

## КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Коллектив авторов

### ОСОБЕННОСТИ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ОКОЛОПЛОДНЫХ ВОДАХ ПРИ ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

*Т.Н. Погорелова<sup>1\*</sup>, А.А. Никашина<sup>1</sup>, В.О. Гунько<sup>1</sup>, А.В. Ларичкин<sup>1</sup>, Д.А. Чеботарев<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии

Ростовского государственного медицинского университета,

344012 Ростов-на-Дону, ул. Мечникова, 43; эл.почта: tnp.rniiap@yandex.ru

<sup>2</sup>Федеральный исследовательский центр Южный научный центр Российской академии наук, Ростов-на-Дону

Изучены особенности динамики активности прооксидантных ферментов: NADPH-оксидазы и ксантиноксидазы, активности антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы, системы глутатионзависимых ферментов), содержание антиоксидантных витаминов ретинола и  $\alpha$ -токоферола, продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), а также показателей перекисной хемилюминесценции в околоплодных водах в разные периоды физиологической беременности и при плацентарной недостаточности (ПН). Установлено, что при ПН имеет место повышение активности NADPH-оксидазы, ксантиноксидазы и снижение активности СОД, каталазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, глутатионтрансферазы, содержания жирорастворимых витаминов. Между исследованными про- и антиоксидантными показателями и содержанием продуктов ПОЛ установлена прямая или обратная корреляционная связь (в зависимости от их окислительно-восстановительных свойств), степень которой различна во II и III триместрах гестации. Выявленные отличия, очевидно, отражают метаболические повреждения в фетоплацентарном комплексе при развитии ПН, а активность и уровень показателей окислительно-восстановительных процессов могут быть использованы в качестве тестов пре- и постнатальных нарушений.

**Ключевые слова:** окислительно-восстановительный баланс; про- и антиоксидантные ферменты; антиоксидантные витамины; продукты перекисного окисления липидов; околоплодные воды; плацентарная недостаточность

**DOI:** 10.18097/PBMC20186403290

## ВВЕДЕНИЕ

Баланс между окисленными и восстановленными молекулами является важным механизмом, поддерживающим метаболическую и функциональную активность клеток. Поэтому сдвиг этого баланса приводит к существенным негативным последствиям [1, 2]. Значение изучения показателей окислительно-восстановительных процессов организма обусловлено возможностью использования этих данных в диагностических и прогностических целях в качестве критериев оценки развития патологических процессов. Особую важность характер редокс-процессов имеет в период гестации, когда усиливается интенсивность метаболизма в связи с необходимостью обеспечения потребностей не только матери, но и развивающегося плода.

Среди факторов, осложняющих беременность и нарушающих нормальное развитие плода, важная роль принадлежит недостаточности плаценты, сопровождающейся различными изменениями в этом органе и, как следствие, модификацией взаимосвязей во всей системе мать-плацента-плод. Плацентарная недостаточность (ПН) представляет собой одну из важнейших проблем акушерства, перинатологии и неонатологии. Серьезные последствия нарушения метаболизма и функций плаценты и возросшая частота диагностированной ПН послужили основанием для её включения в Международную классификацию болезней, травм и причин смерти как основной диагноз

патологического состояния плода и новорожденного. С патологией плаценты непосредственно связаны 20% случаев перинатальной смертности [3]. Однако, несмотря на имеющиеся в настоящее время данные по изучению функционально-метаболических нарушений при ПН [4, 5], частота данной патологии до настоящего времени остаётся достаточно высокой [6]. Это обосновывает актуальность дальнейшего исследования клеточно-молекулярных механизмов развития ПН.

Информативным объектом изучения состояния системы мать-плод являются околоплодные воды – сложная биологически активная среда, обеспечивающая наряду с другими компонентами этой системы нормальную жизнедеятельность плода. Имеющиеся данные о взаимосвязи между течением беременности, состоянием плода и составом околоплодных вод свидетельствуют о несомненной теоретической и практической значимости их изучения [7, 8]. Околоплодные воды моментально реагируют изменением своего состава на любые отклонения, происходящие в организмах матери, плода и плаценте, которая в значительной степени является источником поступления в амниотическую жидкость питательных, энергетических компонентов и кислорода [5]. В связи с этим развитие ПН, сопровождающееся многочисленными биохимическими и морфологическими нарушениями, в том числе и повреждением механизмов трансплацентарного обмена, очевидно, приводит к изменению состава околоплодных вод. Модификация последнего,

в свою очередь, отражает степень ПН. Кроме того, следует подчеркнуть, что околоплодные воды играют ведущую роль в плацентарном обмене, который помимо основного плацентарного, участвует в обменных процессах между матерью и плодом [8]. Учитывая тот факт, что недостаточность плаценты сопровождается развитием внутриутробной гипоксии, анализ баланса окислительно-восстановительных процессов в околоплодных водах при данном осложнении беременности приобретает особую важность.

В связи с вышеизложенным настоящая работа посвящена изучению показателей про- и антиоксидантной систем в околоплодных водах при физиологической беременности и ПН с целью выяснения возможной роли выявленных нарушений в развитии этой акушерской патологии и её осложнений.

## МЕТОДИКА

В исследование включены 60 женщин в возрасте 24-30 лет, составившие 2 группы. В 1-ю группу вошли 28 клинически здоровых женщин с неосложнённым течением беременности и родов (контрольная группа). Во 2-ю группу – 32 женщины, беременность которых осложнилась ПН (основная группа). По возрасту, индексу массы тела, соматическому и акушерско-гинекологическому анамнезу, паритету беременностей и родов женщины обеих групп были сопоставимы. Из исследования исключались пациентки с декомпенсированными формами соматических заболеваний, многоплодной беременностью, признаками преэклампсии, аутоиммунной патологией и не давшие информированное согласие на расширенный алгоритм обследования. Все женщины наблюдались в консультативной поликлинике Ростовского НИИ акушерства и педиатрии в рамках программы “Акушерский мониторинг”.

Диагноз ПН (МКБ-10: O36.5) был поставлен на основании комплексного клинико-лабораторного обследования, включающего УЗИ с определением биофизического профиля плода, доплерометрическое исследование маточно-плацентарно-плодового кровотока, кардиотокографию, а также определение сывороточной активности специфического плацентарного изофермента глутаматдегидрогеназы. Гемодинамические изменения у всех женщин основной группы проявлялись в виде умеренных нарушений кровотока в маточных артериях, сосудах пуповины или магистральных сосудах плода. Беременность у женщин основной группы не осложнилась задержкой роста плода, что подтверждалось показателями ультразвуковой фетометрии и впоследствии массой тела и длиной новорожденных. В контрольной группе эти величины составили  $3415,35 \pm 272,21$  г и  $52,34 \pm 2,03$  см, массо-ростовой коэффициент –  $65,25 \pm 3,05$ , в основной группе соответственно –  $3386,31 \pm 281,20$  г и  $51,96 \pm 2,18$  см, массо-ростовой коэффициент –  $65,10 \pm 3,11$ . Индекс амниотической жидкости у женщин обеих групп также не имел достоверных

отличий:  $155 \pm 17$  мм – в контрольной группе и  $184 \pm 20$  мм – при ПН. Основным осложнением недостаточности плаценты у пациенток второй группы была внутриутробная гипоксия (МКБ-10: P20), подтверждённая показателями УЗИ, доплерометрии и кардиотокографии, кислотно-основного состояния и уровнем гипоксантина, являющегося классическим маркером гипоксии [9].

Пациентки с ПН во II триместре беременности были госпитализированы в отделение патологии беременных института, где им проводили комплексное обследование, а также лечение плацентарной дисфункции на основании федеральных стандартов и порядка оказания помощи в акушерстве и гинекологии (Приказ Минздрава России 572н от 01.11.2012, ред. 12.01.2016).

Материалом для исследования служили околоплодные воды, взятые в сроки 18-20 недель и 39-40 недель. В первом случае околоплодные воды получали путём трансабдоминального амниоцентеза. Проведение этой инвазивной процедуры в соответствии с Приказом 572н показано женщинам с высоким риском хромосомной патологии плода, обусловленным возрастом беременной, изменениями в уровнях сывороточных и ультразвуковых маркеров. У всех плодов женщин, взятых в исследование, был нормальный хромосомный набор. Во втором случае околоплодные воды получали при вскрытии плодного пузыря в первом периоде родов.

Для суждения о прооксидантных процессах в околоплодных водах изучали активность NADPH-оксидазы и ксантиноксидазы, которые оценивали с помощью спектрофотометрических методов. Активность NADPH-оксидазы (КФ 1.11.1.2) определяли по восстановлению 2,6-дихлорфенолиндофенола (ДХФДФ) в присутствии NADPH при 600 нм. Коэффициент молярной экстинкции для 2,6-ДХФДФ –  $21 \times 10^3$  М<sup>-1</sup>см<sup>-1</sup>. Об активности ксантиноксидазы (КФ 1.2.3.2.) судили по усилению степени окисления ксантина и определению уровня образовавшейся мочевой кислоты в ультрафиолетовой области при длине волны 293 нм, используя коэффициент молярной экстинкции  $7,59 \times 10^3$  М<sup>-1</sup>см<sup>-1</sup> [10]. Активность ферментов выражали в нмоль/мин·мг белка.

Состояние антиоксидантной системы оценивали по показателям активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, глутатионпероксидазы (ГПО), глутатионредуктазы (ГР), глутатион-S-трансферазы (ГТ), а также содержанию  $\alpha$ -токоферола и ретинола. Активность СОД (КФ 1.1.5.11) определяли по степени торможения реакции восстановления нитросинего тетразолия в результате ферментативной дисмутации генерируемого супероксидного анион-радикала при 540 нм. За единицу активности принимали количество фермента, вызывающее 50% торможение реакции и выражали в усл.ед/мг белка. Об активности каталазы (КФ 1.11.1.6) судили по убыли H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> при длине волны 230 нм, учитывая коэффициент молярной экстинкции H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – 0,071 [11]. Активность выражали в нмоль H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/мин·мг белка. Активность глутатионзависимых ферментов определяли с помощью

общепринятых спектрофотометрических методов [12]. Активность ГПО (КФ 1.11.1.9) оценивали в реакции расщепления гидроперекиси третбутила при длине волны 412 нм, используя в качестве субстрата восстановленный глутатион. Активность ГТ (КФ 2.1.5.18) определяли по скорости реакции образования GS-2,4-динитробензола в реакции восстановленного глутатиона с 1-хлор-динитробензолом при 340 нм. Активность ГР (КФ 1.6.4.2) измеряли по степени окисления NADPH при длине волны 340 нм в присутствии окисленного глутатиона. Активность этих ферментов выражали в нмоль/мин·мг белка.

Содержание  $\alpha$ -токоферола определяли флуоресцентным методом после его экстракции гексаном [13]. В гексановой фракции измеряли интенсивность флуоресценции при длине волны возбуждения 286 нм и длине волны испускания при 330 нм. Содержание ретинола определяли также путём флуориметрирования гексановой фазы при длине волны возбуждения 325 нм и длине волны испускания 470 нм. Концентрацию  $\alpha$ -токоферола и ретинола выражали в мкг/л.

Об интенсивности свободно-радикального окисления липидов судили по содержанию диеновых конъюгатов и оснований Шиффа. Определение диеновых конъюгатов осуществляли спектрофотометрически при длине волны 233 нм [14] в гептановой фазе экстрагирующей смеси (гептан с изопропиловым спиртом в объёмном отношении 1:1). Содержание диеновых конъюгатов рассчитывали, исходя из величины молярного коэффициента, равного  $2,2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  и выражали в мкмоль/л. Основания Шиффа определяли по флуоресценции хлороформных экстрактов из образцов околоплодных вод при длине волны возбуждения 360 нм и максимума испускания при длине волны 440 нм. Калибровку шкалы флуориметра RF-5101 ("Shimadzu", Япония) строили по стандартному раствору хинин-сульфата. Относительное содержание оснований Шиффа выражали в условных единицах.

Кроме того, оценку степени выраженности свободнорадикальных процессов в околоплодных водах проводили методом хемилюминесценции. Регистрацию параметров хемилюминесценции осуществляли на люминиметре Emilite ("BioRad", США) со спектральным диапазоном 350-950 нм, динамическим диапазоном 10 квант/с. Измерения проводили при длине волны 425 нм и стандартизации сигнала при 5000 мВ, что соответствовало световому потоку интенсивностью 6,5-10 квант/с. Оценивали интенсивность и светосумму (за 1 мин) перекисной хемилюминесценции.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью лицензионного пакета программ Statistica (версия 6.0 фирмы "StatSoft Inc.", США). Однородность дисперсий проверяли по критерию Фишера. При заданных объёмах выборок ( $n_1=28$ ,  $n_2=32$ ) значение F-критерия Фишера для различных параметров изменялось от 2,0 до 3,2, что давало уровень значимости  $p<0,05$ . Достоверность различий

между сравниваемыми показателями определяли по критерию Стьюдента (t-критерий) для независимых выборок. Корреляционный анализ выполнен методом Спирмена с расчётом коэффициента ранговой корреляции (r). Результаты оценивали как статистически значимые при  $p<0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведённые нами исследования свидетельствуют об изменении интенсивности про- и антиоксидантных процессов в околоплодных водах в процессе развития осложнённой беременности по сравнению с аналогичными показателями при физиологической беременности (таблица). Степень изменений зависит от срока гестации. Так, в околоплодных водах женщин основной группы относительно пациенток контрольной группы увеличивается активность прооксидантных ферментов, к их числу относится NADPH-оксидаза, которая, наряду с регуляцией соотношения NADP/NADPH, приводит к образованию супероксидного анион-радикала. Образование активных форм кислорода происходит также с участием ксантиноксидазы. Этот фермент, приводящий к образованию супероксиданион-радикала и пероксида водорода, в физиологических условиях находится преимущественно в ксантиндегидрогеназной форме. Однако он может переходить в оксидазную форму в результате окисления дисульфидных связей или ограниченного протеолиза, особенно в условиях гипоксии, имеющей место в фетоплацентарном комплексе при недостаточности плаценты [5]. Активность NADPH-оксидазы и ксантиноксидазы в околоплодных водах при ПН увеличивается во II триместре на 50% и 42%, а к концу беременности на 38% и 28% соответственно.

Активность антиоксидантных ферментов СОД и каталазы, участвующих в процессах утилизации супероксиданион-радикала и перекиси водорода, напротив, снижается. Для СОД снижение составляет 60% и 53%, а для каталазы – 42% и 38%, соответственно, во II и III триместрах.

Из приведённых данных следует, что значительное повышение активности прооксидантных ферментов в околоплодных водах при недостаточности плаценты происходит во II триместре по сравнению с III триместром, в это же время более выражено уменьшается антиоксидантная активность СОД и каталазы. Такая динамика указанных ферментов приводит к значительному усилению свободнорадикальных процессов в 18-20 недель осложненной беременности. Следует подчеркнуть, что данный период является весьма важным в развитии плода и фетоплацентарной системы в целом [15]. Это подтверждается и динамикой изученных показателей при физиологической гестации, когда во II триместре обнаружено усиление степени перекисаации по сравнению с таковой в III триместре. По-видимому, изменение данных реакций в указанный период связано с модификацией темпов клеточного роста и дифференцировки, с интенсивными пролиферативными, анаболическими

Таблица. Показатели окислительно-восстановительных процессов в околоплодных водах при физиологической беременности и плацентарной недостаточности

Показатель	Физиологическая беременность		Плацентарная недостаточность	
	II триместр	III триместр	II триместр	III триместр
NADPH-оксидаза (нмоль/мин·мг белка)	0,24±0,02 (0,20–0,28)	0,34±0,03 (0,28–0,40) p <sub>1</sub> =0,08	0,36±0,04 (0,28–0,44) p <sub>2</sub> =0,013	0,47±0,05 (0,37–0,57) p <sub>3</sub> =0,036
Ксантинооксидаза (нмоль/мин·мг белка)	0,19±0,02 (0,15–0,23)	0,25±0,02 (0,21–0,29) p <sub>1</sub> =0,039	0,27±0,03 (0,21–0,33) p <sub>2</sub> =0,035	0,32±0,03 (0,26–0,38) p <sub>3</sub> =0,065
СОД (о.ед./мг белка)	1,61±0,11 (1,39–1,83)	2,34±0,21 (1,93–2,75) p <sub>1</sub> =0,003	0,96±0,09 (0,78–1,14) p <sub>2</sub> =0,003	1,10±0,1 (0,90–1,30) p <sub>3</sub> =0,003
Каталаза (нмоль/мин·мг белка)	0,48±0,05 (0,38–0,58)	0,70±0,06 (0,58–0,82) p <sub>1</sub> =0,007	0,28±0,03 (0,22–0,34) p <sub>2</sub> =0,002	0,44±0,05 (0,34–0,54) p <sub>3</sub> =0,001
ГПО (нмоль/мин·мг белка)	0,97±0,08 (0,81–1,13)	1,83±0,25 (1,34–2,32) p <sub>1</sub> =0,002	0,68±0,05 (0,58–0,78) p <sub>2</sub> =0,003	1,12±0,11 (0,90–1,34) p <sub>3</sub> =0,009
ГР (нмоль/мин·мг белка)	0,36±0,04 (0,28–0,44)	0,52±0,04 (0,44–0,60) p <sub>1</sub> =0,007	0,21±0,02 (0,17–0,25) p <sub>2</sub> =0,002	0,25±0,03 (0,19–0,31) p <sub>3</sub> =0,003
ГТ (нмоль/мин·мг белка)	0,54±0,04 (0,46–0,62)	0,75±0,08 (0,59–0,91) p <sub>1</sub> =0,023	0,40±0,03 (0,34–0,46) p <sub>2</sub> =0,006	0,52±0,04 (0,44–0,60) p <sub>3</sub> =0,010
α-Токоферол (мкг/л)	58,2±4,2 (49,97–66,43)	40,3±3,8 (2,85–47,75) p <sub>1</sub> =0,003	44,2±3,1 (38,12–50,28) p <sub>2</sub> =0,008	29,0±2,1 (24,88–33,12) p <sub>3</sub> =0,009
Ретинол (мкг/л)	6,23±0,46 (5,33–7,13)	3,44±0,29 (2,87–4,01) p <sub>1</sub> =0,002	3,77±0,32 (3,14–4,40) p <sub>2</sub> =0,002	1,72±0,12 (1,48–1,96) p <sub>3</sub> =0,002
Диеновые конъюгаты (мкмоль/л)	11,4±0,8 (9,83–12,97)	14,6±0,9 (12,84–16,36) p <sub>1</sub> =0,010	16,9±1,4 (14,16–19,64) p <sub>2</sub> =0,002	23,1±2,4 (18,40–27,80) p <sub>3</sub> =0,003
Основания Шиффа (о.ед./л)	18,2±1,2 (15,85–20,55)	23,4±2,1 (19,28–27,52) p <sub>1</sub> =0,036	24,2±1,6 (21,06–27,34) p <sub>2</sub> =0,005	33,5±3,1 (27,42–39,58) p <sub>3</sub> =0,011
Интенсивность перекисной хемилюминесценции (x10 <sup>5</sup> квант/сек)	9,3±0,6 (8,12–10,48)	13,4±1,2 (11,05–15,75) p <sub>1</sub> =0,003	14,2±1,1 (12,04–16,36) p <sub>2</sub> =0,003	23,18±1,9 (19,46–26,90) p <sub>3</sub> =0,003
Светосумма перекисной хемилюминесценции (x10 <sup>6</sup> квант/сек)	19,2±1,5 (16,26–22,14)	29,2±2,7 (23,91–34,49) p <sub>1</sub> =0,002	25,1±1,7 (21,77–28,43) p <sub>2</sub> =0,002	41,7±2,8 (36,21–47,19) p <sub>3</sub> =0,002

Примечание. Достоверность различий между: II и III триместрами физиологической беременности - p<sub>1</sub>, физиологической беременностью и ПН во II триместре - p<sub>2</sub>, физиологической беременностью и ПН в III триместре - p<sub>3</sub>. Данные представлены в виде средней величины ± ошибки среднего и 95% доверительного интервала.

процессами, реакциями ангиогенеза и апоптоза, происходящими прежде всего в плаценте и организме плода [5].

Что касается антиоксидантных ферментов, сопряжённых с глутатионом и участвующих в регуляции редокс-зависимых процессов, то их активность также уменьшается в околоплодных водах беременных основной группы. Наиболее выраженное уменьшение активности характерно для ГР – фермента, восстанавливающего окисленный глутатион в присутствии NADPH. Во II триместре активность этого фермента снижается на 42%, в III триместре – на 52%. Более значимое снижение в III триместре (на 39%) по сравнению

со II триместром (на 30%) при ПН наблюдается и для активности ГПО. Важное значение этого фермента в регуляции окислительно-восстановительных процессов определяется “обезвреживанием” H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/пероксидов, в связи с чем уменьшение его активности имеет весьма негативные последствия для баланса про- и антиоксидантов при ПН.

Формирование ПН сопровождается аналогичной степенью снижения активности ГТ, которой также принадлежит значительная роль в редокс-зависимых процессах. Известно, что семейство изоформ этого фермента катализирует конъюгацию глутатиона с различными соединениями эндогенного и экзогенного происхождения, оказывающими

токсическое действие на клеточный метаболизм [16]. Наряду с важной ролью в системе детоксикации ГТ участвует в работе антиоксидантной системы благодаря способности восстанавливать различные органические гидроперекиси в отличие от ГПО, взаимодействующей с  $H_2O_2$ . Среди продуктов окисления полиненасыщенных жирных кислот, фосфолипидов, белков, нуклеотидов, биогенных аминов и других соединений появляются вещества с токсическими свойствами, которые будут субстратами изоформ ГТ [17]. Снижение активности ГТ при ПН нарушает эффективность этих механизмов и может приводить к усилению гипоксии, а в совокупности с модификацией активности других про- и антиоксидантных ферментов к развитию окислительного стресса.

В состав многокомпонентной антиоксидантной системы наряду с ферментами входят жирорастворимые витамины  $\alpha$ -токоферол и ретиноиды. В процессе физиологической беременности содержание этих витаминов в околоплодных водах снижается. Для ретинола снижение к концу беременности составляет 45%, для  $\alpha$ -токоферола – 31%. Такое значительное уменьшение содержания ретинола в процессе гестации на фоне увеличения свободно-радикальных процессов, очевидно, объясняется его чрезвычайно легкой окисляемостью в связи с наличием в молекуле витамина А пяти конъюгированных связей. В то же время одной из его функций является предохранение витамина А от выраженного окисления. При ПН содержание  $\alpha$ -токоферола в околоплодных водах уменьшается на 24% и 28% во II и III триместрах соответственно, а ретинола – на 40% и 50% по сравнению с нормальными величинами в эти периоды беременности. Внутриутробный плод зависит от материнской и плацентарной доставки ретинола, так как самостоятельно не синтезирует его, поэтому недостаток данного витамина в течение гестации может приводить к антенатальной гибели плода [18].

Полученные нами ранее данные свидетельствуют об изменении содержания ретинол-связывающего белка 4 в околоплодных водах при ПН [19]. Поскольку этот белок участвует в доставке ретинола плоду, снижение его уровня в фетоплацентарном комплексе вносит дополнительный вклад в ухудшение снабжения плода витамином А.

Сопоставление направленности и степени изменений показателей антиоксидантной системы защиты при физиологической беременности и ПН, свидетельствует о том, что в первом случае основную роль в усилении свободнорадикальных процессов перед родами играют ферментативные системы (особенно ГПО и ГТ), а не жирорастворимые витамины. При осложнённой беременности и во II, и в III триместрах изменение всех изученных показателей как ферментативной, так и неферментативной антиоксидантных систем способствует усилению свободнорадикального окисления, важной составной частью которого является перекисное окисление липидов (ПОЛ).

Как показали наши исследования, количество первичных продуктов ПОЛ – диеновых конъюгатов в околоплодных водах женщин с ПН увеличивается во II триместре на 48%, в III – на 57% по сравнению с таковыми при неосложненной беременности. Содержание конечных продуктов перекисаации – оснований Шиффа повышено на 33% и 43% во II и III триместрах соответственно.

Дополнительная информация о соотношении свободнорадикального окисления и активности антиоксидантной системы при осложнённой беременности получена при исследовании перекисной хемилюминесценции околоплодных вод. Уровень интенсивности свечения при ПН повышен на 53% и 73% в середине и конце беременности, а показатель светосуммы перекисной хемилюминесценции увеличивается соответственно на 31% и 43%.

Зависимость между показателями ПОЛ, повышением прооксидантных и снижением антиоксидантных процессов, подтверждается результатами корреляционного анализа. Прямая корреляционная связь выявлена между содержанием диеновых конъюгатов и активностью NADPH-оксидазы ( $r = 0,86$  во II триместре и  $0,79$  – в III триместре,  $p < 0,01$ ), а также активностью ксантинооксидазы ( $r = 0,81$  и  $0,75$ ,  $p < 0,01$ ). Коэффициенты корреляции между содержанием оснований Шиффа и активностью NADPH-оксидазы и ксантинооксидазы равны соответственно  $0,82$  и  $0,77$  ( $p < 0,01$ ) во II триместре и  $0,80$ – $0,78$  ( $p < 0,01$ ) – в III триместре.

Для антиоксидантного фермента СОД установлена обратная корреляционная связь его активности с показателями ПОЛ, более значимая во II триместре по сравнению с III триместром. В сопоставлении с содержанием диеновых конъюгатов коэффициент корреляции составляет  $-0,87$  ( $p < 0,01$ ) во II триместре и  $-0,84$  – в III триместре ( $p < 0,01$ ), в сопоставлении с содержанием оснований Шиффа  $r = -0,80$ ,  $p < 0,01$  (II триместр) и  $r = -0,79$ ,  $p < 0,01$  (III триместр). Коэффициент корреляции между активностью каталазы и уровнем диеновых конъюгатов составляет  $-0,85$  во II триместре и  $-0,78$  ( $p < 0,01$ ) – в III триместре. Сопоставление активности каталазы и содержания оснований Шиффа также подтверждает тесную взаимосвязь между ними: во II триместре  $r = -0,82$ , в III триместре –  $r = -0,76$  ( $p < 0,01$ ). Отрицательная взаимосвязь различной степени установлена между продуктами ПОЛ и глутатионзависимыми ферментами, а также жирорастворимыми витаминами. Коэффициенты корреляции при этом находятся в пределах  $-0,82$  ÷  $-0,71$  ( $p < 0,01$ ).

Представлялось важным сопоставить наши данные о свободнорадикальных процессах в околоплодных водах при недостаточности плаценты с имеющимися в литературе. Однако аналогичные работы отсутствуют в информационных базах данных. Наиболее близкими к теме наших исследований явились две работы [20, 21], в которых изучалось количество антиоксидантных ферментов и показателей ПОЛ в амниотической жидкости при осложнениях беременности: гипертонии и гестационном сахарном диабете,

а также при врожденных пороках мозга плода, приводящих, подобно недостаточности плаценты, к развитию окислительного стресса. Авторы этих работ установили повышение содержания продуктов ПОЛ и снижение показателей антиоксидантной защиты, к сожалению, без учёта изменений антиоксидантных реакций, играющих значительную роль в нарушении баланса редокс-процессов.

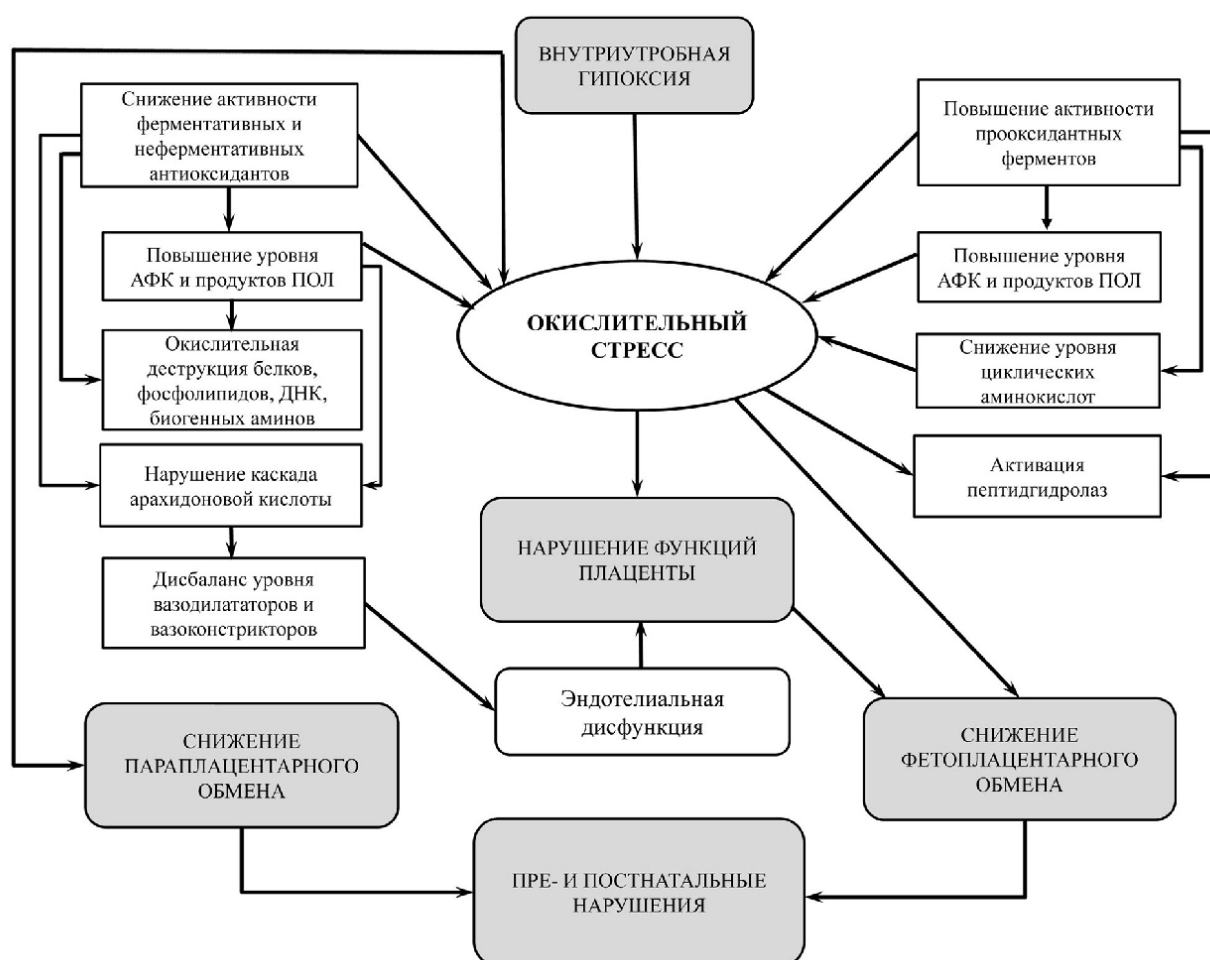
Анализируя возможные последствия окислительно-восстановительного дисбаланса при ПН, можно полагать, что важное значение среди них имеют изменения структуры и свойств белков: их посттрансляционная модификация, изменение аминокислотного состава, чувствительности к протеолизу. Известно, что эти процессы подвержены окислительному действию активных форм кислорода (АФК) [2]. При осложненной гестации ранее нами было установлено повышение в плаценте и околоплодных водах уровня карбонильных производных, представляющих собой окисленные аминокислотные остатки белков, снижение содержания остатков аминокислот, в том числе гистидина и аргинина, наиболее подверженных воздействию АФК и повышение активности пептид-гидролаз [22]. По нашим данным, при ПН обнаружено также уменьшение уровня свободных аминокислот,

особенно триптофана, фенилаланина и тирозина, которые, в свою очередь, сами обладают значительной антиоксидантной активностью, что может усиливать хроническую внутриутробную гипоксию [23].

Помимо вышеописанных изменений, повышение продукции свободных радикалов, инициирующих процессы ПОЛ, вследствие усиления активности прооксидантных и снижения антиоксидантных ферментов, оказывает влияние на активность аденилатциклазной системы, и таким образом модифицирует чувствительность клеток-мишеней к гормональным воздействиям, что нарушает гормональный баланс у женщин с ПН [5]. Повышение генерации АФК при недостаточности плаценты влияет также на скорость синтеза простагландинов, тем самым усиливая интенсивность процессов родовозбуждения [24].

Возможные последствия нарушения баланса окислительно-восстановительных процессов в околоплодных водах при ПН представлены в виде схемы (рисунок).

Приведённые многочисленные изменения метаболических процессов в фетоплацентарной системе, происходящие в результате нарушения окислительно-восстановительного баланса, создают



**Рисунок.** Возможные последствия нарушения баланса окислительно-восстановительных процессов околоплодных вод при ПН.

условия для формирования ПН. В свою очередь, эта акушерская патология приводит к нарушениям в развитии внутриутробного плода и в дальнейшем – новорожденного. Последующие наблюдения за новорожденными от женщин основной группы, переведенными из родильного блока в отделение патологии беременных, установили, что у 30% из них появились признаки церебральных нарушений [25].

Показатели окислительно-восстановительных процессов в околоплодных водах, особенно активность NADPH-оксидазы, СОД, ГПО, ГР, степень изменения которых наиболее значима, могут быть использованы в качестве маркеров развития окислительного стресса при ПН.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют о том, что развитие ПН происходит на фоне нарушения баланса окислительно-восстановительных процессов в околоплодных водах. Повышение активности прооксидантных ферментов и снижение антиоксидантных показателей ферментативной и неферментативной систем, очевидно, являются важной причиной развития окислительного стресса и, как следствие, дальнейших метаболических нарушений в фетоплацентарном комплексе, имеющих место при этой акушерской патологии. Разные trimestры беременности отличаются различной степенью участия про- и антиоксидантных процессов в накоплении продуктов свободнорадикального окисления, как при физиологической, так и осложнённой гестации, что может быть связано с особенностями роста и развития плода в эти периоды. Результаты настоящего исследования позволяют расширить наши представления о биохимических механизмах формирования и развития ПН, а также предложить информативные диагностические и прогностические тесты пре- и постнатальной патологии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Мартинович Г.Г., Черенкевич С.Н. (2008) Окислительно-восстановительные процессы в клетках, БГУ, Минск, 159 с.
2. Zhang Y., Du Y., Le W., Wang K., Kieffer N., Zhang J. (2011) *Antioxid. Redox Signal.*, **15**(11), 2867-2908.
3. Стрижаков А.Н., Тимохина Е.В., Игнатко И.В., Белоцерковцева Л.Д. (2015) Патологическая физиология плода и плаценты, ГЭОТАР-Медиа, М., 176 с.
4. Арутюнян А.В., Шестопалов А.В., Буштырева И.О., Микашинович З.И. (2010) Биохимические механизмы формирования плаценты при физиологической и осложнённой беременности, ООО "Литография", СПб., 188 с.
5. Погорелова Т.Н., Линде В.А., Крукиер И.И., Гунько В.О., Друккер Н.А. (2012) Молекулярные механизмы регуляции метаболических процессов в плаценте при физиологически протекающей и осложнённой беременности, Гиппократ, СПб., 304 с.
6. Hunt K., Kennedy S.H., Vatish M. (2016) *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, **205**, 146-149.
7. Радзинский В.Е., Милованов А.П. (ред.) (2004) Экстраэмбриональные и околоплодные структуры при нормальной и осложнённой беременности, МИА, М., 393 с.
8. Погорелова Т., Крукиер И., Линде В. (2012) Биохимия амниотической жидкости. Параплацентарный обмен, Lambert, 138 с.
9. Issel E.P., Lun A., Pohle R., Gross J. (1988) *J. Perinat. Med.*, **16**(2), 99-107.
10. Карпищенко А.И. (ред.) (2013) Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике: в 2 т., 3-е изд. перераб. и доп., ГЭОТАР-Медиа, М., Т.2, 792 с.
11. Leff J.A., Oppegard M.A., Curiel T.J., Brown K.S., Schooley R.T., Repine J.E. (1992) *Free Radic. Biol. Med.*, **13**(2), 143-149.
12. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. (2000) Методы оценки свободно-радикального окисления и антиоксидантной системы организма. Методические рекомендации, ИКФ "Фолиант", СПб., 104 с.
13. Taylor S.L., Lambden M.P., Tappel A.L. (1976) *Lipids*, **11**(7), 530-538.
14. Стальная И.Д. (1977) В кн.: Современные методы в биохимии (под ред. В.Н. Ореховича), Медицина, М., 63-64.
15. Боташева Т.Л. (2013) *Вестн. восстан. мед.*, S1, 98-101.
16. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Новичкова М.Д. (2014) *Успехи биол. химии*, **54**, 299-384.
17. Wu B., Dong D. (2012) *Trends Pharmacol. Sci.*, **33**(12), 656-668.
18. Spiegler E., Kim Y.K., Wassef L., Shete V., Quadro L. (2012) *Biochim. Biophys. Acta*, **1821**(1), 88-98.
19. Гунько В.О., Погорелова Т.Н., Линде В.А. (2014) *Мать и дитя в Кузбассе*, №2, 62-66.
20. Bogavac M., Lakic N., Simin N., Nikolic A., Sudji J., Bozin B. (2012) *J. Matern. Fetal. Neonatal Med.*, **25**(1), 104-108.
21. Cim N., Tolunay H.E., Karaman E., Boza B., Bilici M., Cetin O., Yildyzyhan R., Sahin H.G. (2017) *J. Int. Med. Res.*, Jan.1:300060517734443. DOI: 10.1177/0300060517734443.
22. Погорелова Т.Н., Гунько В.О., Никашина А.А. (2017) *Рос. вестн. акуш.-гин.*, **17**(1), 4-8.
23. Погорелова Т.Н., Линде В.А., Гунько В.О., Друккер Н.А. (2011) *Клин. лаб. диагност.*, №6, 10-14.
24. Михельсон А.А., Михельсон А.Ф., Попова Н.Н. (2008) *Рос. вестн. акуш.-гин.*, **8**(3), 16-19.
25. Левкович М.А., Афонин А.А., Левкович А.Ю., Кравченко Л.В., Куценко И.И., Бердичевская Е.М., Цатурян Л.Д. (2017) *Рос. иммунол. журнал*, **11**(3), 408-410.

Поступила: 01. 02. 2018.  
Принята к печати: 17. 05. 2018.

## FEATURES OF REDOX PROCESSES IN THE AMNIOTIC FLUID AT PLACENTAL INSUFFICIENCY

*T.N. Pogorelova<sup>1</sup>, A.A. Nikashina<sup>1</sup>, V.O. Gunko<sup>1</sup>, A.V. Larichkin<sup>1</sup>, D.A. Chebotarev<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Scientific-Research Institute of Obstetrics and Pediatrics of Rostov State Medical University,  
43 Mechnikova str., Rostov-on-Don, 344012 Russia; e-mail: rniiap@yandex.ru

<sup>2</sup>Federal Research Centre Southern Scientific Center of Russian Academy of Sciences, Rostov-on-Don, Russia

Activity of prooxidant enzymes (NADPH-oxidase and xanthine oxidase), antioxidant enzymes (superoxide dismutase (SOD) and catalase), enzymes of the glutathione-dependent systems, as well as antioxidant vitamins (retinol and  $\alpha$ -tocopherol), lipid peroxidation products (LPP) (conjugated dienes and Schiff bases), and peroxide chemiluminescence were studied in the amniotic fluid at different periods of physiological pregnancy and placental insufficiency (PI). It was found that at PI the activity of NADPH-oxidase, xanthine oxidase increased and the activity of SOD, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione transferase and the content of fat-soluble vitamins decreased. The direct and inverse correlation between the studied pro- and antioxidant parameters and the content of LPP products, was found to be different in the II and III trimesters of gestation. The revealed differences obviously reflect metabolic impairments in the fetoplacental complex, and the activity and level of the parameters of redox processes can be used as tests for pre- and postnatal disorders.

**Key words:** redox balance; pro- and antioxidant enzymes; antioxidant vitamins; products of lipid peroxidation; amniotic fluid; placental insufficiency