

С.О. БУРМИСТРОВ, Т.Г. КОВАЛЕВА,
П.С. БУЗУРУКОВА, Н.Г. КОШЕЛЕВА,
А.В. АРУТЮНЯН

Лаборатория перинатальной биохимии,
НИИ акушерства и гинекологии
им. Д.О. Отта РАМН,
Санкт-Петербург

ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССА ДЕГРАДАЦИИ БЕЛКОВ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ, ОСЛОЖНЕННОЙ ГЕСТОЗОМ И ДИАБЕТОМ

Обследована группа женщин (n=73), гестозом легкой степени и с инсулинзависимым (ИЗСД) и инсулиннезависимым (ИНСД) сахарным диабетом с нормально протекающей беременностью.

В сыворотке крови измеряли уровень «средних молекул» (СМ), перекисного окисления белков (ПОБ), активность церулоплазмينا (ЦП) и окситоциназы (ОЦ). Уровень СМ измеряли также в моче.

Показано, что само состояние беременности сопровождается усилением процесса деградации белков, связанного как с активизацией свободнорадикальных процессов, так и с увеличением образования СМ в результате активации протеолиза.

Предполагается, что СМ могут быть фактором риска повреждения плаценты и плода при обеих формах диабета. При ИНСД и при гестозе фактором повреждения могут выступать свободнорадикальные продукты.

Как известно, беременность сопровождается существенными изменениями обменных процессов в организме, направленных на обеспечение роста и развития плода. Эти изменения затрагивают в полной мере и обмен белков, который усиливается при беременности [20]. Однако интенсификация этого процесса сверх определенного уровня приводит к избыточному накоплению в организме целого ряда токсических продуктов пептидной природы и белков с измененными свойствами, которые могут вызывать нарушения в организме беременных и быть причиной рождения неполноценного потомства. Например, следствием усиления деградации белков является увеличение содержания в организме веществ среднемoleкулярной массы, обладающих целым спектром токсических эффектов в отношении центральной нервной системы, системы иммунитета, кроветворения и др. [5]. Эти соединения, как считают, оказывают и прямое токсическое действие на ткань плаценты [13]. К нарушению белкового обмена и появлению в организме поврежденных белков приводит и интенсификация свободнорадикальных процессов, усиление которых свойственно состоянию беременности при гестозе. Указанные нарушения более отчетливо проявляются при тяжелых формах гестоза. Это относится и к повышению уровня СМ [4,8] и к интенсификации свободнорадикальных реакций (оксидативный стресс) [1]. Отмеченные нарушения увеличивают вероятность рождения недоношенного потомства с целым рядом нару-

шений полиорганного характера. Сходные изменения могут иметь место при диабете, сопровождающем беременность, что также является причиной того, что это заболевание является фактором риска рождения потомства с отклонениями в развитии и нарушениями самого различного характера [9]. В данной работе была поставлена задача исследования показателей деградации белков у беременных с гестозом и диабетом I и II типа.

Материалы и методы исследований

Всего были обследованы 73 женщины в возрасте от 20 до 38 лет. При исследовании гестоза (табл. 1) обследуемые женщины были разделены на 4 группы: 1-ю группу составили здоровые небеременные доноры (10 человек); во 2-ю и 3-ю группы вошли женщины с нормально протекающей беременностью без признаков токсикоза и сроком гестации 28-32 недели (2-я группа) и 38-40 недель (3-я группа). 4-ю группу составили женщины с признаками гестоза легкой степени (отеки, нефропатия I степени). При обследовании беременных с сахарным диабетом (табл. 2) 1-ю группу составили 8 женщин с нормально протекающей беременностью; 2-я и 3-я группы были представлены беременными, страдающими ИЗСД I типа, 15 из которых не имели выраженных сосудистых осложнений (группа 2), а у 11 была выявлена диабетическая ретинопатия (группа 3); в 4-ю группу вошли 7 женщин с инсулиннезависимым сахарным диабетом (ИНСД) II типа.

В сыворотке крови всех женщин определяли активность протеолитического фермента лейцинаминопептидазы /окситоциназы/ (ОЦ) [16] и активность церулоплазмينا методом Райвина [18]. Уровень СМ в сыворотке крови определяли стандартным скрининговым методом с осаждением белков 15% трихлоруксусной кислотой и определением оптической плотности (ОД) супернатанта при 280 и 254 нм (ОД₂₈₀ и ОД₂₅₄) [6]. Оценивали катаболический коэффициент ОД₂₈₀/ОД₂₅₄. При определении СМ в моче оптическую плотность определяли при 288, 310 и 268 нм. Рассчитывали пептидно-белковый коэффициент ОД₂₈₈/ОД₃₁₀ и пептидно-катаболический коэффициент ОД₂₈₈/ОД₂₆₈. Уровень перекисного окисления белков (ПОБ) определяли по содержанию карбонильных производных аминокислот в белках в реакции с 2,4-динитрофенилгидразином [17]. Как считают, содержание карбонильных производных аминокислот отражает интенсивность свободнорадикальных процессов в организме и наряду с активностью ЦП является показателем «оксидативного стресса».

Результаты исследований

Исследования показали, что при нормально протекающей беременности уровень средних молекул в сыворотке крови и моче на сро-

ке гестации 29-31 неделя не отличался достоверно от показателей в группе небеременных (табл. 1). Увеличение уровня СМ было заметно на позднем сроке беременности (38-40 недель), где эти показатели отличались как от показателей группы небеременных, так и от группы меньшего срока беременности. При беременности была увеличена активность ЦП в 1,5-2 раза. Такие изменения являются свидетельством того, что сама беременность сопровождается более активным распадом белков. Это может быть следствием как усиления протеолиза в результате более интенсивного общего обмена в организме беременной, так и повышением пептидазной активности, которая связана с появлением в сыворотке крови специфического протеолитического фермента плацентарного происхождения - ОЦ. Корреляционный анализ показал, что как ОЦ, так и уровень СМ при измерении на ОД₂₈₀ и ОД₂₅₄ положительно коррелируют со сроком беременности. Коэффициенты корреляции соответственно составляют $r = 0,74; 0,68; \text{ и } 0,60$ при достоверном различии ($p < 0,05$). Наблюдалась положительная корреляция между сроком беременности и уровнем ЦП ($r = 0,43$). В пользу связи пептидазной активности и уровня СМ говорит и обнаруженная положительная корреляция ОЦ и СМ при определении на ОД₂₈₀

($r = 0,75, p < 0,001$).

При беременности усилен и процесс модификации белков, связанный с усилением свободнорадикальных процессов и оксидативного стресса (увеличение уровня ПОБ и активности ЦП). Возрастание свободнорадикальной активности при беременности ранее продемонстрировано в целом ряде работ, где показано, что при этом имеет место как повышение образования свободных радикалов кислорода [7] и перекисных продуктов [3], так и усиление напряжения антиоксидантной системы [1,21].

В группе с гестозом (табл. 1, группа 4) не было отмечено повышения уровня СМ как в сыворотке крови, так и в моче по сравнению с группой такого же срока беременности без гестоза (группа 3). Но в этой группе была заметно увеличена активность ЦП и несколько повышен уровень ПОБ - показателей, характеризующих активность свободнорадикальных процессов. Можно предположить, что при легкой степени гестоза, которая отличает данную группу, процессы деградации белков не настолько активированы, чтобы отразиться на уровне СМ. Отсутствие связи между уровнем образования СМ и продуктов ПОБ показал анализ корреляции между этими показателями. Показатель ПОБ не коррелировал достоверно между уровнем СМ ни

Показатели деградации белков при нормальной беременности и гестозе

Таблица 1

Показатель	Небеременные (n=10)	Нормальная беременность (28-32 нед. n=8)	Нормальная беременность (38-40 нед. n=10)	Гестоз (38-40 нед. n=12)
	группа 1	группа 2	группа 3	группа 4
Окситоциназа (ОД ₂₆₅)	-	0,190±0,023	0,247±0,016 P _{3,2} <0,01	0,290±0,023 P _{4,3} <0,01
СМ сыворотки (ОД ₂₈₀)	0,258±0,027	0,201±0,013	0,269±0,009 P _{3,2} <0,05	0,254±0,013
СМ сыворотки ОД ₂₅₄	0,068±0,008	0,053±0,007	0,094±0,016 P _{3,2} <0,05	0,083±0,006
СМ сыворотки ОД ₂₈₀ /ОД ₂₅₄	4,43±0,53	4,51±0,71	3,32±0,49	3,26±0,23
ПОБ мкмоль/мг белка	0,472±0,040	0,551±0,088	0,618±0,088 P _{3,1} <0,05	0,640±0,064 P _{4,1} <0,05
ЦП (мг%)	36,2±2,1	51,7±3,3 P _{2,1} <0,01	72,1±3,3 P _{3,1} <0,01	87,5±3,2 P _{4,3} <0,05
Белок сыворотки (Мг/мл)	81,1±3,8	72,0±2,2 P _{2,1} <0,01	71,7±1,4 P _{3,1} <0,01	74,3±1,2 P _{4,3} <0,05
СМ мочи ОД ₂₈₈ /ОД ₃₁₀	6,02±0,41	6,91±0,15	7,25±0,21 P _{3,1} <0,05	7,14±0,35
СМ мочи ОД ₂₈₈ /ОД ₂₆₈	0,91±0,02	0,95±0,02	0,98±0,03 P _{2,1} <0,05	0,98±0,02

в сыворотке крови, ни в моче. По-видимому, процессы деградации белков, обусловленные пептидазной активностью и образованием СМ, не связаны тесными общими механизмами со свободнорадикальной модификацией белков, хотя не исключено, что какая-то небольшая часть среднемолекулярных продуктов образуется за счет распада белков под воздействием свободных радикалов. В литературе увеличение СМ отмечается в основном при обследовании беременных с тяжелыми формами гестоза [13,14]. Об усилении свободнорадикальных реакций при гестозах также сообщается в целом ряде работ. Отмечается увеличение содержания в сыворотке крови беременных продуктов перекисного окисления липидов (малонового диальдегида, диеновых конъюгатов), а также увеличение активности супероксиддисмутазы и ЦП при гестозах II-III стадии [1,2,11].

Обследование группы женщин с ИЗСД показало увеличение активности ЦП в группах 2 и 3 (табл. 2) при отсутствии изменений уровня ПОБ. В группе женщин без диабетических осложнений (группа 2) не отмечено достоверных изменений по сравнению с соответствующей контрольной группой беременных по другим показателям (группа 1). Значительные изменения отмечены в группе 3 (табл. 2) с диабетическими со-

судистыми осложнениями. В этой группе наблюдается достоверно повышенный уровень СМ в сыворотке крови как при OD_{280} нм, так и при OD_{254} . В обеих группах с диабетом несколько повышен коэффициент OD_{280}/OD_{254} , что является свидетельством отсутствия усиленной нагрузки на печень, характерной для процесса интоксикации. В группе с сосудистыми диабетическими осложнениями был достоверно снижен уровень СМ в моче, рассчитанный по обоим коэффициентам. Как считают, снижение СМ в моче является признаком нарушения функции почек, которые не справляются с нормальным выведением метаболитов [13]. В этой связи следует отметить, что среди обследованных нами женщин с диабетической ретинопатией у 4 отмечалась нефропатия II и III степени.

В группе беременных женщин с ИЗСД была обнаружена выраженная достоверная отрицательная корреляция ЦП и СМ на OD_{254} ($r = -0,8$ $p = 0,003$) и положительная корреляция с отношением OD_{280}/OD_{254} ($r = 0,76$ $p = 0,007$). Это, по нашему мнению, является свидетельством наличия связи гестоза с функцией печени, в клетках которой синтезируется ЦП. Токсические эффекты, создающие нагрузку на печень, приводят к ухудшению способности гепатоцитов синтезировать или выделять в кровь указанный фермент.

При ИЗСД без сосудистых осложнений не отмечалось повышенного уровня ОЦ в крови, однако активность этого фермента была заметно выше при наличии диабетической ретинопатии. Подобное отклонение в уровне активности ОЦ свидетельствует о неблагоприятном прогнозе развития плода и указывает на нарушение функционального состояния плаценты. Такое же увеличение активности ОЦ наблюдается при выделении в группе с ИЗСД женщин с многоводием. При этом активность ОЦ при отсутствии многоводия составляет $0,157 \pm 0,020$ единиц OD_{565} , а при многоводье $0,229 \pm 0,054$ единиц OD_{565} ($p < 0,05$). Эти данные совпадают с данными, полученными ранее М.А.Ярцевой, показавшей, что активность ОЦ не претерпевающая заметных изменений при ИЗСД, повышается при одновременном наличии многоводья и диабета, что является дополнительным фактором риска повреждения плода в результате нарушения функции плаценты [15].

Повышенный уровень ОЦ в сыворотке крови женщин с сахарным диабетом, имеющих сосудистые осложнения, указывает на то, что увеличение содержания СМ сыворотки в этой группе может быть связано с усилением протеолитической активности ОЦ, не имеющей непосредственного отношения к процессу интоксикации. Опира-

Показатели деградации белков при нормальной беременности и диабете

Таблица 2

Показатель	Нормальная беременность (28-32 нед. n=8)	ИЗСД без осложнений (29-31 нед. n=15)	ИЗСД с осложнениями (29-32 нед. n=11)	ИЗСД (30-32 нед. n=7)
	группа 1	группа 2	группа 3	группа 4
Окситоциназа (OD_{565})	$0,190 \pm 0,023$	$0,224 \pm 0,035$	$0,254 \pm 0,034$	$0,2911 \pm 0,039$ $P_{4,1} < 0,05$
СМ сыворотки OD_{280}	$0,201 \pm 0,013$	$0,206 \pm 0,009$	$0,272 \pm 0,018$ $P_{3,1} < 0,05$ $P_{3,2} < 0,05$	$0,242 \pm 0 < 0,20$
СМ сыворотки OD_{254}	$0,053 \pm 0,007$	$0,206 \pm 0,005$	$0,075 \pm 0,012$ $P_{3,2} < 0,05$	$0,043 \pm 0,009$
СМ сыворотки OD_{280}/OD_{254}	$4,51 \pm 0,71$	$6,27 \pm 0,93$	$5,02 \pm 0,98$	$7,02 \pm 1,37$
ПОБ мкМоль/мг белка	$0,551 \pm 0,088$	$0,551 \pm 0,048$	$0,517 \pm 0,063$	$0,623 \pm 0,033$ $P_{4,3} < 0,05$
ЦП (мг%)	$51,7 \pm 3,3$	$72,0 \pm 4,0$ $P_{2,1} < 0,05$	$75,5 \pm 7,5$ $P_{3,1} < 0,05$	$83,6 \pm 3,0$ $P_{4,1} < 0,05$ $P_{4,3} < 0,05$
Белок сыворотки (Мг/мл)	$72,0 \pm 2,2$	$75,6 \pm 1,1$	$71,5 \pm 1,1$ $P_{3,2} < 0,05$	$69,1 \pm 3,0$
СМ мочи OD_{288}/OD_{210}	$6,91 \pm 0,15$	$7,40 \pm 0,65$	$5,47 \pm 0,20$ $P_{3,1} < 0,05$	$7,33 \pm 0,02$
СМ мочи OD_{288}/OD_{268}	$0,95 \pm 0,02$	$0,94 \pm 0,02$	$0,86 \pm 0,03$ $P_{3,1} < 0,01$	$0,96 \pm 0,04$

ясь на показатели ПОБ и ЦП, можно говорить об усилении окислительного стресса у беременных с ИЗСД. Активация окислительного стресса при отсутствии изменения уровня ПОБ служит доказательством достаточно надежной работы защитных антиокислительных систем, не позволяющих выходить из-под контроля процессу окислительной модификации белков. В литературе имеются данные, согласно которым диабет этого типа может сопровождаться усилением антиокислительной активности в крови, накоплением перекисных продуктов липидов (малонового диальдегида) в эритроцитах и плазме, что можно считать признаком повышенной свободнорадикальной активности, не компенсирующей полностью перекисные процессы в липидах [10,12].

Более заметные изменения показателей отмечены нами в группе женщин с сахарным диабетом II типа (ИНСД). В этом случае также наблюдается несколько повышенный уровень ОЦ в сыворотке крови (табл. 2) и существенное увеличение активности ЦП. Уровень ПОБ при этом изменяется недостоверно по сравнению с контролем (группа 1), но оказывается достоверно повышенным по сравнению с группой ИЗСД, имеющей сосудистые осложнения (группа 3). Такие изменения можно считать признаком развития оксидативного стресса в данной группе, приводящим к усилению процесса модификации белков. Это совпадает с имеющимися данными литературы об усилении оксидативного стресса при ИНСД при котором на фоне дефицита антиоксидантов (витаминов С и Е) наблюдали накопление продуктов перекисного окисления [19].

Как мы считаем, некоторая стимуляция процесса деградации белков при осложненном ИЗСД и ИНСД связана с усилением пептидазной активности, которая является следствием повышенного метаболического вклада плацен-

ты, имеющей при диабете большую массу. Доказательством этого может служить увеличение активности ОЦ - специфического плацентарного фермента.

Заключение

Таким образом, можно заключить, что отмеченные изменения показателей деградации белков в организме при беременности могут быть фактором риска рождения потомства с различными отклонениями. При токсикозе это прежде всего риск повреждения тканей плаценты и плода свободнорадикальными продуктами. При тяжелых формах гестоза (нефропатия II-III степени) это безусловно и опасность повреждения тканей среднемoleкулярными продуктами распада белков. При ИЗСД, как мы считаем, более велик риск повреждения плода и плаценты СМ. Между тем, при ИНСД может быть увеличена вероятность токсического действия на плод и плаценту как СМ, так и свободнорадикальных продуктов. Исходя из этого, можно считать, что в комплексную терапию беременных с легкими формами гестоза и ИНСД следует более активно включать средства, обладающие антиокислительной активностью, а при ИЗСД более рационально сочетать средства детоксикации и препараты с антиоксидантными свойствами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамченко В.В., Баскаков В.П., Соколовский В.В. // Акушерство и гинекология. - 1988. - № 6. - с. 67-71
2. Айламазян Э.К. // Акушерство и гинекология. - 1991. - № 3, - с.30-34
3. Бурлев В.А. Свободнорадикальное окисление в системе мать-плацента-плод при акушерской патологии. - Автореф. дисс... д.м.н. наук, Москва. - 1992г.
4. Ветров В.В., Леванович В.В. // Акушерство и гинекология. - 1990. - №6. - с.50-54
5. Владыко А.С., Левицкий Э.Р., Поддубная Л.П., Габриэлян Н.И. // Анестезиол. и реанимат. - 1987. - № 2. - с. 37-42
6. Габриэлян Н.И., Севастьянова

- О.А. // Лаб. дело. - 1987. - № 2. - с. 79-80
7. Грищенко В.И., Лупояд В.С., Северин Н.Ф. и др. // Акушерство и гинекология. - 1986. - № 4. - с. 45-47
8. Гуцин И.В., Ханимов М.А., Чернышев В.Г. и др. // Анестезиол. и реанимат. - 1990. - № 4. - с. 58-60
9. Евсюкова И.И., Кошелева Н.Г. Сахарный диабет беременных и новорожденные. Санкт-Петербург, «Специальная литература» . - 1996. - 270 с.
10. Знаменская Т.К. // Укр. биохим. ж. - 1994. - № 2. - с. 93-97
11. Кулаков В.И. Мурашко Л.Е., Бурлев В.А. // Акушерство и гинекология. - 1995. - № 6. - с. 3-5.
12. Никифоров О.Н., Сазонова О.В., Суханова Л.Я. и др. // Пробл. эндокринологии. - 1997. - № 5. - с. 16-19.
13. Юркевич О.В. Эндогенные интоксикации при гестозе и дифференцированные методы эфферентной терапии. Автореф. дисс... к.м.н. Санкт-Петербург. - 1996.
14. Яковлев В.Г., Шаповалова К.А., Медведева Т.Г. и др. Мат. Всес. конф. «Актуальные вопросы физиологии и патологии репродуктивной системы женщины». Л., 1990. - с. 137.
15. Ярцева М.А. Течение беременности и родов, состояние плода и новорожденного при сахарном диабете и многоводии. - Автореф. дисс... к.м.н. Л. - 1989.
16. Babuna S., Yenen E. // Am. J. Obstetr. Gynecol. - 1966. - v.94. - p. 868-875
17. Levine R.L., Garland D., Oliver C.N. et. al. // Meth. Enzimol. - 1990. - v.186. - p. 464-478
18. Ravin H.A. // J. Lab. Clin. Med. - 1961. - v.58. - N1. - p. 161-168
19. Sundaram R.K., Bhaskar F. // Clin. Sci. - 1996. - v.90. - N4. - p. 255-260
20. Tim C., Jurgis G.G. // Semin. Reprod. Endocrinol. - 1992. - v. 10. - N2. - p. 61-71
21. Wisdov S.J., Wilson R., McKillor J.H., et al. // Am. J. Obstetr. Gynecol. - 1991. - v. 165. - N6. - p. 1701-1704