

УДК 618.3:616.33-008.3-092:612.127.4

## КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ И МЕТАБОЛИЗМА МОНООКСИДА АЗОТА ДЛЯ ОЦЕНКИ ТЕЧЕНИЯ ГЕСТОЗА

Н.И. Киселева, К.М.Н.

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Целью настоящего исследования явилось выявить характер изменений показателей липопероксидации, метаболизма монооксида азота у пациенток с гестозом и сопоставить их со степенью тяжести, уровнем артериального давления, длительностью течения. Установлено, что у пациенток с гестозом в отличие от здоровых беременных женщин наблюдается активация процессов ПОЛ, снижение активности антиоксидантных систем и NO- продуцирующей функции эндотелия. С прогрессированием тяжести патологии, увеличением длительности течения изменения усугубляются. Выявлена отрицательная корреляционная связь между показателями, характеризующими ПОЛ и уровнем стабильных продуктов деградации NO в плазме крови (для ДК  $r=-0,42$ ,  $p<0,05$ ; для МДА  $r=-0,47$ ,  $p<0,05$ ).

**Ключевые слова:** гестоз, перекисное окисление липидов, антиоксидантная активность, монооксид азота.

The aim of this study was to detect the character of changing values of lipoperoxidation, metabolism of nitric monoxide in patients with gestosis and compare them with the degree of severity, the level of arterial pressure and the prolongation of the course. It has been established that the activation of LPO processes, the reduction of antioxidant system activity and NO-producing function of endothelium is observed in patients with gestosis in comparison with the control group. With the progressing of the pathology severity, prolongation of the course the changes of the values increase. Statistically significant negative correlation between LPO values and the level of stable products of NO degradation in blood plasma (for DC  $r=-0,42$ ,  $p<0,05$ ; for MDA  $r=-0,47$ ,  $p<0,05$ ) has been detected.

**Key words:** gestosis, lipid peroxidation, antioxidant activity, nitric monoxide.

Несмотря на развитие современной науки, появление новых методов диагностики и лечения, проблема гестоза не потеряла своей актуальности. Разноречивость мнений исследователей по вопросам этиопатогенеза данного осложнения беременности и родов существенно осложняет проведение профилактических и лечебных мероприятий.

В настоящее время большое значение в патогенезе гестозов уделяют нарушению функции эндотелия, который обеспечивает динамическое равновесие между вазодилатирующими и вазоконстрикторными факторами, регулирует рост и пролиферацию субэндотелиальных клеточных и неклеточных структур, синтез и ингибирование факторов фибринолиза и агрегации тромбоцитов, выработку про- и противовоспалительных факторов, сосудистую проницаемость [15,16].

В последние годы сложилось представление об эндотелиальной дисфункции как о состоянии эндотелия, при котором имеется недостаточная продукция монооксида азота (NO). Такое представление вполне корректно, поскольку NO принимает участие в регуляции практически всех функций эндотелия и является фактором, наиболее чувствительным к повреждению [7].

Одной из главных причин нарушения образования и/или биодоступности NO является избыточ-

ное образование свободных радикалов [13]. В ряде исследований показано, что NO, синтезируемый в достаточных количествах, может разрушаться супероксиданион-радикалом с образованием конечных метаболитов NO – нитратов и нитритов [14].

До сих пор остается открытым вопрос о взаимодействии систем NO и перекисного окисления липидов (ПОЛ) при развитии гестоза. Изучение основ окислительного повреждения эндотелия, как важной субстанции, отвечающей за баланс вазорелаксирующих и вазоконстрикторных реакций, важно для понимания патогенеза гестоза и разработки новых методов лечения данной патологии.

Целью настоящего исследования явилось выявить характер изменений показателей липопероксидации, метаболизма NO у пациенток с гестозом и сопоставить их с клиническими данными (степенью тяжести, уровнем артериального давления, длительностью течения).

### Материал и методы исследования

Исследования были проведены у 139 беременных с гестозом (I группа -34 женщины с водянкой беременных; II группа – 84 женщины с нефропатией легкой степени; III группа – 21 женщина с нефропатией средней и тяжелой степени) и 32 женщин с физиологическим течением беременности.

Все обследованные беременные были сопоставимы по сроку беременности, возрасту, сопутствующей патологии, паритету. В работе нами использована Российская классификация гестозов, оценка степени тяжести патологии проводилась по шкале Goeck в модификации Г.М. Савельевой [10].

Кровь для исследования брали из локтевой вены при поступлении в стационар до проведения терапии. Диеновые конъюгаты (ДК) в плазме крови определяли методом Гаврилова В.Б. и соавт.[4] после экстракции липидов смесью гептана в изопропиловом спирте. Содержание ДК в пробе рассчитывали, учитывая величину молярного коэффициента экстинкции при 232 нм, для сопряженных кислот равно  $2,2 \times 10^{-5}$  смПН<sub>с</sub>мПН<sub>н</sub>. Малоновый диальдегид (МДА) определяли по методу Стальной И.Д., Гаришвили Т.Г.[12] в модификации Андреевой Л.И. и соавт. [2] при помощи 0,8% тиобарбитуровой кислоты. Количество МДА рассчитывали, учитывая молярный коэффициент экстинкции триметинового комплекса  $1,56 \times 10^{-5}$  смПН<sub>с</sub>мПН<sub>н</sub>. Концентрацию общих липидов плазмы крови определяли набором фирмы «Лаксма» (Чехия), общий белок – биуретовым методом. Общую АОА плазмы крови определяли по методу Клебанова Г.И. и соавт.[5]. Метод основан на оценке способности плазмы крови к подавлению  $Fe^{1+}$  зависимого ПОЛ в желточных липопротеинах *in vitro*.

Концентрацию стабильных продуктов деградации монооксида азота в плазме крови определяли по методу Грисса. Конверсию нитратов в нитриты осуществляли цинковой пылью, обработанной аммиачным комплексом сульфата меди, которую добавляли в пробирку с исследуемой плазмой [11].

Статистическую обработку полученного в ходе исследования материала проводили с помощью персональной компьютерной техники с использованием стандартных пакетов прикладных программ («Statistica for Windows – 6»). Результаты представлены в виде  $M \pm s$ , где  $M$  – среднестатистическое значение,  $s$  – среднее квадратическое отклонение. При нормальном распределении значений использовали непарный  $t$ -критерий Стьюдента, при ненормальном – непараметрический критерий Манна-Уитни. Во всех процедурах статистического анализа уровень значимости  $p$  принимали равным 0,05.

### Результаты и их обсуждение

Результаты определения уровня промежуточных (ДК) и конечных (МДА) продуктов ПОЛ, общей АОА плазмы крови и стабильных продуктов деградации NO (нитратов/нитритов) у пациенток с физиологическим течением беременности и гестозом приведены в таблице 1.

Данные, представленные в таблице 1, свидетельствуют о наличии статистически значимых различий в значении показателей ПОЛ, АОА и NO в группах женщин с неосложненным и осложнен-

Таблица 1. Содержание ДК, МДА, стабильных продуктов деградации NO в плазме крови и АОА у здоровых беременных и беременных с гестозом

Группы обследованных пациенток	ДК, нМг/лип	МДА, нМг/белка	АОА, %	Нитраты / нитриты, мкмоль/л
Здоровые беременные (n=32)	65,84±19,36	74,69±18,93	46,67±9,03	31,73±8,27
Беременные с гестозом	108,93±57,87* (n=139)	114,58±34,24* (n=139)	38,99±11,51** (n=139)	23,04±4,86* (n=108)

Примечание: \* - достоверность различий по сравнению со здоровыми беременными  $p < 0,001$ ; \*\* -  $p < 0,05$ .

ным гестозом течением беременности. Так, содержание МДА и ДК в плазме крови у беременных с гестозом на 50,2% ( $p < 0,001$ ) и 65,4% ( $p < 0,001$ ) соответственно превышало аналогичные показатели здоровых лиц, общая АОА была на 15,8% ниже ( $p = 0,021459$ ), уровень стабильных продуктов деградации NO – на 27,4% ниже ( $p < 0,001$ ). Следовательно, пациентки с гестозом отличаются от здоровых беременных женщин не только активацией процессов ПОЛ и снижением активности антиоксидантных систем, но и снижением NO- продуцирующей функции эндотелия.

Нами изучены показатели ПОЛ, АОА и нитратов/нитритов плазмы крови у пациенток с различными клиническими вариантами гестоза (таблица 2).

Таблица 2. Содержание ДК, МДА, нитратов/нитритов и АОА плазмы крови у пациенток с различными клиническими вариантами гестоза

Группы	ДК, нМг/лип	МДА, нМг/белка	АОА, %	NO, мкмоль/л
Здоровые беременные (n=32)	65,84±19,36	74,69±18,93	46,67±9,03	30,97±6,73
Беременные с водянойкой (n=34)	83,81±37,97 $p^* = 0,000293$	101,57±35,33 $p^* = 0,00074$	47,82±13,45 $p^* = 0,027938$	25,25±6,11 $p^* = 0,00082$
Беременные с нефропатией легкой степени	114,1±60,82 (n=84) $p^* < 0,001$ $p_1 = 0,0003277$	111,58±34,83 (n=84) $p^* = 0,000294$ $p_1 = 0,88887$	40,6±10,86 (n=84) $p^* = 0,248503$ $p_1 = 0,007278$	22,69±4,06 (n=57) $p^* = 0,000005$ $p_1 = 0,00841$
Беременные с нефропатией средней и тяжелой степени (n=21)	125,32±62,21 $p^* < 0,001$ $p_1 = 0,011577$ $p_2 = 0,841046$	131,65±31,52 $p^* = 0,010527$ $p_1 = 0,006315$ $p_2 = 0,630877$	34,65±8,89 $p^* = 0,0006$ $p_1 = 0,029128$ $p_2 = 0,191104$	20,82±3,66 $p^* = 0,000378$ $p_1 = 0,020241$ $p_2 = 0,474921$

Примечание:  $p^*$  – достоверность различий по отношению к группе здоровых беременных женщин;  $p_1$  – к группе беременных с водянойкой;  $p_2$  – к группе беременных с нефропатией легкой степени.

Установлено, что у пациенток с гестозом по мере утяжеления патологии растет активность процессов ПОЛ. Так, содержание МДА у беременных с водянойкой на 36,0% ( $p = 0,00074$ ); при нефропатии легкой степени – на 49,4% ( $p = 0,000294$ ); при нефропатии средней и тяжелой степени – на 76,3% выше ( $p = 0,010527$ ), чем у беременных с физиологическим течением беременности. Уровень ДК также возрастает, превышая показатели контрольной группы при водянке беременных в 1,4 раза ( $p = 0,000293$ ); при нефропатии легкой степени – в 1,7 раза ( $p < 0,001$ ); при нефропатии средней и тяжелой степени – в 1,9 раза ( $p < 0,001$ ). Полученные данные согласуются с результатами исследований других авторов [8,9].

Суммарная АОА плазмы крови беременных женщин с водянойкой выше данного показателя у здоровых беременных женщин на 2,5%

( $p=0,027938$ ); у беременных с нефропатией легкой степени – на 13,0% ниже ( $p=0,248503$ ); у беременных с нефропатией средней и тяжелой степени – на 25,8% ниже ( $p=0,0006$ ). Следовательно, если начальные стадии гестоза характеризуются повышением антиоксидантной защиты, то при прогрессировании осложнения происходит угнетение АОА. Аналогичные данные получены другими исследователями [1].

При моносимптомном течении гестоза в виде отеков содержание нитратов/нитритов в плазме крови снижено по сравнению с группой здоровых беременных в 1,2 раза ( $p=0,00082$ ); при нефропатии легкой степени – в 1,4 раза ( $p<0,001$ ); при нефропатии средней и тяжелой степени – в 1,5 раза ( $p=0,000378$ ). Кроме того, концентрация стабильных продуктов деградации NO в плазме крови у женщин с нефропатией средней и тяжелой степени была статистически значимо ниже, чем у беременных женщин с отеками ( $p=0,020241$ ). Таким образом, продукция NO при гестозе имеет однонаправленный сдвиг и зависит от степени тяжести патологического процесса. Полученные нами данные находят подтверждение в работах других исследователей [3,6].

Нами обнаружена обратная корреляционная связь между степенью тяжести гестоза, с одной стороны, и содержанием нитратов/нитритов и общей АОА плазмы крови – с другой ( $r=-0,33$ ,  $p<0,05$  и  $r=-0,28$ ,  $p<0,05$  соответственно), а также прямая корреляционная связь между тяжестью патологии и показателями, характеризующими ПОЛ (для ДК  $r=0,24$ ,  $p<0,05$ ; для МДА  $r=0,25$ ,  $p<0,05$ ). Это свидетельствует о повышении активности процессов ПОЛ, снижении антиоксидантного потенциала плазмы крови и нарастании сосудистых расстройств по мере прогрессирования тяжести данного осложнения беременности.

При анализе различий изучаемых показателей в зависимости от степени повышения систолического и диастолического артериального давления была выявлена обратная связь продукции NO и показателей АОА, с одной стороны, и уровня систолического и диастолического артериального давления – с другой ( $r=-0,44$ ,  $r=-0,45$ ,  $p<0,05$  и  $r=-0,34$ ,  $r=-0,26$ ,  $p<0,05$  соответственно); а также прямая связь между цифрами систолического и диастолического артериального давления и содержанием конечных продуктов ПОЛ ( $r=0,49$  и  $r=0,48$ , соответственно,  $p<0,05$ ).

Установлено, что длительность гестоза ассоциируется с увеличением активности процессов ПОЛ, снижением антиоксидантного потенциала плазмы крови и NO-продуцирующей функции эндотелия. Так, содержание МДА в плазме крови было наименьшим у пациенток с коротким анамнезом – до 7 дней ( $87,73\pm 36,13$  нМг/белка), далее оно прогрессивно увеличивалось: у беременных с

длительностью гестоза более 21 дня количество МДА оказалось в 1,4 раза выше, чем у больных с длительностью 8-21 день ( $151,55\pm 34,67$  нМг/белка и  $107,78\pm 26,85$  нМг/белка, соответственно,  $p<0,001$ ) и в 2 раза выше, чем у больных с длительностью гестоза до 7 дней ( $p<0,001$ ). Подобная закономерность характерна и для содержания ДК. Параллельно этим изменениям выявлены сдвиги в уровне общей АОА плазмы крови: она была статистически значимо снижена у пациенток с наибольшей длительностью гестоза по сравнению с пациентками с длительностью гестоза до 7 дней ( $29,1\pm 13,12\%$  и  $45,12\pm 12,05\%$ , соответственно,  $p<0,001$ ). Содержание  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$  у пациенток с длительностью гестоза более 21 дня было статистически значимо ниже по сравнению с пациентками с длительностью заболевания до 7 дней ( $19,17\pm 3,55$  мкмоль/л и  $26,12\pm 5,49$  мкмоль/л, соответственно,  $p=0,050251$ ).

Подтверждением тому, что длительность гестоза взаимосвязана с изменениями показателей липопероксидации и NO-продуцирующей функции эндотелия, является отрицательная корреляционная связь между продолжительностью патологии, с одной стороны, и общей АОА, содержанием нитратов/нитритов в плазме крови, с другой стороны ( $r=-0,34$ ,  $p<0,05$  и  $r=-0,48$ ,  $p<0,05$ , соответственно), а также прямая корреляционная связь между длительностью течения данного осложнения и уровнем промежуточных и конечных продуктов ПОЛ (для ДК  $r=0,48$ ,  $p<0,05$ ; для МДА  $r=0,54$ ,  $p<0,05$ , соответственно).

Свидетельством сопряженности процессов активации ПОЛ и снижением выработки NO является наличие статистически значимой отрицательной корреляционной связи между показателями, характеризующими ПОЛ и уровнем стабильных продуктов деградации NO в плазме крови (для ДК  $r=-0,34$ ,  $p<0,05$ ; для МДА  $r=-0,41$ ,  $p<0,05$ ).

Таким образом, проведенные исследования показали, что у беременных с гестозами, по сравнению со здоровыми беременными женщинами, отмечается активация процессов ПОЛ на фоне снижения антиоксидантного потенциала плазмы крови, приводящая к уменьшению уровня стабильных продуктов деградации NO в плазме крови соответственно степени тяжести патологии.

Учитывая данные о возможности влияния свободных радикалов на синтез NO, а также принимая во внимание возможность непосредственного влияния активных форм кислорода на сосудистый тонус с индуцированием вазоконстрикторов, можно полагать, что активация ПОЛ и ограничение выделения NO могут быть механизмами нарушения сосудистого тонуса, сосудистой проницаемости и развития гестоза.

Снижение продукции NO, являющегося самым мощным из известных вазодилаторов, неизбеж-

но приводит к вазоспазму, повышению периферического сопротивления крови, снижению маточно-плацентарного кровотока, гипоперфузии тканей, в первую очередь, почек, и, как следствие, к повышению артериального давления у матери, развитию фетоплацентарной недостаточности, синдрома задержки внутриутробного развития плода [3].

Связь между избыточной продукцией свободных радикалов и нарушением продукции эндотелием NO, выявленная в настоящем исследовании, может стать основой для разработки перспективных подходов к лечению и предупреждению гестоза на основе нормализации функции эндотелия путем стимуляции синтеза NO или защиты NO от инактивации свободными радикалами.

### Выводы

1. У пациенток с гестозом, в отличие от здоровых беременных женщин, наблюдается активация процессов ПОЛ, снижение активности антиоксидантных систем и NO- продуцирующей функции эндотелия.

2. По мере прогрессирования тяжести гестоза происходит нарастание «оксидативного стресса» и дефицита мощного эндогенного вазодилататора – монооксида азота.

3. С увеличением длительности патологии растёт выраженность ПОЛ, снижается содержание NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub> и АОА плазмы крови, о чем свидетельствует обратная корреляционная связь между длительностью гестоза, с одной стороны, и уровнем NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub> и общей АОА плазмы крови – с другой ( $r=-0,48, p<0,05$  и  $r=-0,34, p<0,05$  соответственно), и прямая корреляционная связь между длительностью осложнения и показателями, характеризующими ПОЛ (для МДА  $r=0,54, p<0,05$ ; для ДК  $r=0,48, p<0,05$ ).

4. У пациенток с гестозом увеличение степени артериальной гипертензии сопровождается усугублением метаболических нарушений. Так, параллельно увеличению артериального давления регистрируется снижение содержания нитратов/нитритов и АОА плазмы крови, повышение уровня продуктов ПОЛ.

5. Существует сопряженность процессов активации ПОЛ и снижения выработки NO: установлена отрицательная корреляционная связь между содержанием промежуточных и конечных продуктов ПОЛ и уровнем стабильных продуктов деградации монооксида в плазме крови ( $r=-0,34$  и  $r=-0,41$  соответственно,  $p<0,05$ ).

### Литература

1. Аккер Л.В., Варшавский Б.Я., Ельчанинова С.А., Нагайцев В.М., Чекрий О.В., Кореньяк Н.А. Показатели оксидантного и антиоксидантного стресса у беременных с гестозом. // Акушерство и гинекология. – 2000. – № 4. – С. 17-20.
2. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой. // Лаб. Дело. – 1988. – № 11. – С. 41-43.
3. Блощинская И.А. Роль основных вазоактивных факторов сосудистого эндотелия в развитии гестоза. // Росс. вестник акуш.-гин.- 2003.-Том 3, №4. – С.7-10.
4. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Хмара Н.Ф. Изменение диеновых конъюгатов в плазме по ультрафиолетовому поглощению гептановых и изопропиловых экстрактов. // Лаб. Дело. – 1988. – № 2. – С. 60-64.
5. Клебанов Г.И., Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О. и др. Оценка антиоксидантной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов. // Лаб. дело. – 1998. – № 5. – с.12-16.
6. Медведев Б.И., Черепанова А.М. Нитроксидагические процессы и их коррекция при гестозе. //Материалы VI Российского форума «Мать и дитя». – Москва, 2004. – С. 129- 130.
7. Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. Дисфункция эндотелия и методы ее коррекции. // Труды III-ей междунар. науч.-практ. конф. «Дисфункция эндотелия: экспер. и клинич. исслед.» – Витебск: ВГМУ, 2004. – С.25- 30.
8. Салов И.А., Чеснокова Н.П., Глухова Т.Н. Клинико-лабораторная оценка течения гестоза. // Проблемы беременности . – 2002. – № 5. – С. 48-49.
9. Серов В.Н., Пасман Н.М., Бородин Ю.И., Бурухина А.Н. Гестоз – болезнь адаптации. – Новосибирск: РИПЭЛ плюс, 2001. – 208 с.
10. 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.
11. Солодков А.П., Веремей И.С., Осочук С.С. и др. Фотометрический метод определения нитратов и нитритов в биологических жидкостях. Инструкция по применению, утв. МЗ РБ № 91-0008 от 19.03.2001.
12. Стальной Д.М., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового альдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. // Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н.Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.
13. Britten M., Schuchinger V. The role of endothelial function for ischemic manifestations of coronary atherosclerosis. // Herz. – 1998. – Vol. 23, №2. – P. 97-105.
14. Darley-Usmar V. Blood radicals: reactive nitrogen species, reactive oxygen species, transition metal ions, and the vascular system. // Pharm. Res. – 1996. – Vol. 13. – P. 649-662.
15. Lin P.J., Blann A. Endothelium dysfunction in cardiovascular diseases. // Chang Keng. I.Hsueh. – 1994. – Vol.17, №3. – P.198-210.
16. Lusher T.F., Barton M. Biology of the endothelium. // Clin. Cardiol. – 1997. – Vol. 10, (suppl II) – P. 3-10.

Поступила 18.12.06