

ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЕ ПОРАЖЕНИЕ В РАЗВИТИИ ГИПОКСИИ ПЛОДА ПРИ ПРЕЭКЛАМПСИИ

Зобова Д.А.¹, Власова Т.И.¹, Тюрина Е.П.¹, Маркина А.Е.¹, Щекина С.А.¹,
Кортякова Л.Ю.¹, Мохаммед Д.С.¹

¹ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва»,
Саранск, e-mail: vap.61@yandex.ru

Одним из основных осложнений гестации является преэклампсия. Преэклампсия является специфическим синдромом, который возникает в 5% случаев после 20-й недели беременности. При этом данное осложнение беременности является основной причиной заболеваемости и смертности матери и новорожденного. В литературных источниках среди патогенетических звеньев преэклампсии фигурирует нарушение баланса между ангио- и противоангиогенными факторами. Нами проведено лабораторное исследование: первая группа (n=24) – беременные с умеренной преэклампсией; вторая группа (n=22) – пациентки с тяжелой преэклампсией. В исследуемых группах при поступлении в клинику оценивали активность процессов липопероксидации, антиоксидантной системы, определяли уровень продуктов метаболизма оксида азота и активность фосфолипазы А2. Ряд показателей определяли также в пуповинной крови плодов. Показано, что при преэклампсии любой степени тяжести активизируются процессы, лежащие в основе мембрандестабилизирующих явлений в организме беременных. Кроме того, отмечено снижение концентрации оксида азота в плазме крови беременных в зависимости от степени тяжести рассматриваемого синдрома, что в целом свидетельствует о развитии эндотелиальной дисфункции, которая, безусловно, способствует прогрессированию преэклампсии. Во многом однонаправленные явления выявлены и в пуповинной крови плодов. Указанный спектр патогенетических явлений – важнейший компонент развития гипоксии плода при преэклампсии.

Ключевые слова: преэклампсия, эндотелиальная дисфункция, оксид азота, липидный обмен.

ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN THE DEVELOPMENT OF FETAL HYPOXIA IN PREECLAMPSIA

Zobova D.A.¹, Vlasova T.I.¹, Tyurina E.P.¹, Markina A.E.¹, Shchekina S.A.¹,
Kortyakova L.Y.¹, Mohammed D.S.¹

¹National Research Ogarev Mordovia State University, Saransk, e-mail: vap.61@yandex.ru

One of the main complications of gestation is preeclampsia. Preeclampsia is a specific syndrome that occurs in 5% of cases after the 20th week of pregnancy. At the same time, this complication of pregnancy is the main cause of morbidity and mortality in mothers and newborns. In the literature, among the pathogenetic links of preeclampsia, there is a violation of the balance between angio- and anti-angiogenic factors. We conducted a laboratory study: the first group (n=24) – pregnant women with moderate preeclampsia; the second group (n=22) - patients with severe preeclampsia. In the study groups, upon admission to the clinic, the activity of lipoperoxidation processes, the antioxidant system was evaluated, the level of nitric oxide and phospholipase A2 metabolic products were determined. A series of indicators were also determined in the umbilical cord blood of the fetuses. It is shown that preeclampsia of any severity is characterized by the activation of processes that are the basis of membrane-destabilizing phenomena in the body of pregnant women. In addition, there was a decrease in the concentration of nitric oxide in the blood plasma of pregnant women depending on the severity of the syndrome, which generally indicates the development of endothelial dysfunction, which certainly contributes to the progression of preeclampsia. In many respects unidirectional phenomena are revealed in umbilical cord blood of fruits. This spectrum of pathogenetic phenomena is the most important component of fetal hypoxia in preeclampsia.

Keywords: preeclampsia, endothelial dysfunction, nitric oxide, lipid metabolism.

Среди осложнений гестации на протяжении длительного времени одно из лидирующих мест занимают гипертензивные расстройства, в частности преэклампсия. Данное патологическое состояние является ведущей причиной смертности и заболеваемости

новорожденного и матери [1]. По данным литературных источников, частота преэклампсии составляет 7-23% [2].

Несмотря на экономические затраты по ведению пациенток с рассматриваемой патологией, частота преэклампсии не имеет тенденции к снижению. Развитие дисфункции эндотелия, по мнению ряда исследователей, является одним из механизмов развития преэклампсии [3].

Оксид азота относится к маркерам эндотелиального поражения, способствует успешной имплантации эмбриона, росту плода, адекватной перфузии котиледонов плаценты. Оксид азота также является мощным вазодилататором. Механизм развития преэклампсии связан с развитием ишемических изменений плацентарной ткани, что приводит к снижению кровотока в системе «мать-плацента-плод» и активации компенсаторных реакций по возобновлению перфузии плаценты [4]. При этом в условиях окислительного стресса клетки плацентарного ложа выделяют вазопрессорные вещества, которые усиливают эндотелиальную дисфункцию. В результате формируется порочный круг, способствующий прогрессированию артериальной гипертензии, следовательно, преэклампсии [5].

Указанные данные свидетельствуют о важности дальнейших научных исследований для углубленного изучения вопросов о роли изменения концентрации оксида азота, липидного метаболизма, продуктов перекисного окисления липидов, антиоксидантной системы (АОС) [6; 7]. В связи с этим можно предположить, что исследования в данной области дадут возможность разработать методы прогнозирования и рациональной профилактики преэклампсии.

Цель исследования: определить значимость некоторых триггерных агентов эндотелиальной дисфункции в развитии гипоксии плода при умеренной и тяжелой преэклампсии.

Материалы и методы исследования

Методом случайной выборки были отобраны 62 беременных, которые распределены по группам. Группа сравнения составили 16 беременных с физиологическим течением гестации. Величины необходимых показателей, полученные в группе сравнения, были использованы в качестве отправной точки как физиологически нормальные значения.

В состав исследуемой группы вошли 43 беременные с преэклампсией, разделенные на две подгруппы, соответственно степени тяжести, получавшие лечение в отделениях перинатального центра «Мордовской республиканской центральной клинической больницы» г. Саранска. Критериями включения явились срок гестации более 22 недель, возраст беременных от 18 до 45 лет, согласие беременной на участие в исследовании, изолированная

преэклампсия. Критерии исключения следующие: тяжелая соматическая патология, ВИЧ-инфекция, туберкулез, психические заболевания.

Согласно классификации ВОЗ, первую подгруппу с симптомами умеренной преэклампсии составили 24 беременных. Во вторую подгруппу вошли 22 пациентки с диагностированной тяжелой преэклампсией.

В работе использованы общеклинические, лабораторно-биохимические методы исследования. Материалом для исследования служили плазма крови беременных, пуповинная кровь. Для определения концентрации малонового диальдегида (МДА) в плазме крови и эритроцитах использовали реакцию с 2-тиобарбитуровой кислотой с образованием окрашенного комплекса при высокой температуре в кислой среде. Измерение оптической плотности опытной пробы против холостой проводили при $\lambda = 535$ нм и $\lambda = 570$ нм в кювете с толщиной 10 мм.

Определение диеновых конъюгатов (ДК) в сыворотке крови основано на методе Z. Placer (1968), спектрофотометрирование проводили при $\lambda = 233$ нм.

Концентрацию каталазы определяли методом, основанным на способности перекиси водорода образовывать окрашенный комплекс с 4%-ным раствором молибдата аммония в присутствии плазмы крови. Интенсивность окраски полученного соединения измеряли при $\lambda = 410$ нм.

Активность супероксиддисмутазы (СОД) изучали методом, основанным на реакции супероксидзависимого окисления кварцетина и ингибирования данной реакции СОД, с последующим определением разницы оптической плотности (сразу же при добавлении кварцетина и через 15 минут при длине волны 406 нм).

Определение активности фосфолипазы A_2 проводили титрометрическим методом с использованием 1%-ного раствора тритон X-100. Оценивали активность фосфолипазы A_2 в растворе, содержащем 150 ммоль, тритон X-100, 10 ммоль трис-HCL-буфер (рН 8,0), 10 ммоль $CaCl_2$ и субстрат (1,2 ммоль). В качестве субстрата использовали фосфатидилхолины яичного желтка. Регистрацию каталитической активности фермента оценивали на установке, состоящей из иономера ЭВ-74, электродной системы. Расчет выражали в мкмоль/с/г белка (Трофимов В.А., 1996).

Метод определения продуктов метаболизма NO в плазме основан на реакции с 6%-ным раствором сульфата цинка, с последующим фотометрическим определением нитрит-ионов с помощью реакции Грисса. Липиды из плазмы крови экстрагировали хлороформметаноловой смесью, фракционирование проводили методом тонкослойной хроматографии с использованием силикагелевых пластин. Молекулярный анализ спектра

липидов получали на денситометре Model GS-670 (BIO-RAD, США) с соответствующим программным обеспечением (Phosphor Analyst/PS Software).

Полученные цифровые данные обрабатывали с помощью программ Microsoft Excel XP и IBM SPSS Statistics 24 методом вариационной статистики с использованием критерия t Стьюдента, корреляционную зависимость – критерия r. Для проверки выборок на нормальность распределения использовали критерий Лиллиефорса.

Результаты исследования и их обсуждение

Все беременные были рандомизированы по возрасту и соматическому состоянию. Возраст беременных, включенных в исследование, находился в пределах от 18 до 42 лет и составил в среднем $31,5 \pm 0,5$ года при умеренной преэклампсии, $30,2 \pm 0,4$ года – для тяжелой преэклампсии, $29,6 \pm 0,5$ года для беременных с физиологическим течением гестации.

Исследование продуктов липопероксидации показало, что в плазме крови беременных с преэклампсией происходит интенсификация перекисного окисления липидов (ПОЛ) (табл. 1).

Таблица 1

Содержание ПОЛ-АОС, стабильных метаболитов оксида азота, фосфолипазы A₂ в плазме беременных (M±m)

Показатель	Здоровые беременные, n=16	Умеренная преэклампсия, n=24	Тяжелая преэклампсия, n=22
ДК, усл. ед./мг липидов	0,25±0,013	0,41±0,026*	0,49±0,023* ¹
МДА, нмоль/г белка	2,56±0,17	3,47±0,28*	4,89±0,43* ¹
Каталаза, мг H ₂ O ₂ в мин/г белка	0,0032±0,0002	0,0058±0,0003*	0,0047±0,0002* ¹
СОД, усл. ед.	4,59±0,23	3,09±0,23*	2,76±0,24* ¹
Активность фосфолипазы A ₂ , мкмоль/с/г белка	0,081±0,013	0,171±0,012*	0,391±0,014* ¹
Нитраты/ нитриты, мкмоль/л	13,7±1,4	12,1±1,2*	9,8±1,6* ¹

Примечание здесь и далее: * - достоверность данных по отношению к беременным группы сравнения при $p < 0,05$; ¹ - достоверность данных по отношению первой группы при $p < 0,05$.

При умеренной преэклампсии (первая подгруппа) отмечено повышение уровня МДА по сравнению с нормальным уровнем на 35,5%, а ДК – на 64% ($p < 0,05$). Интенсивность ПОЛ при тяжелой преэклампсии (вторая подгруппа) характеризуется большим повышением: содержание МДА по сравнению с референтными значениями увеличивалось на 91%, а ДК – на 96% ($p < 0,05$). При сравнении содержания продуктов липопероокисления в плазме крови у

беременных указанных подгрупп установлено их достоверное увеличение во второй подгруппе по сравнению с первой: уровень МДА был выше на 40,9%, а ДК – на 19,5%.

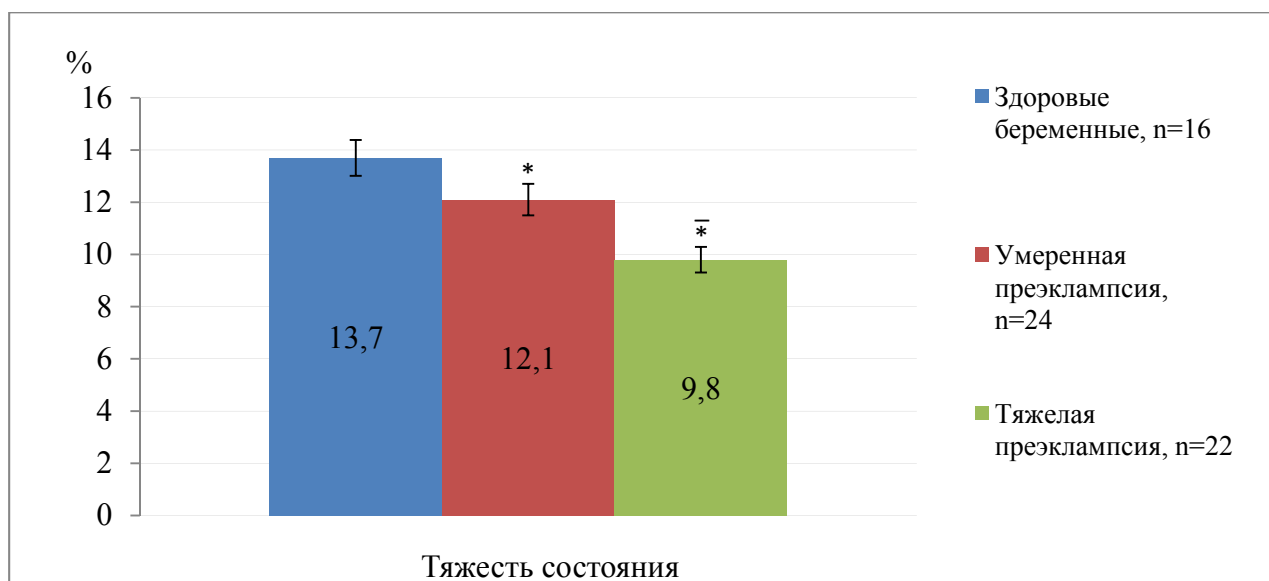
Анализ состояния каталазы в плазме крови показал, что при преэклампсии происходит активация данного фермента (табл. 1). При умеренной форме преэклампсии (первая подгруппа) отмечено повышение уровня каталазы по отношению нормы на 81,2%, при тяжелой (вторая подгруппа) – на 46,9% ($p < 0,05$).

При изучении при преэклампсии активности другого антиоксидантного фермента – СОД – отмечено снижение активности фермента: при умеренной форме (первая подгруппа) она по сравнению с нормой падала на 32,7%, при тяжелой (вторая подгруппа) – на 39,9% ($p < 0,05$).

Фосфолипаза А₂ является компонентом защитной системы клеток, регулирующим образование окисленных липидов. В нашем исследовании отмечено значительное повышение активности данного фермента: при умеренной преэклампсии (первая подгруппа) – на 111% ($p < 0,05$), при тяжелой (вторая подгруппа) – на 382% ($p < 0,05$).

В развитии гипертензивных расстройств не систематизированы данные о роли нарушений синтеза оксида азота. Оксид азота обладает мощным вазодилатирующим и антитромбогенным эффектом. Некоторые исследователи отмечают уменьшение NO-синтазной активности в плацентарной ткани. Так, в работах Л.И. Дятлова и др. (2015) и О.Н. Сергеевны и др. (2015) выявлено нарастание концентрации метаболитов оксида азота в плазме беременных с преэклампсией, что может свидетельствовать о развитии компенсаторной реакции [8; 9].

В нашем исследовании при умеренной/ тяжелой преэклампсии обнаружено снижение уровня метаболитов оксида азота на 11,7 и 28,5% ($p < 0,05$) соответственно относительно нормы.



Содержание стабильных метаболитов оксида азота плазмы крови в исследуемых группах.

Примечание: * - достоверность данных по отношению здоровых при $p < 0,05$.

– - достоверность данных по отношению к данным первой группы при $p < 0,05$

В эритроцитах пуповинной крови отмечалось увеличение содержания диеновых конъюгатов на 38% при умеренной преэклампсии и на 52,4% – при тяжелой ($p < 0,05$). Уровень МДА был увеличен на 21,9% и 28,1% при умеренной/тяжелой преэклампсии соответственно ($p < 0,05$) (табл. 2).

Таблица 2

Содержание ПОЛ-АОС и фосфолипазы А₂ в эритроцитах пуповинной крови у плодов ($M \pm m$)

Показатель	Здоровые беременные, n=16	Умеренная преэклампсия, n=24	Тяжелая преэклампсия, n=22
ДК, усл. ед./мг липидов	0,21±0,012	0,29±0,011*	0,32±0,016* ¹
МДА, нмоль/г белка	3,2±0,23	3,9±0,26*	4,1±0,27*
Каталаза, мг Н ₂ О ₂ в мин/г белка	0,006±0,0005	0,005±0,0004	0,007±0,0003 ¹
СОД, усл. ед./мг белка	11,12±0,63	10,21±0,51	10,32±0,63
Активность фосфолипазы А ₂ , мкмоль/с/г белка	0,36±0,014	0,76±0,04*	0,91±0,03* ¹

Потенциал каталазы достоверно не отличался от контрольных показателей (табл. 2). Активность фосфолипазы А₂ в эритроцитах плодов была повышена. Таким образом, в эритроцитах пуповинной крови у плодов беременных с преэклампсией возникает существенная интенсификация ПОЛ и фосфолипазной активности. Эти изменения были более выражены в группе беременных с тяжелой преэклампсией, в которой уровни ДК и фосфолипазы А₂ превышали таковые в группе с легкой формой осложнения на 10,3 и 19,7% ($p < 0,05$) соответственно, а активность каталазы была ниже на 40,1% ($p < 0,05$) (табл. 2).

При интенсификации процессов липопероксидации происходит нарушение липидного метаболизма на тканевом и организменном уровнях. Результаты исследования количественного содержания липидов представлены в таблице 3.

Таблица 3

Количественное содержание липидов в плазме беременных при преэклампсии ($M \pm m$)

Показатель	Здоровые беременные, n=16	Умеренная преэклампсия, n=24	Тяжелая преэклампсия, n=22
Суммарные фосфолипиды	38,23±1,18	31,41±1,33*	29,24±1,23*
Холестерол	36,83±1,17	32,12±1,18*	31,16±1,19*

Свободные жирные кислоты	2,33±0,15	3,41±0,23*	4,15±0,21* ¹
Эфиры холестерина	7,23±0,41	10,24±0,23*	12,23±0,42* ¹
Триацилглицеролы	9,21±0,47	15,23±0,78*	18,24±0,71* ¹

Полученные данные свидетельствуют, что при преэклампсии отмечается снижение уровня холестерина: при умеренной степени – на 12,8%, при тяжелой – на 15,4% ($p < 0,05$) от нормального значения. Уровень свободных жирных кислот также изменился: при умеренной преэклампсии отмечено повышение на 46,4%, при тяжелой – на 78,1% ($p < 0,05$).

При умеренной преэклампсии концентрация эфиров холестерина и триацилглицеролов была выше нормальных значений на 41,6 и 65,4% ($p < 0,05$) соответственно. При тяжелой преэклампсии уровень рассматриваемых липидов был повышен в большей степени на 69,2% и 98% соответственно для эфиров холестерина и триацилглицеролов. Уровень суммарных фосфолипидов у пациенток с преэклампсией снижался (на 17,8 и 23,5% соответственно) (табл. 3).

Степень нарушения липидного компонента плазмы крови согласовалась со степенью тяжести заболевания. Этому свидетельствует повышение количества свободных жирных кислот, холестерина и триацилглицеролов в группе беременных с тяжелой преэклампсией по сравнению с легкой тяжестью на 21,7, 19,9 и 20,0% ($p < 0,05$) соответственно.

Фракционный состав липидов при преэклампсии представлен в таблице 4. В нашем исследовании отмечены значительные изменения фосфолипидного состава плазмы крови беременных.

Таблица 4

Фракционный состав фосфолипидов в плазме крови беременных при преэклампсии, %

(M±m)

Показатель	Здоровые беременные, n=16	Умеренная преэклампсия, n=24	Тяжелая преэклампсия, n=22
Лизофосфолипиды	1,53±0,09	3,63±0,36*	4,48±0,26* ¹
Сфингомиелин	12,63±1,71	17,61±1,73*	18,23±1,81*
Фосфатидилхолин	37,45±1,52	33,41±1,58*	31,23±1,36*
Фосфатидилсерин	6,54±0,23	6,43±0,21	7,56±0,41 ¹

У женщин при умеренной и тяжелой преэклампсии выявлены повышение концентрации лизофосфолипидов относительно нормы на 137,3 и 192,8% ($p < 0,05$), сфингомиелина на 39,4 и 44,3% ($p < 0,05$) соответственно. Данные изменения свидетельствуют о качественном изменении липидного спектра при исследуемой патологии. Также у обследуемых беременных отмечено снижение уровня фосфатидилхолина на 10,8 и

16,7% ($p < 0,05$) при умеренной и тяжелой преэклампсии соответственно. Уровень фосфатидилсерина в исследуемых группах достоверно не отличался от нормы (табл. 4).

Таким образом, проведенный спектр исследований показывает, что при преэклампсии любой степени тяжести активизируются процессы, лежащие в основе мембрандестабилизирующих явлений в организме беременных. Кроме того, отмечено снижение концентрации оксида азота в плазме крови беременных в зависимости от степени тяжести рассматриваемого синдрома, что в целом свидетельствует о развитии эндотелиальной дисфункции, которая, безусловно, способствует прогрессированию преэклампсии. Установлена корреляционная зависимость между показателями мембранодестабилизирующих агентов (уровень молекулярных продуктов перекисного окисления мембранных липидов, фосфолипидной активностью) и концентрацией оксида азота в зависимости от тяжести преэклампсии ($r = 0,634-0,856$, $p < 0,05$). Во многом однонаправленные явления обнаружены и в пуповинной крови плодов. Полученный фактический материал дает основание утверждать, что указанный спектр патогенетических явлений – важнейший компонент развития гипоксии плода при преэклампсии.

Выводы

Развитие гипоксии плода при преэклампсии сопряжено с развитием эндотелиальной дисфункции, что во многом обусловлено мембранодестабилизирующими явлениями в виде существенных модификаций фосфолипидного состава в крови женщин с осложнённой беременностью.

Одними из триггерных агентов мембранодестабилизирующих процессов в крови беременных и плодов при преэклампсии являются чрезмерная активность фосфолипаз (на примере активности фосфолипазы A2) и оксидативный стресс.

Интенсивность перекисного окисления мембранных липидов и активность фосфолипаз сопряжены с тяжестью преэклампсии. При тяжелой преэклампсии указанные триггерные агенты мембранодестабилизирующих явлений существенно более выражены (на 15-23%) по сравнению с их активностью при легкой форме.

Список литературы

1. Миронов А.В., Торчинов А.М., Умаханова М.М., Галачиев О.В., Османова С.Р., Филиппов А.В., Лебедев В.А. Оценка степени тяжести эндотелиальной дисфункции при осложнениях беременности // Трудный пациент. 2018. Т. 16. № 8-9. С. 30-36.
2. Маслов Л.Н., Колар Ф., Криг Т. Дистантное ишемическое прекодиционирование // Успехи физиологических наук. 2009. № 4. С. 64-78.

3. Герасимович Г.И. Преэклампсия как осложнение артериальной гипертензии при беременности // *Здравоохранение (Минск)*. 2019. № 5 (866). С. 16-28.
4. Eastwood K.A., Hunter A.J., Patterson C.C., McCance D.R., Young I., Holmes V.A. ANNALS EXPRESS: The role of biomarkers in predicting pre-eclampsia in high-risk women. *Ann. Clin. Biochem.* 2019. P. 4563219894022. DOI: 10.1177/0004563219894022.
5. Коленко О.В., Сорокин Е.Л., Ходжаев Н.С., Помыткина Н.В., Чижова Г.В., Бердаков Ю.Н., Филь А.А., Пашенцев Я.Е. Изучение влияния эндотелиальной дисфункции на макулярный кровоток у беременных с преэклампсией в течение беременности и в послеродовом периоде // *Современные технологии в офтальмологии*. 2019. № 1 (26). С. 281-284.
6. Wotherspoon A.C., Young I., McCance D.R., Holmes V.A. Evaluation of biomarkers for the prediction of pre-eclampsia in women with type 1 diabetes mellitus: A systematic review. *J. Diabetes Complications*. 2016. V. 30(5). P. 958-966. DOI: 10.1016/j.jdiacomp.2016.02.001.
7. Симанов И.В. Факторы риска развития преэклампсии // *Справочник врача общей практики*. 2019. № 1. С. 17-21.
8. Дятлова Л.И., Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Рогожина И.Е., Глухова Т.Н. Патогенетическая взаимосвязь эндотелиальной дисфункции и нарушений коагуляционного потенциала крови при беременности, осложненной развитием преэклампсии // *Тромбоз, гемостаз и реология*. 2015. № 3 (63). С. 41-45.
9. Сергеевна О.Н., Чеснокова Н.П., Понукалина Н.П., Рогожина И.Е., Глухова Т.Н. Патогенетическая взаимосвязь эндотелиальной дисфункции и нарушений коагуляционного потенциала крови при беременности, осложненной преждевременным разрывом плодных оболочек // *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2015. № 70 (5). С. 599-603.