УДК 618.5-089.888.12-022.1-097

ОЦЕНКА ЛОКАЛЬНОГО ОКСИДАТИВНОГО СТАТУСА БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН В ПРОЦЕССЕ ПРЕИНДУКЦИИ РОДОВ

Боровиков И.О., Эль-Мусауи Н.Н., Хорольский В.А.

ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Краснодар, e-mail: bio2302@mail.ru

В результате проведенного комплексного исследования состояния шейки матки (оценка степени зрелости шейки матки по шкале Бишопа; комплексное ультразвуковое определение состояния родовых путей (длина шейки матки, толщина нижнего сегмента матки, диаметр внутреннего зева, задний угол шейки матки, расстояние между головкой плода и промежностью)) у беременных в сроке 41 неделя + 4 дня в процессе преиндукции родовой деятельности с анализом оксидативного статуса цервикальной зоны (аргинин, метаболиты NO (NO базальный и индуцированный, iNOS)) выявлено участие окислительного стресса в возникновении пускового механизма родовой деятельности. При этом в группе пациенток с пролонгированной беременностью выявлены достоверные отличия в цитохимических показателях цервикальной слизи (уменьшение содержания аргинина в 2,8 раза по сравнению с контрольной группой, при этом уровень базального (NO) и индуцированного метаболита оксида азота (iNOS) тесно коррелировали с уровнем аргинина и были выше более чем в 3 раза). Определена перспективность оптимизации тактики ведения доношенной и пролонгированной беременности с применением активаторов оксида азота (в частности L-аргинина).

Ключевые слова: шейка матки, пролонгированная беременность, оксидативная система, L-аргинин, преиндукция родов

EVALUATION OF LOCAL OXIDATIVE STATUS OF PREGNANT WOMEN IN THE DELIVERY PREINDUKTION

Borovikov I.O., El-Musaui N.N., Khorolskiy V.A.

Kuban state medical university, Krasnodar, e-mail: bio2302@mail.ru

As a result of a comprehensive study of the cervix (cervical maturity rating on a scale of Bishop; integrated ultrasound to determine the status of the birth canal (length of the cervix, the lower uterine segment thickness, internal diameter opening, rear corner of the cervix, the distance between the head of the fetus and perineum)) during pregnancy at 41 weeks + 4 days in the process of labour preinduktion with analysis of the oxidative status of cervical zone (arginine, metabolites of NO (NO basal and induced, iNOS)) were part of oxidative stress in causing the trigger of labor activity. The group of patients with prolonged pregnancies identified reliable differences in the cytochemical indicators of cervical mucus (decrease of arginine in 2,8 times compared with the control group, while NO bazal and induced nitric oxide metabolite (iNOS) were closely correlated with the level of Arginine, and were higher in more than 3 times).Prospect optimization tactics of defined term and prolonged pregnancy, using nitric oxide activators (L-arginine).

Keywords: cervix, prolonged pregnancy, oxidants system, L-arginine, delivery preinduction

Механизм развития родовой деятельности остается одним из ключевых вопросов акушерской практики [1, 2, 6, 10]. В последние годы в мировой науке представлены новые концептуальные воззрения на инициацию сократительной деятельности матки [3]. Однако большинство исследований направлено на изучение механизмов, приводящих к преждевременным родам [1, 5, 7], тогда как до настоящего времени остаются не до конца изученными причины развития родовой деятельности при своевременных родах. Учитывая отсутствие четкого понимания механизмов развития родовой деятельности в доношенном сроке, остаются неясными причины, приводящие к перенашиванию беременности. Вместе с тем частота переношенной беременности в популяции составляет от 3 до 10% и не имеет тенденции к снижению на протяжении длительного времени [3, 7].

Многочисленные факты свидетельствуют о том, что пролонгирование беременности и связанные с этим нарушения в маточно-плацентарном комплексе, ведущие к развитию аномалий родовой деятельности, внутриутробной гипоксии плода, связаны с изменением реактивности эндотелия кровеносных сосудов [11]. В развитии структурных и функциональных изменений шейки матки, эндотелия кровеносных сосудов маточно-плацентарного комплекса наряду с генетическими и иммунологическими факторами важную роль играют окислительный стресс и недостаточность оксида азота [8, 12]. Считается, что последнее обстоятельство частично обусловлено преобразованием NO в пероксинитрит или же снижением активности NO-синтазы. В то же время считают, что основным источником факторов, вызывающих дисфункцию эндотелия, является плацента [4]. Как известно, эстрогены активируют эндотелиальную eNOS [13], вызывают усиление экспрессии гена индуцибельной iNOS [9, 11]. Изменение содержания свободных аминокислот и их производных в биологических тканях и жидкостях часто свидетельствует

о развитии того или иного патологического процесса. Аминокислоты занимают важное место среди азотистых компонентов шейки матки и околоплодных вод и эффективно используются организмом женщины в качестве пластического материала для подготовки шейки матки к родам. Диагностическое значение L-аргинина резко возросло, когда было установлено, что он является предшественником оксида азота (NO), обладающего широким спектром биорегуляторных действий. Основным вазодилататором, продуцируемым эндотелием, является NO, снижение синтеза которого многие связывают с формированием дисфункции эндотелия у человека [11, 12]. Снижение его синтеза связано с повреждением L-аргинин-транспортных систем, а также низким содержанием в крови L-аргинина, который образуется в орнитиновом цикле и является предшественником и активатором синтеза NO [9]. Считается, что снижение уровня NO при беременности может быть следствием активации перекисного окисления липидов, в результате чего NO переходит в пероксинитрит, а также снижения содержания L-аргинина как предшественника NO, что в свою очередь препятствует активации процессов, подготавливающих шейку матки к родовой деятельности [9, 13]. Все это обусловливает дальнейшее изучение вопроса о роли свободного L-аргинина и в целом системы L-аргинин-NO в развитии пролонгированной беременности [8, 12]. До настоящего времени изучение роли оксида азота в формировании родовой доминанты и в подготовке шейки матки к родам не было изучено. В доступной литературе также не уделено достаточного внимания роли оксида азота в процессах «созревания» шейки матки, улучшения оксидативных процессов в ней, а также применения препаратов, стимулирующих образование NO [7, 9]. С учетом предполагаемого участия оксида азота в процессах созревания шейки матки в последние годы появились работы, в которых с этой целью применяют препараты, увеличивающие его концентрацию в тканях [8]. Однако, имеющиеся в литературе исследования малочисленны и часто носят противоречивый характер [1, 7]. Вышеизложенное обусловливает необходимость оптимизации подходов к подготовке шейки матки и родовозбуждению. В связи с этим целью настоящего исследования явилось исследование оксидативного статуса беременных в сроке 41 неделя + 4 дня с целью последующей разработки для повышения эффективности преиндукции родов метода подготовки к родам с использованием активаторов оксида азота.

Материалы и методы исследования

Исследования проводились на кафедрах акушерства, гинекологии и перинатологии и биохимии Кубанского государственного медицинского университета, базой исследования было отделение акушерской патологии и родовое отделение Перинатального центра ГБУЗ «Детская краевая клиническая больница» г. Краснодара. Объект исследования: беременные в сроке 41 неделя + 4 дня, которым была проведена преиндукция родовой деятельности мифепристоном – 43 пациентки:

I группа – эффективная преиндукция, роды без осложнений, заканчивались консервативно, рождением плода без признаков гипоксии (24);

II группа – неэффективная преиндукция, потребовавшая оперативного родоразрешения (19).

Клинико-биохимический контроль – женщины с доношенной беременностью в сроке 40 недель со зрелыми родовыми путями, родоразрешенные консервативно без применения преиндукции родовой деятельности – 20 беременных.

Критерии исключения: рубец на матке, неправильные положения плода, крупный плод, тяжелая экстрагенитальная патология, среднетяжелый и тяжелый гестоз.

Преиндукция родовой деятельности включала пероральный прием мифепристона (200 мг однократно) (в случае необходимости повторный прием в той же дозировке через 48 часов).

Методы исследования: ретроспективный анализ архивного материала (истории родов, амбулаторные карты); клинический – сбор анамнеза, осмотр, общий анализ крови, мочи; наружное акушерское исследование; внутреннее акушерское исследование (в зеркалах и бимануально, оценка состояния степени зрелости шейки матки по шкале Е.Х. Бишопа); ультразвуковой (трансвагинальный, трансперитонеальный доступ) – проведение исследования состояния плода, допплерометрия сосудов маточно-плацентарного комплекса, комплексное определение состояния родовых путей (длина шейки матки, толщина нижнего сегмента матки, диаметр внутреннего зева, задний угол шейки матки, расстояние между головкой плода и промежностью, допплерометрия (ЦДК)); кардиотокография плода; гистерография; биохимический – определение глюкозы, билирубина, трансаминаз, белковых фракций, щелочной фосфатазы в крови. Определение в цервикальной слизи уровня аргинина методом капиллярного электрофореза и содержания метаболитов NO (NO базальный и индуцированный, iNOS) с помощью классической реакции Грисса, пероксинитрита – спектрофотометрически.

Статистическая обработка материала проводилась методом вариационной статистики и корреляционного анализа с помощью программы Microsoft Office Excel 2010 (Windows Office 2010). Результаты исследований были обработаны методом вариационной статистики с определением критерия Фишера (F) для оценки непараметрических показателей групп малых выборок и критерием Стьюдента (t) для независимых групп. Анализ проводился с использованием методов медико-биологической статистики, программы «STATISTICA» 6,0.

Результаты исследования и их обсуждение

Сравнительный анализ показал, что в группе клинико-биохимического контроля уровень аргинина в цервикальной

слизи был в 2,8 раза выше, чем в I группе (31,2 ± 3,8 против 11,1 ± 1,2 мг/л; p < 0,005). В группе, где преиндукция оказалась неэффективной – II, различия в уровне аргинина доходили до 4,6 раз (6,8 ± 1,1 мг/л; p < 0,001). Содержание базального (NO) и индуцированного метаболита оксида азота (iNOS) в цервикальной слизи тесно коррелировало с уровнем аргинина, и было выше более, чем в 3 раза, в I группе (36,4 ± 4,2 и 45,1 ± 6,3 мкмоль/л/ч против 11,7 ± 1,5 и 15,1 ± 2,2 мкмоль/л/ч; p < 0,006), по сравнению с группой женщин, родоразрешенных физиологически. В группе родоразрешенных оперативным путем (неэффективность преиндукции) NO и iNOS находился в пределах значений 7,3 ± 2,0 и 3,2 ± 2,1 мкмоль/л/ч (p < 0,003). Пероксинитрит, обладающий окислительной активностью, сопоставимой с реакционной способностью гидроксильного радикала, и вызывающий нитрование некоторых органических соединений, в контрольной группе был на уровне 4,8 ± 1,1 мкмоль/л, а в I и II группах содержание пероксинитрита было в пределах 5,6 ± 2,8 мкмоль/л, но эти различия не были достоверными (p < 0,05) (рис. 1).

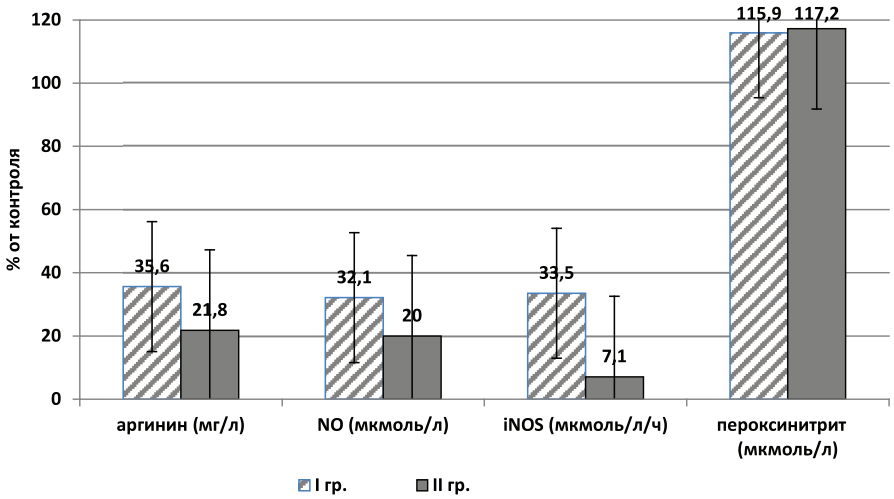

Рис. 1. Содержание L-аргинин – оксид азота – пероксинитрит в цервикальной слизи

В литературе существуют противоположные данные об изменении метаболизма NO при начале родовой деятельности. С началом родов некоторые авторы отмечают интенсификацию синтеза оксида азота, обусловленную, по-видимому, как индуцированной окислительным стрессом усиленной экспрессией iNOS, а также адаптационной интенсификацией экспрессии eNOS в ответ на уменьшающуюся перфузию ткани плаценты, гипоксию и увеличенную резистентность кровеносных сосудов [12]. Выявленное другими авторами снижение интенсивности синтеза оксида азота является результатом мутации гена eNOS и уменьшения содержания его РНК [13]. L. Myatt и соавторы [2010] считают, что уменьшение содержания оксида азота в плаценте может быть вызвано характерной для плацентарной ишемии интенсификацией процессов свободнорадикального окисления, нарушением баланса между NO и супероксидрадикалами (O_2^-) и трансформацией оксида азота в пероксинитрит. Пероксинитрит участвует в пероксидационных процессах в биологических мембранах, окислении белков, нитрирует их аминокислотные остатки, что обуславливает изменение структуры и функции белков, нарушает тирозинкиназную сигнальную систему, посредством нитрозилирования электроннотранспортных белков митохондрий ингибирует транспорт электронов в митохондриях, способствует деструкции гладкомышечных клеток воронитчатого эпителия, интенсификации апоптоза и некроза синцитиотрофобласт, нарушения перфузии, транспорта и стероидогенеза в плаценте [4, 6, 9]. По нашему мнению, редокс-зависимая трансформация NO в плаценте, мышечных волокнах шейки и тела матки является основной причиной уменьшения содержания оксида азота, что способствует торможению начала родовой деятельности. Кроме того, уменьшение содержания NO способствует развитию ишемии плаценты, дистрофических изменений и очаговых некрозов синцитиотрофобласт, повреждению кровеносных сосудов, увеличению чувствительности клеток плаценты к проапоптозным стимулам, интенсификации апоптоза и некроза. Таким образом, во время физиологической беременности

оксид азота обеспечивает сохранение баланса между содержанием кислорода и интенсивностью митохондриального дыхания, регуляцию интенсивности окислительного метаболизма, мембранного потенциала митохондрий, защиту клеток от повреждения, а также способствует активизации процессов, запускающих родовую деятельность.

В ходе проведения преиндукции родов оценивался биохимический состав цервикальной слизи до ее проведения и через 12 часов после начала преиндукции родовой деятельности (рис. 2). Уровень аргинина в цервикальной слизи в процессе преиндукции родов в I группе повысился в 7,9 раз (~ в 2,5 раза превысив значения контрольной группы) (82,2 ± 12,6 мг/л; $p < 0,5$). При этом во II группе также было зарегистрировано некоторое повышение содержания аргинина (~ на 37%).

Базальные (NO) и индуцированные метаболиты оксида азота (iNOS) в цервикальной слизи после преиндукции в I группе (эффективная преиндукция родов) выросли в 3 раза и соответствовали уровню контроля (NO 38,2 ± 5,6 мкмоль/л; iNOS 51,2 ± 3,3 мкмоль/л/ч; $p < 0,005$). Во II группе (неэффективная преиндукция) данные показатели также демонстрировали некоторое увеличение по сравнению с исходными данными (12 % NO и 21 % iNOS), но все равно были низкими по сравнению со значениями контроля (NO 8,1 ± 1,6 мкмоль/л, iNOS 4,7 ± 1,2 мкмоль/л/ч; $p < 0,005$) (рис. 2).

Различия в содержании пероксинитрита носили достоверный ($p < 0,005$) характер только там, где на фоне проведения преиндукции родовой деятельности выявлены признаки нарастающей плацентарной недостаточности и внутриутробной гипоксии плода (т.е. данное повышение в основном было зарегистрировано во II подгруппе) (рис. 2) и было на уровне 7,8 ± 2,9 мкмоль/л.

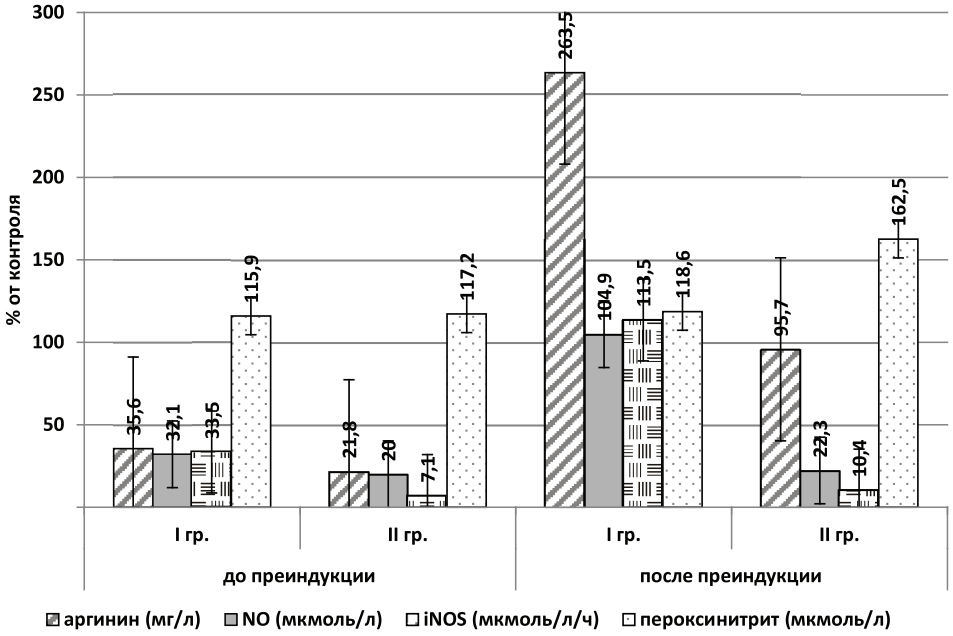

Рис. 2. Биохимические показатели цервикальной слизи в процессе преиндукции родовой деятельности

Таким образом, выявлено участие окислительного стресса в возникновении пускового механизма родовой деятельности. В связи с чем возможна перспективность оптимизации тактики ведения доношенной и пролонгированной беременности с применением активаторов оксида азота (в частности, L-аргинина). При этом молекулярно-биологические аспекты окислительного стресса и обмена оксида азота еще недостаточно изучены, что требует дальнейшего продолжения исследований в этом направлении.

Список литературы

1. Абрамченко В.В. Активное ведение родов: руководство для врачей. – СПб.: СпецЛит, 2008. – 664 с.

2. Атласов В.О. Использование антигестагенов для индукции родов / В.О. Атласов, Н.А. Куликова, В.К. Ярославский // Материалы IV съезда акушеров-гинекологов России. М, 2008 – С. 13–14.

3. Гаспарян Н.Д. Мифепристон в подготовке и индукции родов / Н.Д. Гаспарян, Е.Н. Карева // Акушерство и гинекология. – 2008. – № 3. – С. 50–53.

4. Радзинский В.Е. Безопасное акушерство / В.Е. Радзинский, И.Н. Костин // Акушерство и гинекология. – 2007. – № 5. – С. 12–16.

5. Goodrum L., Saade G., Belfort M. et al. Arginine flux and nitric oxide production during human pregnancy and postpartum // J. Soc. Gynecol. Investig. – 2011. – Vol. 10, № 7. – P. 400–405.

6. Halliwell B., Gutteridge M. Oxygen is a toxic gas – an introduction to oxygen toxicity and reactive oxygen species // Free Radic Biol Medicine. – 2009. – № 1. – P. 35.

7. Hempstock J., Bao Y., Bar-Issac M. et al. Intralobular differences in antioxidant enzyme expression and activity reflect the pattern of maternal arterial bloodflow within the human placenta // Placenta. – 2011. – № 24. – P. 517–523.

8. Kam E., Gardner L., Loke Y., King A. The role of trophoblast in the physiological change of decidual spiral arteries // Hum Reprod. – 2009. – № 14. – P. 2431–2438.

9. Karowicz-Bilinska A., Kowalska-Koprek U., Suzin J. et al. Nitric oxide activity in women with intrauterine growth restriction treated by L-arginine // Ginekol Pol. – 2010. – Vol. 74, № 8. – P. 612–617.

10. Krukier I. Production of NO and oxidative destruction of proteins in the placenta during normal pregnancy and placental insufficiency // Bull. Exp. Biol. Med. – 2009. – Vol. 136, № 4. – P. 369–371.

11. Myatt L., Cui X. Oxidative stress in the placenta // Histochem Cell Biol. – 2010. – № 122. – P. 369–382.

12. Neri I. Effects of acute L-arginine infusion on nonstress test in hypertensive pregnant women // Matern. Fetal Neonatal Med. – 2011. – Vol. 16, № 1. – P. 23–26.

13. Tranquilli A., Bezzeccheri V., Giannubilo S. Amniotic levels of nitric oxide in women with fetal intrauterine growth restriction // J. Matern. Fetal Neonatal Med. – 2009. – Vol. 13, № 2. – P. 115–118.

References

1. Abramchenko V.V. Aktivnoe vedenie rodov: rukovodstvo dla vrachei. SPb.: SpecLit, 2008. 664 p.

2. Atlasov V.O. et al. Ispolzovanie antigestagenov dla indukcii rodov. // Materiali IV syezda akusherov-ginekologov Rossii. M., 2008 pp. 13–14.

3. Gasparan N.D. Mifepriston v podgotovke indukcii rodov // Akushersvo i ginekologia. 2008. no, 3. pp. 50–53.

4. Radzinskii V.E. Bezopasnoe akusherstvo. // Akushersvo i ginekologia. 2007. no. 5. pp. 12–16.

5. Goodrum L., Saade G., Belfort M. et al. Arginine flux and nitric oxide production during human pregnancy and postpartum // J. Soc. Gynecol. Investig. 2011. Vol. 10, no. 7. pp. 400–405.

6. Halliwell B., Gutteridge M. Oxygen is a toxic gas – an introduction to oxygen toxicity and reactive oxygen species. Free Radic Biol Medicine 2009; 1: 35.

7. Hempstock J., Bao Y., Bar-Issac M. et al. Intralobular differences in antioxidant enzyme expression and activity reflect the pattern of maternal arterial bloodflow within the human placenta. Placenta 2011; 24: 517–523.

8. Kam E., Gardner L., Loke Y., King A. The role of trophoblast in the physiological change of decidual spiral arteries. Hum Reprod 2009; 14: 2431–2438.

9. Karowicz-Bilinska A., Kowalska-Koprek U., Suzin J. et al. Nitric oxide activity in women with intrauterine growth restriction treated by L-arginine. // Ginekol Pol. 2010. Vol. 74, no. 8. pp. 612–617.

10. Krukier I. Production of NO and oxidative destruction of proteins in the placenta during normal pregnancy and placental insufficiency // Bull. Exp. Biol. Med. 2009. Vol. 136, no. 4. pp. 369–371.

11. Myatt L., Cui X. Oxidative stress in the placenta. Histochem Cell Biol 2010; 122: 369–382.

12. Neri I. Effects of acute L-arginine infusion on nonstress test in hypertensive pregnant women // Matern. Fetal Neonatal Med. 2011. Vol. 16, no. 1. pp. 23–26.

13. Tranquilli A., Bezzeccheri V., Giannubilo S. Amniotic levels of nitric oxide in women with fetal intrauterine growth restriction // J. Matern. Fetal Neonatal Med. 2009. Vol. 13, no. 2. pp. 115–118.

Рецензенты:

Федорович О.К., д.м.н., профессор кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии ФПК и ППС, ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Краснодар;

Карахалис Л.Ю., д.м.н., профессор кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии ФПК и ППС, ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Краснодар.

Работа поступила в редакцию 28.05.2014.