

УДК 616.155.16:618.3-008.6

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ГЕМОГЛОБИНА ПРИ ГЕСТОЗЕ

**Власов А. П., Трофимов В. А., Тарасова Т. В., Тюрина Е. П., Котлова Е. В.,
Ледяйкина Л. В., Полозова Э. И.**

ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н. П. Огарева», Саранск, Россия (430005, г. Саранск, ул. Большевистская, 68), e-mail: vap.61@yandex.ru

Изучена роль нарушений структурно-функционального состояния гемоглобина в прогрессировании гестоза у беременных с использованием метода РАМАН-спектроскопии. Установлено, что у беременных с гестозом отмечаются существенные изменения структурно-функционального состояния гемоглобина, проявляющиеся в виде увеличения относительного количества оксигемоглобина в эритроцитах, уменьшения относительной способности гемоглобина связывать лиганды, роста относительной способности гемоглобина выделять лиганды, снижения сродства гемоглобина к лигандам, повышения уровня колебания метиновых мостиков гемоглобина. Показано, что изменения показателей структурно-функционального состояния гемоглобина сопряжены с тяжестью гестоза. Особенно четкая динамика прослежена по отношению таких показателей, как сродство гемоглобина к лигандам и колебания метиновых мостиков гемоглобина. Выявленные изменения структурно-функционального состояния гемоглобина являются отягощающим фактором не только для беременной женщины, но и плода.

Ключевые слова: гестоз, гемоглобин, РАМАН-спектроскопия.

STRUCTURAL-FUNCTIONAL STATE OF HEMOGLOBIN IN GESTOSIS

**Vlasov A. P., Trofimov V. A., Tarasova T. V., Turina E. P., Kotlova E. V.,
Ledyaykina L. V., Polozova E. I.**

Mordvinian State University, Saransk, Russia (430005, Saransk, street Bolshevistskaya, 68), e-mail: vap.61@yandex.ru

The role of structural and functional disorders of hemoglobin status in the progression of gestosis in pregnant women with the use of Raman-spectroscopy. Found that pregnant women with gestosis there were significant changes in the structural and functional state of hemoglobin, manifested in the form of increasing the relative amount of oxygenated hemoglobin in red blood cells, reducing the relative ability of hemoglobin to bind ligands, increase the relative ability of hemoglobin to allocate ligands, reducing hemoglobin affinity to ligands, increasing fluctuations methine bridges hemoglobin. It is shown that changes in indicators of structural and functional state of hemoglobin are associated with the severity of gestosis. Particularly clear speaker traced against indicators such as the affinity of hemoglobin to ligands and fluctuations methine bridges hemoglobin. Changes revealed structural and functional state of hemoglobin is an aggravating factor, not only for pregnant women, but also the fetus.

Key words: gestosis, hemoglobin, Raman-spectroscopy.

Введение. Гестоз – одна из актуальных проблем современного акушерства. До сих пор гестоз остается одной из ведущих причин материнской и перинатальной заболеваемости, смертности, а также инвалидизации новорожденных [5]. В последние годы опубликовано большое число работ, посвященных вопросам этиологии, патогенеза, диагностики, лечения и профилактики гестоза, разработаны методы коррекции различных компонентов гомеостаза, сопровождающих эту патологию, все шире внедряются в практику новые научно обоснованные методы лечения [1, 3, 6]. Тем не менее снижение частоты встречаемости и значительное улучшение результатов родоразрешения беременных с гестозом в последние годы происходит не на желаемом уровне. Следовательно, поиск резервов повышения эффективности терапии гестоза и внедрение новых схем лечения продолжают до настоящего времени оставаться одной из важнейших проблем акушерства. Не вызывает сомнения, что

решение указанной проблемы возможно при достаточно полном знании в первую очередь патогенеза этой патологии беременных [5]. Безусловно, по этому аспекту имеются серьезные наработки, однако, поиск исследователей продолжается [4, 7].

Известно, что у беременных женщин происходит подъем уровня гемоглобина и количества эритроцитов в единице объема крови [2]. При гестозе наблюдается нарушение эритропоэтических процессов, изменение содержания гемоглобина в плазме крови и его структуры, что в большей степени влияет на формирование маточно-плацентарной недостаточности и развитие плода в целом. В связи с чем целью работы явилось определение роли нарушений структурно-функционального состояния гемоглобина в прогрессировании гестоза.

Материалы и методы исследования. Основой работы явились клинико-лабораторные исследования, проводимые беременным с гестозом. Критериями набора в группу исследования были возраст от 18 до 40 лет, наличие гестоза, срок гестации 32–36 недели, критерием исключения: хронические сопутствующие заболевания, многоплодная беременность, возраст моложе 18 и старше 40 лет. Оценка степени тяжести гестоза при поступлении в стационар проводилась при помощи шкалы Г. М. Савельевой (2001), составленной на основе модифицированной шкалы и учитывающей в качестве критериев клинические проявления (гипертензия, протеинурия, отеки). Исследования велись на основе информированного согласия больного в соответствии с международными этическими требованиями ВОЗ (правила GCP – Good Clinical Practice), предъявляемыми к медицинским исследованиям с участием человека (Женева, 1993).

Под наблюдением находилось 120 беременных с гестозом, из них соответственно степени тяжести заболевания было сформировано три подгруппы: легкой степени – 42 женщины (I-я подгруппа), средней степени тяжести – 44 беременных (II-я подгруппа) и тяжелой – 34 пациентки (III-я подгруппа). Была выделена группа сравнения в количестве 25 здоровых беременных с физиологическим течением беременности.

Пациенткам помощь оказывали в отделении патологии беременных и дневном стационаре. Часть беременных со средней степенью гестоза и беременные с тяжелой формой заболевания получали почасовое лечение в палате интенсивной терапии.

Береженным выполняли общеклинические, биохимические исследования, а также методы функциональной диагностики. Акцент исследований в работе сделан на изучение структурно-функционального состояния гемоглобина с привлечением РАМАН-спектроскопии. Наличие полос в РАМАН-спектре при исследовании конформации и свойств гемоглобина отражает структурно-функциональное состояние гемоглобина, что при гестозе является фактором, который может повлиять на течение и исход беременности. Изучение

свойств молекулы гемоглобина при помощи указанного способа является принципиально важным компонентом обследования беременных, так как рутинное определение уровня гемоглобина не дает адекватного представления об эффективности кислородного обеспечения тканей и зачастую является основанием к неоправданному назначению препаратов железа, что приводит к ингибированию всасывания цинка, который, как известно, влияет на рост плода. Более того, железо усиливает образование свободных радикалов и может увеличивать риск развития гестоза.

При помощи такого способа представляется возможным зарегистрировать кривые РАМАН-спектра гемоглобина при возбуждении лазером 532 нм и определить соотношение полос с колебаниями связей порфирина (Stein P. et al., 1975; Kitagawa T. et al., 1976; Choi S. et al., 1982; Wood V. R. et al., 2007). Причем колебания связей C_aC_b , C_aN , C_aNC_a с разными видами симметрии зависят от степени окисления атома Fe и наличия шестого лиганда (O_2 , CO, NO, CN⁻). При окислении атома Fe^{2+} до Fe^{3+} полосы, связанные с колебаниями связей C_aC_b , C_aN , C_aNC_a , сдвигаются в более высокочастотную область. Аналогичный эффект на положение этих полос оказывает присоединение шестого лиганда, поскольку при этом лиганд (например, O_2) оттягивает от атома Fe^{2+} электронную плотность, и связи C_aC_b , C_aN , C_aNC_a это «ощущают» как окисление Fe^{2+} до Fe^{3+} . Отношение интенсивностей полос, связанных с колебанием связей C_aC_b , C_aN , C_aNC_a в молекулах оксигемоглобина и дезоксигемоглобина, говорит о соотношении количеств оксигемоглобина и дезоксигемоглобина в крови беременных. Отношение интенсивностей низко- и высокочастотных полос, связанных с колебанием связей C_aC_mH и C_aC_m , свидетельствует о соотношении количеств гемоглобина с растянутым и компактным порфирином. Последний параметр напрямую связан со сродством гемоглобина к лигандам. Таким образом, соотношение интенсивностей $I_{1375}/(I_{1355}+I_{1375})$ является характеристикой относительного количества оксигемоглобина в крови. С учетом абсолютных интенсивностей полос 1548-1552 cm^{-1} и 1580-1588 cm^{-1} и интенсивностей полос 1355 cm^{-1} и 1375 cm^{-1} , отношение интенсивностей I_{1355}/I_{1550} отражает относительную способность всего гемоглобина в пробе связывать лиганды (в т.ч. O_2). Соотношение I_{1375}/I_{1580} отражает относительную способность гемоглобина выделять лиганды. Показатель относительной способности гемоглобина выделять лиганды у беременных с гестозом выше, чем у здоровых, и растет по мере возрастания тяжести гестоза. Отношение абсолютных интенсивностей $(I_{1355}/I_{1550})/(I_{1375}/I_{1580})$ отражает сродство гемоглобина к лигандам, в первую очередь, O_2 . При проведении РАМАН-спектроскопии с использованием лазера 532 нм для сравнительного анализа спектров от мембранносвязанного и изолированного цитоплазматического гемоглобина предлагается рассчитать соотношение интенсивностей полос 1375 и 1172 cm^{-1} (I_{1375}/I_{1172}).

Полоса 1172 см^{-1} практически не проявляется в спектрах эритроцитов, полученных при возбуждении лазером 473 нм , однако, она отчетливо видна на спектрах эритроцитов при возбуждении лазером 532 нм . Полоса 1172 см^{-1} появляется в результате асимметричных колебаний колец пирролов в оксигемоглобине (связи C_aC_b , C_aN и C_aNC_a). Отношение I_{1375}/I_{1172} несет информацию о выраженности симметричных и асимметричных колебаний пиррольных колец, а его изменение может быть связано с конформационными изменениями пирролов. Таким образом, РАМАН-спектроскопия позволяет на молекулярном уровне оценить функциональное состояние гемоглобина, а также, что не менее важно, его потенциальные возможности.

Полученные цифровые данные обработаны методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

РАМАН-спектроскопическими исследованиями выявлено, что у беременных с гестозом отмечаются существенные изменения структурно-функционального состояния гемоглобина (табл. 1, рис. 1, 2). Так, соотношение интенсивностей полос, характеризующих количество оксигемоглобина в крови, которое отражает способность связывать кислород, растет с увеличением тяжести заболевания, причем данный показатель оказался больше, по сравнению со здоровыми беременными, на $13\text{--}23\%$ ($p<0,05$). Показатель, отражающий способность гемоглобина связывать лиганды и в первую очередь кислород, у беременных с гестозом уменьшается с увеличением степени тяжести данной патологии, так у беременных первой подгруппы он составил $0,52\pm 0,03$, второй подгруппы – $0,43\pm 0,03$, у пациентов третьей подгруппы – $0,34\pm 0,04$. Отношение полос в РАМАН-спектре, которое отражает сродство гемоглобина к лигандам, в том числе к кислороду у беременных с гестозом, меньше по сравнению с данным показателем у здоровых беременных, причем он уменьшается по мере увеличения тяжести гестоза на $19\text{--}36\%$ ($p<0,05$). Возможно, этот факт связан с тем, что гемоглобин у беременных с гестозом уже заполнен кислородом, и это подтверждается большим по сравнению со здоровыми беременными количеством оксигемоглобина в крови беременных с гестозом. Также наблюдается рост относительной способности гемоглобина выделять лиганды на $13\text{--}23\%$ ($p<0,05$) и повышение уровня колебания метиновых мостиков гемоглобина на $17\text{--}58,4\%$ ($p<0,05$).

Таблица 1

РАМАН-спектроскопия гемоглобина беременных с гестозом ($M\pm m$)

Показатель	Здоровые беременные	Беременные с гестозом
------------	---------------------	-----------------------

		Легкая степень	Средняя степень	Тяжелая степень
Относительное количество оксигемоглобина в эритроцитах I1375/(I1355+I1375)	0,61±0,03	0,65±0,04	0,69±0,03	0,75±0,04
Относительная способность гемоглобина связывать лиганды I1355/I1550	0,56±0,03	0,52±0,03	0,43±0,03	0,34±0,04
Относительная способность гемоглобина выделять лиганды I1375/I1580	0,60±0,03	0,65±0,04	0,68±0,03	0,74±0,04
Сродство гемоглобина к лигандам кислорода (I1355/I1550)/(I1375/I1580)	0,96±0,05	0,82±0,04	0,78±0,05	0,61±0,04
Колебания метиновых мостиков гемоглобина I1375/I1172	1,25±0,07	1,46±0,03	1,64±0,07	1,98±0,11

Примечание: жирный шрифт – достоверность различия по отношению к группе сравнения при $p < 0,05$.

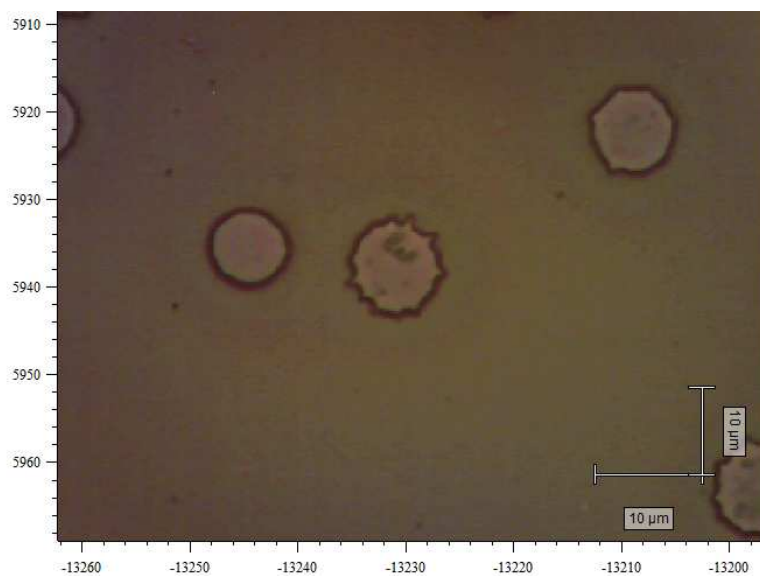


Рис. 1. РАМАН – спектроскопия гемоглобина беременных с гестозом средней степени тяжести

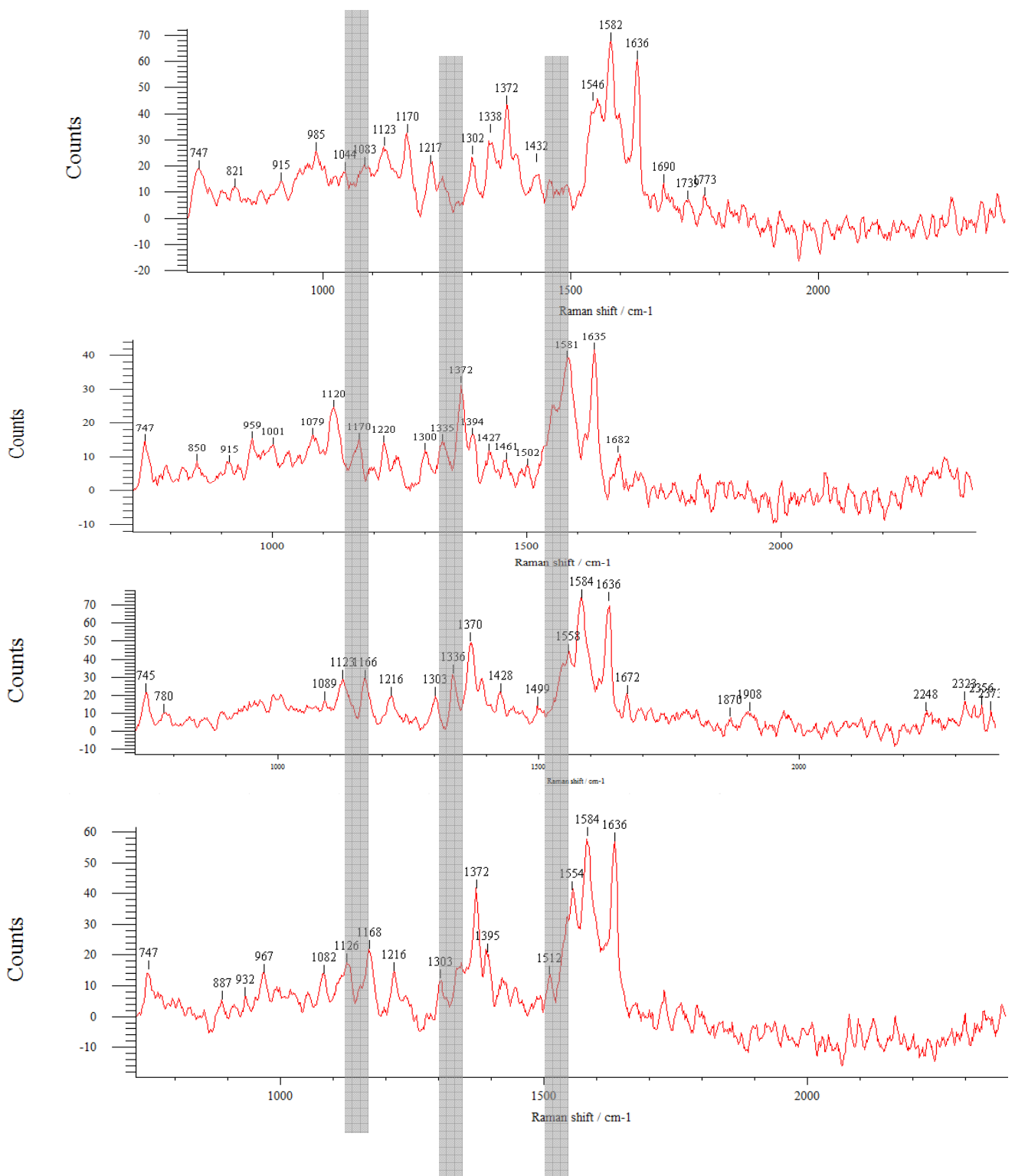


Рис. 2. РАМАН – спектроскопия гемоглобина беременных с гестозом (А – здоровая беременная, Б - гестоз I степени, В - гестоз II степени, Г - гестоз III степени)

Показатель, отражающий конформационные изменения пирролов, у беременных с гестозом растет по мере утяжеления патологии. Показатель, отражающий конформационные изменения пирролов или так называемые колебания метиновых мостиков в гемоглобине, у беременных с гестозом I степени меньше по сравнению со здоровыми беременными. Данный показатель несет информацию о выраженности симметричных и асимметричных колебаний

пиррольных колец гемоглобина, что в конечном итоге может играть роль в клинической картине гестоза, поскольку эти изменения молекулярной структуры гемоглобина несомненно будут влиять на его функциональные свойства. Данный факт говорит о том, что у беременных с гестозом I степени конформационные колебания меньше, молекула гемоглобина более компактная (с жесткой структурой), и эритроцит легче может захватывать лиганды, в том числе и кислород, что играет огромную роль в кислородном обеспечении плода, и даже малые дозы кислорода будут легче захватываться молекулами гемоглобина и доставляться тканям. Но при гестозе II и III степени колебания метиновых мостиков более выражены и молекулы более вытянутые. В этих условиях присоединение кислорода к гемоглобину уже становится затруднительным, что усиливает риск развития маточно-плацентарной недостаточности (рис. 3).

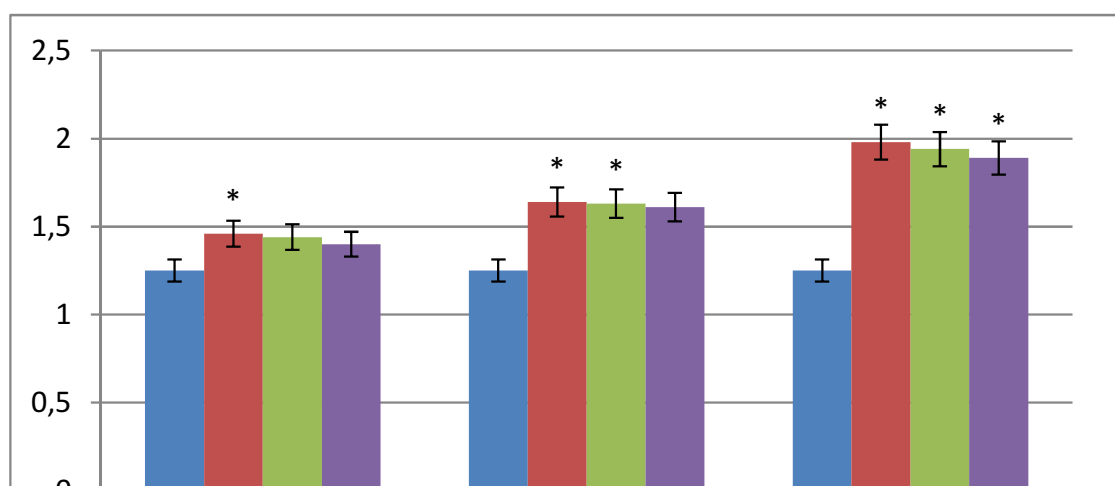


Рис. 3. Колебания метиновых мостиков гемоглобина I1375/I1172 (I, II, III – степени тяжести гестоза, * – достоверность отличия к норме при $p < 0,05$)

Таким образом, нами установлен важный научный факт о конформационно-функциональных изменениях в молекуле гемоглобина при гестозе, что, безусловно, имеет не только теоретическое, но и практическое значение. Не вызывает сомнения, что выявленные изменения структурно-функционального состояния гемоглобина являются отягощающим фактором не только для беременной женщины, но и плода.

Нами обнаружено, что изменения показателей структурно-функционального состояния гемоглобина сопряжены с тяжестью гестоза. Особенно четкая динамика прослежена по отношению таких показателей, как сродство гемоглобина к лигандам и колебания метиновых мостиков гемоглобина.

Выводы

1. У беременных с гестозом отмечаются существенные изменения структурно-функционального состояния гемоглобина, которые сопряжены с тяжестью гестоза и являются отягощающим фактором не только для беременной женщины, но и плода.

2. Изменения структурно-функционального состояния гемоглобина при гестозе выражаются в виде увеличения относительного количества оксигемоглобина в эритроцитах, уменьшения относительной способности гемоглобина связывать лиганды, роста относительной способности гемоглобина выделять лиганды, снижения сродства гемоглобина к лигандам, повышения уровня колебания метиновых мостиков гемоглобина. Наиболее уязвимыми к изменениям являются такие показатели, как сродство гемоглобина к лигандам и колебания метиновых мостиков гемоглобина.

Список литературы

1. Гестоз: клиника, диагностика, акушерская тактика и интенсивная терапия / под ред. А. Н. Стрижакова, А. И. Давыдова, З. М. Мусаева. – М.: ИнфорМед, 2007. – 79 с.
2. Ковальчук Л. А., Тарханова А. Э., Тарханов А. А. Состояние эритропоза у беременных женщин с железодефицитной анемией // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2007. – № 3. – С. 63-66.
3. Кулаков В. И., Голубев В. А. Роль новых медицинских технологий в акушерстве, гинекологии и перинатологии // Акушерство и гинекология. – 1999. – № 2. – С. 3-6.
4. Марусов А. П., Брагин Ю. А., Федоткина Е. П. Влияние инфузионной терапии на систему гемостаза и гемореологии беременных с гестозом // Акушерство и гинекология. – 2008. – № 1. – С. 16-19.
5. Марусов А. П., Брагин Ю. А., Федоткина Е. П. Гестоз: диагностика, лечение и родоразрешение. – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2010. – 148 с.
6. Мусаев З. М., Пицхелаури Е. Г. Гестоз: актуальные вопросы ранней диагностики и акушерской тактики // Вопросы акушерства, гинекологии и перинатологии. – 2002. – Т. 1. – № 1. – С. 60-63.
7. Schauf B., Lang U., Stute P. Reduced red blood cell deformability, an indicator for high fetal or maternal risk, is found in preeclampsia and IUGR // Hypertens Pregnancy. – 2002. – № 21(2). – P. 147 – 160.

Рецензенты:

Смолькина Антонина Васильевна – доктор медицинских наук, профессор кафедры госпитальной хирургии медицинского факультета им. Т. З. Биктимирова ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск.

Рубцов Олег Юрьевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры факультетской хирургии ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва», г. Саранск.