

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ВЗАИМОСВЯЗЬ ИЗМЕНЕНИЙ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ ПЛОДНЫХ ОБОЛОЧЕК И ИНТЕНСИВНОСТИ НАКОПЛЕНИЯ ПРОДУКТОВ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ В ОКОЛОПЛОДНЫХ ВОДАХ ПРИ ПРОЛОНГАЦИИ НЕДОНОШЕННОЙ БЕРЕМЕННОСТИ НА ФОНЕ ДОРОДОВОГО ИЗЛИТИЯ ВОД

¹Дятлова Л.И., ²Чеснокова Н.П., ²Понукалина Е.В., ²Рогожина И.Е., ²Глухова Т.Н.

¹ГУЗ «Перинатальный центр Саратовской области», larisadu@mail.ru

²ГБОУ ВПО «Саратовский Государственный медицинский университет им.В.И. Разумовского Минздрава России», Саратов, Россия (410012, Саратов, ул.Большая Казачья, 112), [e-mail:gluchova05@mail.ru](mailto:gluchova05@mail.ru)

Проведен анализ состояния процессов липопероксидации у 64 беременных с преждевременным излитием околоплодных вод в сроки гестации 22 – 34 недели, находившихся на лечении в ГУЗ «Перинатальный центр Саратовской области» в 2012-2014гг. В задачи исследования входила сравнительная оценка содержания в крови и околоплодных водах обследованных беременных продуктов липопероксидации – диеновых конъюгатов и малонового диальдегида, количественное определение перекисей, а также оценка общего антиоксидантного статуса, активности супероксиддисмутазы и содержания церулоплазмينا. Выявлена патогенетическая взаимосвязь между активацией процессов липопероксидации, проявляющейся избыточным накоплением в крови и околоплодных водах малонового диальдегида, диеновых конъюгатов на фоне относительной недостаточности антиоксидантной системы, и развитием дегенеративных процессов в амниотической и хориальной оболочках плода в условиях пролонгации беременности у пациенток с преждевременным разрывом плодных оболочек. Последнее свидетельствует о возможности использования показателей состояния процессов липопероксидации в крови в качестве объективных критериев оценки степени повреждения амниотической и хориальной оболочек плода у пациенток с преждевременным разрывом плодных оболочек.

Ключевые слова: липопероксидация, беременность, преждевременный разрыв плодных оболочек, ультраструктура амниотической и хориальной оболочек

PATHOGENETIC RELATIONSHIP CHANGES IN THE ULTRASTRUCTURE OF MEMBRANES AND ACCUMULATION OF LIPOPEROXIDATION PRODUCTS IN THE AMNIOTIC FLUID DURING PROLONGATION OF PRETERM PREGNANCY WITH PRETERM RUPTURE OF MEMBRANES

¹Dyatlova L.I., ²Chesnokova N.P., ²Ponukalina E.V., ²Rogozhina I.E., ²Glukhova T.N.

¹The Perinatal Center of Saratovskaya Oblast', larisadu@mail.ru

²Saratov State Medical University n.a.V.I. Razumovskii, Saratov, Russia (410012, Saratov, street B.Kazachya, 112), [e-mail:gluchova05@mail.ru](mailto:gluchova05@mail.ru)

The analysis of lipid peroxidation in 64 pregnant women with premature rupture of membranes on gestation period 22 - 34 weeks, were treated in the Perinatal center of Saratov region in 2012-2014. The objectives of the study included a comparative assessment of the content in the blood of pregnant women surveyed lipid peroxidation products - diene conjugates and malondialdehyde, quantitative determination of peroxides as well as assessment of the overall antioxidant status, superoxide dismutase and ceruloplasmin content. Identified pathogenetic relationship between the activation of lipid peroxidation, which is manifested by an excessive accumulation of blood and amniotic fluid diene conjugates and malondialdehyde on a background of relative insufficiency of the antioxidant system, and the development of degenerative processes in the amniotic and chorionic membranes of the fetus in terms of prolongation of pregnancy in patients with premature rupture of membranes. The possibility of using indicators of lipid peroxidation in the blood as objective criteria for assessing the degree of damage to the amniotic and chorionic membranes of the fetus in patients with premature rupture of membranes is exist.

Keywords: lipid peroxidation, pregnancy, premature rupture of membranes, ultrastructure of amniotic and chorionic membranes.

Проблемы невынашивания беременности, обусловленные преждевременным излитием околоплодных вод, остаются актуальными до настоящего момента. Это

обусловлено тем фактом, что в 50-60% наблюдений преждевременные роды начинаются с несвоевременного излития околоплодных вод на фоне чрезмерного истончения амниотической оболочки [4,7]. Следует отметить, что нередко преждевременные роды наступают в сроки гестации 22-34 недели, когда формирование нервной, гормональной, иммунной систем плода далеко не завершено, в этой группе недоношенных детей высока перинатальная и неонатальная смертность.

Результаты проведенных нами ранее исследований по изучению состояния иммунного и цитокинового статусов при беременности, осложненной преждевременным разрывом плодных оболочек (ПРПО) в сроки 22 -34 недели, позволили разработать и патогенетически обосновать ряд объективных критериев возможности пролонгации беременности при указанной патологии гестации, в частности, отсутствие нарастания в крови пациенток с ПРПО нейтрофильного лейкоцитоза с палочкоядерным сдвигом, температурной реакции, изменения характера подтекающих вод, повышения уровня С-реактивного белка и провоспалительных цитокинов в крови, ухудшения состояния плода по данным кардиотокографии и доплерометрии кровотока в системе мать-плацента-плод, выраженного маловодия [3,5,6]. Однако представляет большую практическую значимость установление патогенетической взаимосвязи развития синдрома системного воспалительного ответа с характером нарушений структуры околоплодных мембран на фоне пролонгации беременности у пациенток с ПРПО.

Как известно, типовым эфферентным звеном дезорганизации биологических систем на фоне развития патологии различного генеза является свободнорадикальная дегградация клеток различной морфофункциональной организации [1]. До настоящего момента остаются открытыми вопросы патогенетической взаимосвязи активации процессов липопероксидации в системе мать-плацента-плод и развития несостоятельности околоплодных оболочек, влияние пролонгации беременности на фоне ПРПО на характер ультраструктурных изменений околоплодных мембран.

Целью настоящего исследования явилось изучение состояния процессов липопероксидации и антирадикальной защиты клеток в системе мать-плацента-плод у пациенток с ПРПО, а также изучение ультраструктуры околоплодных мембран на фоне пролонгации беременности при указанной патологии.

Материалы и методы. Проведено комплексное клиничко-лабораторное обследование 64 пациенток, находившихся на лечении в ГУЗ «Перинатальный центр Саратовской области» в 2012-2014 гг. Критериями включения пациенток в исследование явилось осложнение беременности ПРПО при сроках гестации 22-34 недели, отсутствие клинических и лабораторных признаков реализации восходящей инфекции, в частности, лихорадки, тахикардии, лейкоцитоза с нейтрофильным сдвигом влево в периферической крови. Критерии исключения: многоплодная беременность, тяжелые формы преэклампсии и экстрагенитальной патологии, наличие у пациентки синдрома задержки роста плода II и III степени.

Контрольную группу составили 40 женщин с физиологически протекающей беременностью в аналогичные сроки гестации.

Комплексное клинико-лабораторное обследование включало оценку общего состояния беременных, 3-х часовую термометрию, контроль гемодинамических параметров, количества и характера подтекающих вод, ежедневный клинический анализ крови. Одновременно проводилось исследование вагинального мазка на микрофлору каждые 2-3 дня, бактериологический посев отделяемого из цервикального канала, определение С-реактивного белка в крови 1 раз в 3 дня. Для антенатальной диагностики состояния плода использовали ультразвуковую фетометрию и плацентометрию, оценку индекса амниотической жидкости, а также доплерографическое исследование кровотока в артерии пуповины, аорте плода, маточных артериях с интервалом в 2-3 дня на ультразвуковом аппарате Voluson e8 Expert. Оценка показателей проведена при поступлении беременной с ПРПО в стационар (до проведения терапии) и после пролонгации беременности, в момент начала родовой деятельности, Околоплодные оболочки получены после родоразрешения.

Определение уровня диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА) проводилось спектрофотометрическими методами [2,8]. Для количественного определения перекисей (OxyStat) использован иммуноферментный анализатор «Alfa Prime» фирмы «Meredith Diagnostics» и реактивы фирмы «Bender Medsystems». Для оценки общего антиоксидантного статуса (TAS), активности супероксиддисмутазы (СОД) были использованы реактивы «Bender Medsystems» (Австрия).

Изучение стереоультраструктуры плодных оболочек проведено с использованием сканирующего электронного микроскопа «Hitachi S-450» при увеличении в 130 и 900 раз на базе лаборатории электронной микроскопии (ФБУН ГНЦ ПМБ, руководитель лаборатории доктор биологических наук В.Н. Герасимов).

Статистический анализ данных проводили с использованием параметрических статистических методов с помощью программы Microsoft Office Excel (версия 2007, Microsoft Corporation, США, 2007) и программного пакета для статистического анализа Statistica (версия 5.5 А, StatSoft Inc., США, 1999).

Результаты и обсуждение. Результаты проведенных нами исследований убедительно свидетельствуют о том, что ПРПО формируется на фоне системных и локальных метаболических расстройств. Так, при беременности, осложненной ПРПО, имеет место возрастание уровня в крови беременных содержания промежуточных продуктов липопероксидации, а также показателя суммарного оксидативного статуса на фоне компенсаторной активации антиоксидантной системы крови и околоплодных вод, на что указывали повышение показателя общего антиоксидантного статуса, уровня церулоплазмينا, активация СОД (табл.1,2).

Таблица 1

Показатели ОхуStat, содержания продуктов липопероксидации, молекул средней массы и активности антиоксидантной системы крови беременных с преждевременным разрывом околоплодных мембран и пролонгацией беременности

Группы наблюдения Изучаемые показатели	Физиологически протекающая беременность		Группа беременных с дородовым излитием околоплодных вод при поступлении в стационар			Группа беременных с дородовым излитием околоплодных вод в момент начала родовой деятельности		
	n	M±m	n	M±m	P	n	M±m	P
ДК, мкм/л	40	16,9±1,44	64	29,9±3,16	p<0,001	64	39,1±3,55	p<0,001 p ₁ <0,05
МДА, мкмоль/л	40	4,1±0,40	64	7,8±0,82	p<0,001	64	9,1±0,76	p<0,001 p ₁ >0,5
Показатели ОхуStat, мкмоль/л	40	146,8±15,14	64	598,6± 50,20	p<0,001	64	854,7± 72,20	p<0,001 p ₁ <0,05
Общий антиоксидантный статус, моль/л	40	1,4±0,13	64	2,2 ±0,14	p<0,02	64	2,1 ±0,16	p<0,05 p ₁ >0,5
Активность СОД, ед/л	40	141,3±14,10	64	209,9±20,04	p<0,02	64	201,7± 18,04	p<0,02 p ₁ >0,5
Содержание церулоплазмина, мг/мл	40	326,3±30,15	64	589,8±40,31	p<0,001	64	566,9±42,50	p<0,001 p ₁ >0,5

Примечание: P рассчитано по отношению к показателям группы женщин с физиологическим течением беременности; p₁- рассчитано по отношению к показателям беременных с дородовым излитием околоплодных вод при поступлении в стационар.

Таблица 2

Показатели ОхуStat, содержания продуктов липопероксидации, молекул средней массы и активности антиоксидантной системы околоплодных вод беременных с преждевременным разрывом околоплодных мембран

Группы наблюдения Изучаемые показатели	Физиологически протекающая беременность		Группа беременных с дородовым излитием околоплодных вод при поступлении в стационар			Группа беременных с дородовым излитием околоплодных вод в момент начала родовой деятельности		
	n	M±m	n	M±m	P	n	M±m	P
ДК, мкм/л	40	34,8±2,91	64	56,4±4,62	p<0,001	64	69,1±4,20	p<0,001 p ₁ <0,05
МДА, мкмоль/л	40	5,9±0,45	64	8,2±0,77	p<0,02	64	10,8±0,72	p<0,001 P ₁ <0,05
Показатели ОхуStat, мкмоль/л	40	458,3±40,78	64	763,3±41,50	p<0,01	64	984,7± 61,20	p<0,001 p ₁ <0,05
Общий антиоксидантный статус, моль/л	40	2,1±0,22	64	3,4±0,25	p<0,001	64	3,2 ±0,16	p<0,05 p ₁ >0,5
Активность СОД, ед/л	40	249,5±12,62	64	302,5±18,10	p<0,05	64	321,7± 19,14	p<0,001 P ₁ >0,5
Содержание церулоплазмина, мг/мл	40	527,6±34,80	64	1047±80,1	p<0,001	64	976±77,5	p<0,001 p ₁ >0,5

Примечание: P - рассчитано по отношению к показателям группы женщин с физиологическим течением беременности; p₁ - рассчитано по отношению к показателям беременных с дородовым излитием околоплодных вод при поступлении в стационар.

В указанной группе пациенток, как указывалось выше, удалось пролонгировать беременность в среднем на 10 дней ($10,8 \pm 2,4$ дня) в асептических условиях на фоне адекватной комплексной терапии. Объективными критериями для завершения пролонгации явился ряд показателей общесоматического и акушерского статуса беременных, а также изменения метаболического статуса пациенток, в частности, состояние процессов свободнорадикальной дестабилизации биоструктур. Как оказалось, в указанный период наблюдения имела место дальнейшая активация процессов липопероксидации, достигающая максимума в период начала родовой деятельности у беременных с ПРПО, на что указывало нарастание уровня ДК, МДА и показателя OxyStat в крови и околоплодных водах беременных с ПРПО, в то же время не было выявлено адекватной активации антиоксидантной системы крови и околоплодных вод (табл.1,2).

Таким образом, проведенный нами мониторинг традиционных показателей синдрома системного воспалительного ответа и рекомендуемых нами критериев свободнорадикальной дестабилизации биосистем позволил дать объективную оценку общесоматического статуса матери и плода, свидетельствующую о необходимости завершения пролонгации беременности.

Пролонгация беременности завершалась, как правило, спонтанным развитием родовой деятельности- преждевременными родами через естественные родовые пути. Две пациентки (3,2%) в связи с наличием рубца на матке при вступлении в роды были родоразрешены путем операции кесарево сечение. Антенатальной и ранней неонатальной смертности у детей обследованных нами пациенток не было, послеродовой период у наблюдаемых пациенток протекал без осложнений.

Далее представлялось целесообразным установить патогенетическую взаимосвязь между характером выявленных нами метаболических расстройств с характером морфологических изменений в структуре амниона и хориона. О степени выраженности деструктивных процессов судили при помощи метода электронной микроскопии, который впервые использовался при данном виде патологии в сочетании с описанными выше методами оценки системных метаболических расстройств у пациенток с преждевременным разрывом плодных оболочек.

Как показали результаты проведенных исследований, у пациенток с ПРПО после периода пролонгации беременности в амниотической оболочке отмечены деструктивные изменения: межклеточные пространства трудно различимы, отсутствует щеточный покров (снимок Д). (увеличение в 130 раз).

При проведении электронной микроскопии оболочек с увеличением в 900 раз в этой же группе пациенток отмечается разрушение межклеточных соединений, размеры межклеточных дефектов достигают 5 мкм (снимок З).

Одновременно нами было проведено изучение стереоультраструктуры гладкого хориона в этой же группе пациенток с ПРПО после периода пролонгации беременности. При увеличении в 130 раз было отмечено нарушение клеточных взаимосвязей, ширина дефектов достигала 200 мкм.

Внутренняя поверхность хориона покрыта нитями фибрина и деформированными эритроцитами (снимки О, П).



Снимок Д. Увеличение $\times 130$.

Пациентка с ПРПО после периода пролонгации беременности. Амниотическая оболочка



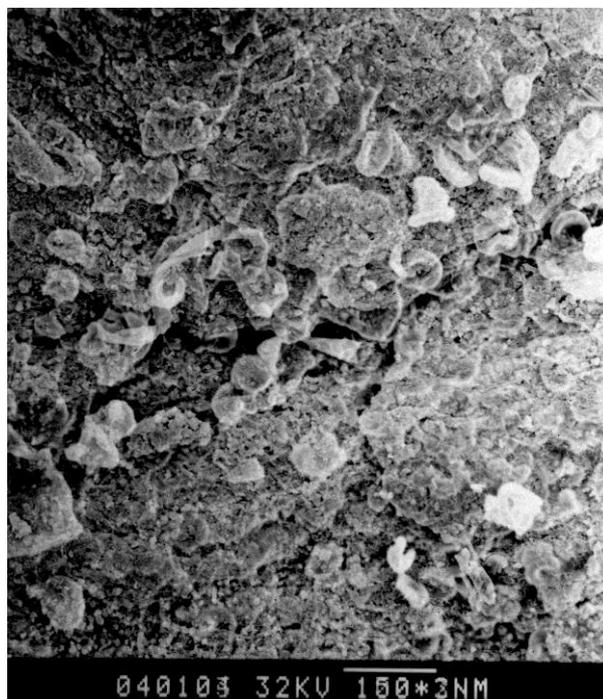
Снимок З. Увеличение $\times 900$.

При проведении электронной микроскопии с увеличением в 900 раз выявлено полное отсутствие щеточной каймы в области гладкого хориона, сладжированные эритроциты в большом количестве (снимок Р).



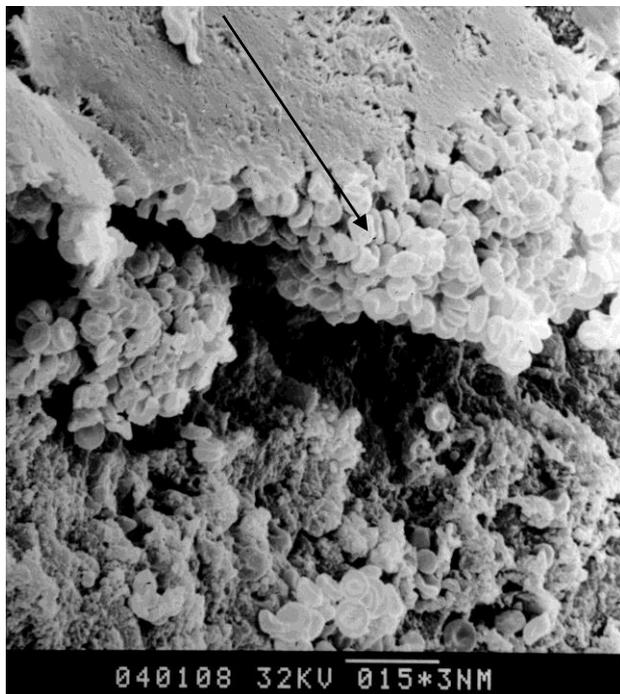
Снимок О.

Пациентка с ПРПО после периода пролонгации беременности. Хориальная оболочка Увеличение $\times 130$. Стрелкой указаны нити фибрина.



Снимок П.

Таким образом, нами впервые была выявлена патогенетическая взаимосвязь между активацией процессов липопероксидации, проявляющейся избыточным накоплением в крови и околоплодных водах МДА, ДК, и развитием дегенеративных процессов в амниотической и хориальной оболочках плода в условиях пролонгации беременности у пациенток с ПРПО.



Снимок Р. Пациентка с ПРПО после периода пролонгации беременности. Хориальная оболочка. Увеличение×900. Стрелкой указаны сладжированные эритроциты.

Таким образом, нами впервые была выявлена патогенетическая взаимосвязь между активацией процессов липопероксидации, проявляющейся избыточным накоплением в крови и околоплодных водах МДА, ДК, и развитием дегенеративных процессов в амниотической и хориальной оболочках плода в условиях пролонгации беременности у пациенток с ПРПО.

Выводы:

1. Показатели состояния процессов липопероксидации в крови и околоплодных водах могут быть использованы в качестве объективных критериев оценки степени повреждения амниотической и хориальной оболочек плода у пациенток с ПРПО в сроки гестации 22-34 недели.
2. Прогрессирующее нарастание в околоплодных водах и крови беременных содержания промежуточных продуктов липопероксидации при гестации, осложненной преждевременным разрывом плодных оболочек, может быть использовано в качестве косвенных показателей развития деструктивных процессов в амниотической и хориальной оболочках плода, характеризующихся исчезновением щеточной каймы, выпадением нитей фибрина, сладжированием эритроцитов материнской крови, что свидетельствует о начальных проявлениях хориоамнионита, не выявляющихся методом световой микроскопии.
3. Разработанный нами метод пролонгации беременности у пациенток с ПРПО в сроки гестации 22-34 недели при условии проведения клинико-лабораторного контроля за состоянием беременной и

плода, на фоне адекватной комплексной терапии не сопровождается развитием тяжелых деструктивных изменений в околоплодных мембранах, что позволяет использовать данный метод для достижения большей морфофункциональной зрелости плода.

Список литературы

1. Активация липопероксидации как ведущий патогенетический фактор развития типовых патологических процессов и заболеваний /под ред. В.М. Попкова, Н.П. Чесноковой, М.Ю. Ледванова. Саратов: Изд-во СГМУ, 2012. 367 с.
2. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33 – 35.
3. Дятлова Л.И., Чеснокова Н.П., Глухова Т.Н. Закономерности качественных и количественных изменений клеточного состава периферической крови при беременности, осложненной преждевременным отхождением околоплодных вод // Наука и современность: материалы международной научно-практической конференции.-Уфа, 2014.-С.165-169.
4. Максимович О.Н. Дородовое излитие околоплодных вод: причины, диагностика, ведение беременности и родов // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – Иркутск, 2006. – № 3(49). – С. 207–212.
5. Михайлов А.В., Дятлова Л.И., Глухова Т.Н. Ведение недоношенной беременности, осложненной преждевременным излитием околоплодных вод//Мать и дитя: материалы XV Всерос. форума.-М., 2014.- С.125-126.
6. Особенности метаболического и цитокинового гомеостаза при беременности, осложненной преждевременным разрывом околоплодных мембран/ Глухова Т.Н., Дятлова Л.И., Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В. // V съезд акушеров-гинекологов России: материалы форума.-М., 2013.-С.43-44.
7. Сидельникова В.М. Привычная потеря беременности. М.: «Триада-Х», 2005, 304 с.
8. Суплонов С.Н., Баркова Э.Н. Суточные и сезонные ритмы перекисей липидов и активности супероксиддисмутазы в эритроцитах у жителей средних широт и крайнего севера // Лаб. дело. – 1986. – № 8. – С. 459 – 463.

Рецензенты:

Василенко Л.В., д.м.н., профессор кафедры акушерства и гинекологии ФПК и ППС ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава РФ, г.Саратов;

Брилль Г.Е., д.м.н., профессор кафедры патологической физиологии им. А.А. Богомольца ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава РФ, г. Саратов.