Состояние антиоксидантного статуса крови женщин при физиологическом и осложненном течении беременности

Микашинович З.И., Олемпиева Е.В.

State of antioxidant blood system at physiological pregnancy and pregnancy complicated with bleeding

Mikashinovich Z.I., Olempieva Ye.V.

Ростовский государственный медицинский университет, г. Ростов-на-Дону

© Микашинович З.И., Олемпиева Е.В.

Цель исследования — анализ активности ферментов антиоксидантной защиты крови здоровых женщин репродуктивного возраста, а также женщин с физиологическим и осложненным течением беременности.

Установлено, что метаболические изменения при физиологическом течении беременности направлены на улучшение процессов микроциркуляции, характеризующееся усилением продукции перекиси водорода, которая является важным стимулятором индуцированной кровотоком вазодилатации на фоне активации глутатионпероксидазы.

Метаболические изменения при осложненном течении беременности сопровождаются развитием эндотелиальной дисфункции вследствие проявления цитотоксических эффектов перекиси водорода, возникающей как на фоне активации супероксиддисмутазы, так и увеличения миелопероксидазной активности.

Ключевые слова: беременность, гипертоническая болезнь, антиоксидантная защита.

The task of our investigation was the analysis of enzyme activity of antioxidant defense in women blood at physiological pregnancy and pregnancy complicated with hypertension. It was established that hyper production of hydrogen peroxide and glutathione peroxidase activation at physiological pregnancy improved microcirculation due to vasodilatation effect of hydrogen peroxide.

It was established that activation of superoxiddismutase and myeloperoxidase at pregnancy complicated with hypertension developed endothelial dysfunction owing to cytotoxic effects of hydrogen peroxide.

Key words: antioxidant defense, pregnancy, hypertension.

УДК 618.2/3-06:616.15-018.5

Введение

Известно, что физиологическое течение беременности сопровождается развитием выраженного системного окислительного стресса (СОС) [1] вследствие дисрегуляции протекания процессов липидной пероксидации и уровня активности ферментов антиоксидантной защиты организма.

Антиоксидантные системы — системы, препятствующие дестабилизации структурно-функционального состояния мембран клеток и обеспечивающие протекание свободнорадикальных процессов на стационарном уровне. Однако направленность и степень выраженности дестабилизации в работе ферментов антиоксидантной защиты (АОЗ) при осложненном течении беременности на фоне гипертонической болезни

(ГБ) на сегодняшний день окончательно не ясна, что затрудняет своевременное прогнозирование выраженности СОС.

В этой связи целью данного исследования явился анализ состояния ферментов АОЗ крови здоровых женщин репродуктивного возраста, а также женщин с физиологическим и осложненным течением беременности.

Материал и методы

По характеру течения беременности на основании данных истории беременности, ультразвукового и электрокардиографического исследования, морфологического исследования плацент были выделены две основные клинические группы. Клиническая группа 1 представлена 30 практически здоровыми беременными женщинами с физиологиче-

ским течением беременности, средний возраст которых составил $(24,1 \pm 1,7)$ года.

Клиническая группа 2 представлена 45 беременными женщинами с верифицированной ГБ I стадии I степени, длительность основного заболевания не превышала 4—5 лет, средний возраст пациенток данной группы составил $(26,0 \pm 2,8)$ года.

Контрольная группа была представлена 33 практически здоровыми женщинами репродуктивного возраста без признаков сердечно-сосудистой патологии, средний возраст пациенток данной группы составил $(26,2 \pm 2,4)$ года.

Материалом для исследования были выбраны эритроциты и плазма венозной крови, взятой натошак из локтевой вены в сроке гестации 38—42 нед. В эритроцитах определяли активность следующих ферментов АОЗ: супероксиддисмутазы (СОД) по методу Н.Р. Misra, J. Fridovich (1972) в модификации [8]; каталазы по методу М.А. Королюк [4]; глутатионпероксидазы (ГПО) по методу В.М. Моина [6]; глутатионредуктазы (ГР) по методу Л.Б. Юсуповой [10]; количество восстановленного глутатиона (GSH) по методу G.H. Ellman [11]. В плазме крови определяли активность миелопероксидазы (МПО) по методу Klebanoff (1971), описанному М.Г. Шафран, С.Н. Лызловой [9].

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили согласно общепринятым методам с определением среднего арифметического значения X , ошибки среднего значения m с использованием программы Stadia, версия 6.0 [5]. О достоверности показателей контрольной и клинических групп судили по величине t -критерия Стьюдента после проверки распределения на нормальность. Статистически достоверными считали отличия, соответствующие оценке ошибки вероятности $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В ходе проведенного исследования установлено, что в клинической группе 1 имеется статистически достоверное увеличение активности СОД на 173,5% ($p < 0,005$) относительно контрольной группы (таблица). Такой рост активности СОД сопровождается менее значимым однонаправленным ростом активности каталазы на 41,6% ($p < 0,05$) относительно той же группы. Активация супероксиддисмутазы является косвенным свидетельством избыточной продукции супероксидного анион-радикала, что согласуется с имеющимися литературными данными [2, 3, 12] и подтверждает развитие свободнорадикального окисления при

физиологическом течении беременности. Кроме того, выявленные изменения активности СОД свидетельствуют о повышении продукции перекиси водорода, обладающей неоднозначными биологическими эффектами.

Активность антиоксидантных ферментов крови женщин при физиологическом и осложненном течении беременности ($X \pm m$)

Показатель	Группа		
	Контрольная ($n = 33$)	Клиническая 1 ($n = 30$)	Клиническая 2 ($n = 45$)
Супероксиддисмутаза, усл. ед./г Hb	$4,68 \pm 0,23$	$12,8 \pm 0,44$ $p < 0,005$	$17,6 \pm 0,252$ $p < 0,005$ $p^* < 0,05$
Каталаза, мкат/г Hb	$2,43 \pm 0,097$	$3,44 \pm 0,101$ $p < 0,05$	$2,56 \pm 0,084$ $p > 0,05$ $p^* < 0,05$
Соотношение СОД/ГПО, усл. ед.	$2,32 \pm 0,139$	$0,78 \pm 0,045$ $p < 0,05$	$1,53 \pm 0,061$ $p < 0,05$ $p^* < 0,05$
Глутатионпероксидаза, усл. ед./г Hb	$2,02 \pm 0,081$	$16,5 \pm 0,29$ $p < 0,001$	$11,52 \pm 0,249$ $p < 0,005$ $p^* < 0,05$
Глутатионредуктаза, мкмоль/г Hb	$12,77 \pm 1,07$	$33,4 \pm 0,366$ $p < 0,05$	$42,1 \pm 0,809$ $p < 0,05$ $p^* < 0,05$
Восстановленный глутатион, мкмоль/г Hb	$5,82 \pm 0,349$	$13,2 \pm 0,309$ $p < 0,005$	$10,0 \pm 0,231$ $p < 0,05$ $p^* < 0,05$
Миелопероксидаза, мкмоль/мг белка	$11,63 \pm 0,461$	$82,8 \pm 4,04$ $p < 0,001$	$110,8 \pm 6,87$ $p < 0,005$ $p^* < 0,05$

Примечание. Hb — гемоглобин; n — число наблюдений; p — степень достоверности относительно контрольной группы; p^* — степень достоверности относительно клинической группы 1.

Полученный фактический материал свидетельствует о том, что развитие беременности при наличии неблагоприятного преморбитного фона в виде гипертонической болезни сопровождается более выраженными изменениями метаболизма в организме беременных женщин клинической группы 2. Так, активность СОД статистически достоверно увеличивается на 37,5% ($p < 0,05$) относительно клинической группы 1, что превышает значения контрольной группы на 276% ($p < 0,005$). Такие изменения активности СОД сопровождаются статистически достоверным угнетением активности каталазы на 25,6% ($p < 0,05$) по сравнению с клинической группой 1. Однако эти данные не имели достоверных отличий от значений контроля. Выявленные изменения ферментативной активности СОД и каталазы эритроцитов у беременных женщин клинической группы 2 по сравнению с женщи-

нами клинической группы 1 свидетельствуют о том, что при ГБ отмечается выраженная продукция супероксидного анион-радикала, которая способствует протеканию свободнорадикального окисления на более высоком уровне. Необходимо отметить тот факт, что снижение активности каталазы эритроцитов у беременных с ГБ свидетельствует о большей продукции пероксида водорода, обладающего вазодилатационным эффектом. По-видимому, такие изменения можно считать компенсаторно-приспособительной реакцией, направленной на улучшение кровообращения фетоплацентарного комплекса в условиях роста артериального давления.

Оценивая направленность изменений в работе активности глутатионзависимых ферментов, было установлено увеличение активности данного звена АОЗ в клинической группе 1. Так, активность ГПО у женщин клинической группы 1 достоверно увеличивается на 716,8% ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой. Такие изменения активности ГПО на фоне менее выраженного роста активности каталазы можно считать формированием компенсаторно-приспособительной реакции в ответ на избыточную продукцию активных форм кислорода (АФК), с одной стороны, а с другой стороны, учитывая различия в родстве ферментов к субстрату, свидетельствует о накоплении органических пероксидов. Активность ГР, обеспечивающей процесс восстановления окисленного глутатиона, у пациенток клинической группы 1 достоверно увеличивается на 161,6% ($p < 0,05$) относительно контрольной группы.

В ходе исследования зарегистрировано увеличение количества восстановленного глутатиона в данной группе пациенток на 126,8% ($p < 0,005$) относительно контрольной группы. Такое увеличение концентрации восстановленного глутатиона при высокой активности ГПО и менее выраженной активности ГР, возможно, является результатом усиления его синтеза за счет активации работы γ -глутамилцистеинсинтазы и глутатионсинтазы.

Что касается активности глутатионзависимого звена АОЗ эритроцитов беременных женщин клинической группы 2, то зарегистрировано уменьшение активности ГПО на 30,2% ($p < 0,05$) при увеличении активности ГР на 26,1% ($p < 0,05$) относительно клинической группы 1. Такие изменения активности ГПО и ГР сопровождаются одновременным снижением концентрации восстановленного глутатиона на 24,2% ($p < 0,05$) относительно той же группы. Очевидно, снижение концентрации восстановленного глутатиона у женщин с осложненным течением беременности на фоне усиления его синтеза при физиологическом течении беременно-

сти свидетельствует о наличии выраженной эндогенной интоксикации у беременных с ГБ. Оценивая данные биохимические параметры у беременных с ГБ относительно контрольной группы, отмечается увеличение активности глутатионзависимых ферментов. В частности, активность ГПО возросла на 470,3% ($p < 0,005$), при этом активность ГР увеличилась на 229,7% ($p < 0,05$) относительно контрольной группы. Такие изменения активности ГПО и ГР сопровождаются менее выраженным ростом концентрации восстановленного глутатиона на 71,8% ($p < 0,05$) относительно той же группы. Очевидно, подобные сдвиги в работе данных ферментов подтверждают наличие эндогенной интоксикации и свидетельствуют об усилении процессов детоксикации эндопероксидов. Необходимо отметить, что рост активности ГПО на фоне отсутствия статистически значимых отличий активности каталазы свидетельствует о формировании компенсаторно-приспособительных механизмов, направленных не только на утилизацию органических пероксидов, но и устранение цитотоксических эффектов самой перекиси водорода.

Некоторые исследователи [7] предлагают в качестве показателя защитной эффективности антиоксидантных ферментов определять соотношение СОД/ГПО. Рассчитав данный показатель, обнаружили, что у женщин с физиологическим течением беременности он оказался ниже значений контрольной группы на 66,4% ($p < 0,05$), что свидетельствует о значительном вкладе в антиоксидантную защиту прежде всего ферментов второй линии АОЗ. При этом у беременных женщин с ГБ данный коэффициент оказался выше значений женщин с физиологическим течением беременности на 96,2% ($p < 0,05$), что свидетельствует о большем вкладе в защиту от АФК ферментов первой линии АОЗ. Сравнивая данное соотношение у женщин клинической группы 2 относительно контрольной группы, обнаружили, что он ниже на 34,1% ($p < 0,05$).

Интересной находкой оказалось выраженное статистически значимое увеличение миелопероксидазной активности плазмы. Так, было установлено увеличение ее активности у пациенток клинической группы 1 на 436,9% ($p < 0,001$) относительно контрольной группы. Такие изменения в активности МПО могут быть результатом избыточной продукции пероксинитрита, что обеспечивает участие данного фермента как энзима второй линии АОЗ, что можно считать компенсаторно-приспособительной реакцией организма беременной женщины. С другой стороны, такая значительная активность МПО плазмы свидетельствует о дегрануляции нейтрофильных лейкоцитов и, возможно, является результатом либо повышения микробиоцидного по-

тенциала полиморфноядерных лейкоцитов, либо свидетельствует о выраженных деструктивных изменениях клеточных мембран лейкоцитов в условиях СОС.

Заметим, что в плазме пациенток клинической группы 2 отмечается статистически достоверное увеличение активности МПО на 33,8% ($p < 0,05$) относительно клинической группы 1, что превышает значения контрольной группы на 618,5% ($p < 0,005$). Такие изменения в работе миелопероксидазной активности плазмы пациенток клинической группы 2 в сочетании с данными о росте активности СОД на фоне угнетения активности каталазы свидетельствует о повышении цитотоксичности перекиси водорода и может служить одним из факторов повреждения цитоплазматических мембран, что сопряжено с ингибированием трансмембранного переноса ионов и способствует повышению концентрации внутриклеточного кальция. В свою очередь, рост концентрации внутриклеточного кальция может быть одним из патогенетических факторов развития и усугубления гипертензионного синдрома при беременности.

Заключение

Таким образом, физиологическое течение беременности протекает на фоне выраженного оксидантного стресса, формирующегося на фоне дисрегуляции внутриклеточных и внеклеточных систем антиоксидантной защиты. В частности, можно полагать, что имеет место избыточная продукция перекиси водорода, органических пероксидов и пероксинитрита. Накопление перекиси водорода на фоне выраженной активации ГПО и менее значимой активации МПО, очевидно, способствует формированию компенсаторно-приспособительных механизмов, направленных на улучшение процессов микроциркуляции с целью лучшего кровоснабжения функциональной системы «мать — плацента — плод», так как является важным стимулятором индуцированной кровотоком вазодилатации, что приводит к релаксации гладкомышечных клеток сосудов.

В случае развития беременности на фоне гипертонической болезни отмечается более выраженная продукция супероксидного анион-радикала и нарушение процессов утилизации перекиси водорода. При этом ведущее значение в антирадикальной защите принадлежит первой линии АОЗ, нежели глутатионзависимому звену. Одновременное с этим

увеличение активности МПО свидетельствует о повышении цитотоксичности перекиси водорода. Таким образом, избыточная продукция перекиси водорода при развитии беременности в условиях неблагоприятного преморбитного фона, сочетающаяся с более значительной активацией СОД, МПО и менее выраженной активацией ГПО, в сочетании с угнетением активности каталазы способствует взаимодействию активированных нейтрофилов крови с эндотелиоцитами и может служить одной из причин развития эндотелиальной дисфункции, а следовательно, усугублять течение ГБ. Выявленные изменения ферментов АОЗ, по-видимому, можно считать биохимическими критериями формирования групп риска среди беременных женщин с начальными признаками развития ГБ по развитию гестоза.

Литература

1. Абрамченко В.В. Антиоксиданты и антигипоксиканты в акушерстве. СПб.: ДЕАН, 2001. 400 с.
2. Аккер А.В., Варшавский Б.Я., Ельчанинова С.А. Показатели оксидантного и антиоксидантного статуса у беременных с гестозом // Акушерство и гинекология. 2000. № 4. С. 17—20.
3. Дубинина Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса // Вопр. мед. химии. 2001. Т. 47. № 6. С. 561—581.
4. Королук М.А., Иванова Л.И., Монтарева В.Е. и др. Метод определения каталазы // Лаб. дело. 1988. № 1. С. 16—19.
5. Кулайчев А.П. Методы и средства анализа данных в среде Windows Stadia 6.0. М.: Информатика и компьютеры, 1996. 257 с.
6. Моин В.М. Простой специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. дело. 1986. № 12. С. 724—727.
7. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньщикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков и др. М.: Слово. 2006. С. 556.
8. Саркисян О.Г. Биохимические изменения при атрофических колпитах и их коррекция: Дис. ... канд. мед. наук. Ростов н/Д, 2000. 125 с.
9. Шафран М.Г., Лызлова С.Н. Очистка и некоторые свойства миелопероксидазы лейкоцитов белых мышей // Вопр. мед. химии. 1975. № 6. С. 629—633.
10. Юсупова Л.Б. О повышении точности определения активности глутатионредуктазы эритроцитов // Лаб. дело. 1989. № 4. С. 19—21.
11. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups // Arch. Biochem. Biophys. 1959. V. 82. P. 70—77.
12. Halliwell B., Wasil M., Crootveld M. Biologically significant scavenging of the hypochlorous acid by ascorbic acid // FEBS Lett. 1987. V. 213. P. 15—18.

Поступила в редакцию 12.02.2007 г.

Сведения об авторах

З.И. Микашинович — д-р биол. наук, профессор кафедры общей и клинической биохимии № 1 Ростовского государственного медицинского университета (г. Ростов-на-Дону).

Е.В. Олемпиева — канд. мед. наук, ассистент кафедры общей и клинической биохимии № 1 Ростовского государственного медицинского университета (г. Ростов-на-Дону).

Для корреспонденции

Елена Владимировна Олемпиева, факс: (863) 253-06-11, e-mail: friends_81@mail.ru.