# Состояние окислительного стресса, системы антиоксидантной защиты и уровня эндогенной интоксикации у беременных с преэклампсией различной степени тяжести

Р.Р. АХТАМЬЯНОВ[1], д.м.н., проф. С.А. ЛЕВАКОВ[2], д.м.н., проф. Н.А. ГАБИТОВА[2]

МБУЗ «Городская клиническая больница №3» (гл. врач — проф. Ф.Б. Шамигулов), Уфа; [2]кафедра акушерства и гинекологии (зав. — проф. С.А. Леваков) ФГБОУ ДПО «Институт повышения квалификации Федерального медико-биологического агентства», Москва

# Oxidative stress, antioxidant defense system, and endogenic intoxication level in pregnant women with varying degrees of preeclampsia

R.R. AKHTAMYANOV[1], Prof. S.A. LEVAKOV, MD[2], Prof. N.A. GABITOVA, MD[2]

[1]City Clinical Hospital Three, Ufa; [2]Department of Obstetrics and Gynecology, Institute of Advanced Training, Federal Biomedical Agency of Russia, Moscow

**Цель исследования** — изучение некоторых патогенетических особенностей преэклампсии (ПЭ) разной степени тяжести с помощью определения изменений показателей перекисного окисления липидов (ПОЛ), системы антиоксидантной защиты (АОЗ), уровня эндогенной интоксикации. **Материал и методы.** В сроки беременности от 32 до 40 нед обследованы 40 беременных без артериальной гипертензии с отеками и протеинурией, вызванными беременностью, 250 беременных с ПЭ средней степени тяжести, 20 беременных с ПЭ тяжелой степени. Контрольную группу составили 50 практически здоровых женщин с неосложненным течением беременности. У всех беременных методом хемилюминесценции (ХЛ) цельной крови, сыворотки крови и мочи проведено исследование интенсивности ПОЛ. Активность системы АОЗ изучена с помощью количественного определения супероксиддисмутазы и каталазы. Оценка уровня эндогенной интоксикации беременных проводилась на основании определения в сыворотке крови молекул средней и низкой молекулярной массы (МСиНММ). **Результаты.** Всех беременных в зависимости от величины показателей ХЛ цельной крови разделили на пять типов: нормальный, с незначительными изменениями, типы напряжения, неустойчивости, истощения. У беременных с артериальной гипертензией без значительной протеинурии наблюдались повышение показателей ХЛ цельной крови и мочи, снижение активности СОД и каталазы при нарастании уровня эндогенной интоксикации. По мере нарастания степени тяжести ПЭ отмечены снижение показателей ХЛ цельной крови, сыворотки крови и мочи, резко выраженное увеличение уровня МСиНММ, резкое снижение уровня каталазы крови при увеличении активности СОД. **Заключение.** Деление беременных с ПЭ на типы в зависимости от изменений ХЛ важно для определения патогенетических особенностей ПЭ разной степени тяжести. Диагностическая и прогностическая значимость изменения показателей ПОЛ, АОЗ и уровня эндогенной интоксикации при разных формах преэклампсии должна быть установлена дальнейшими клиническими исследованиями.

*Ключевые слова: преэклампсия разной степени тяжести, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита, эндогенная интоксикация.*

**Objective.** To study some pathogenetic features of varying degrees of preeclampsia (PE), by determining changes in the values of lipid peroxidation (LPO), antioxidant defense system (ADS), and the level of endogenic intoxication. **Subjects and methods.** Forty pregnant women without hypertension and with edemas and proteinuria caused by pregnancy, 250 and 20 pregnant women with moderate and severe PE, respectively, were examined at 32 to 40 weeks' gestation. A control group consisted of 50 apparently healthy women with uncomplicated pregnancy. Whole blood, serum, and urine chemiluminescence (CL) values were used to examine the rate of LPO in all the patients. The activity of ADS was studied from the levels of superoxide dismutase (SOD) and catalase. The level of endogenic intoxication in pregnant women was estimated from the serum levels of middle- and low-molecular-weight molecules (MLMWMs). **Results.** According to whole blood CL values, all the pregnant women were divided into 5 types: normal, with insignificant changes, types of tension, instability, and exhaustion. Hypertensive patients without marked proteinuria were observed to have higher whole blood and urine CL values and decreased COD and catalase activities with an increase in the level of endogenic intoxication. As PE became severe, there was a reduction in whole blood, serum, and urine CL values, a pronounced increase in the content of MLMWMs, and a drastic decrease in blood catalase levels with enhanced COD activity. **Conclusion.** To divide pregnant women with PE into types depending on CL changes is of importance to identify pathogenetic changes in PE of varying degrees. The diagnostic and prognostic value of a change in the values of LPO and ADS and in the level of endogenic intoxication in different forms of preeclampsia must be established by further clinical trials.

*Key words: preeclampsia of varying degrees, lipid peroxidation, antioxidant defense, endogenic intoxication.*

В структуре причин материнской и перинатальной заболеваемости и смертности по-прежнему одно из первых мест занимает преэклампсия (ПЭ) [1, 8, 9, 11, 12]. Несмотря на то что единое мнение о патогенезе ПЭ до сих пор

© Коллектив авторов, 2014

e-mail: gabitova_nataliya@mail.ru

отсутствует [2], обзоры исследований, опубликованных в последнее время, показывают, что избыточная продукция активных форм кислорода (состояние окислительного стресса) наблюдается при беременности на фоне ПЭ и сопровождается избыточной нагрузкой на систему антиоксидантной защиты (АОЗ) [8]. Повреждающее действие окислительного стресса характеризуется нарушением функции плаценты, дисфункцией эндотелия и, вероятно, предшествует возникновению ПЭ. При этом нарушается баланс между продукцией активных форм кислорода и емкостью системы АОЗ. В литературе мы не встретили данных о соответствии степени тяжести ПЭ и выраженности нарушений упоминаемого выше баланса.

Оценка степени тяжести ПЭ предполагает адекватное отражение глубины и распространенности характерных для нее патологических процессов. Это особенно актуально для назначения своевременной и адекватной терапии, решения вопроса о времени и способе родоразрешения в III триместре беременности.

Для определения патогенетических особенностей, характерных для ПЭ разной степени тяжести, представляется перспективной высокочувствительная методика оценки состояния свободнорадикального окисления (СРО) и перекисного окисления липидов (ПОЛ), методом хемилюминесценции (ХЛ) цельной крови, сыворотки крови и мочи, который позволяет установить самые незначительные изменения интенсивности ПОЛ.

Цель работы — изучение некоторых патогенетических особенностей ПЭ разной степени тяжести с помощью определения изменений показателей ПОЛ, системы АОЗ, уровня эндогенной интоксикации.

## Материал и методы

Проведено простое проспективное обследование 360 пациенток в возрасте от 18 до 35 лет в сроки беременности от 32 до 40 нед, поступивших в перинатальный центр на базе клинического родильного дома №4, в клиники Башкирского государственного медицинского университета, городскую клиническую больницу №3 г. Уфы по поводу ПЭ разной степени тяжести.

Контрольную группу составили 50 практически здоровых женщин с неосложненным течением беременности.

Основная группа, включавшая 310 беременных, была разделена на три подгруппы:

— 1-я подгруппа ($n$=40) — беременные с отеками и протеинурией, вызванными беременностью, без артериальной гипертензии (012, МКБ-10);

— 2-я подгруппа ($n$=250) — беременные с ПЭ средней степени тяжести (014.0, МКБ-10);

— 3-я подгруппа ($n$=20) — беременные с ПЭ тяжелой степени (014.1, МКБ-10).

Все беременные при поступлении в стационар были обследованы в соответствии с Приказом Минздрава России №572н от 01.11.12. Кроме того, всем пациенткам для определения интенсивности СРО и ПОЛ проводили исследование методом ХЛ цельной крови, сыворотки крови и мочи. Для оценки состояния системы АОЗ у беременных исследовали активность супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы в те же сроки.

Кровь забирали утром натощак из кубитальной вены. Показатели хемилюминесценции нативной крови определяли на хемилюминометре ХЛ-003 (Уфа, 1996) по стандартной методике [10]. Регистрировали спонтанное и индуцированное свечение, которое измеряли в течение 5 мин. Спонтанное свечение характеризует интенсивность перекисного окисления без вмешательства извне. Свечение сыворотки крови, индуцированное добавлением солей железа, связано с процессами СРО липидов, главным образом, фракций липопротеинов низкой и очень низкой плотности. Амплитуда быстрой вспышки ХЛ зависит от скорости окисления ионов двухвалентного железа и образования в среде активных форм кислорода. Она увеличивается при повышении содержания в крови гидроперекисей липидов. Длительность латентного периода коррелирует с антиоксидантной активностью крови, а величина светосуммы ХЛ определяет способность липидов крови подвергаться окислению.

ХЛ мочи оценивали на том же аппарате по методике тех же авторов [13]. Проводили забор утренней порции мочи, используя от 10 до 20 мл. Хемилюминесценция мочи связана с образованием свободных радикалов неорганической природы и активных форм кислорода при окислении добавленного в мочу инициатора ХЛ ионов двухвалентного железа. Получаемые результаты при регистрации ХЛ для удобства пересчитывали на условные относительные единицы по эталону излучения СФХМ-1 (ГОСТ 9411-81), суммарный световой поток которого составляет $5{,}1 \cdot 10^5$ квант/с.

Оценку АОЗ проводили с помощью количественного исследования активности СОД методом K. Fried (1975) и каталазы методом А.Н. Баха, С.З. Зубковой (1970). Суть метода определения активности СОД эритроцитов состоит в генерировании супероксидного анион-радикала, восстанавливающего тетразолий нитросиний до формазана в реакционной смеси с постоянной скоростью. Степень ингибирования данного процесса позволяет судить об активности СОД. Для этого сравнивались 2 раствора: рабочий — с добавлением эритроцитов и контрольный — без эритроцитов. Измерялось изменение оптической плотности растворов при 560 нм (поглощение промежуточных продуктов) на СФ-26 для контрольных и опытных проб.

Активность СОД (в условных единицах — усл. ед.) рассчитывали по формуле:

$$A_{СОД} = AE_К - AE_0,$$

где $AE_К$ — изменение оптической плотности контрольной, а $AE_0$ — основной пробы в течение 1-й минуты с начала реакции (т.е. приготовления растворов).

В литературе имеются указания на то, что маркерами интоксикации в организме беременных с ПЭ являются молекулы средней и низкой молекулярной массы (МСиНММ) [3].

Содержание в сыворотке крови молекул средней и низкой молекулярной массы (МСиНММ) для оценки уровня эндогенной интоксикации беременных определяли по методу М.Я. Малаховой [6].

Статистическая обработка полученных данных производилась с использованием программной системы Statistica for Windows (версия 6,0). Проверка на нормальность распределения выполнялась методом Шапиро—Уилка. Для данных, подчиняющихся закону нормального распределения, рассчитывали средние значения ($M$) и стандартное отклонение (SD); для данных, не подчиняющихся этому закону, — медиану (Me) и квартили (1-й Q и 3-й Q). По методу Краскела—Уоллиса и Манна—Уитни производили сравнение средних значений для непараметрических данных. Для оценки силы взаимосвязи между

показателями определяли коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

## Результаты и обсуждение

Изучение ПОЛ методом ХЛ у пациенток с ПЭ разной степени тяжести позволило получить следующие результаты.

На основании анализа полученных данных всех беременных в зависимости от величины показателей светосуммы ХЛ цельной крови разделили на следующие пять типов: нормальный, тип с незначительными изменениями, типы напряжения, неустойчивости, истощения **(табл. 1)**. Критерием послужило изменение показателей ХЛ цельной крови, так как показатели ХЛ сыворотки крови и мочи снижались пропорционально нарастанию тяжести ПЭ.

Нормальным типом считали показатели ХЛ у практически здоровых женщин с неосложненным течением беременности (контрольная группа). Изменения показателей светосуммы ХЛ (как и прочие анализируемые показатели) в 1-й подгруппе (беременные с отеками и протеинурией, вызванными беременностью, без артериальной гипертензии) мы отнесли к типу «незначительных», так как они статистически значимо не отличалась от таковых в контрольной группе. Беременных 2-й подгруппы в зависимости от изменения определяемых показателей разделили на типы: «напряжения» и «неустойчивости». Пациентки 3-й подгруппы (с ПЭ тяжелой степени) отнесены к типу «истощения».

При изучении показателей ХЛ цельной крови у беременных 2-й подгруппы выявлено следующее. У беременных с типом «напряжения» показатели ХЛ были значительно выше ($p<0,01$) таковых в контрольной группе. В то же время у пациенток с типом «неустойчивости» показатель светосуммы ХЛ не имел различий с этим показателем в контрольной группе, но отличался ($p<0,01$) от этого показателя у беременных с типом «напряжения».

В 3-й подгруппе основной группы беременных с типом истощения (ПЭ тяжелой степени) выявлены наиболее низкие значения ХЛ цельной крови, статистически достоверно отличавшиеся от показателей в других группах ($p<0,01$).

Таким образом, изучение показателей ХЛ цельной крови в обследованных группах позволило выявить их разнонаправленные изменения: очевидно, до определенного этапа у беременных с ПЭ параметры ХЛ активизируются, отражая нарастающую активность ПОЛ, но при повышении тяжести ПЭ — снижаются. В литературе имеются указания на подобные изменения при нарастании симптомов общей интоксикации [7].

Как видно из **табл. 1**, у беременных 2-й подгруппы с типом «напряжения» показатель ХЛ сыворотки крови был значительно ниже, чем у пациенток контрольной группы. У беременных с типом «неустойчивости» 2-й подгруппы снижение данного показателя было выражено в большей степени: он существенно отличался от показателя светосуммы ХЛ в контрольной группе и от этого показателя у беременных с типом «напряжения» этой же подгруппы ($p<0,01$).

В 3-й подгруппе у беременных с типом «истощения» показатели ХЛ сыворотки крови имели статистически достоверно меньшие значения относительно контрольной группы и других подгрупп ($p<0,001$).

Таким образом, при прогрессировании ПЭ отмечено снижение показателей ХЛ плазмы крови во всех обследованных подгруппах основной группы. Можно предполагать, что на фоне присущей ПЭ дезадаптации имеется недостаточное образование активных форм кислорода, угнетение кислородзависимого метаболизма фагоцитирующих клеток крови и выраженный дефицит их резервных возможностей. Полученные результаты согласуются с некоторыми данными литературы [4, 5].

Статистически значимое снижение показателя ХЛ мочи **(см. табл. 1)** выявлено у беременных 2-й подгруппы с типом «напряжения» по сравнению с таковым у пациенток контрольной группы и 1-й подгруппы ($p<0,05$). Различий средних значений уровня ХЛ мочи внутри 2-й подгруппы (между беременными с типами «напряжения» и «неустойчивости») не выявлено. У беременных с ПЭ тяжелой степени (3-я подгруппа) определен наименьший уровень ХЛ мочи, значительно отличавшийся от такового контрольной группы и остальных подгрупп ($p<0,01$).

Таким образом, анализ показателей ХЛ биологических жидкостей (цельной крови, плазмы и мочи) выявил их изменения в обследованных группах беременных. Эти изменения носили разнонаправленный характер, причем показатели ХЛ крови во 2-й подгруппе (цельная кровь и плазма) значительно отличались у беременных с различными типами ХЛ — типами «напряжения» и «неустойчивости».

Определение характеристик АОЗ позволило получить следующие результаты **(табл. 2)**. Активность СОД у беременных 1-й подгруппы была значительно выше, чем у па-

***Таблица 1.*** **Показатели интенсивности перекисного окисления липидов у беременных обследованных групп**

| Показатель | Контрольная группа | Основная группа | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 1-я подгруппа | 2-я подгруппа | | 3-я подгруппа |
| Тип изменения ХЛ | Нормальный | С незначительными изменениями | Тип напряжения | Тип неустойчивости | Тип истощения |
| Число беременных | 50 | 40 | 172 | 78 | 20 |
| Хемилюминесценция цельной крови, усл. ед./мин | 10,72±1,56 | 11,37±6,8 | 22,61±6,58*.**.*** | 12,28±5,07*** | 4,98±1,62*.** |
| Хемилюминесценция сыворотки крови, усл. ед./мин | 21,50±0,13 | 19,8±1,81 | 16,86±1,34*.*** | 11,78±1,53*.**.*** | 5,67±1,24*.** |
| Хемилюминесценция мочи, усл. ед./мин | 38,18±3,41 | 39,71±3,65 | 27,32±2,51*.** | 23,86±2,74 | 18,94±1,47*.** |

*Примечание.* Здесь и в табл. 2, 3: различия показателей достоверны ($p<0,05$) при сравнении с показателями: * — контрольной группы; ** — 1-й подгруппы основной группы; *** — при разных типах 2-й и 3-й подгрупп.

***Таблица 2*. Показатели активности системы антиоксидантной защиты у беременных обследованных групп**

| Показатель | Контрольная группа | Основная группа | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 1-я подгруппа | 2-я подгруппа | 3-я подгруппа |
| Активность супероксиддисмутазы, усл.ед. | 250,11±1,4 | 263,34±1,43* | 235,37±1,78*, ** | 265,54±1,87* |
| Активность каталазы, усл. ед. | 14,25±0,92 | 17,52±0,87* | 10,27±0,35*, ** | 1,45±0,12*, **, *** |

***Таблица 3*. Показатели эндогенной интоксикации у беременных обследованных групп**

| Показатель | Контрольная группа | Основная группа | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 1-я подгруппа | 2-я подгруппа | 3-я подгруппа |
| Молекулы средней и низкой молекулярной массы (МСиНММ), усл. ед. | 0,23±0,33 | 0,21±0,41 | 1,36±0,67*, ** | 2,34±0,12*, **, *** |

циенток контрольной группы ($p$<0,01). Это расценено нами как проявление компенсаторных механизмов системы АОЗ у беременных с отеками и протеинурией, вызванными беременностью, без артериальной гипертензии. У беременных с ПЭ средней степени тяжести (2-я подгруппа основной группы) выявлено снижение активности СОД, связанное, очевидно, с истощением потенциала системы АОЗ. Требует дальнейшего изучения высокий уровень активности СОД в 3-й подгруппе.

Изучение активности каталазы в сравниваемых группах позволило выявить значимое ее снижение во 2-й и 3-й подгруппах у беременных с ПЭ, прогрессивно нараставшее с увеличением тяжести ПЭ. Минимальная активность каталазы зафиксирована в 3-й подгруппе (у беременных с ПЭ тяжелой степени).

В **табл. 3** представлены изменения концентрации МСиНММ у пациенток обследованных групп. Очевидно нарастание эндогенной интоксикации с прогрессированием симптомов тяжести ПЭ. Максимального увеличения ее уровень достиг у беременных с ПЭ тяжелой степени, превысив таковую в контрольной группе в 10 раз.

Таким образом, изучение патогенетических особенностей ПЭ разной степени тяжести на основании исследования ПОЛ, АОЗ, уровней эндогенной интоксикации показало, что по мере нарастания степени тяжести ПЭ отмечались снижение показателей ХЛ цельной крови, сыворотки крови и мочи, резко выраженное увеличение уровней МСиНММ, резкое снижение уровня каталазы крови при увеличении активности СОД. Диагностическая и прогностическая значимость изменения показателей ПОЛ, АОЗ и уровня эндогенной интоксикации при разных формах ПЭ должны быть установлены дальнейшими клиническими исследованиями.

## Выводы

1. Деление беременных с ПЭ на типы в зависимости от изменений показателей ХЛ цельной крови целесообразно для определения патогенетических особенностей ПЭ разной степени тяжести.

2. У беременных с отеками и протеинурией, вызванными беременностью, без артериальной гипертензии не наблюдалось дисбаланса систем ПОЛ и АОЗ. Для них характерны повышенные уровни СОД и каталазы при нормальном уровне ХЛ цельной крови, сыворотки и мочи, а также отсутствие признаков эндогенной интоксикации.

3. У беременных с ПЭ средней степени тяжести, имевших тип «напряжения», наблюдалось значимое повышение показателей ХЛ цельной крови на фоне снижения их в сыворотке крови и мочи, ослабление системы АОЗ, что проявлялось снижением активности СОД и каталазы при нарастании уровня эндогенной интоксикации.

4. У беременных с типом «неустойчивости» при наличии ПЭ средней степени тяжести наблюдались парадоксально нормальные значения ХЛ цельной крови, более выраженное снижение уровня ХЛ сыворотки крови и мочи по сравнению с таковыми у беременных с типом «напряжения», значимое снижение показателей системы АОЗ и дальнейшее нарастание уровня эндогенной интоксикации.

5. Тип «истощения» у беременных с ПЭ тяжелой степени сопровождался снижением показателей ХЛ цельной крови, сыворотки крови и мочи, резко выраженной эндогенной интоксикацией — увеличением уровня МСиНММ в 10 раз. Характеристики системы АОЗ в данной группе имели разнонаправленные изменения: при увеличении активности СОД происходило резкое снижение уровня каталазы крови.

## ЛИТЕРАТУРА


1. *Айламазян Э.К., Мозговая Е.В.* Гестоз: Теория и практика. М: МЕДпресс-информ 2008; 272.
2. Акушерство: Национальное руководство. Под ред. Э.К. Айламазяна, В.И. Кулакова, В.Е. Радзинского, Г.М. Савельевой. М: ГЭОТАР-Медиа 2007; 444—445.
3. *Бурмистров С.О., Габелова К.А., Андреева А.А., Опарина Т.И., Арутюнян А.В.* Значение определения средних молекул в моче при нормальной и осложненной беременности и у новорожденных с гипоксией. Клин лаб диагн 2001; 6: 10—12.

4. *Донцов В.И., Крутько В.Н., Мрикаев Б.М., Уханов С.В.* Активные формы кислорода как система: значение в физиологии, патологии и естественном старении. Труды ИСА РАН 2006; 19: 50—69.
5. *Кудинова Н.В., Березов Т.Т.* Фотодинамическая терапия опухолей: Иммунологический аспект лечения. Рос биотер журн 2010; 1: 69—76.
6. *Малахова М.Я.* Метод регистрации эндогенной интоксикации: Методические рекомендации. СПб 1995; 33.
7. *Орманов Н., Пернебекова Р., Орманова Л.* Влияние хлорамфеникола и биофениколя на хемилюминесцентные параметры гемолизата крови при острой свинцовой интоксикации. Международная научно-практическая интернет-конференция «Проблемы и перспективы развития науки в начале третьего тысячелетия в странах СНГ», 17-я: Материалы. Переяслав-Хмельницкий 2013; 20—22.
8. *Сидорова И.С., Никитин Н.А., Унанян А.Л., Рзаева А.А., Кинякин В.В.* Патогенетическое обоснование дифференцированного подхода к ведению беременных с артериальной гипертензией и преэклампсией. Акуш и гин 2013; 2: 35—40.
9. Преэклампсия. Под ред. Г.Т. Сухих, Л.Е. Мурашко. М: ГЭОТАР-Медиа 2010; 576.
10. *Трунов А.Н., Пекарев О.Г., Горбенко О.М., Шваюк А.П., Обухова О.О., Шубина В.И., Трунова Л.А.* Нарушения баланса цитокинов и активность процессов перекисного окисления липидов при позднем гестозе. Бюл СО РАМН 2011; 31: 1: 78—82.
11. *Трунов А.Н., Пекарев О.Г., Шваюк А.П., Горбенко О.М., Обухова О.О., Шубина В.И., Трунова Л.А.* Нарушения иммунного реагирования в механизмах развития позднего гестоза беременных. Вопросы патогенеза типовых патологических процессов: Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием, 2-я: Материалы. Новосибирск 2010; 354—358.
12. *Трунова Л.А., Пекарев О.Г., Обухова О.О., Горбенко О.М., Шваюк А.П., Шубина В.И., Трунов А.Н.* Поздний гестоз беременных — значимость иммунобиохимических нарушений. Сиб мед журн 2010; 4: 112—114.
13. *Фархутдинов Р.Р., Тевдорадзе С.И.* Методики исследования хемилюминесценции биологического материала на хемилюминометре ХЛ-003. Методы оценки антиокислительной активности биологически активных веществ лечебного и профилактического назначения: Сборник научных трудов. М 2005; 147—154.