

УДК 612.015.81 : 618.3-036-06

© С. В. Супрун, О. А. Лебедько, В. К. Козлов, 2011.

## АКТИВАЦИЯ СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ КАК ФАКТОР РИСКА ПОВРЕЖДЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ОСЛОЖНЕННОМ ТЕЧЕНИИ БЕРЕМЕННОСТИ

С. В. Супрун, О. А. Лебедько, В. К. Козлов

*Хабаровский филиал Государственного учреждения Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания Сибирского отделения Российской академии медицинских наук – Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства (директор – проф. В. К. Козлов), г. Хабаровск.*

### ACTIVATING OF FREE-RADICAL OXIDIZATION AS FACTOR OF RISK OF DAMAGE OF CELLULAR MEMBRANES OF RED CORPUSCLES AT THE COMPLICATED FLOW OF PREGNANCY

S. V. Suprun, O. A. Lebed'ko, V. K. Kozlov

#### SUMMARY

On the example of results of inspection of 512 women, resident in the industrial center of the Far-Eastern region of Russia (Khabarovsk), the exposed features of SRO are presented strengthening of free-radical processes (increase of intensity, speeds of education and accumulation of free radicals, increase of hydroperoxides of lipids) for pregnant, resident in the conditions of Priamur'ya. Changes are more shown in the group of women with the complicated flow of pregnancy as the anaemic states, accompanied mionectic peroksidants resistents of cages, activity of antioksidants defence. Activating of SRO was the factor of risk of development of destabilization of cellular membranes of red corpuscles and showed up the decline of amount of normal red corpuscles, index of scray transformation, by an increase and disbalance of amount of transitional forms of red corpuscles, index of transformation. Findings rotined the necessity of estimation of the state of SRO and cellular membranes of red corpuscles for the women of group of high risk of development of the complicated flow of pregnancy with the purpose of the grounded correction of the exposed violations.

### АКТИВАЦІЯ ВІЛЬНО-РАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕННЯ ЯК ФАКТОР РИЗИКУ ПОШКОДЖЕННЯ КЛІТИННИХ МЕМБРАН ЕРИТРОЦИТІВ ПРИ УСКЛАДНЕННМУ ПЕРЕБІГУ ВАГІТНОСТІ

С. В. Супрун, О. А. Лебедько, В. К. Козлов

#### РЕЗЮМЕ

На прикладі результатів обстеження 512 жінок, які проживають у промисловому центрі Далекосхідного регіону Росії (м. Хабаровськ), виявлені особливості вільно-радикального окислення (СРО), представлені посиленням вільно-радикальних процесів (підвищення інтенсивності, швидкості утворення та накопичення вільних радикалів, збільшення гідроперекисів ліпідів) у вагітних, які мешкають в умовах Приамур'я. Зміни більше виражені в групі жінок з ускладненим перебігом вагітності у вигляді анемічних станів, супроводжувалися зниженою перекісною резистентністю клітин, активністю антиоксидантного захисту. Активація СРО стала чинником ризику розвитку дестабілізації клітинних мембран еритроцитів і проявилася зниженням кількості нормальних еритроцитів, показника компенсаторної трансформації, підвищенням та дисбалансом кількості перехідних форм еритроцитів, індексу трансформації. Отримані дані показали необхідність оцінки стану СРО і клітинних мембран еритроцитів у жінок групи високого ризику розвитку ускладненого перебігу вагітності з метою обґрунтованої корекції виявлених порушень.

**Ключевые слова:** беременность, свободно-радикальное окисление, клеточные мембраны эритроцитов, анемические состояния.

В настоящее время установлено, что реакция организма в ответ на действие экстремальных факторов на молекулярном уровне характеризуется усилением реакций окисления целого ряда субстратов. Как следствие этого, патогенез многих патологических состояний связан с усилением образования активных форм кислорода и продуктов перекисления. Процесс свободно-радикального окисления (СРО), являющийся одним из звеньев жизнедеятельности нормального организма, в условиях чрезмерной ак-

тивации СРО превращается в фактор высокого риска развития различных заболеваний [1, 5, 8]. Экраном для отражения агрессивного воздействия каскада токсических продуктов служат клеточные мембраны, преимущественно средний фосфолипидный слой, с интенсивно протекающими процессами. В результате вызванных изменений нарушается структура, функции мембран, баланс между радикальными окислительными процессами и функционирующей системой антиоксидантной защиты. Изучение дан-

ного раздела особенно важно для группы женщин с осложненным течением беременности [6, 7]. К наиболее частым осложнениям, влияющим на плод и дальнейшее развитие ребенка, относятся анемические состояния, не имеющие тенденции к снижению. В связи с этим, проблемы дополнительных методов диагностики и обоснования терапии на доказательной основе, остаются актуальными. Это, прежде всего, касается необходимости решения вопросов лечения и профилактики препаратами железа. Необоснованное их применение может привести к избыточному количеству элемента в организме или повышенной к нему чувствительности, способствовать патологическому усилению свободно-радикальных процессов (СПР) и нарушению клеточных мембран эритроцитов. Учитывая выше изложенные данные, целью наших исследований стало обоснование расширения алгоритма диагностики и терапии осложненного течения беременности (анемических состояний) на основе выявленных особенностей СРО и клеточных мембран эритроцитов.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находилось 512 женщин, проживающих в промышленном центре Приамурского региона России (г. Хабаровск): из них 481 беременная – на ранних сроках гестации (I и начало II-го триместра) и 31 женщина – вне беременности.

Были использованы диагностические программы с определением гемограммы, ферродинамики. Для оценки СПР использовался хемилюминесцентный метод (ХМЛ) на люминесцентном спектрометре LS 50B «PERKIN ELMER», программа «Finlab». Определялись: интенсивность СПР ( $S_{sp}$ ), скорость образования и накопления перекисных радикалов ( $S_{ind1}$ ), содержание гидроперекисей липидов ( $h_1$ ), потенциальная способность биологического объекта к перекисному окислению ( $h_2$ ), активность антиоксидантной защиты ( $S_{ind2}$ ). Состояние клеточных мембран оценивалось по данным трансформации эритроцитов в нативных мазках крови под световым микроскопом. Обнаруживаемые морфологические нарушения эритроцитов были визуализированы в форме цитологических изменений морфологии клеток,

по сдвигам распределения разных типов клеток и их соотношения. Для общей оценки процесса трансформации эритроцитов вычисляли морфологический индекс трансформации (ИТ), представляющий собой отношение суммы всех трансформированных эритроцитов к дискоцитам. Вторым индексом количественной характеристики процессов трансформации эритроцитов явилось вычисление показателя компенсаторной трансформации (ПКТ). ПКТ показывает отношение обратимых (переходных) форм эритроцитов к необратимым (дегенеративным).

Используя основные критерии диагностики анемических состояний [2, 3], все наблюдаемые беременные были разделены на 5 групп в зависимости от данных красной крови и ферродинамики: 1 – группа сравнения (показателями гемограммы и ферродинамики соответствовали норме), 2 – латентное анемическое состояние (ЛАС) – преданемия железонасыщенная, 3 – сидероахрестическая анемия (САА) – железонасыщенная, 4 – скрытый, латентный дефицит железа (ЛДЖ) – преданемия, 5 – железodefицитная анемия (ЖДА). Женщины вне беременности (31 человек), не имеющие хронических заболеваний, практически здоровые на момент обследования, составили 6-ую группу.

При статистической обработке полученных данных использовались пакеты прикладных программ «Excel 2003», «Statistica» версия 6 по общепринятым методикам.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для выявления особенностей СРО у беременных женщин, осложненных анемическими состояниями, возникла необходимость в обследовании женщин вне и во время беременности (табл. 1). У беременных женщин без каких-либо изменений со стороны красной крови и ферродинамики отмечено достоверное повышение интенсивности свободно-радикальных процессов ( $S_{sp}$ ,  $p < 0,05$ ), скорости образования и накопления перекисных радикалов ( $S_{ind1}$ ,  $p < 0,05$ ), тенденция к повышению содержания гидроперекисей липидов ( $h_1$ ,  $p > 0,05$ ) по сравнению с показателями в группе женщин детородного возраста вне беременности.

Таблица 1

Характеристика показателей свободнорадикального окисления у беременных женщин (отн. ед.)

	Группа сравнения	
	вне беременности (n=18)	во время беременности (n=177)
$S_{sp}$	0,106±0,009	0,135±0,007*
$S_{ind1}$	0,224±0,026	0,290±0,013*
$h_1$	0,126±0,019	0,143±0,009
$h_2$	0,182±0,051	0,139±0,012
$S_{ind2}$	0,172±0,026	0,205±0,012

Примечание: достоверность различий: \* –  $p < 0,05$ .

Снижение значений  $h_2$  свидетельствует о повышении потенциальной способности к перекисному окислению при беременности, а более высокие показатели  $S_{ind2}$  – о сниженной активности антиоксидантной защиты

в этой группе беременных женщин. В дальнейшем проводился сравнительный анализ полученных данных при различных вариантах анемических состояний и группы беременных женщин без анемий (табл. 1, 2).

Таблица 2

**Характеристика показателей свободнорадикального окисления у беременных женщин при анемических состояниях**

	ЛАС (n=51)	САА (n=102)	ЛДЖ (n=120)	ЖДА (n=98)
$S_{sp}$	0,176±0,014*	0,174±0,022*	0,21±0,01***	0,27±0,022***
$S_{ind1}$	0,386±0,035**	0,380±0,045*	0,43±0,021***	0,59±0,039***
$h_1$	0,173±0,012	0,190±0,022	0,21±0,014***	0,32±0,048***
$h_2$	0,169±0,023	0,170±0,029	0,24±0,017***	0,29±0,033***
$S_{ind2}$	0,277±0,026*	0,290±0,040*	0,33±0,022***	0,49±0,051***

Примечание: достоверность различий с группой сравнения во время беременности: \* –  $p<0,05$ ; \*\* –  $p<0,01$ ; \*\*\* –  $p<0,001$ .

При обследовании определено, что у беременных с железонасыщенными формами анемических состояний достоверно повышены интенсивность свободно-радикальных процессов ( $S_{sp}$ ) и скорость образования и накопления перекисных радикалов ( $S_{ind1}$ ).

Зарегистрировано значительное усиление данных процессов ( $S_{sp}$ ,  $S_{ind1}$ ) при железодефицитных анемиях скрытого и явного характера. Это сопровождалось достоверным увеличением содержания гидроперекисей липидов ( $h_1$ ). Повышение показателя  $h_2$  свидетельствовало о снижении резистентности к перекисному окислению в этих же группах беременных и максимально проявлялось при дефиците железа: ( $p<0,001$ ), ( $p<0,001$ ). Активация процессов СРО была ответной реакцией на достоверное снижение показателей активности антиоксидантной защиты ( $S_{ind2}$ ) при всех вариантах анемических состояний (ЛАС, САА), особенно при дефиците железа (ЛДЖ, ЖДА).

Как видно из представленных данных (табл. 1), количество дискоцитов у женщин вне беременности, проживающих в условиях Приамурского региона, ниже ( $62,13±1,26\%$ ), чем представлены рядом авторов  $75,20±1,30\%$ ,  $80,30±1,01\%$ . Индекс трансформации (ИТ) выше  $0,63±0,03$  усл. ед., а показатель компенсаторной трансформации (ПКТ) ниже  $3,05±0,52$  усл. ед., чем в контрольной группе, представленной ленинградскими авторами: ИТ= $0,33±0,04$ ; ПКТ= $8,50±1,04$  соответственно.

Отмечена тенденция к увеличению остальных разновидностей переходных (эхиноцитов, стоматоцитов), а также дегенеративных форм эритроцитов, особенно сфероцитов. Такие нарушения со стороны трансформации красных клеток крови подтвердились достоверным повышением ( $p<0,001$ ) ИТ до  $0,84±0,03$  у беременных женщин. ПКТ имел тенденцию к снижению  $2,84±0,21$  ( $p>0,05$ ) во время гестации.

Наличие беременности явно сказалось на изменении формы эритроцитов, что выразилось в достоверном снижении нормальных эритроцитов – дискоцитов до  $55,67±0,72\%$  ( $p<0,001$ ). Изменение соотношения определилось достоверным увеличением до  $42,53±0,72\%$  ( $p<0,001$ ) переходных форм эритроцитов, а именно за счет сфероидов  $36,13±0,77\%$  ( $p<0,05$ ).

Особый научный интерес представляет оценка морфологии эритроцитов при анемических состояниях различного генеза. Обнаруженные особенности формы и поверхности эритроцитов показывают изменения в композиции их поверхностных мембран, которые могут быть результатом нарушения метаболизма всей клетки или только составляющих самой мембраны. Основными причинами возникновения изменений являются воздействия внешних физико-химических факторов и/или иммунологических стрессов. При анализе показателей трансформации выявлено, что различия в количестве дискоцитов и переходных форм эритроцитов у беременных женщин в группе сравнения и при всех вариантах анемических состояниях не было. Но отмечалась разбалансировка в группе переходных форм эритроцитов. Для железонасыщенных  $31,71±1,46\%$  ( $p<0,01$ ) и железодефицитных  $31,36±1,85\%$  ( $p<0,05$ ) анемий характерно достоверное снижение сфероидов в сравнении с группой контроля, а также ЛАС и ЛДЖ. В то же время, при САА выявлено достоверное повышение эхиноцитов  $5,69±0,99\%$  ( $p<0,05$ ) и менее выраженное, но достоверное повышение стоматоцитов  $4,66±0,83\%$  ( $p<0,01$ ). При ЖДА перераспределение в группе переходных форм представлено достоверным повышением только стоматоцитов  $6,02±1,01\%$  ( $p<0,001$ ). Тенденция к увеличению дегенеративных эритроцитов сохранялась за счет сфероцитов при всех вариантах

анемических состояний, особенно при истинных анемиях: САА (дегенеративные –  $2,57 \pm 0,50\%$ , сфероциты –  $1,76 \pm 0,44$ ;  $p > 0,05$ ), ЖДА (дегенеративные –  $2,52 \pm 0,52\%$ , сфероциты –  $1,64 \pm 0,48$ ;  $p > 0,05$ ). Индекс трансформации практически не изменялся, показатель компенсаторной трансформации эритроцитов снижался недостоверно.

Проведенный нами корреляционный анализ показал наличие достоверных связей между некоторыми исследуемыми показателями у беременных женщин с осложненным течением беременности. В группе беременных женщин с ЛАС теснота связей более выражена. Отмечены обратные сильные корреляционные связи между скоростью образования и накопления перекисных радикалов и количеством общих сфероцитов ( $r = -0,89$ ). При САА получены корреляционные связи между потенциальной способностью к перекисному окислению и количеством деструктивных форм клеток ( $r = -0,81$ ).

Более выраженные изменения характеризовали группу беременных женщин с ЖДА, где выявлена прямая сильная корреляция между интенсивностью генерации радикальных процессов и количеством деструктивных эритроцитов ( $r = +0,88$ ). Оценены рассчитанные коэффициенты корреляции между показателями сниженной перекисной резистентности и данными характеристики качества мембран эритроцитов, которые представлены прямой сильной связью с количеством эхиноцитов ( $r = +0,9$ ), стоматоцитов ( $r = +0,9$ ), деструктивных ( $r = +0,95$ ) и дегенеративных форм ( $r = +0,96$ ) клеток красной крови. Выраженные нарушения АКМ-статуса при ЖДА обусловлены резким ослаблением антиоксидантной антирадикальной защиты, что представлено отсутствием достоверных корреляционных связей между показателями СРО и данными функционального состояния эритрона.

#### ВЫВОДЫ

1. Установлена декомпенсированная активация системного свободно-радикального окисления, увеличение скорости образования перекисных радикалов, накопление гидроперекисей липидов у беременных женщин с осложненным течением беременности (анемическими состояниями). На таком фоне выявлено угнетение антиоксидантной антирадикальной защиты, снижение резистентности к перекисному окислению более выраженное при патологии, чем в группе сравнения.

2. Следствием дисбаланса процессов активации окисления и антирадикальной защиты и одним из механизмов формирования осложненного течения беременности стала дестабилизация мембранных структур эритроцитов, с начальными проявлениями на ранних сроках гестации и значительно выраженными изменениями у женщин с анемическими состояниями.

3. Проведенный корреляционный анализ показал достоверную связь показателей процессов СРО и состояния клеточных мембран эритроцитов, подчеркивая важную роль нарушения биогенеза активных кислородных метаболитов (АКМ) в формировании осложненного течения беременности, в частности при анемических состояниях, у беременных женщин, проживающих в условиях Приамурского региона.

4. Полученные данные показали необходимость оценки состояния СРО и клеточных мембран эритроцитов у женщин группы высокого риска развития осложненного течения беременности с целью использования обоснованных дополнительных методов коррекции выявленных нарушений.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Болевич С. Б. Бронхиальная астма и свободно-радикальные процессы (патогенетические, клинические и терапевтические аспекты) / Болевич С. Б. – М.: Медицина, 2006. – 256 с.
2. Протокол ведения больных «Железодефицитная анемия». – М.: Издательство «Ньюдиамед», 2005. – 76 с.
3. Апресян С. В. Беременность и роды при экстрагенитальных заболеваниях / Апресян С. В.; под ред. В. Е. Радзинского. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 464 с.
4. Oxidative stress and reactive oxygen species / F. Galli, M. Piroddi, C. Annetti [et al.] // *Contrib. Nephrol.* – 2005. – Vol. 149. – P. 240-260.
5. Pacher P. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease / P. Pacher, J. S. Beckman, L. Liaudet // *Physiol. Rev.* – 2007. – Vol. 87 (1). – P. 315–424.
6. F(2)-isoprostanes, tocopherols and normal pregnancy / M. Palm, O. Axelsson, L. Wernroth [et al.] // *Free Radic. Res.* – 2009. – Vol. 43 (6). P. 546–552.
7. Oxidative stress and normal pregnancy / V. Toescu, S. L. Nuttall, U. Martin [et al.] // *Clin. Endocrinol. (Oxf).* – 2002. – Vol. 57 (5). – P. 609–613/
8. Iron deficiency and overload. Implications in oxidative stress and cardiovascular health / L. Toxqui, A. De Piero, V. Courtois [et al.] // *Nutr. Hosp.* – 2010. – May-Jun. – Vol. 25 (3). – P. 350–365.