

ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКА И ЭНДОГЕННАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ КАК ПОКАЗАТЕЛИ ТЯЖЕСТИ ГЕСТОЗА

Изучено содержание веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ) в плазме крови, эритроцитах и моче, а также процессы окислительной модификации белков сывотки крови у 11 небеременных женщин, у 22 беременных с физиологическим течением беременности, у 9 беременных группы риска по развитию гестоза и у 33 беременных, страдающих гестозом. На основании полученных данных сделаны следующие выводы. При физиологическом течении беременности в организме преобладают процессы агрегации белков. Эндогенной интоксикации у здоровых беременных не наблюдается. В связи с увеличением концентрации активных форм кислорода в организме беременных группы риска, процессы агрегации белка значительно интенсивнее. У них наблюдается первая, "компенсаторная" фаза эндогенной интоксикации, сопровождающаяся увеличением ВНСММ в эритроцитах. У беременных, страдающих гестозом, окислительная модификация белка усиливается в еще большей степени. Наблюдается как агрегация белковых молекул, так и их деструкция. У беременных с гестозом, сопровождающимся гипертензией, и у беременных с активной инфекцией любой локализации преобладает деструкция белковых молекул. У большинства обследованных пациенток с гестозом наблюдалась вторая фаза эндогенной интоксикации, характеризующаяся повышением содержания ВНСММ в плазме и в эритроцитах (фаза накопления продуктов из очага агрессии).

АКТУАЛЬНОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Несмотря на изучение практически всех аспектов гестоза, проблема эта далека от разрешения. С 20-х годов нашего столетия преэклампсия и эклампсия занимают стабильное место в структуре материнской смертности, не имея тенденции к снижению. Обращает на себя внимание тот факт, что, несмотря на достижения современной медицины, показатель перинатальной смертности при эклампсии существенно не изменился с 1930 г. и составляет 23-27% [6]. Поэтому многие исследователи считают, что значительных изменений в эффективности лечения преэклампсии за последние 70 лет так и не произошло [3]. В современной литературе, посвященной изучению этого осложнения беременности, патогенез гестоза рассматривают с позиций общепатологических явлений - нарушения микроциркуляции, развития оксидативного стресса, формирования мембранной и свободнорадикальной патологии. Работы по изучению роли этих процессов начаты еще в 50-е годы. В последующие десятилетия многочисленные исследования были посвящены перекисному окислению липидов и ферментам антиокислительной и антиоксидантной защиты, причем липидам приписывалась роль основных субстратов воздействия активных форм кислорода (АФК).

В последние годы в ряде экспериментов убедительно показано, что АФК вызывают окислительную модификацию белков (ОМБ), что приводит к изменению их структуры, физико-химических и биологических

свойств. Кроме того, доказано, что радикальной атаке подвергаются вначале не липиды, а белки [10]. ОМБ сопровождается либо их агрегацией, либо фрагментацией с последующим распадом на более низкомолекулярные компоненты [7]. Характер окислительной модификации зависит от типа АФК. Так, гидроксильный радикал чаще всего вызывает агрегацию белков, а в комбинации с супероксидным анион-радикалом - их фрагментацию [12]. Фрагментация белков сопровождается образованием низкомолекулярных фрагментов, 98% которых имеют молекулярную массу менее 5000 Да. Эти продукты относятся к так называемым "веществам низкой и средней молекулярной массы" (ВНСММ), или как их еще называют, к "средним молекулам". Накопление их приводит к развитию эндогенной интоксикации, в которой различают несколько стадий [5].

Работы по изучению ВНСММ у беременных, страдающих гестозом, имеются [2, 1]. Однако исследования проводились только в плазме крови или только на нескольких длинах волн. Анализа полных спектрограмм, от 238 до 310 нм, не проводилось. Это не позволяет оценить фазу эндогенной интоксикации и подобрать соответствующую терапию.

В последние десять лет было опубликовано большое количество экспериментальных работ по изучению ОМБ в различных модельных системах. Однако имеются лишь единичные работы по изучению влияния АФК на белки организма человека и роли этих процессов в развитии патологии. Это связано с некоторыми ограничениями применения большинства методов в биологических системах. Исследований ОМБ у

здоровых беременных женщин и у беременных с гестозом в доступной нам литературе не встречалось.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Целью нашей работы явилось изучение процессов ОМБ и накопления ВНСММ у здоровых беременных и у беременных, страдающих гестозом. Мы хотели не столько подтвердить уже известный факт участия оксидативного стресса в патогенезе гестоза, сколько выявить преобладающие АФК, ответственные за его развитие, а следовательно, и возможные их источники в организме. Комплексное изучение содержания ВНСММ позволяет определить фазу эндогенной интоксикации, а также подтвердить предположение о деструкции белков по увеличению содержания ВНСММ в плазме.

Определение ОМБ проводили по методу Oliver C.N. [9] в модификации Дубининой Е.Е. для сывороточных белков, основанному на взаимодействии карбонильных групп окисленных белков с 2,4-динитрофенилгидразином. Спектры поглощения гидразонов белков записывали на спектрофотометре "Спекорд М-40" от 240 до 450 нм. Результаты представлены в единицах оптической плотности/мг белка.

Для оценки эндогенной интоксикации использовали метод Малаховой М.Я. [5]. Уровень ВНСММ определяли в плазме, эритроцитах и в моче при длинах волн от 238 до 310 нм на "Спекорде М-40".

Было обследовано 75 женщин. В первую группу вошли 11 соматически и гинекологически здоровых небеременных женщин в возрасте от 18 до 28 лет (контрольная группа 1). Вторая группа была представлена 22 здоровыми женщинами с физиологическим течением беременности, обследованных в сроках от 5 до 40 недель беременности (контрольная группа 2). Возраст обследуемых был от 19 до 34 лет. В третью группу вошли 42 беременные с гестозом со срока-

ми беременности от 25 до 40 недель (обследуемая группа). Возраст обследованных - от 18 до 44 лет; возраст большинства (91%) - 20 - 30 лет. Первородящие во второй группе составили 87,5%, в третьей - 82,9%.

42 беременные с гестозом (3-я группа) были распределены на 3 подгруппы. В первую подгруппу вошли 9 пациенток, относящихся к группе риска по развитию гестоза и обследованных в 16-20 недель. У 6 из 9 беременных во 2-3-м триместрах развился гестоз различной степени тяжести.

Во 2-ю подгруппу вошли 22 пациентки с постоянными патологическими прибавками массы тела, отеками и протеинурией. Попытка выделить отдельно подгруппу только с патологическими прибавками оказалась безуспешной, так как по своему биохимическому статусу они совершенно не отличались от пациенток с отеками и протеинурией. Сроки беременности в момент обследования в данной подгруппе составили от 26 до 40 недель.

Третья подгруппа представлена 11 пациентками, у которых симптомами гестоза были отеки, протеинурия различной степени выраженности и артериальная гипертензия. Сроки беременности в момент обследования были 34-40 недель.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами были получены следующие результаты (см. табл. 1 и 2). У здоровых небеременных женщин спектрограммы плазмы крови имели нулевые значения при длине волны 242 нм и один максимум при длине волны 282 нм. Спектрограммы эритроцитов имели вид гипербол с одним максимумом при длине волны 258 нм. Спектрограмма мочи имела два максимума при длинах волн 242 и 282 нм. Полученные данные совпадают с вариантами физиологических норм, описанных М.Я. Малаховой [5]. При анализе спектрограмм поглощения динитрофенил-

гидразонов белков сыворотки крови выявлено следующее. Спектрограммы имеют два максимума - при 274 нм и в диапазоне 360-370 нм. Второй максимум выявлялся постоянно, среднее значение его оптической плотности/мг белка составило $0,02 \pm 0,001$. В двух из 11 наблюдений первый максимум отсутствовал, а значения его оптической плотности у обследованных женщин составило $0,05 \pm 0,002$.

Изучая содержание ВНСММ у здоровых беременных в различные сроки, мы не обнаружили у них количественных и качественных отличий в спектрограммах плазмы, эритроцитов и мочи по сравнению со здоровыми небеременными женщинами (см. табл. 1).

В 1-м триместре у здоровых беременных (7 наблюдений) в спектре поглощения гидразонов белков присутствовало три максимума - при 274 нм, в диапазоне 365-375 нм и 405-410 нм (см. табл. 2). Только в одном наблюдении мы не обнаружили пика при 274 нм. Среднее значение этого максимума не отличалось от значений у здоровых небеременных женщин. Наблюдалось значительное увеличение пика в диапазоне 365-375 нм; его среднее значение было равно $0,182$ ед ОП/мг белка. У беременных женщин появляется еще один дополнительный пик, фиксирующийся прибором "Спекорд М-40", на нисходящей ветви второй гиперболы спектрограммы. Его значения, как правило, зависят от высоты максимума при 365-375 нм. Среднее значение у здоровых беременных в 1-м триместре составило $0,163$ ед ОП/мг белка. Появление этого максимума может быть связано с образованием битирозинфенолов, ответственных за агрегацию белковых молекул.

Во 2-м триместре (7 пациенток) мы наблюдали снижение пика при 274 нм, которое сохранялось и в 3-м триместре. Пики при 365-375 нм и при 405-410 нм во 2-м триместре также снижа-

Группы	ВНСММ в плазме λ=282 нм	ВНСММ в эритроцитах λ=258 нм	ВНСММ в моче λ=242 нм	ВНСММ в моче λ=282 нм
Небеременные, n=11	0,19±0,02	0,76±0,04	0,79±0,03	0,52±0,04
Здоровые беременные, n=22	0,22 ±0,03	0,75±0,01	0,80±0,02	0,52±0,04
Группа риска по гестозу, n=9	0,21±0,04	0,85±0,02*	0,82±0,04	0,50±0,02
Беременные с отёками и протеинурией, n=22	0,28±0,03*	0,88±0,01*	0,90±0,03*	0,57±0,03*
Беременные с отёками, протеинурией, гипертензией, n=11	0,31±0,01*	0,90±0,04	0,92±0,02*	0,60±0,02*

* - статистически достоверно по сравнению с предыдущей группой

Содержание карбонильных групп окисленных белков сыворотки крови у небеременных женщин и при физиологической беременности (M±m, ед. ОП/мг белка)

Таблица 2.

Группы	ОМБ сыворотки при λ=274 нм	ОМБ сыворотки при λ=365-375 нм	ОМБ сыворотки при λ=405-410 нм
Небеременные, n=11	0,050±0,002	0,020±0,001	-
Беременные, 1-й триместр, n=7	0,052±0,002	0,182±0,003*	0,163±0,003*
Беременные, 2-й триместр, n=7	0,013±0,003*	0,093±0,002*	0,069±0,003*
Беременные, 3-й триместр, n=8	0,007±0,001*	0,074±0,005*	0,043±0,004*

* - статистически достоверно по сравнению с предыдущей группой

Содержание карбонильных групп окисленных белков сыворотки крови при гестозе (M±m, ед. ОП/мг белка)

Таблица 3

Группы	ОМБ сыворотки при λ=274 нм	ОМБ сыворотки при λ=365-375 нм	ОМБ сыворотки при λ=405-410 нм
Группа риска по гестозу, n=9	0,009±0,001*	0,081±0,002*	0,052±0,002*
Беременные с отёками и протеинурией, n=22	0,073±0,002*	0,085±0,003*	0,064±0,001*
Беременные с отёками, протеинурией, гипертензией, n=11	0,142±0,005*	0,090±0,007	0,074±0,006

* - статистически достоверно по сравнению с предыдущей группой

лись по сравнению с 1-м триместром, оставаясь выше, чем у здоровых небеременных женщин. Средние значения их были 0,093 и 0,069 ед ОП /мг белка соответственно (см. табл.2).

В третьем триместре нормально протекающей беременности (8 наблюдений) мы наблюдали снижение или полное исчезновение максимума при 274 нм. Значения оптической плотности при 365-375 нм и при 405-410 нм отличались большим разнообразием,

что не позволяет сделать вывод о преобладающей тенденции (см. табл.2).

Таким образом, в течение нормально протекающей беременности, вероятно, преобладает тенденция к агрегации белковых молекул.

Беременные, выделенные в группу риска по развитию гестоза, были обследованы в сроки от 16 до 20 недель. Как известно, именно в эти сроки происходят морфологические изменения в спи-

ральных артериях, определяющие последующую потерю их чувствительности к вазоактивным субстанциям, а также значительное уменьшение сосудистой резистентности [4]. Роль оксидативного стресса в развитии этих изменений при всей своей очевидности экспериментально еще не доказана. При изучении спектров поглощения гидразонов сывороточных белков мы обнаружили исчезновение пика при 274 нм, значительное уменьшение вплоть до исчез-

новения пика в диапазоне 365-375 нм и уменьшение максимума при 405-410 нм по сравнению со здоровыми беременными, обследованными в аналогичные сроки гестационного процесса (см. табл.3). Исследуя содержание ВНСММ, мы не обнаружили увеличения их в плазме. Однако в эритроцитах увеличение ВНСММ статистически достоверно отличалось от их количества в эритроцитах здоровых беременных (см. табл.1). Согласно классификации М.Я.Малаховой, такая ситуация, при которой количество ВНСММ в эритроцитах возрастает, а в плазме и моче остается в норме, представляет собой начальную, "компенсаторную" фазу интоксикации. Эта стадия легко обратима при своевременном её выявлении и проведении лечебно-профилактических мероприятий, направленных на стабилизацию мембран и повышение антиоксидантного статуса организма.

Вероятно, исчезновение пика при 274 нм связано с экранированием карбоксильных групп в результате их агрегации. Это предположение подтверждается отсутствием повышения уровня ВНСММ в плазме крови, что должно иметь место при фрагментации белковых молекул. Таким образом, агрегация белковых молекул, наблюдающаяся при физиологической беременности, усиливается, приобретая патологический характер при претоксикозе.

Мы объединили в одну подгруппу беременных, у которых наблюдались только стойкие патологические прибавки веса, отеки и отсутствовали изменения в моче, и беременных с патологическими прибавками массы, отеками и протеинурией различной степени выраженности. Это связано с тем, что при анализе полученных результатов и оценке биохимического и клинического статуса этих пациенток мы не выявили различий между ними.

Данная группа представляет значительный интерес, так как беременные с длительно вялотекущим

гестозом, со стертой малосимптомной клинической картиной, атипичными формами заболевания составляют большинство среди пациенток с данным осложнением беременности. Известно, что преэклампсия и эклампсия далеко не всегда сопровождаются повышением артериального давления. Около 20% женщин с эклампсией имеют систолическое артериальное давление менее 140 мм рт.ст. и диастолическое артериальное давление менее 90 мм рт.ст. [8]. Хорошо известна и безотечная форма преэклампсии, которая является наиболее опасной и весьма неблагоприятной в прогностическом плане. Такая форма наблюдается у 80% пациенток [11]. Перинатальная смертность у таких женщин значительно выше, чем у беременных с преэклампсией, протекающей на фоне отечного синдрома.

При анализе спектров поглощения гидразонов сывороточных белков у беременных этой подгруппы обращало на себя внимание следующее. Постоянно присутствовал максимум в диапазоне 365-375 нм. Среднее значение оптической плотности/мг белка составило $0,085 \pm 0,003$, что было выше, чем у здоровых беременных в 3-м триместре. С таким же постоянством наблюдался максимум в диапазоне 405-410 нм. Его среднее значение составило $0,064 \pm 0,001$ ед ОП/мг белка. Максимум при 274 нм выявлялся не во всех наблюдениях, среднее значение оптической плотности/мг белка составило $0,073 \pm 0,002$, что было выше, чем у здоровых беременных в аналогичные сроки гестации (см. табл.3). Характерным является то, что у беременных, у которых были обнаружены высокие значения оптической плотности при 274 нм, диагностированы гестационный пиелонефрит, обострение хронического пиелонефрита, активная фаза внутриутробной инфекции, наличие в анамнезе профессиональных вредностей в течение более 10 лет, тяжелого миокардита. Мы

предполагаем, что увеличение значений оптической плотности при 274 нм может быть связано с деструкцией белка, наблюдаемой при воспалении. Повышению максимума при 274 нм соответствовало возрастание в плазме ВНСММ. Некоторое увеличение ВНСММ по сравнению с контролем наблюдалось также и в эритроцитах (см. табл.1). Согласно классификации М.Я.Малаховой, это – фаза накопления продуктов из очага агрессии. На этом этапе правомерным является применение методов экстракорпоральной детоксикации, особенно у больных с экстрагенитальной патологией, наличием очагов активной инфекции.

В подгруппе беременных с гипертензией в спектрах поглощения гидразонов белков в большинстве наблюдений присутствовали все три максимума (см. табл.3). Среднее значение при 274 нм составило $0,142 \pm 0,005$ и было выше, чем в контрольной и во второй подгруппе. Среднее значение максимума в диапазоне 365-375 нм имело тенденцию к увеличению по сравнению с предыдущей подгруппой, которая, однако, оказалась статистически недостоверной. Среднее значение его составило $0,09 \pm 0,007$ ед ОП/мг белка. Максимум в диапазоне 405-410 нм отсутствовал лишь в одном наблюдении. Его среднее значение – $0,074 \pm 0,006$ ед ОП/мг белка.

Повышение содержания ВНСММ в эритроцитах по сравнению со второй подгруппой было статистически недостоверным. Наблюдалось небольшое увеличение содержания ВНСММ в плазме по сравнению с пациентками предыдущей подгруппы (см. табл.1). Это позволило нам сделать вывод о том, что у большинства беременных с гипертензией также имеется вторая фаза эндотоксикоза (фаза накопления продуктов из очага агрессии), но увеличение содержания ВНСММ в плазме говорит о возможном переходе в третью фазу эндогенной интоксикации (фаза обратимой

ВЫВОДЫ

На основании полученных данных можно сделать следующие выводы:

1. Во время нормально протекающей беременности в организме преобладают процессы агрегации белков. Повышения ВНСММ в плазме, эритроцитах и моче не происходит.

2. У беременных группы риска по развитию гестоза в 16-20 недель возможно повышение ВНСММ в эритроцитах, что говорит о начальной фазе эндогенной интоксикации. Агрегация белка, вероятно, в связи с увеличением концентрации АФК, значительно более интенсивна, чем у здоровых беременных.

3. У беременных с длительным вялотекущим гестозом, сопровождающимся стойкими патологическими прибавками веса, слабо выраженными отеками, незначительной транзиторной протеинурией, наблюдается вторая фаза эндогенной интоксикации, характеризующаяся умеренным увеличением ВНСММ в эритроцитах и в плазме крови. У этих пациенток одинаково интенсивно идут процессы как агрегации, так и деструкции белка, что связано с преобладающими АФК. Учитывая наличие в организме большого количества биохимических циклов, которые могут являться источником АФК при разобщении реакций, становится понятным сложность подобной оценки.

4. У беременных с активными формами инфекции различной локализации и у беременных с гипертензией преобладают процессы деструкции белка. Этому соответствует повышение уровня ВНСММ в плазме.

5. Выявленные различия еще раз подтверждают неоднородность этого осложнения беременности и диктуют необходимость дифференцированного подхода к его лечению.

Литература

1. Беднарский А.С., Чайка Н.А., Ярославский В.К., Данилова Л.А., Резников Л.Л. // Акуш. и гин. - 1995. - №1. - С. 18-22.
2. Ветров В.В., Леваневич В.В. // Акуш. и гин. - 1990. - №6. - С. 50-54.
3. Зильбер А.П., Шифман Е.М., Павлов А.Г. // Преэклампсия и эклампсия: клинико-физиологические основы и алгоритмы диагностики. - Петрозаводск, 1997. - С. 9.
4. Кацулов Ат. // Акуш. и гин. - 1990. - №10. - С. 6-8.
5. Малахова М.Я. // Метод регистрации эндогенной интоксикации. - СПб., 1995.
6. Репина М.А. // Ошибки в акушерской практике. - Л., 1988, С.55.
7. Davies K.J.A., Lin S.W., Pacifici R.E. // J.Biol.Chem., 1987. - V.262, P.9914
8. Friedman S.A., Taylor R.N., Roberts J.M. Pathophysiology of pre-eclampsia and hypertension and pregnancy // Clinics in Perinatology, 1991, V.18, P.661-682.
9. Oliver C.N., Ahn B.W., Moreman E.J., Goldshtein S., Stadman E.R. // J.Biol.Chem., 1987, V.262, P.5488.
10. Richards D.C.H., Dean R.T., Jessup W. // Biochim. et biophys. acta, 1988, V.946, P.281.
11. Sibai B.M. // Amer.J.Obstet.Gynecol., 1990, V.163, P.1049-1055.
12. Wolf S.P., Dean R.T., Garner A. // Trends Biochim.Sci., 1986, V.11, P. 27.