

## **СОСТОЯНИЕ ПРОКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН ПРИ ГЕСТОЗЕ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ**

**Халилов Р.А., Джафарова А.М., Астаева М.Д.**

*ФГБОУ ВПО «Дагестанский государственный университет», Махачкала, Россия, e-mail: albina19764@mail.ru*

Исследована интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ), состояние низкомолекулярной и белковой тиолдисульфидной систем и морфофункциональные характеристики эритроцитов беременных женщин при гестозе различной степени тяжести. Об интенсивности ПОЛ судили по содержанию одного из промежуточных продуктов – малонового диальдегида (МДА). Состояние низкомолекулярной и белковой тиолдисульфидной систем оценивали по концентрации сульфгидрильных групп. Отягощение состояния больной при гестозе сопровождается интенсификацией ПОЛ, истощением неферментативной антиоксидантной системы крови, на что указывает накопление МДА и уменьшение концентрации низкомолекулярных и белковых сульфгидрильных групп как в плазме, так и в эритроцитах. Обнаружена четкая корреляция между интенсивностью перекисного окисления липидов, состоянием неферментативной антиоксидантной системы крови и изменением некоторых морфофункциональных характеристик эритроцитов беременных женщин при гестозе.

Ключевые слова: беременные женщины, гестоз, плазма крови, эритроциты, перекисное окисление липидов, малоновый диальдегид, низкомолекулярные и белковые сульфгидрильные группы, морфофункциональные параметры эритроцитов.

## **THE PROOXIDANT - ANTIOXIDANT STATUS AND MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF ERYTHROCYTES OF PREGNANT WOMEN AT OF VARYING SEVERITY PREECLAMPSIA**

**Khalilov R.A., Dzhafarova A.M., Astayeva M.D.**

*The Dagestan state university, Makhachkala, Russia, e-mail: albina19764@mail.ru*

Intensity of lipid peroxidation and state low-molecular and proteins the tioldisulfides of systems and morpho-functional characteristics of erythrocytes of pregnant women at of varying severity of preeclampsia is investigated. Intensity the lipid peroxidation was defined according to the maintenance of one of intermediate products – a malondialdehyde (MDA). The state low-molecular and proteins the tioldisulfides of systems was estimated on concentration the of sulfhy-drilic groups. Research showed that intensity of lipid peroxidation depends on severity of a gestoses. Burdening of a condition of the patient at preeclampsia is followed by exhaustion of nonenzimatic antioxidant system of blood: concentration of sulfhydrilic groups low-molecular and proteins systems in plasma and erythrocytes are reduction. Accurate correlation between intensity of lipid peroxidation, a condition of nonenzimatic of antioxidant system of the blood and change of some morphofunctional characteristics of the erythrocytes of pregnant women at a preeclampsia is found.

Keywords: pregnant women, preeclampsia, blood plasma, erythrocytes, free radical processes, lipid peroxidation, malondialdehyde, sulfhydrilic groups of low-molecular and proteins systems, morphofunctional characteristics of erythrocytes.

Гестоз (поздний токсикоз) беременных – это одна из самых сложных медико-социальных проблем современного акушерства и гинекологии, во многом определяющая структуру материнской и перинатальной заболеваемости и смертности [3]. До настоящего времени он остается одним из самых тяжелых осложнений беременности.

Под термином «гестоз» понимаются патологические состояния, возникающие во время беременности (после 20-й недели) и в основном прекращающиеся после родоразрешения, но которые могут переходить и в экстрагенитальную патологию [4]. Несмотря на многочисленные исследования, посвященные изучению различных аспектов позднего

гестоза беременных, до настоящего времени нет единой теории этиологии и патогенеза позднего гестоза, что затрудняет своевременную диагностику, оценку степени тяжести и проведение профилактических мероприятий, являясь основой развития и прогрессирования этого осложнения течения беременности. В настоящее время ведущая роль в патогенезе гестоза отводится острому повреждению периферической сосудистой системы. Возникающая гипоперфузия тканей вследствие вазоконстрикции, гиповолемии, нарушений реологических свойств крови и гиперкоагуляции неизбежно приводит к ишемическим повреждениям в тканях различных органов с формированием полиорганной недостаточности [9].

В качестве универсального неспецифического механизма при всех клинко-патологических проявлениях гестоза может рассматриваться окислительный стресс, возникающий при нарушении равновесия между прооксидантом и компонентами системы антиоксидантной защит. Активация процессов свободно-радикального окисления повреждает и повышает проницаемость сосудистых, клеточных мембран и мембран внутриклеточных органелл, приводит к дисфункции внутриклеточных метаболических процессов, способствует развитию и прогрессированию полиорганной недостаточности. Показано, что важная роль в повреждении структурно-функциональных свойств клеточных мембран при гестозе принадлежит накоплению продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), обладающих выраженной цитотоксичностью [1]. Известно, что из всех клеток крови наиболее чувствительными к окислительному стрессу являются эритроциты, морфофункциональные характеристики которых могут стать одним из критериев оценки интенсивности процессов свободно-радикальных процессов.

Целью настоящей работы явилось исследование состояния про- и антиоксидантной системы крови, оцениваемое по содержанию продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и компонентов ферментативной антиоксидантной системы (низкомолекулярных и белковых сульфгидрильных (SH)-групп), а также некоторых морфофункциональных характеристик эритроцитов крови беременных женщин при гестозе различной степени тяжести.

### **Материалы и методы исследования**

Объектами исследования были женщины в возрасте от 26 до 36 лет, со сроками беременности 30–36 недель, поступившие на стационарное лечение в родильный дом № 2 и родильное отделение Республиканской Центральной больницы г. Махачкалы Республики Дагестан в период 2013–2015 гг. Все больные были разделены на три группы в соответствии со степенью тяжести гестоза: одну группу составили 12 пациенток с гестозом легкой (I) степени, вторую группу 10 пациенток с гестозом средней (II) степени, третью группу 8

пациенток с гестозом тяжелой (III) степени тяжести. Контрольную группу составили 10 пациенток с нормально протекающей беременностью на аналогичных сроках гестации. Критериями исключения из исследования у всех пациентов служили: эндокринные заболевания, наличие в анамнезе железодефицитной анемии, хронических заболеваний органов дыхания и пищеварения.

Об интенсивности пероксидации липидов в плазме крови и эритроцитах судили по содержанию одного из промежуточных продуктов ПОЛ – малонового диальдегида (МДА). Количественное определение МДА проводили по реакции с тиобарбитуровой кислотой [2]. Содержание SH-групп в плазме крови и эритроцитах определяли методом амперометрического титрования. Морфофункциональные параметры эритроцитов (средний объем эритроцита (MCV), среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC) и показатель гетерогенности эритроцитов (RDW)) были определены на гематологическом анализаторе «Sysmex КХ-21» (Германия). Статистическая обработка результатов произведена с использованием пакета СТАТИСТИКА.

#### **Результаты исследования**

Интенсивность свободно-радикальных процессов в крови беременных женщин можно оценить по содержанию конечного продукта ПОЛ– малонового диальдегида (МДА).

Исследование показало, что у беременных женщин при легком течении гестоза не происходит существенных изменений в содержании МДА (рис. 1). При гестозе средней степени тяжести в плазме крови содержание МДА увеличивается на 53 %, а в эритроцитах на 38,7 %. Отягощение степени тяжести гестоза приводит к драматическому нарастанию уровня МДА в плазме крови и в эритроцитах: он увеличивается в 2,3 и 1,98 раз относительно контроля. Повышение концентрации МДА в сыворотке крови при гестозе свидетельствует об

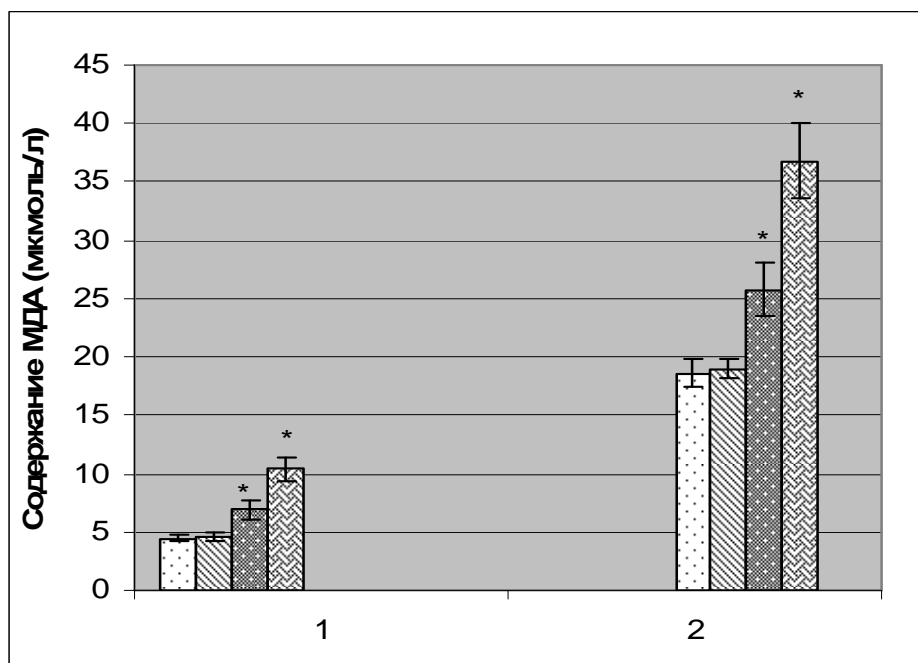


Рис. 1. Содержание МДА (мкмоль/л) в плазме крови (1) и эритроцитах (2) беременных женщин в норме (□), при гестозе легкой (▨), средней (■) и тяжелой (▩) степени (\*-достоверные относительно контроля изменения)

интенсификации процессов пероксидации липидов мембран клеток эндотелия сосудов). Ранее было показано, что активация ПОЛ является одним из маркеров гестоза, а свободно-радикальные повреждения в организме матери и плода являются одним из основных механизмов в общей цепи нарушений при гестозе [5].

Благодаря иммунологическим и генетическим факторам у беременных в момент имплантации наблюдается недостаточная инвазия трофобласта и отсутствие трансформации (дисэластога) мышечного слоя спиральных артерий миометрия. В результате спиральные артерии сохраняют морфологию небеременных, что предрасполагает их к спазму и снижению межворсинчатого кровотока. Гипоксия, возникающая в тканях маточно-плацентарного ком-плекса, вызывает поражение эндотелия с нарушением его тромборезистентных и вазоактив-ных свойств и выделение медиаторов, играющих основную роль в регуляции гемостаза и сосудистого тонуса. Вследствие плацентарной ишемии и опосредованного цитокинами ок-сидативного стресса увеличивается содержание свободных радикалов. При этом глубокие метаболические нарушения у рожениц с гестозом во многом связаны с мембранно-деструктивными процессами. Показано, что свободнорадикальные процессы при гестозе являются одной из причин длительного спазма сосудов и срыва церебральной ауторегуляции, нарушений функций головного мозга и формирования энцефалопатии [1,9].

Окислительный стресс влечет за собой дисбаланс между прооксидантами и антиоксидантами в сторону преобладания процессов окисления, что приводит к

повреждению клеток и тканей, нарушению окислительно-восстановительного равновесия и модификации белков. Наиболее чувствительными к окислению являются серосодержащие (метионин, цистеин) и ароматические (гистидин, триптофан, тирозин и фенилаланин) аминокислотные остатки белков.

Проявлению повреждающего действия свободных радикалов и перекисных соединений на ранних этапах препятствует сложная многокомпонентная антиокислительная система, состоящая из неферментативного и ферментативного звеньев. Неферментативное звено представлено антиоксидантами небелковой природы, к которым, в частности, относится низкомолекулярная тиолдисульфидная система на основе глутатиона и, частично, эрготионеина. По мнению Левина с сотр. [9], SH-группы белков также являются составной частью антиоксидантной защиты. Тиольные группы белков могут находиться в двух состояниях: восстановленном (-SH) и окисленном (-S-S-), причем концентрация SH-групп в несколько раз выше концентрации S-S-групп. Разнообразные окислители активно реагируют с SH-группами белков, образуя оксиды серы. Расположенные на поверхности белковой молекулы SH-группы могут инактивировать АФК, окисляясь до дисульфидов, тем самым защищая внутренние участки белка от повреждения.

Из таблицы 1 видно, что концентрация низкомолекулярных SH-групп при гестозе средней степени тяжести уменьшается на 38 % в плазме крови и на 23,4 % в эритроцитах. При этом содержание сульфгидрильных белковых групп в плазме крови уменьшается на 14 %, а в эритроцитах почти не изменяется. Гестоз тяжелой степени сопровождается критическим уменьшением концентрации низкомолекулярных SH-групп как в плазме (в 3,8 раз), так и в эритроцитах (в 2,3 раза). При этом концентрация белковых SH-групп в плазме крови уменьшается в 2,46 раз, а в эритроцитах в 1,57 раз.

**Таблица 1**

Содержание SH-групп (мкмоль/л) в плазме крови и эритроцитах беременных женщин при гестозе степени тяжести

Группы беременных женщин	плазма крови		эритроциты	
	низкомолекулярные SH-группы	белковые SH-группы	низкомолекулярные SH-группы	белковые SH-группы
контроль	50,7±1,8	750,3±50,6	190,6±15,8	2100,6±152,3
гестоз легкой степени (12)	49,6±4,3	710,3±39,6	200,6±14,8	2086,6±142,3
гестоз средней степени (10)	31,5±1,3*	645,3±40,3	146,0±12,3	2039,7±163,2
гестоз тяжелой степени тяжести (8)	13,2±1,1*	306,5±22,4*	82,9±5,3*	1336,5±99,8*

\* – достоверные относительно контроля изменения.

Таким образом, исследование показало, что по мере повышения степени тяжести гестоза у беременных женщин происходит интенсификация ПОЛ, коррелирующая с уменьшением концентрации сульфгидрильных групп низкомолекулярных соединений и белков крови. Причем, если при гестозе средней степени тяжести изменения параметров, указывающих на интенсификацию свободно-радикальных процессов, происходят в основном в плазме, то при тяжелом течении гестоза они затрагивают и эритроциты. Результаты исследования демонстрируют тот факт, что при гестозе низкомолекулярная тиодисульфидная система крови беременных более чутко реагирует на патологические изменения эндотелия сосудов, поскольку именно она является одной из первых «ловушек» свободных радикалов.

Ранее было показано, что при беременности, осложненной гестозом средней степени тяжести, развивается напряжение, а при прогрессировании гестоза до тяжелой степени – истощение антиоксидантной системы, что снижает адаптационные возможности организма и ведет к формированию хронического оксидативного стресса, как одного из ведущих звеньев патогенеза заболевания [5]. Известно, что из всех клеток крови наиболее чувствительными к окислительному стрессу являются эритроциты. Результаты проведенных нами исследований морфофункциональных параметров эритроцитов с использованием гематологического анализатора позволили обнаружить выраженную взаимосвязь интенсивности свободно-радикальных процессов в крови и изменений ряда морфо-функциональных характеристик при гестозе. Из таблицы 2 видно, что при легком течении гестоза изучаемые параметры эритроцитов остаются на уровне контроля.

**Таблица 2**

Морфофункциональные характеристики эритроцитов беременных женщин при гестозе разной степени тяжести

Группы беременных женщин	Гематологические параметры				
	количество эритроцитов ( $\bullet 10^{12}$ л)	MCV (фл)	MCHC (г/л)	MCH (пг)	RDW (%)
Контроль (n=10)	4.1±0.20	80,0±3,5	379,3±12,6	29,4±0,42	11,5±0,32
Гестоз легкой степени (n=12)	4,2±0.26	82,5±5,3	366,5±15,3	30,4±0,58	12,2±0,33
Гестоз средней степени (n=10)	5.3±0.34	89,6±2,3	323,6±9,3*	25,9±0,43	15,8±0,41
Гестоз тяжелой степени (n=8)	5,8±0,40*	99,3±3,6*	289,2±12,4*	21,3±0,20*	20,6±0,72*

\* – P<0,05 по сравнению с контрольной группой.

При гестозе средней степени количество эритроцитов увеличивается на 29,2 %, при этом незначительно повышается MCV(на 12,0 %), снижаются MCHC и MCH (на 15,3 % и

11,7 %) и увеличивается RDW (37,3 %). При тяжелом гестозе происходят изменения параметров эритроцитов, наблюдаемые при гестозе средней тяжести, становятся более значимыми: количество эритроцитов повышается на 41,5 %, средний объем эритроцитов увеличивается на 24,5 %, достоверно снижаются MCHC и MCH (на 23,8 % и 27,6 %). При этом наиболее существенные изменения претерпевает параметр RDW: он увеличивается на 79,1 %.

Эритроцитоз, повышение концентрации гемоглобина в крови и гематокрита, наблюдаемые в нашем исследовании, являются следствием уменьшения объема циркулирующей крови. Гестоз всегда сопряжен с острым повреждением эндотелия мелких артериальных сосудов (артериолы, прекапилляры) и повышением их проницаемости. Одной из причин нарушения целостности эндотелия сосудов может быть отложение на клетках эндотелия иммунных комплексов. Результатом острого иммунного эндотелиоза является повышение сосудистой (капиллярной) проницаемости; жестокий сосудистый спазм. Вследствие перехода жидкости из сосудистого русла в межклеточное пространство развивается гиповолемия [6].

Снижение средней концентрации гемоглобина в одном эритроците указывает на существенное повышение проницаемости эритроцитов. Последнее свидетельствует о снижении осмотической резистентности эритроцитов и развитии их набухания, что приводит к обнаруженному в нашем исследовании увеличению среднего размера эритроцитов. Уменьшение осмотической резистентности эритроцитов может быть обусловлено активацией процессов липопероксидации при гестозе, которая приводит к дестабилизации биологических мембран клеток, в частности эритроцитов. Повышение проницаемости эритроцитов при тяжелом гестозе, обнаруженное в нашем исследовании, соответствует данным литературы о возможности развития микроангиопатического гемолиза при тяжелом течении гестоза [7].

Особого внимания заслуживают обнаруженное в исследовании значительное повышение показателя гетерогенности (анизоцитоза) эритроцитов (RDW), рассчитываемого как коэффициент вариации среднего объема эритроцитов. Существенный анизоцитоз эритроцитов при тяжелой форме гестоза является следствием увеличения среднего объема эритроцитов и появлением в крови популяции эритроцитов, отличающихся большим объемом, так называемых макроцитов. С другой стороны, повышение проницаемости эритроцитов, сопряженное со снижением концентрации гемоглобина в них, вполне может явиться причиной появления популяции эритроцитов с маленьким объемом – микроцитов. Однако в наших исследованиях в подавляющем большинстве случаев гистограммы распределения эритроцитов по объемам были смещены вправо. Это свидетельствует о том,

что в тяжелом гестозе преимущественно доминирует популяция макроцитов. Ранее в работе Сергеевой О. и сотр. [8] при анализе клеточного состава периферической крови беременных с гестозом также были выявлены патологические изменения параметров эритроцитов, однако в нашем исследовании эти изменения носят более ярко выраженный характер.

#### **Выводы:**

1. В динамике прогрессирования гестоза у беременных женщин происходит интенсификация ПОЛ, коррелирующая с уменьшением концентрации сульфгидрильных групп низкомолекулярных соединений и белков крови. Причем, если при гестозе средней степени тяжести изменения параметров, указывающих на интенсификацию свободно-радикальных процессов, происходят в основном в плазме, то при тяжелом течении гестоза они затрагивают и эритроциты.
2. При гестозе средней степени крови увеличивается количество эритроцитов, MCV и RDW, при этом MCH и MCHC снижаются. При тяжелой форме гестоза патологические изменения всех перечисленных параметров становятся более выраженными.
3. При гестозе обнаружена четкая корреляция между интенсивностью перекисного окисления липидов, состоянием неферментативной антиоксидантной системы крови и рядом морфофункциональных характеристик эритроцитов беременных женщин: чем больше содержание МДА и ниже концентрация сульфгидрильных групп, тем более ярко выражены патологические изменения исследованных параметров эритроцитов.

#### **Список литературы**

1. Аккер Л. В., Варшавский Б. Я. Показатели оксидантного и антиоксидантного статуса у беременных с гестозом // Акушерство и гинекология. – 2000. – № 4. – С. 17-20.
2. Андреева Л.И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41-43.
3. Вихляева Е.М. Доклинические проявления системных нарушений, клинические исходы и отдаленные последствия преэклампсии // Акушерство и гинекология. – 2009. – № 1. – С. 3-6.
4. Кулаков В.И. Руководство по амбулаторно-поликлинической помощи в акушерстве и гинекологии. – М.: Геотар-Медиа, 2007. – 400 с.
5. Макацария А.Д., Бицадзе В.О., Акинъшина С.В. Синдром системного воспалительного ответа в акушерстве. – М.: МИА, 2006. – 448 с.
6. Нагорная В. Ф. Гестозы // Здоровье Украины. – 2013. – №1. – С. 35-37.



7. Према К. И. Патогенез поздних гестозов беременных // Международный медицинский журнал. – 2010. – № 1. – С. 62-66.
8. Сергеева О.Н., Глухова Т.Н., Понукалина Е. В. Особенности клеточного состава периферической крови у беременных с гестозом // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 6. – С.1-7.
9. Hertig A., Liere P. New markers in preeclampsia // Clin. Chim. Acta. – 2010, № 11. – P.1591-1595.
10. Levine R. L., Barlett B. S., Moskovitz J., Mosoni L. Methionine residues may protect proteins from critical oxidative damage // Mech. Ageing Develop. – 1999. – V. 107, № 3. – P. 323-332.

**Рецензенты:**

Габибов М.М., д.б.н., профессор кафедры зоологии и физиологии ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный университет», г. Махачкала;

Магомедов А.М., д.б.н., профессор кафедры медицинской биологии ГБОУ ВПО «Дагестанская государственная медицинская академия», г. Махачкала.