complicated by gestosis pregnancy course.

131 patients with different clinical picture of gestosis, 33 patients with the physiological pregnancy course (30-39 weeks) have been examined. In the case of pregnancy complicated by gestosis the statistically significant elevation of the number of free endothelial cells in blood accompanied by the reduction of vital CEC percent has been detected in comparison with the healthy women. The elevation of the number of circulated endothelial cells in blood correlated with the degree of pathology severity ($r=0,72$, $p<0,05$). The correlated dependence between the level of

circulated endothelial cells in blood and the term of pregnancy when the first clinical signs of gestosis ($r=0,47$, $p<0.05$) have appeared, the prolongation of gestosis course ($r=0,41$, $p<0.05$), values of arterial pressure, proteinuria ($r = 0,39$, $p< 0.05$) and edema expression ($r = 0.42$, $p< 0.05$) have been detected.

Since, the determination of CEC lets to analyze the degree of the vascular wall damage in gestosis.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210038, г.Витебск, ул. П.Бровки, д.19, корп. 4, кв. 73, р.тел. 23-01-07, д.тел. 64-39-67. -

В настоящее время гестоз является одной из самых актуальных проблем акушерства ввиду широкой распространенности, сложности этиопатогенеза, недостаточной эффективности лечебно-профилактических мероприятий, больших экономических затрат на проведение интенсивной терапии и реанимации беременных и родильниц, высоких показателей перинатальной и материнской заболеваемости и смертности [1, 7]. Поэтому поиск дальнейших путей ранней диагностики гестоза, профилактики, рационального лечения и реабилитации – важная задача современного акушерства.

Фундаментальные исследования последнего десятилетия убедительно доказали значение сосудистых расстройств и изменений в системе гемостаза в патогенезе гестоза [5, 10]. В связи с этим в настоящее время внимание исследователей привлекает возможность комплексной оценки функционального состояния эндотелия у беременных женщин, важнейшими функциями которого являются поддержание гемодинамического гомеостаза, регуляция реологических свойств крови и структурного гомеостаза сосудистой стенки [9, 12, 13]. Повреждение эндотелия сопровождается нарушением вышеуказанных функций, что приводит к расстройству кровотока в различных органах и тканях и, как следствие, прогрессирующим нарушениям жизненно важных функций организма [10].

Современные методы оценки состояния эндотелия либо чрезвычайно трудоемки, либо требуют применения специальных дорогостоящих реагентов, что существенно затрудняет их использование в клинической практике. Наиболее простым, достаточно информативным и доступным для лечебно-профилактических учреждений является определение в крови циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК) как маркера повреждения эндотелия сосудистой стенки [2, 6, 8].

Определение ЦЭК имеет большое практическое значение, поскольку позволяет клиницисту не только проводить раннюю диагностику гестоза, оценку степени его тяжести, осуществлять контроль над эффективностью проводимой терапии, но и открывает перспективы поиска лекарственных средств, обладающих специфическим эндотелиопротективным действием, применение которых замедляет либо приостанавливает развитие каскада патофизиологических изменений, инициируемых повреждением сосудистой стенки [3].

Целью нашей работы явилась оценка содержания циркулирующих эндотелиальных клеток в крови как маркера дисфункции эндотелия у беременных с неосложненным и осложненным гестозом течением беременности.

Методы

Обследовано 164 беременных женщины в возрасте от 19 до 35 лет (средний возраст $25,4 \pm 5,9$ года) в сроки беременности 30-39 недель, разделенных на четыре группы. Первую группу составили 25 женщин, гестоз у которых проявлялся только отеками. Во вторую группу (80 человек) были включены женщины, течение беременности у которых осложнилось развитием нефропатии легкой степени. В третью группу включили 26 женщин с нефропатией средней и тяжелой степени. Контрольную группу составили 33 женщины с неосложненным гестозом течением беременности.

В работе нами использована Российская классификация гестозов [1, 7], оценка степени тяжести гестоза проводилась по шкале Goeк в модификации Г.М. Савельевой [7].

Средний возраст пациенток I группы составил $24,9 \pm 4,0$ года. Экстрагенитальная патология имела место у 80,0% обследованных, в том числе заболевания сердечно-сосудистой системы у 20,0%; заболевания щитовидной железы у 44,0%; нарушения жирового обмена у 28,0%; заболевания почек у 4,0%; заболевания ЛОР-органов у 4,0%. Гинекологический анамнез был отягощен у 68,0% беременных. Первобеременных первородящих было 36,0%; повторнобеременных – 64,0%, 36,0% из которых предстояли первые роды. Осложненное течение беременности имело место у 100% женщин, при этом у 68,0% как в первой, так и во второй половине. Срок возникновения гестоза составил $34,5 \pm 2,4$ недели, средняя длительность течения до момента обследования - $2,0 \pm 0,9$ недели, прибавка массы тела - $11,6 \pm 5,2$ кг.

Средний возраст пациенток II группы - $25,6 \pm 5,5$ года. Экстрагенитальная патология отмечалась у 92,5% беременных: заболевания сердечно-сосудистой системы - у 42,5%; заболевания щитовидной железы - у 62,5%; нарушения жирового обмена - у 38,8%; заболевания почек - у 15,0%, заболевания ЛОР-органов – у 5,0%. Гинекологический анамнез был отягощен у 66,3% беременных. Первобеременных первородящих было 51,3%; повторнобеременных – 48,7%, из них 17,5% предстояли первые роды. Осложненное течение беременности имело место у 100% женщин, при этом у 68,8% как в первой, так и во второй половине. Срок возникновения гестоза

составил $34,1 \pm 2,8$ недели, средняя длительность течения до момента обследования - $2,0 \pm 1,1$ недели, прибавка массы тела - $12,2 \pm 4,5$ кг.

Средний возраст пациенток III группы - $26,0 \pm 9$ лет. Экстрагенитальная патология имела место у 92,3% обследованных, в том числе заболевания сердечно-сосудистой системы у 57,7%; заболевания щитовидной железы у 34,6%; нарушения жирового обмена у 57,7%; заболевания почек у 21,4%, заболевания ЛОР-органов – у 11,5%. Гинекологический анамнез был отягощен у 80,8% беременных. Первородящих было 42,3%; повторнобеременных – 57,7%, из них первородящих – 15,4%. Осложненное течение беременности имело место у 100% женщин, при этом у 73,1% как в первой, так и во второй половине беременности. Срок возникновения гестоза составил $32,5 \pm 2,7$ недели, средняя длительность течения до момента обследования - $2,9 \pm 1,6$ недели, прибавка массы тела - $12,7 \pm 5,1$ кг.

Средний возраст пациенток IV группы - $25,4 \pm 6,4$ года. Экстрагенитальная патология встречалась у 81,8 % обследованных; заболевания сердечно-сосудистой системы у 27,3 %; заболевания щитовидной железы у 18,2 %; нарушения жирового обмена у 21,2 %; заболевания почек у 6,1 %; заболевания ЛОР-органов у 3,0 %. Гинекологический анамнез был отягощен у 54,5 % беременных. Первородящих было 57,6%; повторнобеременных – 42,4%, из них 12,1% предстояли первые роды. Прибавка массы тела составила $11,6 \pm 5,2$ кг.

Количество циркулирующих эндотелиальных клеток в крови беременных определяли по методу Hladovec J. et al. [11]. Метод основан на изоляции клеток эндотелия вместе с тромбоцитами с последующим осаждением последних с помощью аденозиндифосфата. Подсчет количества ЦЭК проводили во всем объеме камеры Горяева (10 мкл). Жизнеспособные эндотелиальные клетки просматривались как большие (35×50 мкм) полигональные клетки с овальным, расположенным в центре ядром и более бледной окраской по сравнению с нежизнеспособными клетками эндотелия (каркасы эндотелиоцитов). От одной пациентки считали 10 проб по 10 мкл обогащенной клетками плазмы, суммировали данные и находили количество ЦЭК (жизнеспособных и нежизнеспособных) в 100 мкл обогащенной клетками плазмы [4].

Статистическую обработку полученного в ходе исследования материала проводили с помощью персональной компьютерной техники с использованием стандартных пакетов прикладных программ («Statistica for Windows – 6» и др.). Результаты представлены в виде $M \pm s$, где M – среднестатистическое значение, s – среднее квадратическое отклонение. При сравнении средних величин двух групп первоначально определяли характер распределения значений переменных. В случае нормального распределения использовали непарный t -критерий Стьюдента, при ненормальном распределении значений – непараметрический критерий Манна-Уитни. Во всех процедурах статистического анализа уровень значимости p принимали равным 0,05. Статистический анализ результатов исследования включал также проведение описательного и корреляционного анализов.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования циркулирующих клеток эндотелия у обследованных пациенток представлены в таблице 1.

Таблица 1

Содержание циркулирующих в крови эндотелиальных клеток у обследованных пациенток

Группы обследованных	n	Количество эндотелиоцитов кл/100 мкл	p	Жизнеспособность, %	p
I группа - водянка беременных	25	40 ± 18	$P_{1-4} < 0,001$	$90,0 \pm 10,2$	$P_{1-4} = 0,0002$
II группа - нефропатия легкой степени	80	73 ± 27	$P_{2-4} < 0,001$ $P_{2-1} = 0,02$ $P_{2-3} = 0,008$	$86,7 \pm 12,0$	$P_{2-4} = 0,0001$ $P_{2-1} = 0,38$ $P_{2-3} = 0,18$
III группа - нефропатия ср. и тяжелой степени	26	85 ± 17	$P_{3-4} < 0,001$ $P_{3-1} = 0,7$	$82,5 \pm 9,5$	$P_{3-4} = 0,0007$ $P_{3-1} = 0,7$
IV группа - физиологическая беременность	33	21 ± 4		$95,7 \pm 5,0$	

Примечание: p- достоверность между группами обследованных пациенток.

Как видно из представленных в таблице 1 данных, при физиологическом течении беременности в третьем триместре количество циркулирующих в крови эндотелиальных клеток составило 21 ± 4 кл/100 мкл. При наличии гестоза у всех обследованных беременных по сравнению со здоровыми пациентками выявлено статистически значимое повышение количества свободных эндотелиальных клеток в крови при снижении процента жизнеспособных ЦЭК. При этом увеличение количества циркулирующих в крови эндотелиальных клеток отмечалось при усугублении тяжести патологии. Минимальный уровень циркулирующих эндотелиальных клеток наблюдался у беременных с водянкой (40 ± 18 кл/100 мкл, $p < 0,001$), тогда как при нефропатии легкой степени данный показатель возрастал в 1,8 раза ($p < 0,001$), а при нефропатии средней и тяжелой степени – в 2,1 раза ($p < 0,001$). Количество жизнеспособных ЦЭК при нарастании тяжести данной патологии по сравнению со здоровыми беременными статистически значимо снижалось. У пациенток с водянкой оно составило $90 \pm 10,2\%$ ($p < 0,001$); с нефропатией легкой степени – $86,7 \pm 12,0\%$ ($p < 0,001$); с нефропатией средней и тяжелой степени – $82,5 \pm 9,5\%$ ($p < 0,001$). По-видимому, повышенное внутрисосудистое артериальное давление, высокая скорость кровотока вызывают длительное механическое повреждение эндотелиоцитов и, наравне с другими факторами, способствует нарушению межклеточных связей и быстрой гибели клеток.

Корреляционный анализ показал прямую зависимость между тяжестью гестоза и количеством циркулирующих в крови эндотелиальных клеток ($r=0,72$, $p<0,05$), что свидетельствует о нарастании сосудистых расстройств по мере прогрессирования тяжести данного осложнения беременности. Полученные нами данные согласуются с результатами исследования других авторов [6,8].

У беременных с чистым гестозом количество циркулирующих в крови эндотелиальных клеток составило 38 ± 18 на 100 мкл, что статистически значимо выше, чем при физиологической беременности ($p<0,001$), но несколько ниже, чем во всей группе беременных с гестозом в целом (69 ± 28 кл/100 мкл, $p<0,001$) (рис.1).

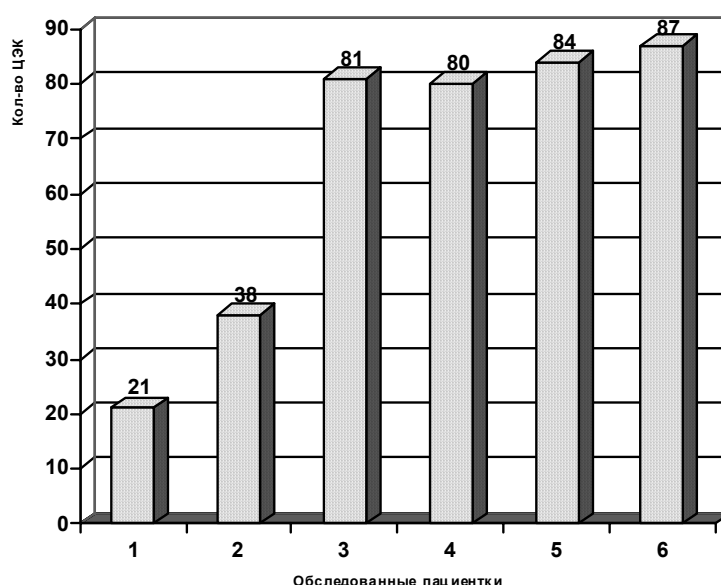


Рис. 1 Количество циркулирующих в крови эндотелиальных клеток у женщин с физиологическим течением беременности, беременных с чистым и сочетанным гестозом

- 1- здоровые беременные с физиологическим течением беременности
- 2- беременные с чистым гестозом
- 3- беременные с сочетанным гестозом
- 4- беременные с гестозом на фоне пиелонефрита
- 5- беременные с гестозом на фоне нарушения жирового обмена
- 6- беременные с гестозом на фоне артериальной гипертензии

При сочетанном гестозе уровень десквамированных эндотелиальных клеток в крови почти в 4 раза превышал данный показатель при физиологической беременности ($p<0,001$), в 2 раза – при чистом гестозе ($p=0,04$) и в 1,2 раза – при гестозе в целом ($p=0,012$). При гестозе на фоне заболеваний почек количество десквамированных эндотелиальных клеток в крови составило 80 ± 19 в 100 мкл; на фоне нарушений жирового обмена - 84 ± 24 в 100 мкл; на фоне артериальной гипертензии - 87 ± 20 в 100 мкл, что было статистически значимо выше, чем при чистом гестозе ($p<0,001$). Следовательно, при чистом и сочетанном гестозе изменения в крови показателя

ЦЭК носят неоднородный характер. Это обусловлено тем, что имеющаяся у матери экстрагенитальная патология (артериальная гипертензия, заболевания почек, избыточный вес) сопровождается эндотелиальной дисфункцией и является предрасполагающим фактором, приводящим к выраженной эндотелиальной дисфункции при гестозе.

Нами установлена умеренная отрицательная корреляционная зависимость между уровнем циркулирующих в крови эндотелиальных клеток и продолжительностью течения гестоза ($r=-0,41$, $p<0,05$). Это может быть связано со структурной адаптацией эндотелия сосудов при длительных гемодинамических нарушениях и возможным эндотелийпротекторным действием препаратов, применяемым в процессе лечения пациенток с данным осложнением беременности.

Уровень циркулирующих в крови эндотелиальных клеток зависит не только от степени тяжести и продолжительности гестоза, но и от срока беременности, при котором проявляются первые симптомы заболевания. У беременных с различной степенью тяжести гестоза наблюдается умеренная корреляционная зависимость между уровнем ЦЭК и сроком гестации, когда появились первые клинические проявления данного осложнения беременности ($r=-0,47$, $p<0,05$). Развитие гестоза во втором, начале третьего триместра беременности происходит, как правило, на фоне имеющейся у матери экстрагенитальной патологии. Очевидно, существующие волемиические и сосудистые расстройства при раннем возникновении гестоза способствуют более тяжелому течению осложнения, которое сопровождается статистически значимым повышением в крови уровня ЦЭК.

Нами была проанализирована зависимость уровня ЦЭК от такого показателя тяжести течения гестоза, как артериальная гипертензия. Установлена умеренная положительная корреляционная зависимость между уровнем циркулирующих в крови эндотелиальных клеток у беременных с различными степенями тяжести гестоза и показателями систолического ($r=0,68$, $p<0,05$), диастолического ($r=0,63$, $p<0,05$), и среднего ($r=0,69$, $p<0,05$) артериального давления. Полученные данные соответствуют данным литературы о наличии положительной корреляционной связи между систолическим, диастолическим артериальным давлением и индексом резистентности в маточных артериях [14]. Главным патогенетическим аспектом расстройства микроциркуляции, составляющей 85% сосудистой системы, как раз и является повышение резистентности периферических сосудов к гемодинамическим воздействиям, которые приводят к развитию нарушений в сосудистом звене гемостаза [5].

У беременных с отеками изменения гемодинамических показателей наиболее стабильны, поэтому, очевидно, уровень циркулирующих эндотелиальных клеток мало отличался от значения в группе здоровых беременных в III триместре беременности. С увеличением артериального давления происходит статистически значимое повышение уровня циркулирующих в крови эндотелиальных клеток, соответственно степени тяжести гестоза (рис.2).

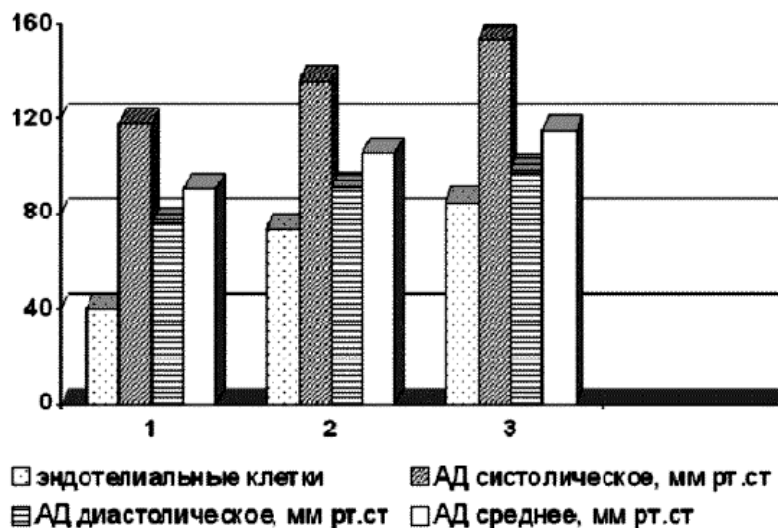


Рис.2 Количество циркулирующих в крови эндотелиальных клеток и показатели артериального давления у беременных с разными клиническими вариантами гестоза: 1 - беременные с водянкой; 2- беременные с нефропатией легкой степени; 3- беременные с нефропатией средней и тяжелой степени.

Так, у беременных с нефропатией легкой степени при среднем значении систолического $135,3 \pm 6,0$ мм рт.ст., диастолического – $91,2 \pm 5,5$ мм рт.ст., среднего - $105,9 \pm 5,0$ мм рт.ст. артериального давления уровень циркулирующих в крови эндотелиальных клеток составил 73 ± 27 в 100мкл; у беременных с нефропатией средней и тяжелой степени при средних значениях артериального давления $152,5 \pm 19,0$ мм рт.ст на $97,9 \pm 7,0$ мм рт.ст. и среднем артериальном давлении $115,3 \pm 10,3$ мм рт.ст - 85 ± 17 в 100 мкл.

Нами проанализирована взаимосвязь уровня циркулирующих в крови эндотелиальных клеток не только с гемодинамическими, но и с другими показателями степени тяжести заболевания. Установлена достоверная положительная корреляция между уровнем циркулирующих в крови эндотелиальных клеток и уровнем протеинурии ($r=0,39$, $p<0,05$), степенью выраженности отеков ($r=0,42$, $p<0,05$).

Таким образом, при гестозе у беременных наблюдается увеличение циркулирующих в крови эндотелиоцитов. Повышенное количество ЦЭК служит показателем нарушения целостности эндотелиального слоя и свидетельствует о выраженности сосудистых расстройств [11]. Количество эндотелиальных клеток у пациенток с водянкой свидетельствует об умеренных сосудистых повреждениях, а у пациенток с нефропатией разной степени тяжести – о значительных нарушениях в состоянии эндотелиальной системы.

Заключение

1. У беременных с гестозом повышен в крови уровень циркулирующих эндотелиальных клеток, который нарастает с усугублением тяжести течения патологического процесса ($r=0,72$, $p<0,05$).

2. При сочетанном гестозе уровень циркулирующих в крови эндотелиальных клеток статистически значимо выше, чем при гестозе без сопутствующей экстрагенитальной патологии ($p=0,04$).

3. Содержание жизнеспособных циркулирующих эндотелиальных клеток у беременных с различными клиническими вариантами гестоза статистически значимо ниже показателей у здоровых беременных ($p<0,001$).

4. Выявлена корреляционная зависимость между уровнем циркулирующих в крови эндотелиальных клеток и сроком беременности, при котором возникли первые клинические проявления гестоза ($r=-0,47$, $p<0,05$), длительностью течения гестоза ($r=-0,41$, $p<0,05$).

5. Эндотелийзависимые клинические проявления гестоза: артериальная гипертензия (систолическое, диастолическое, среднее артериальное давление), отеки и протеинурия коррелируют с уровнем циркулирующих в крови эндотелиальных клеток.

6. В программу обязательного обследования беременных женщин целесообразно включить определение уровня циркулирующих в крови эндотелиальных клеток с целью доклинической диагностики, прогноза развития и оценки тяжести течения гестоза.

Литература

1. Диагностика, профилактика и лечение гестозов: методические рекомендации / Мин-во здравоохран. Респ. Беларусь; редкол. О. Н. Харкевич [и др.]. – Минск, 2001. – 32 с.

2. Диагностическая ценность определения десквамированных эндотелиальных клеток крови / Н. Н. Петрищев [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2001. – №1. – С.50-52.

3. Зануйлина, М. С. Эндотелиальная дисфункция и ее маркеры при гестозе / М. С. Зануйлина, Н. Н. Петрищев // Журнал акуш. и женских болезней. – 1997. – Вып. 1. – С. 59 – 62.

4. Инструкция на метод определения количества циркулирующих эндотелиальных клеток в плазме крови: утв. МЗ Республики Беларусь 21.06.05. – Минск, 2005. – 4 с.

5. Петрищев, Н. Н. Тромборезистентность сосудов / Н. Н. Петрищев. – СПб.: "АНТ-М", 1994. – 130 с.

6. Свечников, П. Д. Определение содержания циркулирующих в крови эндотелиоцитов при беременности, осложненной гестозом / П. Д. Свечников // 60 лет содружества СПбГМУ им. акад. И.П.Павлова и больницы Святого Великомученика Георгия: сб. научн. Работ. – СПб., 1998. – С. 104-105.

7. Современные подходы к диагностике, профилактике и лечению гестоза: методические рекомендации / М-во здравоохранения Рос. Федерации; редкол.: Г. М. Савельева [и др.]. – Москва, 1997. – 27 с.

8. Тимофеева, Т. В. Эндотелиальная дисфункция и ее маркеры при гестозе, протекающем с нарушением функций печени / Т. В. Тимофеева, Н. Н. Петрищев, М. А. Тарасова // Мать и дитя: материалы V Российского форума, Москва, 6-10 октября 2003 / МЗ и соц.разв. РФ, РАМН, научн. центр акуш., гинек. и перинат. РАМН; редкол.: В.И.Кулаков [и др.]. – Москва, 2003. – С. 232- 233.

9. Шебеко, В. И. Эндотелий и система комплемента / В. И. Шебеко. – Витебск: ВГМУ, 1999. – 149 с.

10. Эндотелиальная дисфункция при гестозе. Патогенез, генетическая предрасположенность, диагностика и профилактика: методические рекомендации / Е. В. Мозговая [и др.]; под ред. Е. В. Мозговой. – СПб.: ООО «Издательство Н-Л», 2003. – 32 с.

11. Circulating endothelium as an indication of vascular injury / C. A. Bouvier [et al.] // Thrombos. Diathes. Haemorrh. – 1970. – Vol. 40. – P.163.

12. Effect of cilazapril and indomethacin on endothelial dysfunction in the aortas of spontaneously hypertensive rats/ G. M. Rubai [et al.] // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 1993. – Vol.22, №5. – P.23-30.

13. Hladovec, J. Circulating endothelial cells as a sign of vessels wall lesions / J. Hladovec // Physiol. Bohemoslov. – 1978. – Vol. 27, №2. – P.140-144.

14. Mechanism and consequences of cell activation in the microcirculation / M. C. Mazzoni [et al.] // Cardiovasc. Res. – 1996. – Vol.32, №4. – P. 709-719.

15. Preeclampsia and related disorders. Clinical aspects and relevance of endothelin and nitric oxide / S. A Friedman [et al.] // Clin. Perinatol. – 1995. – Vol. 22, № 2. – P.343 – 355.