

2010 том LIX
выпуск 4

ЖУРНАЛЬ АКУШЕРСТВА И ЖЕНСКИХ БОЛЕЗНЕЙ



Рецензируемый
научно-практический
журнал

Основан в 1887 году
в Санкт-Петербурге

ISSN 1560-4780

Z. Akus. Zen. Bolezn. (1887)

Органъ акушерско-гинекологическо-
го общества Санкт-Петербурга
1887-1935

Вновь утвержден в 1997 году
при содействии:

Ассоциации акушеров-гинекологов
Санкт-Петербурга и Ленинградской обл.;
НИИ АиГ им. Д. О. Отта РАМН;
Российской военно-медицинской
академии МО РФ;
Северо-Западного отделения Россий-
ской академии медицинских наук.

ISSN 1684-0461

Z. Akus. Zen. Bolezn. (1997, Print)

Издатель
ООО «Издательство Н-Л»
Ежеквартальное издание

Журнал входит в Перечень ведущих
научных журналов и изданий ВАК, в
которых должны быть опубликованы
основные результаты диссертаций
на соискание ученых степеней
кандидата и доктора наук.

Полное или частичное воспроизведение материалов,
содержащихся в настоящем издании, допускается
только с письменного разрешения редакции.

Ссылка на **ЖУРНАЛЬ АКУШЕРСТВА
И ЖЕНСКИХ БОЛЕЗНЕЙ**®

Свидетельство № 227880 от 20.02.2002
ФИПС Роспатента

На обложке — богиня Юнона
(римск., греч. — Гера), главная
богиня Олимпа, богиня брака
и супружеских уз, помощница
беременных и родильниц.
Благословляет мать во время
рождения детей. Посылает супругам
многочисленное потомство.

Римская копия греческой
статуи работы Праксителя.
Рим. Национальный музей.

© ООО «Издательство Н-Л»

*Выпуск «Журнала акушерства и женских болезней»
посвящен 80-летию со дня основания биохимической
лаборатории НИИ акушерства и гинекологии имени
Д. О. Отта СЗО РАМН и представлен публикациями,
отражающими результаты научных исследований
сотрудников лаборатории*

ЮБИЛЕЙ

- К юбилею профессора Маргариты Александровны Репиной,
доктора медицинских наук, заслуженного деятеля науки РФ,
почетного доктора СПбМАПО 3
- К юбилею профессора Нонны Георгиевны Кошелевой 5

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ

- Арутюнян А. В., Айламазян Э. К.
Основные направления деятельности и перспективы развития
лаборатории биохимии с клинико-диагностическим отделением
НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта РАМН 9

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Арутюнян А. В., Козина Л. С., Арутюнов В. А.
Токсическое влияние пренатальной гипергомоцистеинемии
на потомство (экспериментальное исследование) 16
- Артымук Н. В., Кира Е. Ф., Кондратьева Т. А.
Эффективность и безопасность интравагинального применения
геля, изготовленного на основе грязи Мертвого моря, у женщин
с недостаточностью лютеиновой фазы 24
- Андреева А. А., Опарина Т. И.
Продукция окиси азота у новорожденных,
перенесших внутриутробную гипоксию 30
- Блохина Н. А., Милютин Ю. П., Корневский А. В.
Содержание серотонина в тромбоцитах здоровых
новорожденных детей 35
- Евсюкова И. И., Арутюнян А. В., Додхоев Д. С.,
Ковальчук-Ковалевская О. В.
Механизмы задержки внутриутробного развития ЦНС
ребенка при хронической плацентарной недостаточности 39
- Ковальчук-Ковалевская О. В., Прокопенко В. М., Арутюнян А. В.
Особенности перекисного окисления липидов и антиокислительной
системы тромбоцитов у детей с задержкой внутриутробного
развития 46
- Колесникова Л. И., Курашова Н. А., Гребенкина Л. А.,
Долгих М. И., Завьялова Н. В.
Особенности процессов свободнорадикального окисления липидов
и гормонального статуса у женщин с гипоталамическим
синдромом в различные возрастные периоды 51

Колесникова Л. И., Семенова Н. В., Лабыгина А. В.,
Сутурина Л. В., Шолохов Л. Ф.
**Оценка антиоксидантного статуса у женщин
с эндокринным бесплодием** 57

Кошелева Н. Г., Назарова С. И., Опарина Т. И., Прокопенко В. М.
**Применение липоевой кислоты и витагмала у беременных с сахарным
диабетом I типа для профилактики окислительного стресса** 61

Кучеренко М. А.
**Ведение послеродового периода у родильниц с травмами
промежности** 65

Попов Э. Н., Опарина Т. И., Прокопенко В. М., Степанов М. Г.
**Клинико-патогенетическое обоснование комбинированного
лечения гиперпластических процессов матки** 71

Разыграев А. В., Милютин Ю. П., Корневский А. В.,
Залозная И. В., Степанов М. Г., Пустыгина А. В., Арутюнян А. В.
**Динамика содержания катехоламинов в гипоталамических
структурах самок крыс в преовуляторный период** 76

Степанова М. С., Булыгина Е. Р., Болдырев А. А.
**Карнозин защищает мозг в условиях окислительного стресса,
создаваемого в период пренатального развития** 81

ОБЗОРЫ

Зайнулина М. С., Арутюнян А. В., Корнюшина Е. А.,
Пустыгина А. В., Миравшвили М. И.
**Современные подходы к диагностике, медикаментозной терапии
и профилактике акушерских осложнений у женщин
с тромбофилией** 90

Тюлькова Е. И., Ватаева Л. А., Самойлов М. О., Отеллин В. А.
**Механизмы формирования реакций мозга на действие
гипобарической гипоксии в различные сроки пренатального
периода развития у крыс** 99

Ребекевша В. Г.
**Оценка маркеров пролиферации в аденомах гипофиза
у женщин с нарушением репродуктивной функции** 111

ИЗ ИСТОРИИ МЕДИЦИНЫ

Шмидт А. А., Абашин В. Г., Цвелев Ю. В.
**К 200-летию со дня рождения Н.И. Пирогова.
Женский труд на войне (сообщение III). Участие слушательниц
Женских врачебных курсов в военных действиях.
Софья Ивановна Больбот** 118

ИНФОРМАЦИЯ

**Национальный Конгресс «ДИСКУССИОННЫЕ ВОПРОСЫ
СОВРЕМЕННОГО АКУШЕРСТВА»
Санкт-Петербург, 1–3 июня 2011 года** 124

**Технологии Genetix в цитогенетическом анализе и оценке
тканевых биомаркеров** 125

ВЫ СПРАШИВАЕТЕ

Правила для авторов (издательский договор) 127

Политика журнала 130

Редакционная коллегия

акад. РАМН, засл. деят. науки РФ,
проф. **Э. К. Айламазян** (гл. редактор);
засл. деят. науки РФ,
проф. **М. А. Репина** (зам. гл. редактора);
проф. **М. А. Тарасова** (зам. гл. редактора);
д-р мед. наук, проф. **В. Ф. Беженарь**
(отв. секретарь);
проф. **Т. В. Беляева**;
акад. РАМН, проф. **Л. В. Адамян**;
проф. **Ю. А. Гуркин**;
проф. **И. И. Евсюкова**;
чл.-корр. РАМН
проф. **В. И. Краснопольский**;
акад. РАМН, проф. **Г. Т. Сухих**;
засл. деят. науки РФ, проф. **В. В. Потин**;
акад. РАМН, проф. **Г. М. Савельева**;
проф. **О. Н. Аржанова**
д-р мед. наук **М. С. Зайнулина**

Редакционный совет

Абашин В. Г. (С.-Петербург)
Баранов А. Н. (Архангельск)
Гайдуков С. Н. (С.-Петербург)
Кира Е. Ф. (Москва)
Коган И. Ю. (С.-Петербург)
Константинова Н. Н. (С.-Петербург)
Костючек Д. Ф. (С.-Петербург)
Кузьминых Т. У. (С.-Петербург)
Мозговая Е. В. (С.-Петербург)
Ниаури Д. А. (С.-Петербург)
Новиков Б. Н. (С.-Петербург)
Павлова Н. Г. (С.-Петербург)
Радзинский В. Е. (Москва)
Савичева А. М. (С.-Петербург)
Сельков С. А. (С.-Петербург)
Урманчеева А. Ф. (С.-Петербург)

Редакция

Родин В. Г. (ген. директор)
Ступак Л. Г. (ведущий редактор)
Ларионова О. Е. (корректор)
Фролов В. Н. (верстка)

Адрес редакции

Россия, 198152, Санкт-Петербург,
Автовская ул., 17, 1-й этаж
тел.: +7 (812) 784-97-50
факс: +7 (812) 784-97-51
e-mail:nl@n-l.ru
http://www.jowd.ru
(ISSN 1683-9366, Online)

Журнал зарегистрирован Федеральной службой
по надзору в сфере связи
и массовых коммуникаций
ПИ № ФС77-34963 от 14 января 2009 г.
(ГК РФ по печати № 016387 от 21 июля 1997 г.)

Распространяется по подписке

Печатная версия (бумажная) — индекс издания
по каталогу агентства «Роспечать» **38 497**

Подписка на электронную версию —
<http://www.elibrary.ru>;

Подписка на бумажную версию в Интернете —
<http://www.setbook.ru>

Формат 60×90/8. Усл.-печ. л. 16,5.

Тираж 700 экз. Цена свободная.

Оригинал-макет изготовлен ООО «Издательство Н-Л».

Отпечатано ООО «Светлица».



К ЮБИЛЕЮ ПРОФЕССОРА МАРГАРИТЫ АЛЕКСАНДРОВНЫ РЕПИНОЙ, ДОКТОРА МЕДИЦИНСКИХ НАУК, ЗАСЛУЖЕННОГО ДЕЯТЕЛЯ НАУКИ РФ, ПОЧЕТНОГО ДОКТОРА СПБМАПО



Маргарита Александровна Репина родилась 1 сентября 1930 г. в Ташкенте. Здесь же в 1948 г. она с золотой медалью окончила среднюю школу и, решив идти по стопам мамы, заслуженного врача республики, окончила Ташкентский государственный медицинский институт, получив диплом с отличием. С 1954 г. Маргарита Александровна с семьей переехала в Ленинград. Поступив в клиническую ординатуру Ленинградского санитарно-гигиенического медицинского института, она оказалась на базе кафедры — в роддоме им. проф. В. Ф. Снегирева, в котором она прошла путь от клинического ординатора, ассистента, доцента кафедры до профессора, известнейшего в стране ученого, клинициста, педагога.

Научные исследования М. А. Репиной были посвящены самым актуальным, urgentным проблемам акушерства. В 1959 г. она защитила кандидатскую диссертацию на тему «Состояние системы свертывания крови у беременных и рожениц», в 1974 г. — докторскую диссертацию на тему «Геморрагический шок в акушерской практике: вопросы патогенеза, клиники, реанимации и интенсивной терапии».

В 1977 г. М. А. Репина была избрана заведующей кафедрой акушерства и гинекологии

№2 ЛенГИДУВа, которой она руководила более 20 лет. Высокопрофессиональный профессорско-преподавательский состав, созданная и развивающаяся научная школа обеспечили кафедре заслуженный авторитет и признание.

В 1980 г. ей была предложена должность главного акушера-гинеколога Главного управления здравоохранения исполнительного комитета Ленгорисполкома, которую М. А. Репина исполняла в течение 10 лет, проявив высочайшую целеустремленность и исключительную заботу о службе охраны материнства и детства в городе. Эти годы потребовали от нее много времени и сил для решения не только лечебных, но и многих организационных вопросов. При ее непосредственном участии были созданы городской акушерский гематологический центр, центр для лечения родильниц с гнойно-септическими осложнениями, реанимационная акушерская бригада в службе скорой помощи. Работа М. А. Репиной в качестве главного акушера-гинеколога была оценена Исполкомом Ленинграда: 20 августа 1986 г. она была награждена орденом «Знак Почета».

Несмотря на большой объем работы, неизбежный в связи с занятостью на двух ответственных должностях, М. А. Репина продолжала интенсивную научную деятельность. Всего за 33 года работы в институте под ее руководством защищено 26 кандидатских и 9 докторских диссертаций. В 1990-е базой кафедры стал один из лучших в настоящее время не только в Санкт-Петербурге, но и в стране центр новых репродуктивных технологий, названный «Ава Петер». С момента открытия центра М. А. Репина является консультантом, принимает активное практическое и научное участие в его работе. В 2000 г. основной коллектив кафедры был преобразован в кафедру репродуктивного здоровья женщин СПб МАПО, профессором которой М. А. Репина является по настоящее время.

В научном багаже М. А. Репиной свыше 380 публикаций, 30 из которых являются монографиями, книгами, главами в монографиях, учебниках или учебными пособиями для врачей. Ее монографии «Разрыв матки» и «Кровотечения

в акушерской практике» неизменно остаются настольными книгами для врачей-акушеров.

М. А. Репиной в 2001 г. присвоено почетное звание «Заслуженный деятель науки РФ», в 2002 г. за большие заслуги в развитии медицинской науки и подготовке врачебных и научно-педагогических кадров она избрана Почетным доктором СПбМАПО. Помимо ордена «Знак Почета» она награждена пятью медалями, многими дипломами и грамотами, избрана почетным членом Общества акушеров-гинекологов Санкт-Петербурга и Северо-Западного региона. В настоящее время профессор М. А. Репина — вице-президент правления общества акушеров-гинекологов Санкт-Петербурга и Северо-Западного региона, заместитель главного редактора одного из старейших в России медицинских журналов «Акушерство и женские болезни», многолетний председатель городской лечебно-контрольной комиссии по разбору материнской смертности.

Огромное место в сердце и в жизни Маргариты Александровны занимает семья — ее дети и внуки. Ее сын — ученый-математик,

профессор, дочь — к. м. н., доцент кафедры кардиохирургии СПбМАПО. Две внучки также выбрали своей профессией медицину.

Маргарита Александровна очень щедрый человек: она охотно делится своими знаниями, идеями, временем со всеми, кто к ней обращается за помощью, — пациентами, молодыми врачами, диссертантами, сотрудниками кафедры, коллегами из любых медицинских коллективов. Высочайшая эрудиция, четкость мышления, безупречный порядок в работе позволяет Маргарите Александровне сохранять интенсивный творческий темп, высокую степень врачебной, научной и педагогической востребованности.

Глубокоуважаемая Маргарита Александровна! В день Вашего замечательного юбилея примите самые теплые, сердечные и искренние поздравления от всех нас, Ваших сотрудников, учеников и друзей! Мы желаем Вам и Вашим близким крепкого здоровья, новых свершений в науке, успехов в педагогической и врачебной деятельности, преданных учеников, последователей и большого личного счастья!

Редакционная коллегия Журнала акушерства и женских болезней и Правление общества акушеров-гинекологов Санкт-Петербурга и Северо-Западного региона

К ЮБИЛЕЮ ПРОФЕССОРА НОННЫ ГЕОРГИЕВНЫ КОШЕЛЕВОЙ



В октябре 2010 года медицинской общественностью Санкт-Петербурга отмечается юбилей заслуженного деятеля науки Российской Федерации, доктора медицинских наук, профессора отделения физиологии и патологии беременности НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН Н. Г. Кошелевой.

Нонна Георгиевна родилась в городе Подольске Московской области. Получила высшее образование в 1-м Московском медицинском институте, после окончания которого в 1949 году работала в Караганде (в районной больнице, роддоме и на кафедре акушерства и гинекологии Карагандинского медицинского института).

С 1955 года жизнь и научная деятельность Нонны Георгиевны связаны с НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта. Под руководством замечательного учёного, основателя современной перинатологии, профессора Н. Л. Гармашевой Нонна Георгиевна защитила кандидатскую диссертацию, посвященную проблемам внутриутробного развития плода. Дальнейшее развитие эта тема получила в докторской диссертации, которую она защитила в 1971 году. С 1971 по 1999 год Нонна Георгиевна являлась руководителем отделения физиологии и патологии НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта. Развивая идеи своих учителей, выдающихся специалистов по физиологии и патологии беременности профессоров С. М. Беккера и Н. Л. Гармашевой, Нонна Георгиевна создала свою научную школу, приоритетами которой являются вопросы этиопатогенеза патологии беременности в со-

временных условиях. Нонна Георгиевна сумела создать высокопрофессиональный коллектив врачей и научных сотрудников отделения, который продолжает развивать её научные идеи.

Н. Г. Кошелевой разработаны новые подходы к оценке состояния плода, начиная с ранних сроков беременности и заканчивая состоянием детей при рождении. Это дало возможность значительно снизить перинатальную смертность и заболеваемость у женщин с угрозой прерывания беременности, сахарным диабетом, урогенитальной инфекцией.

Приоритетными являются исследования Н. Г. Кошелевой в области экологических проблем, за решение которых в 2001 году она стала лауреатом премии правительства Российской Федерации по науке и технике вместе с академиком Э. К. Айламазяном и профессором В. В. Потиним. Изучение влияния неблагоприятных факторов производства и внешней среды на репродуктивную функцию женщин позволили разработать рациональные методы профилактики нарушений внутриутробного развития плода и снизить частоту осложнений неблагоприятных исходов беременности.

Профессор Н. Г. Кошелева является одним из самых крупных специалистов по невынашиванию беременности, профилактике и лечению преждевременных родов. Созданный Н. Г. Кошелевой Центр по профилактике и лечению невынашивания беременности успешно работает в течение 25 лет. В результате совместной работы Центра и отделения физиологии и патологии беременности удалось более чем в 10 раз снизить частоту спонтанных аборт и преждевременных родов в группах высокого риска по невынашиванию беременности.

Профессор Н. Г. Кошелева автор более 250 научных работ в отечественной и зарубежной печати, в том числе нескольких монографий: «Профилактика перинатальной смертности и заболеваемости», «Угрожающие преждевременные роды», «Репродуктивная функция женщин, работающих на химическом производстве», «Сахарный диабет: беременность и новорожденные», «Иммунорфологическое состояние плаценты при акушерской патологии».

Большая эрудиция, широкие научные интересы, творческий подход к работе помогли более 30 ученикам Нонны Георгиевны стать кандидатами и докторами наук. Много сил Нонна Георгиевна отдаёт работе с врачами женских

консультаций, способствуя внедрению научных достижений в практику здравоохранения.

За многолетний безупречный труд Н. Г. Кошелева была награждена медалью «За доблестный труд», медалью «Ветеран Труда», юбилейной медалью к 300-летию Санкт-Петербурга. Имеет звание заслуженного деятеля науки, является лауреатом государственной премии.

Замечательные душевные качества — отзывчивость, доброжелательность, врачебный и педагогический талант вызывают глубокое уважение и любовь у коллег, учеников и пациентов.

Редколлегия журнала поздравляет дорогую Нонну Георгиевну с юбилеем и желает ей долгого здоровья, новых достижений на благородном поприще охраны здоровья матери и ребенка.



КАЗАНЬ 17-19 ноября 2010 г.

www.kazan.praesens.ru



ОБЩЕРОССИЙСКИЙ СЕМИНАР «РЕПРОДУКТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ РОССИИ: ОТ БЕЗОПАСНОГО АБОРТА И КОНТРАЦЕПЦИИ — К БЕЗОПАСНЫМ РОДАМ»

**Казань, отель «Korston Hotel & Mall»
17–19 ноября 2010 г.**

Организаторы: Федеральное агентство по надзору в сфере здравоохранения и социального развития РФ • Министерство здравоохранения Республики Татарстан • Российский университет дружбы народов, кафедра акушерства и гинекологии с курсом перинатологии • Казанский государственный медицинский университет, кафедра акушерства и гинекологии №2 • Казанская государственная медицинская академия • Российское общество акушеров-гинекологов • Общество акушеров-гинекологов Республики Татарстан • Медиабюро StatusPraesens

Темы для дискуссий: Врачебное сообщество на службе успешной реализации репродуктивного потенциала России: от безопасного аборта через эффективную контрацепцию к безопасным родам • 10 лет безопасного аборта в России: что сделано и что предстоит сделать? • Безопасная контрацепция: как сделать её модным трендом XXI века? • Контрацепция для девочек-подростков. Образовательные программы • Экстренная контрацепция • Материнская смертность: прошлое, настоящее и будущее. Куда мы идём? • Акушерская агрессия: осознание как первый шаг • Роды: заповеди безопасности. Кровотечения в акушерстве — предотвратимые потери? • Женщина и врач: информирование и обучение во врачебном кабинете как наиболее действенный способ влияния на репродуктивные решения женщины.

По вопросам участия: «Медиабюро Статус презентс», +7 499 558-0253, +7 926 533-0884, kazan@praesens.ru

StatusPraesens
Profimedia



ДИТЯ И МАМА
ЕКАТЕРИНБУРГ

II Международная выставка-конференция по вопросам акушерства, гинекологии, перинатологии, неонатологии и педиатрии

ДИТЯ И МАМА. ЕКАТЕРИНБУРГ 2010

Итоговая юбилейная научная сессия кафедры акушерства и гинекологии
ФПК УГМА и ФГУ НИИ ОММ

«Успешная репродукция: путь от врача к пациенту»

«Современные возможности пре- и неонатальной педиатрии»

7-9 декабря 2010

ЦМТЕ, Екатеринбург, ул. Куйбышева, 44

ОФИЦИАЛЬНАЯ ПОДДЕРЖКА



ОРГАНИЗАТОРЫ



Министерство здравоохранения
Свердловской области



ФГУ «Уральский НИИ ОММ
Росмедтехнологий»
E-mail: orgomm@mail.ru



ГОУ ВПО «Уральская государственная
медицинская академия»



RTE Group
Москва
тел. +7 (495) 921 44 07
E-mail: v.dronova@rte-expo.ru
Екатеринбург
тел. +7 (343) 310 32 50
E-mail: o.mokina@rte-ural.ru



WWW.DM-URAL.RU



© А. В. Арутюнян, Э. К. Айламазян

ГУ НИИ акушерства и гинекологии
им. Д. О. Отта СЗО РАМН

ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ЛАБОРАТОРИИ БИОХИМИИ С КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКИМ ОТДЕЛЕНИЕМ НИИ АКУШЕРСТВА И ГИНЕКОЛОГИИ ИМ. Д. О. ОТТА РАМН

УДК: 577

■ В обзоре представлены сведения об истории становления и развития лаборатории, основных направлениях проводимых в ней исследований и их итогах за период с 1990 по 2010 г. Охарактеризованы достижения в научной деятельности лаборатории за этот период времени и рассмотрены некоторые перспективы дальнейших исследований. Намечено развитие исследований в области экологической репродуктологии по пути изучения нарушения регуляции репродуктивной функции под влиянием токсических соединений эндогенного происхождения. Предложены новые подходы к исследованию биохимических механизмов, обуславливающих неврологические нарушения у новорожденных, связанные с задержкой внутриутробного развития плода, а также возможности использования определения серотонина и мелатонина в тромбоцитах в качестве маркеров этих нарушений. Отмечены успехи лаборатории в разработке методов изучения гемостаза при акушерской патологии и необходимости их дальнейшего совершенствования.

■ **Ключевые слова:** экология и репродукция; репродуктивная функция; внутриутробная гипоксия; тромбофилии и беременность.

История создания лаборатории

В 2010 г. исполнилось 80 лет со времени существования в институте специализированной лаборатории, которая объединила в себе всю работу по биохимии и клинической диагностике. Истоки создания лаборатории уходят в далекое прошлое, так как еще в 1893 году в составе Императорского Повивального института была впервые организована «Клиническая лаборатория для бактериологических, микроскопических и химических исследований». Начальные этапы деятельности созданной в годы советской власти лаборатории были ознаменованы приоритетными исследованиями по изучению обмена веществ у женщин с осложненной беременностью, проводимыми под руководством видного специалиста проф. О. С. Манойловой. В последующем лабораторию возглавил известный биохимик, проф. И. И. Иванов, с чьим именем связаны исследования по сравнительному изучению фракционного состава белков мышц различных типов в онтогенезе, а также осуществлен цикл работ по диагностике и прогнозу гемолитической болезни плода. С 1967 г. клинико-диагностическая и биохимическая лаборатории института были объединены в лабораторию обмена веществ плода и новорожденного, ее руководитель доктор мед. наук Н. Л. Василевская внесла большой вклад в изучение механизмов метаболической адаптации плода к различным формам кислородной недостаточности. Впервые в этой лаборатории были изучены иммунологические свойства гемоглобина при гемолитической болезни, описаны механизмы, регулирующие гликемию у плода и новорожденного в физиологических условиях и при различных формах кислородного голодания, создана оригинальная модель хронической плацентарной недостаточности на ранних сроках эмбриогенеза. Одним из серьезных достижений лаборатории было создание установки для двусторонней перфузии изолированной плаценты человека (канд. биол. наук О. Г. Белокуров), позволившей изучать транспортную функцию плаценты. В дальнейшем работа, проводимая в лаборатории, была ориентирована, главным образом, на выполнение биохимических и общеклинических анализов для клинических подразделений института.

В 1990 г. на ее базе была создана лаборатория перинатальной биохимии (руководитель проф. А. В. Арутюнян), которая в 2010 г. была преобразована в лабораторию биохимии с клинико-диагностическим отделением. В настоящее время лаборатория насчитывает 24 сотрудника и состоит из двух подразделений: научной лаборатории, в составе которой 2 доктора и 5 кандидатов наук, и клинико-диагностическим отделением (зав. отделением

врач высшей категории Н. Е. Андросова), в которой работают 15 специалистов, включая врачей по клиничко-лабораторной диагностике, медицинских технологов и медицинских техников.

Основные направления научно-практической деятельности

С первых этапов становления в лаборатории проводится изучение воздействия на плод внутриутробной гипоксии, являющейся одной из наиболее распространенных причин нарушений развития плода и новорожденного. Международное признание получили выполненные в лаборатории за последние 20 лет работы, посвященные выявлению новых биохимических маркеров внутриутробной гипоксии плода (нейроспецифических изоферментов креатинкиназы и енолазы), а также исследованию механизмов нейроэндокринной регуляции репродуктивной системы женского организма и их нарушения под влиянием неблагоприятных экологических условий.

Одним из основных направлений проводимых в лаборатории исследований было экспериментальное изучение центральных механизмов регуляции репродуктивной функции женского организма. К числу наиболее актуальных экологических проблем относится изучение длительного воздействия на организм ряда чужеродных соединений, так называемых ксенобиотиков, с которыми человеку приходится сталкиваться на производстве и в быту. На протяжении 35 лет НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта разрабатывает проблему влияния экологической обстановки на репродуктивное здоровье женщины. Накопилось большое количество данных, свидетельствующих о том, что репродуктивная система является одной из наиболее чувствительных к неблагоприятным факторам внешней среды систем женского организма. Многочисленными клиническими исследованиями, проведенными сотрудниками института, было установлено, что у женщин, работающих на производстве в условиях присутствия паров бензина, формальдегида, метилметакрилата, стирола, бензола и других органических веществ происходит нарушение менструального цикла, секреции половых стероидов, гонадотропных гормонов, пролактина [13, 1]. Неспецифический характер воздействия различных ксенобиотиков указывает на нарушение под их влиянием центральных механизмов репродуктивной функции женского организма, которые могут быть изучены только в экспериментальных условиях.

Подобные исследования, проведенные в лаборатории на самках крыс, показали, что различные ксенобиотики обладают нейротоксическим действием и вызывают в первую очередь нарушения

центрального, гипоталамо-гипофизарного звена регуляции репродуктивной функции. Было выяснено, что наиболее ранним признаком подобных нарушений служит исчезновение или искажение суточных ритмов содержания ряда нейромедиаторов в наиболее значимых для центральной регуляции репродукции областях гипоталамуса: медиальной преоптической области (МПО) и срединном возвышении с аркуатными ядрами (СВ-Арк), в которых соответственно происходят синтез и секреция гонадолиберина, регулирующего уровень гонадотропинов в крови [4, 8, 16, 12]. Получены убедительные доказательства того, что суточные ритмы активности норадреналина и серотонина в медиальной преоптической области находятся в зависимости от функционирования эндогенного циркадианного осциллятора в супрахиазматических ядрах гипоталамуса [14, 15, 9]. Изменение активности норадренергической системы в МПО и дофаминергической системы в СВ-Арк под влиянием половых стероидов на стадии проэструса является важным механизмом формирования преовуляторного пика секреции гонадолиберина (ГнРГ) и гонадотропинов (ЛГ и ФСГ), инициирующего процесс овуляции (2–6). Вместе с тем анализ полученных результатов позволил прийти к заключению о том, что согласованность изменений в содержании норадреналина, дофамина и 5-оксииндолуксусной кислоты в самой медиальной преоптической области обуславливает координированное функционирование норадренергической, дофаминергической и серотонинергической систем для возможности реализации преовуляторной гиперсекреции ГнРГ. Исследование суточной динамики и среднесуточного содержания катехоламинов в структурах гипоталамуса, ответственных за синтез и секрецию гонадолиберина у самок крыс, в процессе старения показало, что на начальных этапах угасания репродуктивной функции не наблюдается снижения уровня норадреналина в МПО гипоталамуса в вечерние часы на стадии проэструса, присущего половозрелым самкам крыс с нормально протекающим эстральным циклом. При этом сохраняется общий среднесуточный уровень этого нейромедиатора, заметное снижение которого происходит только при длительной ановуляции и персистирующем диэструсе, что связано не с нарушениями работы циркадианного осциллятора, а с возрастными изменениями порога чувствительности гипоталамуса к половым стероидам. В последнее время в лаборатории получены новые данные о возможности коррекции нарушенной под влиянием нейротоксических ксенобиотиков суточной динамики катехоламинов в гипоталамусе биологически активных с помощью биологически активных соединений эпифиза. Оказалось, что при использо-

вании пептидных препаратов эпифиза для коррекции нарушенных суточных ритмов моноаминов, эпиталамин, восстанавливая нормальную суточную динамику норадреналина, является более эффективным на уровне МПО, а эпиталон проявляет свое действие в СВ-Арк, сохраняя суточный ритм ДА. Мелатонин восстанавливает нормальную суточную динамику исследованных катехоламинов в обеих рассматриваемых гипоталамических структурах [6]. Результаты этих исследований являются перспективными с точки зрения возможности клинического испытания и использования этих соединений для профилактики вызванных воздействием неблагоприятных экологических факторов нарушений репродуктивной функции женского организма. В настоящее время проводимые в лаборатории работы по экологической тематике направлены на экспериментальное изучение механизмов токсического действия гомоцистеина и гомоцистеиновой кислоты на регуляцию репродуктивных циклов, а также на потомство при беременности, которая сопровождается гипергомоцистеинемией.

Значительная роль в разработке и выполнении исследований, посвященных хронобиологическим аспектам регуляции репродуктивной функции, принадлежит ведущему научному сотруднику лаборатории, д. б. н. М. Г. Степанову, старшему научному сотруднику, к. б. н. А. В. Корневскому и научным сотрудникам к. б. н. А. А. Разыграеву Ю. П. Милютиной. Выполненные в лаборатории по экологической тематике проекты были одобрены и поддержаны Российским фондом фундаментальных исследований в 1995–1997 гг., 2000–2002 гг., 2004–2006 гг. и в 2010 г., а также Администрацией Санкт-Петербурга в 2003 г.

Совместно с лабораторией патофизиологии плода (зав. лабораторией д. м. н. проф. Н. Г. Павлова) и отделением физиологии, патологии и реанимации новорожденных детей (зав. отделением д. м. н. проф. Евсюкова И. И.) сотрудники лаборатории перинатальной биохимии изучают процессы морфологического, функционального и биохимического созревания ЦНС плода и маркеров его нарушения в онтогенезе человека. Комплексное изучение возможных физиологических и биохимических маркеров нарушения развития плода позволили определить патогенетические критерии их антенатальной диагностики. Исследования, проведенные на плодах с морфологическими и функциональными дефектами развития мозга, показали, что диагностическое значение, наряду с изучением параметров сердечного ритма и характеристики цикла активность–покой, имеет определение активности мозгового ВВ-изофермента кретинкиназы в амниотической жидкости и крови плодов [3, 18], а также уровня нейроспецифической енолазы в крови,

являющихся маркерами тяжелых функциональных нарушений созревания ЦНС плода при внутриутробной гипоксии. Повышение активности этих изоферментов в крови является следствием их высвобождения из нейронов в результате дестабилизации клеточных мембран при гипоксическом повреждении нервных структур. Далее было установлено, что активность мозгового изофермента креатинкиназы повышена у новорожденных детей с симметричной формой задержки внутриутробного развития вследствие хронической плацентарной недостаточности инфекционного генеза [2]. Возможность использования определения этих показателей для выявления детей с неврологическими расстройствами различной степени тяжести позволяет своевременно проводить профилактику и терапию этих нарушений, что является насущной задачей современной профилактической неврологии. Последующие исследования, проведенные совместно с лабораторией патофизиологии плода, были посвящены изучению биохимических механизмов, обуславливающих патогенетической терапии хронической гипоксии плода с помощью таких антигипоксических средств, как милдронат, неонотон и трисан.

Более 15 лет лаборатория тесно сотрудничает с отделением физиологии, патологии и реанимации новорожденных детей. Проводимые совместные исследования, в которых принимают активное участие старшие научные сотрудники лаборатории канд. биол. наук Т. И. Опарина, В. М. Прокопенко, А. В. Корневский и науч. сотрудник Ю. П. Милютина, посвящены изучению процессов свободнорадикального окисления и состоянию антиоксидантной системы, а также определению содержания биогенных аминов в крови у новорожденных детей, развившихся в условиях внутриутробной гипоксии. Изучены интенсивность перекисного окисления липидов, антирадикальная и общая антиокислительная активность крови новорожденных детей в зависимости от длительности и тяжести перенесенной гипоксии. Установлено, что одним из важных факторов профилактики неврологических нарушений и другой перинатальной патологии у перенесших гипоксию детей является использование низких концентраций кислорода при проведении реанимационных мероприятий и применение адаптированных молочных смесей, содержащих полиненасыщенные жирные кислоты и обладающих антиоксидантным эффектом. Показано также, что у новорожденных, перенесших гипоксию в период внутриутробного развития и/или рождения, повышена продукция оксида азота, наиболее высокий уровень которой отмечался при острой гипоксии, что носит компенсаторно-приспособительный характер.

В условиях длительной гипоксии повышенное образование оксида азота оказывает токсическое действие на плод и новорожденного, приводя к расстройствам регуляции жизненно важных функций, что выражается в тяжести неврологических нарушений и симптомах поражения сердечно-сосудистой и дыхательной систем [11]. Большой интерес представляют результаты изучения роли функциональной активности тромбоцитов в генезе неврологических нарушений у детей в раннем неонатальном периоде. Было установлено, что степень повышения агрегационной способности тромбоцитов при неврологических нарушениях у новорожденных детей может быть использована как индикатор длительности и тяжести перенесенной гипоксии при своевременном проведении профилактических мероприятий. В последующем были получены данные, указывающие на важную роль серотонина, образующегося в тромбоцитах в процессе адаптации новорожденных детей, что может иметь существенное значение при оценке тяжести влияния хронической гипоксии на серотонинергическую систему мозга. Недавно сотрудниками лаборатории был разработан метод количественного определения мелатонина в тромбоцитах, являющихся одним из основных его внеэпифизарных источников, способных вносить определенный вклад в базисный пул гормона в крови.

На протяжении многих лет в лаборатории изучается роль свободнорадикальных процессов и состояние антиоксидантной системы в патогенезе невынашивания беременности и гестозов. Разработки научных сотрудников лаборатории по исследованию антиоксидантного статуса организма и обоснованию профилактического и лечебного применения различных антиоксидантных препаратов при патологии беременности нашли широкое применение в клинической практике. В этом направлении активное участие принимают старшие научные сотрудники, кандидаты биологических наук В. М. Прокопенко и Т. И. Опарина. Проведенные исследования показали, что при преждевременных родах на сроке 28–36 недель в обогащенной микросомами фракции, основным источником образования свободных радикалов кислорода в которой являются Р450-монооксигеназы, НАДФН-оксидаза и ксантинооксидаза, усиление процессов перекисного окисления липидов происходит преимущественно в периферической части плаценты, наиболее подверженной влиянию окислительного стресса. Установлено, что образование активных форм кислорода осуществляется как СОД-зависимым (генерация супероксидного и гидроксильного радикалов), так и СОД-независимым путем (генерация гипохлоритного радикала), причем доля последнего при преждевременных родах существенно ниже,

по сравнению с физиологической беременностью. Образование гипохлоритного анионрадикала, выполняющего в плаценте роль важного микробцидного фактора, обусловлено наличием в периферической зоне плаценты миелопероксидазы, содержание которой на протяжении гестационного периода снижается, причем наиболее заметно при преждевременных родах [12]. В этих же условиях наблюдается снижение активности NO-синтазы, также играющей заметную роль в реакциях фагоцитоза. Значительное уменьшение продукции оксида азота, наряду со снижением содержания миелопероксидазы, может способствовать ослаблению антибактериального барьера между матерью и плодом и является одним из важных факторов невынашивания беременности [5]. Проведенные в лаборатории исследования показали, что немаловажное значение для обеспечения антиоксидантной защиты при беременности принадлежит глутатионзависимой антиоксидантной системе. Показано, что в плаценте женщин с невынашиванием обнаруживается высокая активность глутатионпероксидазы на протяжении всей беременности, которая значительно превышает активность этого фермента при физиологической беременности, тогда как активность глутатионредуктазы примерно одинакова в обоих случаях, а активность глутатион-S-трансферазы при прерывании беременности значительно ниже, чем в норме. Исследования, проведенные в сотрудничестве с лабораторией пренатальной диагностики (д. б. н. Т. Э. Иващенко и к. б. н. Г. К. Парцалис), показали, что мутации генов GSTT1, GSTM1 и GSTP1, приводящие к снижению активности соответствующих ферментов, можно рассматривать как фактор генетического риска самопроизвольного досрочного прерывания беременности.

В связи с открытием в институте в 2006 г. акушерско-гинекологического Центра тромбофилий лаборатория стала активно заниматься изучением механизмов нарушения различных звеньев гемостаза при акушерской патологии. В лаборатории проводится расширенное коагулологическое исследование крови, разработаны и внедрены в клиническую практику иммуноферментные методы исследования гемостаза, позволяющие оценить роль тромбофилии в развитии осложненного течения беременности. Исследование гемостазиологических показателей при эндокринной патологии, приводящей к невынашиванию и бесплодию, вносит ощутимый вклад в прегравидарную подготовку и коррекцию системы гемостаза начиная с ранних сроков беременности. Проведение детального исследования различных звеньев гемостаза, в котором участвуют научные сотрудники лаборатории А. В. Пустыгина и Ю. П. Милютина, способствовало внедрению в клиническую практику института препарата «Ангиовит», отличающегося сбалансирован-

ным соотношением витаминов В₁₂, В₆ и фолевой кислоты и являющегося вследствие этого эффективным средством при выявлении гипергомоцистеинемии. Установлено, что при многих осложнениях беременности (невынашивание, гестоз, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты и др.) происходит активация внутрисосудистого свертывания крови, которая сопровождается значительным повышением содержания Д-димеров, что служит предпосылкой для своевременной терапии беременных низкомолекулярными гепаринами. Показано, что наряду с определением Д-димеров, высокоинформативным показателем при тяжелом течении гестоза является повышение содержания адгезивных белков-маркеров дисфункции эндотелия: фактора Виллебранда и фибронектина, а также показателя плазминемии плазмин- α 2-антиплазминового комплекса. Более детально вопросы, связанные со значением изучения параметров гемостаза при различных формах тромбофилии, сопутствующей акушерской патологии, изложены в статье М. С. Зайнулиной в данном номере журнала.

Перспективы развития проводимых исследований в лаборатории

Недавно в лаборатории было начато изучение воздействия на женский организм нейротоксических соединений природного происхождения, в частности гомоцистеина, повышенное содержание которого в крови (гипергомоцистеинемия) является фактором риска возникновения различных осложнений беременности. Это обусловлено тем, что гомоцистеин способен беспрепятственно проникать через плаценту и оказывать токсическое влияние на плод, вызывая образование микротромбов и нарушение гемодинамики в системе мать–плацента–плод. Проведенные нами в этом направлении исследования были посвящены определению содержания гомоцистеина и других маркеров эндотелиальной дисфункции в плазме крови и возможности коррекции гипергомоцистеинемии при невынашивании беременности и гестозе. Результаты ряда работ, в том числе выполненные в нашей лаборатории совместно с кафедрой биохимии МГУ им. М. В. Ломоносова [14], свидетельствуют о том, что гипергомоцистеинемия является фактором, способствующим развитию пренатальной гипоксии. Это дает основание рассматривать гипергомоцистеин как эндотоксикант, содержание которого в организме может резко возрастать под влиянием различных патологических процессов, усугубляющих их течение и последствия. Однако, несмотря на то что гипергомоцистеинемия привлекает интерес исследователей как фактор, оказывающий негативное действие на течение и исход беременности, вопрос о том, как она влияет на репродуктивное здоровье женского организма и его готовность к беременности и родам, остается

открытым. Отсутствуют сведения о биохимических механизмах нарушения вследствие гипергомоцистеинемии репродуктивной цикличности женского организма, являющейся необходимым условием наступления и протекания физиологической беременности. В связи с этим дальнейшее развитие получают экспериментальные исследования, направленные на выяснение роли биогенных аминов (норадреналина, дофамина и серотонина) и окислительного стресса в механизмах нарушений гипоталамической регуляции овариальных циклов при гипергомоцистеинемии, которая приводит к патологическому течению беременности и оказывает токсическое влияние на плод. Будет также изучена возможность использования мелатонина и ряда синтетических пептидных препаратов в качестве соединений, способных устранить или ослабить вызванные гипергомоцистеинемией нарушения гипоталамической регуляции репродуктивной функции.

Будет продолжена работа по теме «Роль нарушений нейроэндокринной и иммунной регуляции в развитии патологических состояний функциональных систем у новорожденных, перенесших хроническую гипоксию». Данные об изменении содержания серотонина и мелатонина в тромбоцитах при нарушении формирования функций ЦНС, становления гемодинамики в легких у новорожденных, перенесших гипоксию, позволят разработать новые подходы к диагностике степени тяжести гипоксического поражения мозга и патогенеза дыхательных расстройств. Последние десятилетия ознаменовались развитием представлений о том, что в процессе протеолитического расщепления в развивающемся мозге мембраносвязанного предшественника амилоидного пептида А β , играющего важную роль в патогенезе болезни Альцгеймера, образуются растворимые формы белков (sAPP), обладающих нейропротекторными свойствами и способных стимулировать пролиферацию нервных клеток. Увеличение продукции этих белков в течение первого месяца после рождения, когда формируется большинство синаптических связей между нервными клетками, а также снижение их содержания в процессе старения, подтверждает роль sAPP в синаптогенезе. Экспериментальным путем было установлено, что, наряду с sAPP, среди продуктов протеолиза белка-предшественника амилоидного пептида, так называемого APP, в структурах мозга обнаруживается растворимая форма ацетилхолинэстеразы (АХЭ), уровень которой очень высокий при рождении и значительно снижен у животных, перенесших пренатальную гипоксию [7]. Высока вероятность того, что подавление неамилоидного пути распада APP образования sAPP и растворимой АХЭ вследствие перенесенной внутриутробной гипоксии приводит к образованию в еще несозревшем мозге β -амилоидного пептида, что может вносить значи-

тельный вклад в задержку развития ЦНС новорожденного. Растворимая форма АХЭ мозга, в отличие от мембраносвязанного фермента, не участвует в процессе холинергической передачи, но проявляет свойства фактора роста нервов и молекул клеточной адгезии. Многочисленные исследования свидетельствуют о том, что растворимая форма АХЭ, так же как и sAPP, образуется в тромбоцитах при протеолизе мембраносвязанного предшественника β -амилоида. Это указывает на целесообразность исследования активности АХЭ в тромбоцитах новорожденных в качестве маркера тяжести перенесенной гипоксии плода и риска развития задержки развития ЦНС, поскольку известно, что ацетилхолин ненейронального происхождения участвует в регуляции таких клеточных функций, как пролиферация, дифференциация, межклеточные взаимодействия, а также выполняет пластическую роль, стимулируя активность многих трофических факторов.

Совместно с лабораторией патофизиологии плода будет продолжена экспериментально-клиническая работа, посвященная изучению механизмов, лежащих в основе терапевтического действия новых антигипоксических препаратов на функциональное состояние плода и сократительную активность матки и функциональное состояние матери и плода в родах при нормальном и нарушенном кровообращении в функциональной системе «мать—плацента—плод». Биохимическими критериями оценки действия антигипоксических препаратов в экспериментах на кроликах, развивающихся в условиях хронической гипоксии и при нормальном маточно-плацентарном кровообращении, будет служить определение таких параметров, как интенсивность перекисного окисления, общей антиокислительной и антирадикальной активности и активности ряда антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза и глутатион-S-трансферазы). Сотрудниками лаборатории на базе Центра тромбофилий НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта РАМН будет продолжена разработка алгоритма наиболее информативных лабораторных критериев исследования системы гемостаза, используемых для диагностики и профилактики тромбофилии при осложнениях беременности. Предполагается внедрить в клиническую практику гемостазиологического обследования беременных с риском развития тромботических осложнений лабораторных методов более детального исследования тромбоцитарного звена гемостаза.

Заключение

За двадцать лет существования лаборатории перинатальной биохимии были достигнуты серьезные успехи в изучении механизмов нарушения центральной регуляции репродукции под влиянием нейро-

токсических ксенобиотиков. Экспериментальным путем было показано, что наиболее ранним и чувствительным признаком нарушения репродуктивной функции женского организма является изменение в гипоталамусе суточной динамики содержания биогенных аминов, контролирующих процессы синтеза и секреции гонадолиберина, преовуляторный пик которого в крови обеспечивает выработку гонадотропных гормонов гипофиза, обуславливающих нормальное протекание репродуктивных циклов. Благодаря исследованиям, проведенным в лаборатории, было установлено, что эти нарушения носят неспецифический характер и могут подвергаться коррекции с помощью мелатонина и, отчасти, пептидных препаратов пинеальной железы, что свидетельствует о роли эпифиза в гипоталамической регуляции репродуктивной функции.

Безусловным достижением научной деятельности лаборатории являются результаты систематического изучения роли свободнорадикальных процессов в плаценте при развитии ряда акушерских патологий (невынашивание беременности, гестоз различной степени тяжести), а также разработка методов определения в сыворотке крови биохимических показателей пренатальной гипоксии. Перспективы исследований, проводимых в лаборатории, связаны с изучением влияния на репродуктивную функцию эндогенных токсических продуктов метаболизма, новых биохимических маркеров задержки внутриутробного развития вследствие перенесенной гипоксии плода и механизмов нарушения гемостаза при беременности, осложненной тромбофилией.

За период с 1990 по 2010 г. сотрудниками лаборатории опубликовано 4 монографии и более 150 статей в научных журналах, защищены 1 докторская и 4 кандидатские диссертации. Кроме того, лаборатория участвовала в выполнении 2 докторских и 10 кандидатских диссертаций сотрудниками клинических подразделений института.

Литература

1. Айламазян Э. К., Беляева Т. В. Общие и частные проблемы экологической репродуктологии // Журнал акушерства и женских болезней. — 2003. — Т. 52, вып. 2. — С. 4–10.
2. Активность мозгового изофермента креатинкиназы у новорожденных с задержкой внутриутробного развития / Додхоев Д. С. [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. — 2003. — Т. 52., вып. 4. — С. 28–31
3. Арутюнян А. В., Павлова Н. Г., Константинова Н. Н. Биохимические маркеры нарушения развития мозга плода человека // Нейрохимия. — 1996. — Т. 3, вып. 3. — С. 187–193.
4. Арутюнян А. В., Степанов М. Г., Корневский А. В. Нарушение нейромедиаторного звена гипоталамической регуляции репродуктивной функции под влиянием нейротоксических ксенобиотиков // Нейрохимия. — 1998. — Т. 15, №4. — С. 264–270.

5. Биохимические механизмы формирования плаценты при физиологической и осложненной беременности / Арутюнян А. В. [и др.]. — СПб.: Изд-во ВМА, 2010. — 250 С.
6. Воздействие мелатонина и пептидов эпифиза на катехоламинергическое звено гипоталамической регуляции репродуктивной функции крыс / Милютин Ю. П. [и др.] // Нейрохимия. — 2010. — Т. 27., №3. — С. 1-9.
7. *Лавренова С. М., Наливаева Н. Н., Журавин И. А.* Активность ацетилхолинэстеразы сенсомоторной коры в раннем онтогенезе крыс, перенесших пренатальную гипоксию // Журн. эвол. биохим. физиол. — 2003. — Т. 39. — С. 154–159.
8. Нарушение гипоталамической регуляции репродуктивной функции при воздействии нейротоксических соединений и мелатонина / Арутюнян А. В. [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. — 2003. Т. 52, вып. 2. — С. 77–85.
9. О взаимосвязи циркадианных и овариальных циклов в гипоталамической регуляции репродукции (экспериментальное исследование) / Кореневский А. В. [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. — 2007. — Т. 56, №4. — С. 24–30.
10. Пренатальная гипергомоцистеинемия как модель окислительного стресса мозга / Махро А. В. [и др.] // Бюлл. экперим. биологии и медицины. — 2008. — Т. 146, № 7. — С. 37–39.
11. Продукция оксида азота и состояние центральной гемодинамики у новорожденных, здоровых и перенесших гипоксию / Андреева А. А. [и др.] // Педиатрия. — 2004. — №1. — С. 18–22.
12. *Прокопенко В. М., Алешина Г. М.* Миелопероксидаза в плаценте человека при невынашивании беременности // Физиология человека. — 2006. — Т. 32. №4. — С. 131–133.
13. Репродуктивное здоровье женщины как критерий биоэкологической оценки окружающей среды / Айламазян Э. К. [и др.] // Вест. Рос. ассоц. акуш.-гинеколог. — 1997. — №3. — С. 72–78.
14. Роль биогенных аминов в гипоталамической регуляции репродуктивной функции / Арутюнян А. В. [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. — 2004. — Т. 53, № 1. — С. 98–106.
15. Циркадианные ритмы в областях гипоталамуса, участвующих в регуляции репродукции / Керкешко Г. О. [и др.] // Российский физиологический журнал. — 2004. — Т. 90, № 8. — С. 235–236.
16. Экспериментальное изучение механизмов нарушений гипоталамической регуляции репродуктивной функции / Арутюнян А. В. [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. — 2005. — Т. 54., № 1. — С. 57–63.
17. Disturbances of diurnal rhythms of biogenic amines in hypothalamic nuclei as an evidence of neurotropic effects of enterotropic carcinogen 1,2-dimethylhydrazine / Arutjunyan A. V. [et al.] // Neuroendocrin. Lett. — 2001. — Vol. 22, N. 4 — P. 229–237.
18. *Pavlova N. G., Konstantinova N. N., Arutjunyan A. V.* Functional and biochemical criteria for investigation of brain disorders // Int. J. Devl. Neurosci. — 1999. — Vol. 17, No. 8. — P. 839–848.

MAIN AREAS OF THE ACTIVITY AND PROSPECTS FOR THE DEVELOPMENT OF THE LABORATORY OF BIOCHEMISTRY WITH THE CLINICODIAGNOSTIC DEPARTMENT OF D.O. OTT RESEARCH INSTITUTE OF OBSTETRICS AND GYNECOLOGY, RAMS

Arutjunyan A. V., Ailamazyan E. K.

■ **Summary:** The review covers information about the laboratory becoming and development, main areas of the investigation carried out in it and the experimental data for the years 1990 to 2010. The advances of the laboratory in the research work within this period of time are marked, and some prospects for further investigations are considered. Future exploration in the field of ecological reproductology is targeted on the way of the studying of reproductive function regulation derangement under the influence of toxic compounds of endogenous origin. New approaches are proposed for the investigation of biochemical mechanisms accounting for neurological disorders of the newborn associated with intrauterine growth retardation, as well as the possibilities of determination of serotonin and melatonin in thrombocytes as markers of these disorders are suggested. The advances of the laboratory in the development of hemostasis studies in case of obstetrical pathology are honoured, and the need for their further enhancement is highlighted.

■ **Key words:** ecology and reproductology; reproductive function; intrauterine hypoxia; thrombophilia and pregnancy.

■ Адреса авторов для переписки

Айламазян Эдуард Карпович — директор, академик РАМН, з. д. н., профессор.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: arutjunyan@aa3703.spb.edu

Арутюнян Александр Вартанович — д. б. н., проф. рук. лаборатории биохимии.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: arutjunyan@aa3703.spb.edu

Aylamazyan Edvard Karpovich — the chief, academician, professor.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3.

E-mail: arutjunyan@aa3703.spb.edu

Arutjunyan Alexandr Vartanovich — Dr. Sci., Head of the department of biochemistry.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3.

E-mail: arutjunyan@aa3703.spb.edu



© А. В. Арутюнян¹, Л. С. Козина²,
В. А. Арутюнов²

ТОКСИЧЕСКОЕ ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ НА ПОТОМСТВО (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

¹ ГУ НИИ акушерства и гинекологии
им. Д. О. Отта СЗО РАМН

² Санкт-Петербургский Институт
биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН

УДК: 618.2-06-07-092.9

■ При использовании модели экспериментальной пренатальной гипергомоцистеинемии (пищевая нагрузка метионином крыс при беременности) было установлено повышение уровня содержания гомоцистеина не только в крови самок крыс, но и их потомства. Это сопровождалось снижением веса родившихся крысят и их когнитивных способностей, что было оценено с помощью теста Морриса. Проведенные эксперименты показали, что индукция окислительного стресса *in vivo* при использовании модели пренатальной гипергомоцистеинемии сопряжена с нарушениями глутаматергической системы мозга. Обнаружено, что в условиях пренатальной гипергомоцистеинемии происходит десенсibilизация ионотропных NMDA-рецепторов глутамата гранулярных клеток мозжечка, но токсический эффект гомоцистеина и гомоцистеиновой кислоты при этом может реализоваться также через метаботропные глутаматные рецепторы.

■ **Ключевые слова:** беременность; гипергомоцистеинемия; гомоцистеин; плод; окислительный стресс; крысы.

Исследования последних 15 лет подтвердили и углубили гомоцистеиновую теорию развития сосудистых нарушений [9], согласно которой увеличение концентрации гомоцистеина в плазме крови приводит к повреждению и активации эндотелиальных клеток, выстилающих стенки сосудов, что значительно повышает риск развития тромбозов и запускает атерогенный процесс [21]. Гомоцистеин способен беспрепятственно проникать через плаценту и оказывать токсическое влияние на плод. Образование микротромбов и нарушения микроциркуляции приводят к целому ряду осложнений течения беременности. Нарушение плацентации и фетоплацентарного кровообращения могут быть причиной репродуктивной недостаточности: невынашивания беременности и бесплодия в результате дефектов имплантации зародыша [10]. Доказано, что гипергомоцистеинемия на ранних стадиях беременности является одной из причин анэнцефалии и незаращения костномозгового канала (*spina bifida*) [3]. Анэнцефалия приводит к стопроцентной летальности, а *spina bifida* — к развитию серьезных неврологических проблем у ребенка, включая моторный паралич, пожизненную инвалидность и преждевременную смерть. На более поздних стадиях беременности гипергомоцистеинемия является причиной развития хронической фетоплацентарной недостаточности и хронической внутриутробной гипоксии плода. Это приводит к рождению детей с низкой массой тела и снижению функциональных резервов всех жизнеобеспечивающих систем новорожденного и развитию целого ряда осложнений периода новорожденности [23]. Показано, что гипергомоцистеинемия является причиной развития врожденных пороков сердца и дефектов нижних конечностей. При выявлении дефектов нервной трубки наиболее часто отмечается наличие мутации фермента MTHFR C677T. При этом большое значение имеют как генотип плода, так и генотип матери. При сочетании генетических дефектов и у матери, и у плода возрастает частота развития дефектов нервной трубки.

Гипергомоцистеинемия может быть одной из причин развития генерализованной микроангиопатии во второй половине беременности, проявляющейся в виде позднего токсикоза (гестоза): нефропатии, преэклампсии и эклампсии [23]. Рождение незрелого недоношенного ребенка в таких случаях грозит летальностью и большим процентом неонатальных осложнений.

У детей, рожденных от матерей с гипергомоцистеинемией, наблюдается отставание в умственном и физическом развитии. Механизм подобных изменений на сегодня изучен недостаточно. Поскольку гомоцистеин (НС) и продукт его аутоокисле-

ния — гомоцистеиновая кислота (НСА) относятся к токсическим структурным аналогам глутамата, вероятной мишенью для их токсического действия являются глутаматные рецепторы, в первую очередь — ионотропные NMDA-рецепторы. При нормальном функционировании организма концентрация этих лигандов в плазме крови (и, по-видимому, в мозге) очень низка, поэтому они не могут выступать в качестве конкурента при взаимодействии с лиганд-связывающим участком рецепторов. Однако при значительном увеличении концентрации этих метаболитов они начинают конкурировать с глутаматом за связывание с рецепторами и вызывают их гиперактивацию, что влечет за собой развитие целого ряда токсических эффектов.

Поэтому представляет интерес определение изменения в функционировании NMDA-рецепторов, происходящие при увеличении в плазме крови уровня НС и НСА. С этой целью представлялось полезным разработать такую экспериментальную модель гипергомоцистеинемии, при которой было бы возможно анализировать не только состояние крыс с повышенным содержанием гомоцистеина в плазме крови, но и свойства их потомства. Модель пренатальной гипергомоцистеинемии на крысах, у которых беременность протекает в условиях пищевой нагрузки метионином, является новым инструментом исследования молекулярных механизмов действия НС и НСА *in vivo*. В данной работе были исследованы когнитивные способности потомства крыс, развивавшегося в условиях пренатальной гипергомоцистеинемии, и дана характеристика свойств его нейрональных NMDA-рецепторов при активации рецепторов лигандами в норме и в условиях окислительного стресса, вызываемого повышенным содержанием гомоцистеина.

Материалы и методы исследования

Повышенный уровень гомоцистеина создавали в крови самок в период беременности, используя описанную ранее экспериментальную модель [1]. Данная модель заключается во введении в питьевой рацион крыс метионина в концентрации ($1 \pm 0,01$) г/кг массы животного (с учетом суточного потребления воды). Развитие потомства и формирование глутаматных рецепторов в рамках созданной модели происходит в условиях окислительного стресса, индуцированного повышенным уровнем НС в плазме крови как самок, так и формирующегося плода. Нагрузку метионином начинали при констатации у животных беременности и продолжали после появления потомства, которое получало метионин как с молоком матери, так и в питьевом рационе. Полученное потомство учитывали по количеству и весу и использовали

для исследования свойств нейронов в возрасте 10–11 дней, а для физиологической характеристики — в возрасте 45–55 дней. В работе использовали крыс линии Вистар (самки весом 180–200 г, самцы весом 250 г). В контрольной группе (6 семей) исследовали потомство самок с нормальным уровнем НС в крови, в подопытной группе (метиониновые животные, 4 семьи) исследовали потомство самок с гипергомоцистеинемией. В экспериментах потомство каждой семьи исследовали отдельно, что позволяло учитывать индивидуальные различия, обусловленные физиологическими особенностями каждой самки (интенсивность обмена веществ, активность антиоксидантной системы и др.). Значение среднего веса подсчитывали, взвешивая не менее 3 детенышей из каждой семьи в день проведения цитометрического анализа.

Определение гомоцистеина проводили иммунофлуоресцентным методом, используя набор реактивов фирмы Axis™ (Axis-Shield, Великобритания). Принцип метода заключается в восстановлении всех форм НС, содержащихся в плазме крови, до свободного НС и затем в ферментативном переводе его в S-аденозил-L-гомоцистеин,

Оценку способности крыс к обучению проводили при помощи классического варианта теста Морриса [18], который позволяет изучать пространственную память у крыс, а также роль различных структур мозга в формировании этого типа памяти. Использовали бассейн диаметром 1,7 м, наполненный на 30 см смесью из воды и 2 литров молока (для замутнения среды). Платформа диаметром 15 см находилась под поверхностью воды на глубине 0,5–1 см на расстоянии не ближе 30 см от края бассейна, чтобы исключить случайное нахождение платформы при движении крысы вдоль бортика бассейна. Температура воды поддерживалась равной $21 \pm 1^\circ\text{C}$.

В эксперименте использовали потомство контрольных и «метиониновых» крыс в возрасте 45–55 дней. В первый день крыс обучали находить платформу в бассейне. Во второй день крыс помещали на платформу, чтобы они могли определить ее положение относительно внешних объектов, а затем опускали в воду около бортика бассейна и ждали, когда они обнаружат платформу. Производилось пять последовательных попыток. После каждой попытки крыса в течение 30 секунд оставалась на платформе. Для каждой экспериментальной группы было протестировано 23 особи. Тестирование памяти проводили через 1 неделю после обучения. При этом платформа оставалась в том же месте, что и в предыдущий раз, а крысу сразу помещали в воду с целью определить, насколько хорошо она запомнила местоположение платформы.

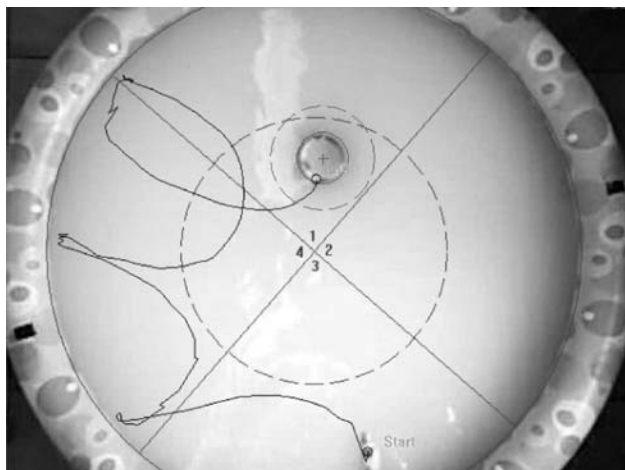


Рис. 1. Траектория пути крысы в бассейне

В процессе эксперимента все передвижения крысы фиксировали на видеокамеру (рис. 1), что позволило после программной обработки определять время, за которое крыса находит платформу (latency), длину траектории движения и характер траектории, который показывает, насколько эффективно крыса осуществляет поиск платформы [24].

Используемая программа, анализирующая движение крысы в бассейне, регистрирует следующие параметры: время от начала движения крысы в бассейне до достижения ею платформы (в с); длину пути (в м); среднюю скорость (в м/с); время плавания с быстрой, средней и медленной скоростью (в % от всего времени прохождения теста); время, в течение которого крыса находилась в каждом из четырех квадрантов бассейна (в % от всего времени прохождения теста), что позволяет оценить, ищет ли крыса платформу в нужном направлении или хаотично плавает по всему бассейну; время нахождения в центре бассейна (внутренний круг) или около бортика (внешний круг), что также позволяет оценить характер поисков. Статистическую обработку проводили с помощью программы «Statistica 6.0», используя критерии Крускала–Уоллиса, Фишера и Дункана.

Первичную суспензию нейрональных клеток получали по методу, предложенному ранее [4] с некоторыми модификациями. Из потомства каждой самки случайным образом отбирали 3–4 животных в возрасте 9–10 дней. Для получения суспензии клеток животных объединяли, что позволяло исключить индивидуальные различия внутри семей. Для выделения суспензии нейронов из мозжечка крыс животных декапитировали, вскрывали черепную коробку и извлекали мозжечок, который помещали в стоящую на льду чашку Петри на фильтровальную бумагу, смоченную раствором Тироде (NaCl 148 мМ, KCl 5 мМ,

MgCl₂ мМ, глюкоза 10 мМ, HEPES 10 мМ, pH 7.4). Мозжечок промывали ледяным раствором Тироде, удаляли крупные кровеносные сосуды и измельчали скальпелем. Для разрыхления межклеточного вещества кусочки ткани помещали в раствор коллагеназы, приготовленный на растворе Тироде (Wako collagenase, 2 mg/ml, 400 ед. активности), и инкубировали, не перемешивая, при 34 °С в течение 30 мин. После инкубации удаляли раствор коллагеназы и троекратно отмывали кусочки ткани раствором Тироде, содержащим 150 мкл фетальной сыворотки телят (Fetal Bovine Serum, FBS) в 15 мл раствора.

Затем клетки отмывали еще 2 раза раствором Тироде, содержащим в 15 мл 37,5 мкл фетальной телячьей сыворотки. В этом растворе кусочки ткани суспендировали при помощи пастеровской пипетки с оплавленным кончиком, при этом клетки отрываются от разрыхленной ткани и выходят в раствор, который из прозрачного становится опалесцирующим. Полученную суспензию пропускали через тefлоновый фильтр с размером пор 43 мкм для удаления крупных фрагментов ткани. Количество выделенных клеток в 1 мл составляло 1,5–2,0 миллиона. Перед проведением эксперимента клетки оставляли на 30 мин при 34 °С, после чего подготавливали для цитометрических экспериментов.

Преинкубацию клеток с лигандами проводили в течение 30 мин при 37 °С в темноте. Использовали агонисты глутаматных рецепторов: N-метил – D-аспаргат (NMDA), HC и HCA («Sigma» США) (в концентрации 500 мкМ) и антагонисты ионотропных (MK-801 и D-AP5) и метаботропных рецепторов — (RS)-6-метилсерин-фосфат (MSOP) или UPF 523/(RS)-1,5-дикарбоксилую кислоту (AIDA) в концентрации 10 мкМ («Toctis» UK).

Цитометрические исследования проводили на приборе «FACStar» фирмы «Becton Dickinson» (США). Каждый образец анализировали по результатам измерения 10 000 событий.

Определение уровня активных форм кислорода (АФК) в цитоплазме нейронов проводили с помощью окрашивания клеток флуоресцентным зондом 2,7-дихлордигидрофлуоресцеин диацетатом (DCFH₂-DA) («Sigma» США) в конечной концентрации 100 мкМ. DCFH₂-DA является гидрофобной, незаряженной и нефлуоресцирующей молекулой, легко проникающей через цитоплазматическую мембрану клетки. В цитоплазме эстеразы отщепляют ацетильные группы, превращая молекулу в 2,7-дихлордигидрофлуоресцеин (DCFH₂), несущий отрицательный заряд, что затрудняет обратный выход красителя из клетки. Таким образом, DCFH₂ накапливается в клетках, где он может ферментативно окисляться при

Таблица 1

Характеристика потомства животных, используемых в экспериментах

Экспериментальная группа	Кол-во семей	Среднее количество особей в помете	Вес, г (для потомства в возрасте 10 дней)	Концентрация гомоцистеина в крови, мкМ
Контроль	6	9±3	23,05±1,45	7,4±0,5
Метионин	6	9±2	17,86±3,05*	9,8±0,2*

* — $p < 0,05$

взаимодействии с перекисью водорода (или пероксинитритом) до флуоресцирующего продукта дихлорфлуоресцеина (DCF), количество которого определяется по интенсивности флуоресценции на длине волны $\lambda_{\text{emission}} = 530$ нм (возбуждение при $\lambda_{\text{excitation}} = 485$ нм). Для окраски клеток в исследуемую суспензию добавляли DCFH2-DA, инкубировали в течение 30 мин при 37°C в темноте. Краситель растворяли в DMSO (диметилсульфоксид) так, чтобы конечная концентрация DMSO в пробе была не выше 0,1%.

Определение процента погибших клеток в исследуемой популяции клеток проводили после их окраски иодидом пропидия (“Sigma” США). Пропидий иодид (PI, $\lambda_{\text{excitation}} = 485$ нм, $\lambda_{\text{emission}} = 610$ нм) не способен проникать через мембрану нативной клетки, поэтому накапливается только в погибших клетках, имеющих мембранные дефекты, и связывается там с нуклеиновыми кислотами, образуя с ними стойкие цветные комплексы. По этой причине клетки, окрашиваемые PI, считаются погибшими в результате некроза. Для определения таких клеток в исследуемую суспензию нейронов добавляли PI в концентрации 10 мкМ за 1–3 мин до измерения.

Обработку данных, получаемых с применением метода проточной цитометрии, проводили в пакете программ WIN MDI. Из всего массива выделенных клеток гейтом выделяли область, которая позволяла исключить из анализируемой популяции события, не относящиеся к нейрональным клеткам. Полученные значения флуоресценции выражали в относительных ед. (X mean) или в процентах к контрольным значениям.

Результаты и обсуждение

В ходе проведенного исследования мы обнаружили, что животные, развивающиеся в условиях пренатальной гипергомоцистеинемии, по многим показателям уступают контрольным (табл. 1). Их вес был достоверно меньше, чем в группе контрольных животных, а стандартное отклонение показателя среднего веса у «метиониновых» животных также было более выражено, что косвенно свидетельствует о неодинаковой чувствительности к метионину отдельных семей внутри каждой группы.

Анализ полученных данных не выявил достоверных различий в результатах, получаемых при

исследовании разных семей одной и той же группы (контроль и животные, получавшие метионин). Следовательно, полученные экспериментальные данные можно считать однородными и отражающими закономерности, характерные для каждой группы. В контрольной группе, в отличие от подопытной, наблюдалась практически 100% рождаемость.

Уровень НС в плазме крови взрослых животных после добавления метионина в питьевую воду возрастал в среднем в 5 раз по сравнению с исходным (с $5,9 \pm 1,8$ мкМ до $33,0 \pm 3,9$ мкМ), что свидетельствует о развитии гипергомоцистеинемии у самок в ответ на введение избыточного количества метионина в питьевую воду. У потомства этих животных, как видно из данных, приведенных в табл. 1, также было обнаружено повышенное содержание НС по сравнению с контролем, хотя оно было выражено в меньшей степени, чем у взрослых животных.

Тестирование пространственной ориентации животных, то есть их способности к обучению, при плавании в бассейне (тест Морриса) выявило существенное ослабление когнитивных способностей у потомства крыс, подвергавшихся во время беременности метиониновой нагрузке. Следует отметить, что тест Морриса широко используется в литературе для оценки степени повреждения мозга крыс и скорости восстановления когнитивных функций. Например, с помощью этого теста продемонстрировано восстановление функций мозговой ткани крыс после травматического повреждения, при введении нейро-эпителиальных клеток для устранения последствий экспериментального ишемического повреждения мозга [8], а также при ликвидации физического повреждения мозга путем введения нейрональных стволовых клеток человека [22].

Результаты тестирования показали, что животным, развивавшимся в условиях гипергомоцистеинемии, требовалось больше времени, чтобы найти платформу, скорость плавания у них была ниже, а путь соответственно длиннее, чем в контрольной группе. Оказалось, что они демонстрируют достоверно большее время поиска и снижение скорости плавания, чем контрольные животные, что свидетельствует о нарушении процессов обучения и запоминания, вызываемом гипергомоцистеинемией. Снижение скорости плавания может также свидетельствовать о нарушении обмена ве-

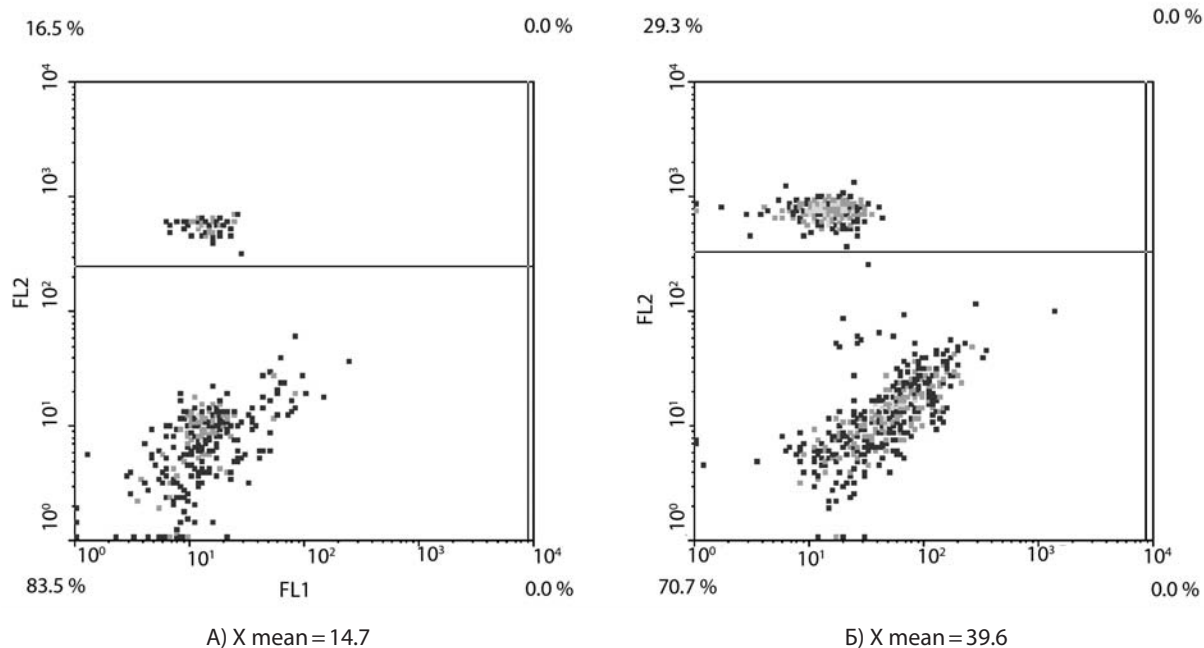


Рис. 2. Увеличение флуоресценции DCF (параметр X mean) и процента погибших клеток в суспензии нейронов, выделенной из мозжечка животных контрольной (А) и «метиониновой» группы (Б). Мертвые клетки располагаются сверху каждого рисунка

ществ в мозге животных, находящихся в условиях пренатальной гипергомоцистеинемии.

Результаты тестирования, проводившегося через 1 неделю после отмены метиониновой диеты, обнаружили, что время и скорость поиска платформы в группе животных, получавших метионин, уже достоверно не отличаются от показателей для контрольной группы, что свидетельствует об обратимости обнаруженных изменений, вызываемых гипергомоцистеинемией.

Важным параметром в оценке жизнедеятельности клеток и устойчивости их к токсическому влиянию свободнорадикальных молекул, образующихся в условиях окислительного стресса, является процент погибших клеток в выделенной клеточной суспензии. При сравнении этого параметра в популяциях клеток, выделенных из мозжечка животных контрольной и «метиониновой» групп (рис. 2), было отмечено увеличение процента погибших клеток в суспензии, полученной из мозжечка животных метиониновой группы ($30,3 \pm 3,3\%$) по сравнению с таковым в группе контрольных животных ($15,5 \pm 2,2\%$).

Исследование молекулярных свойств NMDA-рецепторов при формировании нервной системы в условиях гипергомоцистеинемии позволило определить чувствительность нейронов, полученных от животных исследуемых групп, к лигандам. Данные по действию NMDA, HC и HCA на NMDA-рецепторы гранулярных клеток, выделенных из мозжечка контрольных животных, соответствуют

результатам, полученным ранее при моделировании окислительного стресса *in vitro* на интактных животных [2]. Таким образом, нейроны контрольных животных чувствительны как к NMDA, так и к HC и HCA, а также собственно к глутамату (рис. 3). На рисунке также представлено подавляющее действие специфических антагонистов в случае активации исследуемыми лигандами ионотропных NMDA-рецепторов (МК-801, неконкурентного антагониста, блокирующего ионный канал рецепторов; D-AP5, высокоселективного конкурентного антагониста, препятствующего взаимодействию агонистов с лиганд-связывающим участком NMDA-рецептора). Эти данные являются важной характеристикой действия HC и HCA на ионотропные рецепторы — они показывают, что токсические аналоги глутамата способны не только связываться с NMDA-рецепторами, но и индуцируют активацию связанного с рецептором ионного канала.

При исследовании гранулярных клеток мозжечка животных, рожденных от самок с гипергомоцистеинемией, было обнаружено изменение ответа клеток на внесение агонистов. Увеличение уровня АФК в исследуемых клетках животных этой группы происходило лишь при воздействии на клетки HC и HCA, в то время, как при инкубации клеток с NMDA изменение уровня АФК в цитоплазме нейронов было слабо выражено (рис. 4), что указывает на возможную десенситизацию NMDA-рецепторов в условиях гипергомоцистеинемии.

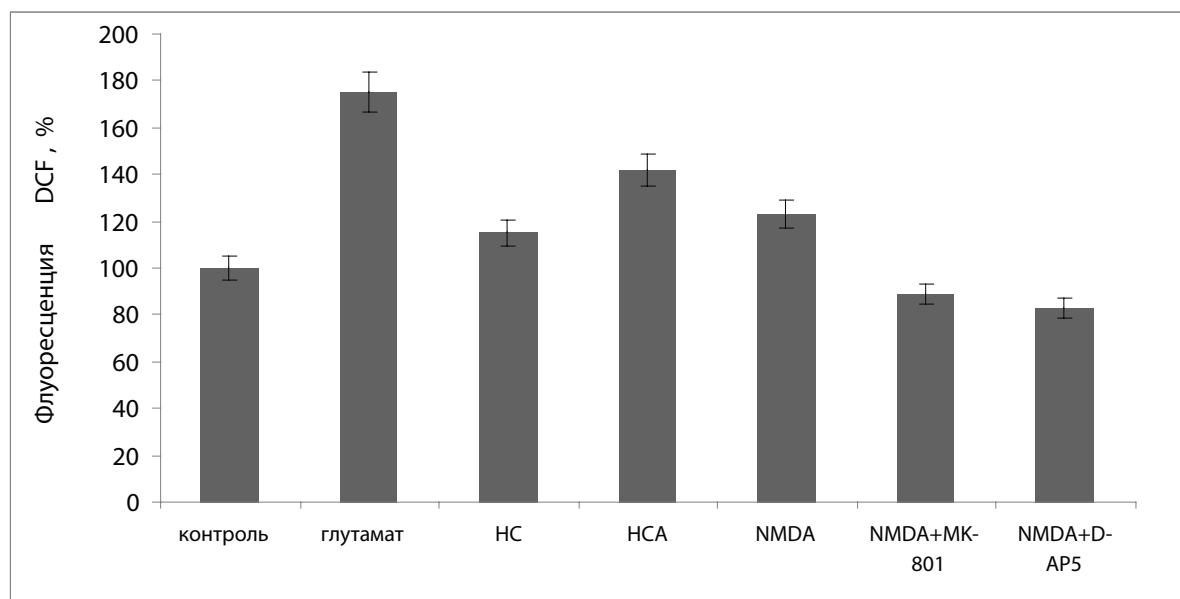


Рис. 3. Уровень активных форм кислорода в цитоплазме нейронов контрольных животных при инкубации с лигандами. Агонисты (500 мкМ): НС, НСА, NMDA; антагонисты (10 мкМ): МК-801, D-AP5

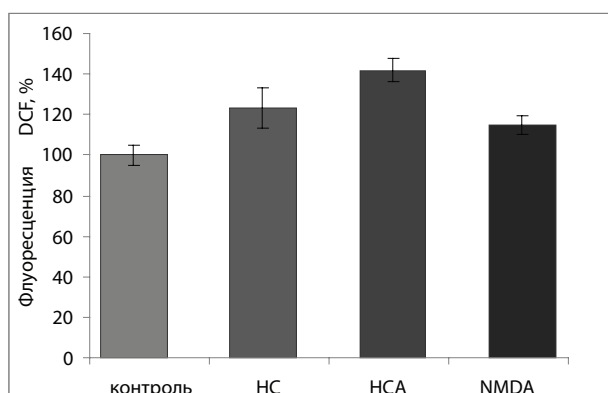


Рис. 4. Уровень активных форм кислорода в цитоплазме гранулярных клеток мозжечка животных «метиониновой» группы при инкубации с лигандами (500 мкМ)

Известно, что десенситизация NMDA-рецепторов мозжечка коррелирует со снижением активности этих рецепторов в гиппокампе, непосредственно отвечающем за формирование памяти, а следовательно, и с нарушением способности к обучению. В нашем случае это хорошо согласуется со снижением способности к обучению у «метиониновых» животных.

Эти группы рецепторов различаются в том отношении, что I группа обладает способностью защищать клетки от окислительного стресса, а III группа, напротив, усиливает его действие [4]. Как видно из представленных данных, оба исследуемых соединения препятствовали развитию ответа клеток на преинкубацию с НС и НСА (рис. 5). Эти данные с определенностью указывают на то, что хотя NMDA-рецепторы при гипергомоцистеинемии и десенситизированы, метаболитные ре-

цепторы остаются функционально активными и испытывают активирующее действие НС и НСА.

Первые сведения о том, что гипергомоцистеинемия относится к числу важных факторов, обуславливающих когнитивные дисфункции, появились относительно недавно, когда было показано, что хроническое введение метионина приводит к ухудшению кратковременной и долговременной памяти у крыс [5]. Было высказано предположение, что это вызвано усилением окислительного стресса в этих условиях [11], так как было обнаружено, что гомоцистеин подавляет экспрессию антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутаза и глутатионпероксидазы) в нервной ткани [11, 15, 17]. Наряду с этим клиническими наблюдениями было установлено, что повышение уровня гомоцистеина в крови вносит значительный вклад в развитие болезни Альцгеймера и других нейродегенеративных заболеваний [17, 9, 19, 25].

Дальнейшие исследования, проведенные G. Bayadas и соавт. [7, 14], выявили, что пренатальная гипергомоцистеинемия приводит к окислительному стрессу и активирует апоптоз в нервной ткани потомства крыс, а также угнетает экспрессию нейроспецифических адгезивных белков (белок S-100, GFAP N-CAM), которые играют важную роль в процессах синаптической пластичности в различных структурах мозга, в том числе в гиппокампе [6]. Обнаруженные изменения сопровождаются ухудшением когнитивных способностей потомства крыс, выращенного в условиях пренатальной гипергомоцистеинемии [7, 17]. К сожалению, в этих исследованиях не было проведено определение содержания гомоцистеина в крови ни беременных

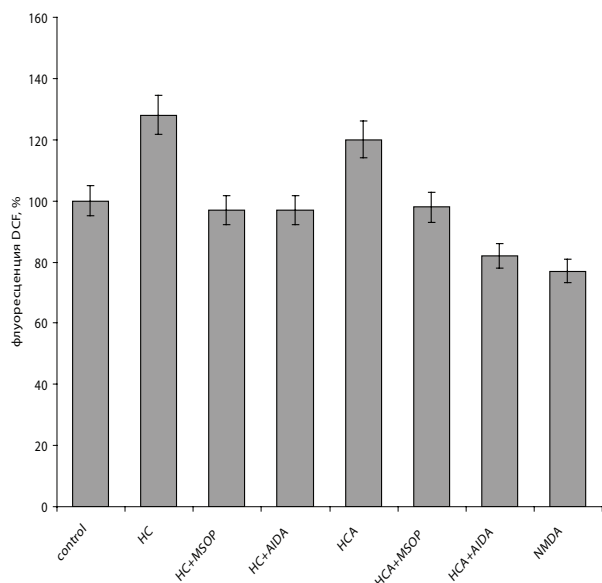


Рис. 5. Уровень активных форм кислорода в цитоплазме нейронов мозжечка животных «метиониновой» группы при инкубации с антагонистами метаботропных глутаматных рецепторов (AIDA и MSOP) в концентрации 10 мкМ.

крыс, ни их потомства, то есть не был проведен количественный контроль интенсивности гипергомоцистеинемии. В наших опытах эти измерения были осуществлены и продемонстрировали, что осложнения беременности и ухудшение когнитивных свойств потомства действительно вызваны гипергомоцистеинемией, причем эти нарушения частично обратимы. Более того, мы показали, что индукция окислительного стресса при использовании экспериментальной модели пренатальной гипергомоцистеинемии сопряжена с нарушением глутаматергической системы мозга. Мы постулируем, что одним из важных факторов влияния пренатальной гипергомоцистеинемии на когнитивные функции потомства, вероятно, является десенситизация глутаматных рецепторов NMDA-класса под влиянием гомоцистеина.

Заключение

В результате проведенной работы была отработана модель пренатальной гипергомоцистеинемии на беременных крысах, у которых беременность протекает в условиях пищевой нагрузки метионином. Оказалось, что введение метионина в питье экспериментальной группе животных в концентрации $(1 \pm 0,01)$ г/кг массы сопровождается увеличением содержания гомоцистеина в плазме крови беременных самок и в какой-то мере их потомства. Вес животных, развивающихся в условиях пренатальной гипергомоцистеинемии, был достоверно меньше, чем в группе контрольных животных ($17,86 \pm 3,05$ г против $23,05 \pm 1,45$ г соответственно). При помощи теста Морриса показано, что жи-

вотные, развивавшиеся в условиях пренатальной гипергомоцистеинемии, обладают пониженной по сравнению с контрольной группой способностью к обучению. Исследования, проведенные с помощью проточной цитометрии, показали, что процент погибших клеток в популяции нейронов, выделенной из мозга животных «метиониновой» группы, в два раза выше, чем у контрольной. Установлено, что развитие мозга в условиях пренатальной гипергомоцистеинемии происходит на фоне десенситизации NMDA-рецепторов гранулярных клеток мозжечка, причем токсический эффект гомоцистеина и гомоцистеиновой кислоты на нейроны в этих условиях может реализоваться также через метаботропные глутаматные рецепторы.

Авторы признательны сотрудникам кафедр биохимии биологического факультета МГУ и Научного центра неврологии РАМН А. В. Махро, А. П. Машкиной, Л. П. Карповой, М. С. Степановой, О. А. Труновой и Е. Р. Булыгиной за участие в выполнении проведенных экспериментов и проф. А. А. Болдыреву за плодотворную дискуссию.

Литература

1. Карнозин защищает от окислительного стресса, вызванного гипергомоцистеинемией / Махро А. В. [и др.] // Нейрохимия. — 2008. — Т. 23, № 4. — С. 233–240.
2. Махро А. В., Булыгина Е. Р., Болдырев А. А. Влияние гомоцистеина и гомоцистеиновой кислоты на гранулярные клетки мозжечка // Нейрохимия. — 2006. — Т. 23, № 3. — С. 179–184.
3. A common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene as a new risk factor for placental vasculopathy / Van der Molen E. F. [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. — 2000. — Vol. 182. — P. 1258–1263.
4. Boldyrev A. A. Why homocysteine is a risk factor of neurodegenerative diseases // Neurochemical J. — 2007. — Vol. 1. — P. 14–20.
5. Chronic hyperhomocysteinemia provokes a memory deficit in rats in the Morris water maze test / Streck E. L. [et al.] // Behav. Brain Res. — 2004. — Vol. 153. — P. 377–381.
6. Delayed and isoform-specific effect of NMDA exposure on neural cell adhesion molecules in hippocampus / Hoffman K. B. [et al.] // Neurosci. Res. — 2001. — Vol. 39. — P. 167–173.
7. Effects of maternal hyperhomocysteinemia induced by high methionine diet on the learning and memory performance in offspring / Bayadas G. [et al.] // Int. J. Devel. Neurosci. — 2007. — Vol. 25. — P. 133–139.
8. Fukunaga A., Kawase T., Uchida K. Functional recovery after simultaneous transplantation with neuro-epithelial stem cells and adjacent mesenchymal tissues into infarcted rat brain // Acta. Neurochir. — 2003. — Vol. 145. — P. 473–481.
9. Homocysteine and coronary atherosclerosis / Mayer E. [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. — 1996. — Vol. 27. — P. 517–527.

10. Inherited thrombophilia is associated with early onset pre-eclampsia, fetal growth restriction, fetal demise and abruptio placentae / Kupfermine M. J. [et al.] // Soc. Gynecol. Invest. — 1998. — Vol. 5. — P. 137A.
11. Inhibitory effects of melatonin on neural lipid peroxidation induced by intracerebroventricularly administered homocysteine / Bayadas G. [et al.] // J. Pineal. Res. — 2003. — Vol. 34. — P. 36–39.
12. *Mattson M. P., Shea T. B.* Folate and homocysteine metabolism in neural plasticity and neurodegenerative disorders // Trends Neurosci. — 2003. — Vol. 26. — P. 137–146.
13. Melatonin improves learning and memory performances impaired by hyperhomocysteinemia / Bayadas G. [et al.] // Brain Res. — 2005. — Vol. 1046. — P. 187–194.
14. Melatonin inhibits oxidative stress and apoptosis I fetal brain of hyperhomocysteinemic rat dams / Bayadas G. [et al.] // J. Pineal Res. — 2007. — Vol. 43. — P. 225–231.
15. Melatonin prevents oxidative stress and inhibits reactive gliosis induced by hyperhomocysteinemia in rats / Bayadas G. [et al.] // Biochemistry. — 2006. — Vol. 71. — P. 91–95.
16. *Miller A. L.* The methionine-homocysteine cycle and its effects on cognitive diseases // Altern. Med. Rev. — 2003. — Vol. 8. — P. 7–19.
17. Multiple aspects of homocysteine neurotoxicity: glutamate neurotoxicity, kinase hyperactivation and DNA damage / Ho P. I. [et al.] // J. Neurosci. Res. — 2002. — Vol. 70. — P. 694–702.
18. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions / Morris R. G. [et al.] // Nature. — 1982. — Vol. 297. — P. 681–683.
19. *Shea T. B., Lyons-Weiler J., Rogers E.* Homocysteine, folate deprivation and Alzheimer neuropathology // J. Alzheimers Dis. — 2002. — Vol. 4. — P. 261–267.
20. Sources of reactive oxygen species production in excitotoxin-stimulated cerebellar granule cells / Boldyrev A. A. [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1999. — Vol. 256. — P. 320–324.
21. *Stein J., Mc Bride P.* Hyperhomocysteinemia and atherosclerotic vascular disease // Arch. Intern. Med. — 1998. — Vol. 158. — P. 1301–1306.
22. Transplantation of primed human fetal neural stem cells improves cognitive function in rats after traumatic brain injury / Gao J. [et al.] // Experimental Neurology. — 2006. — Vol. 201. — P. 281–292.
23. *Vollset S. E.* Plasma total homocysteine, pregnancy complications, and adverse pregnancy outcomes: the Hordaland Homocysteine Study // Am. J. Clin. Nutr. — 2000. — Vol. 71. — P. 962–968.
24. *Whishaw Ian Q.* Formation of a place-learning set by the rat. A new paradigm for neurobehavioral studies // Physiol. Beh. — 1984. — Vol. 5. — P. 139–143.
25. *White A. R., Huang X., Jobling M. F.* Homocysteine potentiates copper- and amyloid beta peptide-mediated toxicity in primary neuronal cultures possible risk factors in the Alzheimer-type neurodegenerative pathways // J. Neurochem. — 2001. — Vol. 76. — P. 1509–1520.

Статья представлена И. И. Евсюковой,

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта,

Санкт-Петербург

TOXIC EFFECT OF PRENATAL HYPERHOMOCYSTEINEMIA ON OFFSPRING (EXPERIMENTAL STUDY)

Arutjunyan A. V., Kozina L. S., Arutyonov V. A.

■ **Summary:** Experimental prenatal hyperhomocysteinemia (pregnant rats were methionine-loaded) has been shown to elevate homocysteine blood level not only in female rats, but also in their offspring. This was accompanied by a decrease in body weight and cognitive abilities of newborn rats, which was assessed with the use of Morris's test. The experiments carried out have shown that oxidative stress induced in the model of prenatal hyperhomocysteinemia *in vivo* is associated with glutamatergic system impairment in brain. It has been revealed that prenatal hyperhomocysteinemia desensitizes NMDA-ionotropic receptors of glutamate on the surface of the parencephalon granule cells, but the toxic effect of homocysteine and homocysteinic acid may also be implemented via metabotropic receptors of glutamate.

■ **Key words:** pregnancy; hyperhomocysteinemia; homocysteine; fetus; oxidative stress; rats.

■ Адреса авторов для переписки

Арутюнян Александр Вартанович — д. б. н., профессор, руководитель лаборатории биохимии с отделением клинической диагностики. ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.
E-mail: iagmail@ott.ru.

Козина Людмила Семеновна — д. б. н., доцент, аспирант, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии СЗОР АМН. 197110 Россия, Санкт-Петербург, пр. Динамо, дом 3.
E-mail: ibg@gerontology.ru.

Арутюнов Владимир Александрович — к. б. н., с. н. с. лаборатории биохимии Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии СЗОР АМН. 197110 Россия, Санкт-Петербург, пр. Динамо, дом 3.
E-mail: ibg@gerontology.ru.

Arutjunyan Alexander Vartanovich — Dr. Biol. Sci., professor, Head of the Laboratory of Biochemistry with Division of Clinical Diagnostics. D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3.
E-mail: iagmail@ott.ru.

Kozina Ljudmila Semenovna — Dr. Biol. Sci., Assistant professor, Leading scientific worker of Laboratory of Biochemistry. St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, North-West Branch of RAMS. 3, Dynamo pr., Saint Petersburg, Russia, 197110.
E-mail: ibg@gerontology.ru.

Arutyonov Vladimir Alexandrovich — PhD., Senior scientific worker of Laboratory of Biochemistry. St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, North-West Branch of RAMS. 3, Dynamo pr., Saint Petersburg, Russia, 197110.
E-mail: ibg@gerontology.ru.

© Н. В. Артымук¹, Е. Ф. Кира²,
Т. А. Кондратьева³

¹ ГОУ ВПО Кемеровская государственная медицинская академия, кафедра акушерства и гинекологии №2 (зав. — проф. Артымук Н. В.), г. Кемерово

² ФГУ «Национальный медико-хирургический центр им. Н. И. Пирогова», кафедра женских болезней и репродуктивного здоровья (зав. — проф. Кира Е. Ф.), г. Москва

³ Кемеровская областная клиническая больница (гл. врач — Новиков В. Э.), г. Кемерово

ЭФФЕКТИВНОСТЬ И БЕЗОПАСНОСТЬ ИНТРАВАГИНАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ГЕЛЯ, ИЗГОТОВЛЕННОГО НА ОСНОВЕ ГРЯЗИ МЕРТВОГО МОРЯ, У ЖЕНЩИН С НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ ЛЮТЕИНОВОЙ ФАЗЫ

УДК: 618.1-085

■ **Дизайн исследования** — проспективное, рандомизированное, слепое, плацебо-контролируемое. В исследование включено 40 женщин репродуктивного возраста с недостаточностью лютеиновой фазы. Установлено, что интравагинальное применение геля, изготовленного на основе грязи Мертвого моря, способствует улучшению кровообращения в яичниковых артериях, значительному увеличению содержания эстрадиола и прогестерона, является безопасным и достаточно эффективным методом коррекции недостаточности лютеиновой фазы.

■ **Ключевые слова:** недостаточность лютеиновой фазы; грязи Мертвого моря; пелоидотерапия.

Известно, что недостаточность лютеиновой фазы (НЛФ) сопутствует практически всем гинекологическим заболеваниям и выявляется при невынашивании беременности, бесплодии, дисменорее, предменструальном синдроме, дисфункциональных маточных кровотечений, гиперпролактинемии, миоме матки, эндометриозе, врожденной дисфункции коры надпочечников, синдроме поликистозных яичников, нейрообменно-эндокринном синдроме, фиброзно-кистозной мастопатии и др. [1].

НЛФ встречается в популяции в 3–25 % случаев. Впервые на НЛФ, как на возможную причину бесплодия указали J. Rock и M. Bartelt в 1937 г. В настоящее время с НЛФ связывают до 20 % причин бесплодного брака [12]. Кроме того, НЛФ объясняют около 40 % всех случаев самопроизвольного прерывания беременности эндокринного генеза [5, 13].

Большинство исследований подтверждают гипотезу о том, что НЛФ всегда вторична вследствие нарушения формирования фолликула, а затем и желтого тела яичника. Основными средствами лечения НЛФ считают назначение индукторов овуляции и препаратов прогестерона [11].

Известно, что одним из наиболее физиологических природных факторов, нормализующих гормональную функцию яичников, являются пелоиды [4]. Пелоидами (от греч. «πελος» — ил, глина) называют вещества, которые образуются в естественных условиях под влиянием геологических процессов и в тонкоизмельченном состоянии в сочетании с водой применяются с лечебными целями в виде ванн и местных аппликаций. Лечебная грязь оказывает на организм комплексное воздействие. Благодаря своему химическому составу грязь интенсифицирует микроциркуляцию крови и, следовательно, все обменные процессы в слизистых оболочках. Находящиеся в грязях минеральные соли, микроэлементы и органические вещества способствуют нормализации микробного дисбаланса, оказывают коагулирующее и кератолитическое действие, стимулируют созревание коллагеновых структур и подавляют аутоиммунные процессы, обеспечивают бактерицидные, фунгицидные и противовоспалительные свойства [2, 7].

По данным Bromirska D. (1993), применение грязей приводит к увеличению концентрации прогестерона и эстрадиола как у женщин с нормальной функцией яичников, так и с недостаточностью гормональной функции желтого тела [10]. Существует различные методики грязелечения: общие, местные, комбинированные. Наиболее эффективной для лечения гинекологических заболеваний считается применение интравагинальной пелоидотерапии. Влагалищные грязевые тампоны впервые были применены в 1896 г. на Старорусском курорте для лечения ряда гинекологических заболеваний [4]. Однако традиционная процедура пелоидотерапии является достаточно трудоемкой, требует наличия подготовленного персонала, специальных помещений и дорогостоящего оборудования. В связи с этим для амбулаторного применения были разработаны специальные одноразовые инъекторы с гелем, изготовленным на основе грязей Мертвого моря.

Мертвое море — самое соленое в мире озеро, самый большой естественный минеральный источник на Земле, а его грязи обладают наиболее высокой минерализацией (содержанием активных веществ). Лечебные свойства Мертвого моря и его продуктов общеизвестны. Грязь Мертвого моря относят к группе хлор-сульфидных илов. Она качественно отличается от других пелоидов существенно более высокой минерализацией (242,4 г/л) и, соответственно, терапевтическим действием [2]. Грязи Мертвого моря в физико-химическом отношении представляют собой сложную динамическую систему, состоящую из нерастворимых минералов и труднорастворимых солей. В состав грязей Мертвого моря входят такие минералы, как полевые шпаты, кварц, слюда, каолин, бетонит, а также соли магния, кальция, брома, меди, цинка, железа, лития, кобальта, йода, марганца и т. д. Уникальная особенность грязей Мертвого моря заключается в их микроэлементном составе и структуре — малой величине зерен (45 микрон), что обеспечивает мелкодисперсную, коллоидную консистенцию. Кроме того, в их составе обнаружены гормоноподобные вещества (дериваты мужских и женских половых гормонов) [4].

Цель исследования

Оценить эффективность и безопасность интравагинального применения геля, изготовленного на основе грязи Мертвого моря, у женщин с недостаточностью лютеиновой фазы.

Дизайн

Перспективное, рандомизированное, слепое, плацебо-контролируемое исследова-

ние. Одобрено Комитетом по этике ГОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия» Росздрава.

Материалы

В исследование включено 40 женщин репродуктивного возраста с НЛФ. Критерии включения в исследование: возраст от 18 до 45 лет; НЛФ устанавливалась на основании наличия уровня базальной температуры лютеиновой фазы ≤ 11 дней, содержания прогестерона в середине лютеиновой фазы < 48 нмоль/л, неполноценной секреторной трансформации эндометрия через 2 суток (по данным его гистологического исследования) [15]; пациентки, подписавшие информированное согласие на участие в исследовании после полного разъяснения протокола; пациентки, соблюдающие указания врача.

Критериями исключения являлись общие заболевания, исключающие санаторно-курортное лечение; обострение хронического воспалительного заболевания органов малого таза; все венерические заболевания; предраковые заболевания вульвы, влагалища, шейки матки, эндометрия; лактация и все сроки беременности; гиперпластические процессы эндометрия; доброкачественные опухоли половых органов; кровотечения из половых путей неуточненного генеза, отказ пациентки от участия в исследовании.

Основную группу (I) составили 20 женщин, которым было назначено по 1 инъектору (60 мл) геля на основе грязи Мертвого моря («БиЛайвМед+», Россия) интравагинально в течение 12 дней по 30 минут с 7–8-го дня менструального цикла. II группу (сравнения) составили 20 женщин, которые получали по 1 инъектору (60 мл) плацебо интравагинально аналогичным курсом.

Средний возраст женщин в I группе составил $28,1 \pm 2,1$ года, во II — $28,3 \pm 2,5$ лет ($p=0,786$). Первичное бесплодие имело место у половины женщин I и II группы; трубно-перитонеальное бесплодие наблюдалось в I группе — у 55%, во II группе — у 40% женщин, эндокринное, соответственно, — у 45% и 60% ($p>0,05$).

Методы исследования

Проводилось общеклиническое, специальное гинекологическое обследование, ультрасонография органов малого таза и оценка кровотока в маточных и яичниковых артериях на 18–22-й день менструального цикла перед и после курса пелоидотерапии аппаратом «Honda Electronics HS-2000» (Япония). В спектре артериальных сосудов определяли общепринятые углозависимые показатели сосудистой резистент-

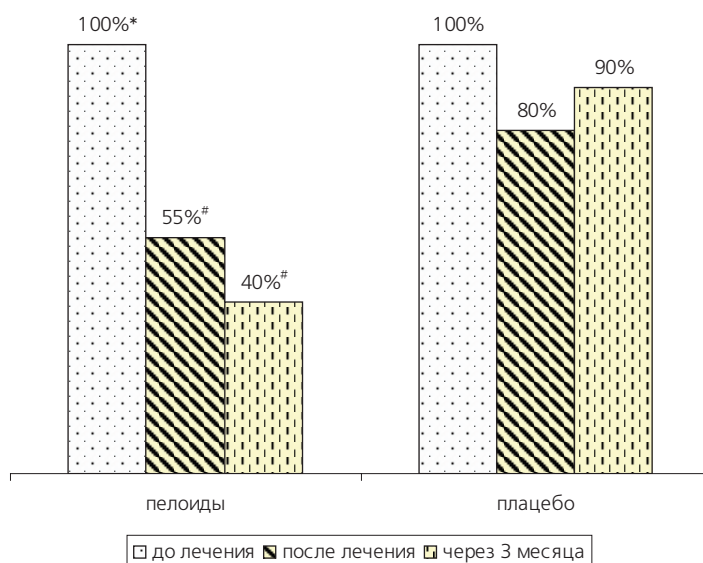


Рис. 1. Частота ановуляторных менструальных циклов до и после лечения в группе основной и плацебо

* — $p < 0,05$ — до и после лечения

— $p < 0,05$ — между пелоидами и плацебо

ности: систоло-диастолическое отношение (СДО), индекс резистентности (ИР), пульсационный индекс (ПИ). Определяли показатели максимальной систолической (А), конечной диастолической (В) и средней (М) скоростей кровотока. Показатели определялись ультразвуковым прибором автоматически по формулам: $СДО = A/B$; $ИР = (A - B)/A$; $ПИ = (A - B)/M$. Диагностическая гистероскопия проводилась до и после курса пелоидотерапии на 22–24-й день менструального цикла 4 мм жестким гистероскопом фирмы «Olimpus» (Япония) с пайпель-биопсией эндометрия и его последующим гистологическим исследованием по стандартной методике. Определение содержания эстрадиола, тестостерона, пролактина (ПРЛ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), лютеонизирующего гормона (ЛГ), тиреотропного гормона (ТТГ) проводилось на 5–6-й день менструального цикла и прогестерона в середине II фазы менструального цикла методом ИФА с использованием стандартных наборов «DSL» (США) до и после проведенного лечения. В течение 3 менструальных циклов до и после пелоидотерапии проводилась оценка графиков базальной температуры. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета прикладных программ «Statistica for Windows 5.5». По каждому параметру определяли среднюю арифметическую величину (М) и среднее квадратичное отклонение (σ). Проверку гипотезы о равенстве средних величин проводили с помощью U-критерия Манна–Уитни. Для оценки значимости изменения параметра в процессе лечения применяли W-критерий

Вилкоксона. Достоверность различий определяли с помощью t-критерия Стьюдента. За статистически значимые принимались различия по величине достоверности $p < 0,05$.

Результаты исследования

В результате проведенного исследования не установлено клинически значимых нежелательных явлений в обеих группах. У одной пациентки основной группы отмечено чувство жжения при первой процедуре пелоидотерапии, которое более не наблюдалось в последующем и не потребовало отмены или изменения лечения.

После пелоидотерапии в I группе количество пациенток с НЛФ значительно снизилось (согласно данным гистологического исследования биоптата эндометрия и оценки кривых базальной температуры) и составляла в следующем менструальном цикле после пелоидотерапии 11 женщин (55%). В группе плацебо не установлено статистически значимого снижения женщин с НЛФ. Двухфазный менструальный цикл наблюдался только у 4 (20%) больных. Через 3 месяца в I группе НЛФ (по результатам измерения базальной температуры) диагностирована у 8 пациенток (40%), тогда как во II группе — у 18 (90%) ($p < 0,001$) (рис. 1).

На рисунках 2 и 3 представлены микрофотографии эндометрия у пациентки 32 лет с НЛФ и бесплодием до и после пелоидотерапии. До лечения (рис. 2) состояние эндометрия характеризовалось неполноценной секреторной трансформацией, после курса пелоидотерапии (рис. 3) — полноценной фазой секреции.

Таблица 1

Показатели гормонов у пациенток основной и плацебо-группы до и после лечения

Уровень гормона	Пелоиды (n=20)			Плацебо (n=20)		
	До лечения	После лечения	Через 3 месяца	До лечения	После лечения	Через 3 месяца
ТТГ, мкМЕ/л	1,55±0,5	1,61±0,45	1,60±0,6	1,67±0,5	1,70±0,5	1,65±0,65
ПРЛ, МЕ/л	485±125	441±105	430±99	440±95	438±67	402±68
ФСГ, МЕ/л	7,2±2,2*	5,4±2,1	6,1±2,1	6,9±2,4	5,9±2,5	6,3±1,9
ЛГ, МЕ/л	6,8±2,5	5,3±2,3	6,1±2,2	6,9±2,4	5,9±2,5	6,3±1,9
Эстрадиол, пг/мл	30,5±7,5*	57,6±7,4#**	43,5±8,6	32,4±6,9	35,1±7,2	39,1±8,1
Прогестерон, нмоль/л	12,3±5,1*	25,7±5,5#**	17,1±4,8	12,8±5,5	13,5±5,3	15,5±5,2
Тестостерон, нмоль/л	2,5±1,8	3,1±1,6	2,8±1,8	2,2±1,6	2,4±1,4	2,2±1,6

Примечание:
 * — $p < 0,05$ между группами до и после лечения
 ** — $p < 0,05$ между группами сразу после и через 3 месяца после лечения
 # — $p < 0,05$ между основной и плацебо-группами

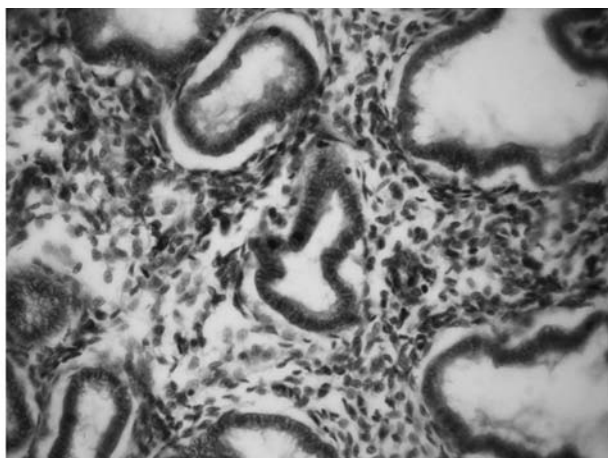


Рис. 2. Эндометрий до пелоидотерапии у пациентки 32 лет с НЛФ и бесплодием: неполноценная секреторная трансформация эндометрия. Ув. 400

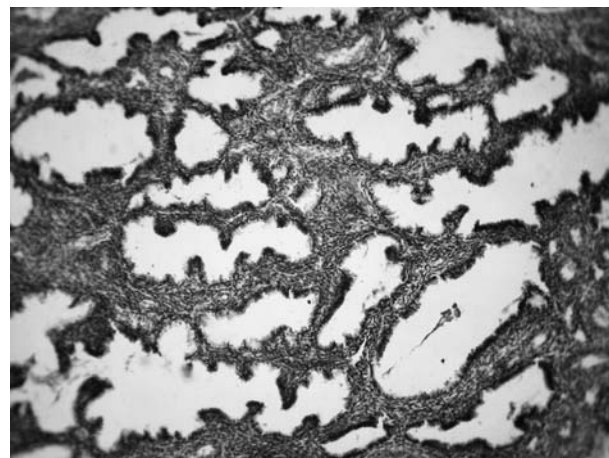


Рис. 3. Эндометрий после пелоидотерапии у пациентки 32 лет с НЛФ и бесплодием: полноценная фаза секреции. Ув. 200

Проведение пелоидотерапии способствовало улучшению кровообращения в яичниковых артериях на стороне формирования желтого тела, о чем свидетельствовало статистически значимое снижение СДО с $8,6 \pm 2,1$ перед проведением терапии до $5,6 \pm 2,2$ после лечения ($p = 0,019$). С противоположной стороны имело место увеличение ИР: до лечения — $0,85 \pm 0,1$ и после пелоидотерапии — $0,98 \pm 0,2$ ($p = 0,013$). Статистически значимого изменения других показателей установлено не было.

Показатели гормонов у пациенток I и II групп до и после лечения представлены в таблице 1.

У пациенток I группы после пелоидотерапии отмечалось увеличение содержания прогестерона в сыворотке крови в среднем в 2,1 раза с $12,3 \pm 5,1$ до $25,7 \pm 5,5$ нмоль/л ($p < 0,001$). В группе плацебо концентрация прогестерона статистически значимо не изменялась.

Содержание эстрадиола после лечения в I группе также увеличилось в среднем в 1,9

раза с $30,5 \pm 7,5$ до $57,6 \pm 7,4$ пг/мл ($p < 0,001$) и существенно не изменилось во II группе. Статистически значимого изменения концентрации тестостерона в обеих группах установлено не было.

Через 3 месяца после пелоидотерапии отмечалось существенное снижение уровня как эстрадиола до $43,5 \pm 8,6$ пг/мл ($p < 0,001$), так и прогестерона до $17,1 \pm 4,8$ нмоль/л ($p < 0,001$), однако их содержание оставалось значимо выше, чем у этих женщин до пелоидотерапии ($p < 0,001$; $p = 0,004$).

После пелоидотерапии у женщин I группы отмечалось вторичное снижение уровня ФСГ ($p = 0,010$), которое восстанавливалось к 3-му месяцу после лечения. Статистически значимого изменения содержания ЛГ, ТТГ, ПРЛ в обеих группах установлено не было.

Следует отметить, что несмотря на то, что средние значения эстрадиола и прогестерона через 3 месяца после прекращения лечения пе-

лоидами статистически значимо не отличались от аналогичных в группе плацебо ($p=0,104$; $p=0,316$), тем не менее, частота полноценных овуляторных циклов (по данным базальной температуры), а также частота наступления беременности у этих женщин была достоверно выше, чем в группе сравнения. Полученные результаты позволяют предположить, что грязелечение оказывает не только прямое нормализующее влияние на гормонообразование в яичниках, способствует повышению содержания эстрадиола и прогестерона. По-видимому, механизмы воздействия грязей у женщин с НЛФ более сложны и многогранны. Следует предположить, что пелоиды воздействуют на рецепторный аппарат половых органов, способствуя восстановлению его чувствительности к половым стероидам. Кроме того, данные литературы указывают на возможность грязелечения влиять на процессы активизации адаптационных механизмов, нормализации обменных процессов, а также восстановления тканевого дыхания [2, 8].

«Жизнь» желтого тела начинается немедленно после овуляции и характеризуется формированием плотной, многослойной сети капилляров, которые дренируются многочисленными венами [3]. Показатели доплерометрии в яичниковых артериях изменяются циклически на протяжении менструального цикла, однако максимальные скорости кровотока большинство исследователей определяли именно на стадии расцвета желтого тела (18–22-й день). Анализ кривых скоростей кровотока в середине второй фазы до и после лечения показал, что пелоидотерапия способствует улучшению кровообращения в органах малого таза, ускорению кровотока в яичниковых артериях на стороне формирования желтого тела. Увеличение ИР с противоположной стороны позволяет предположить развитие «синдрома обкрадывания». При отсутствии овуляции и формирования желтого тела в течение менструального цикла, по данным литературы, не установлено значимого изменения скоростей кровотока в органах малого таза [14, 9]. Однако полученные нами результаты согласуются с данными В. Я. Наумовой (2008), которая также наблюдала снижение кровотока с противоположной стороны формирования желтого тела после применения СМТ-фореза грязи у женщин с хроническими воспалительными заболеваниями органов малого таза [6].

Через 6 месяцев после однократного курса лечения гелем на основе грязи Мертвого моря беременность среди пациенток I группы наступила в 9 (45%) случаях, в группе сравнения — в 2 (10%) ($p<0,001$). Через 12 месяцев в I группе бере-

менность диагностирована у 12 женщин (60%), во II — у 4 (20%) соответственно ($p<0,001$).

Таким образом, интравагинальное применение геля, изготовленного на основе грязи Мертвого моря, способствует улучшению кровообращения в яичниковых артериях, значительно увеличению содержания эстрадиола и прогестерона, является безопасным и достаточно эффективным методом коррекции недостаточности лютеиновой фазы.

Литература

1. Дикке Г. Б., Кира Е. Ф. Клиническое применение соли и грязи Мертвого моря в лечении хронических заболеваний половых органов у женщин и мужчин (руководство для врачей). — 2008. — 19 с.
2. Зыкин Б. И., Буланов М. Н. Допплерэхография яичников // В книге: Допплерография в гинекологии. Под ред. Б. И. Зыкина, М. В. Медведева 1-е изд. М: РАВУЗДПГ, Реальное время, 2000. — С. 93–98.
3. Кира Е. Ф. Клиническое применение соли и грязи Мертвого моря в лечении хронических заболеваний половых органов у женщин. В кн.: Гинекология / Под ред. В. Н. Серова, Е. Ф. Кира — М.: Литерра, 2008. — С. 478–485.
4. Краснопольский В. И., Логотова Л. С., Серова О. Ф. и соавт. Диагностика недостаточности лютеиновой фазы // Российский вестник акушера-гинеколога. — 2006. — №2. — С. 12–16.
5. Линева О. И., Пекарев В. А., Кузичкина Н. В., Богуславская Д. В., Маслова С. Э. // Клинический опыт коррекции недостаточности лютеиновой фазы утрожестаном. — 2007. — №6. — С. 36–42.
6. Наумова В. Я., Кравчук Т. А., Мальцева Е. Г., Тюрикова О. М., Шмакова М. Л. Оценка эффективности при помощи доплерометрического мониторинга СМТ-фореза грязи санатория «Ува» при хронических воспалительных заболеваниях органов малого таза у женщин // Актуальные вопросы оздоровления и реабилитации беременных и гинекологических больных в санаторно-курортных условиях: материалы межрегиональной научно-практической конференции. — Пермь, 2008. — С. 68–71.
7. Уткин Е. В., Артымук Н. В. Реабилитация женщин с нарушениями репродуктивной функции в условиях санатория (методические рекомендации). — 2007. — 26 с.
8. Barret S. A review on pelvic inflammatory disease / S. Barret, C. Taylor // Int. J. STD AIDS. — 2005. — V.16, N 11. — P. 715–720.
9. Bromirska D. Effect of hyperthermic and isothermic mud application on hormonal function on normal and insufficient corpus luteum in women // Ann Acad Med Statin. 1993; 39:133–46.
10. Devoto L. Luteal phase physiology and its relevance for steroids and human chorionic gonadotropin treatment // J Cline Endocrinol Metab 2008; 24(5): 237–238.

11. *Lawrence Engman, Anthony A. Luciano* Luteal phase deficiency: What we now know // OBG Management. August 2003. Vol. 15, No. 8. — P. 41–61.
12. *Parsons A. K.* Sonographic demonstration and analysis of the vascular structure of the human corpus luteum// Ultrasound Obstet. Gynecol. 1996. V. 8. Suppl. 1. P. 252.
13. *Turrentain J. E.* Clinical protocols in Obstetrics and gynecology. 2nd ed. 2003. P. 217–218.
14. *Wutke W., Pitzel L., Seidlova-Wutke D., Hinney B.* LH pulses and the corpus luteum: the luteal phase deficiency (LPD)// Vitam Horm. 2001; 63: 131–158.
15. *Zaidi J., Collins W., Campbell S. et al.* Blood flow changes in the ovarian arteries during preovulatory period: relationship the time of day // Ultrasound Obstet. Gynecol. 1996. V. 7. P. 135–140.

Статья представлена А. М. Савичевой
 ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта,
 Санкт-Петербург

EFFICACY AND SAFETY OF THE INTRAVAGINAL GEL PREPARED ON THE BASIS OF THE DEAD SEA PELOID IN WOMEN WITH LUTEAL PHASE DEFICIENCY

Kira E. F., Artymuk N. V., Kondratieva T. A.

■ **Summary:** Study design — prospective, randomized, blind, placebo-controlled study. Study subjects included 40 women of reproductive age with luteal phase deficiency. The results of this research showed that intravaginal gel prepared on the basis of the Dead Sea peloid promotes the improvement of blood circulation in ovarian arteries on the corpus luteum side, significant increase of estradiol and progesterone concentrations in women with luteal phase deficiency. It is a safe and quite effective method of the luteal phase deficiency management.

■ **Key words:** luteal phase deficiency; Dead Sea peloids; pelotherapy.

■ Адреса авторов для переписки

Кира Евгений Федорович — д. м. н., профессор, главный акушер-гинеколог Национального медико-хирургического центра им. Н. И. Пирогова, заведующий кафедрой женских болезней и репродуктивного здоровья Института усовершенствования врачей, заслуженный врач РФ.

г. Москва, ул. Нижняя Первомайская, 70.

E-mail: dr-kira@mail.ru

Артюмук Наталья Владимировна — д. м. н., профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии №2 ГОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия» Росздрава, руководитель акушерско-гинекологической клиники Кемеровской областной клинической больницы, президент Кемеровской региональной общественной организации «Ассоциация акушеров-гинекологов».

650029, г. Кемерово, ул. Ворошилова, 22а.

E-mail: roddom_kokb@mail.ru

Кондратьева Татьяна Александровна — врач акушер-гинеколог Кемеровской областной клинической больницы.

650056 г. Кемерово, пр. Октябрьский, 22.

E-mail: roddom_kokb@mail.ru

Eugeny F. Kira — MD, Professor, Chief Obstetrician-Gynecologist of the N. Pirogov National Medical-Surgical Centre, Head of the Department of Female Diseases and Reproductive Health in the Institute of Advanced Training for Doctors, Honored Doctor of the RF. Scientific Center of Neurology RAMS.

Moscow, Russia, Nizhnyaya Pervomayskaya street, 70.

E-mail: dr-kira@mail.ru

Natalia V. Artymuk — MD, Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology № 2 of the Kemerovo State Medical Academy, Head of the Ob/Gyn Clinic in the Kemerovo Regional Hospital, President of the “Obstetricians and Gynecologists Association”.

Kemerovo Region, Voroshilov street, 22a, Kemerovo, Russia, 650029.

E-mail: roddom_kokb@mail.ru

Tatyana A. Kondratieva — Obstetrician-Gynecologist of Kemerovo Regional Hospital.

Scientific Center of Neurology RAMS.

Kemerovo, Russia, Otyabrskiy prospect, 22.

E-mail: roddom_kokb@mail.ru

© А. А. Андреева, Т. И. Опарина

ГУ НИИ акушерства и гинекологии
им. Д. О. Отта СЗО РАМН

ПРОДУКЦИЯ ОКИСИ АЗОТА У НОВОРОЖДЕННЫХ, ПЕРЕНЕСШИХ ВНУТРИУТРОБНУЮ ГИПОКСИЮ

УДК: 618.33-008.922.1:616-053.3-06]-07

■ Показано, что у доношенных новорожденных, перенесших хроническую гипоксию, в два раза увеличена продукция окиси азота (NO) по сравнению со здоровыми детьми. Стойкое повышение NO у этих детей в раннем неонатальном периоде играет существенную роль в генезе церебральной ишемии.

■ **Ключевые слова:** окись азота; новорожденный; гипоксия.

Введение

В последнее десятилетие наблюдается рост у детей соматических и нервно-психических заболеваний, истоки которых лежат в патологии антенатального развития и раннего неонатального периода жизни [1, 8, 5]. Наиболее высока частота неблагоприятных последствий у детей, перенесших хроническую внутриутробную гипоксию. Известно, что у них значительно затруднен процесс постнатальной адаптации, нарушено становление функций нервной и других функциональных систем организма [1, 5]. В связи с этим актуальной проблемой является изучение патогенеза неблагоприятного влияния гипоксии с целью разработки адекватных подходов к профилактике, ранней коррекции выявленных нарушений и оптимальной реабилитации.

Известно, что в механизмах адаптации к гипоксии и развития постреанимационной болезни существенная роль принадлежит окиси азота (NO) [10, 18, 19]. Окись азота играет важную роль в обеспечении жизнедеятельности и развития плода в единой системе «мать–плацента–плод» [11, 18, 12, 25]. Как избыточная, так и недостаточная продукция окиси азота может явиться причиной патологических изменений в организме. Избыточная продукция NO приводит к образованию таких токсичных продуктов, как пероксинитрит (-ONOO), гидроксирадикал (HO[•]) — мощных инициаторов перекисного окисления липидов [2, 21, 24]. В то же время недостаточная продукция способствует формированию патологии фето-плацентарного комплекса и внутриутробной гипоксии плода [20].

Участие окиси азота в регуляции сосудистого тонуса обеспечивает прежде всего кровоснабжение жизненно важных органов плода, их нормальное развитие и постнатальную адаптацию новорожденных детей [11, 17].

Учитывая ведущую роль нарушений гемодинамики и, в частности, мозгового кровообращения в генезе перинатальных поражений центральной нервной системы (ЦНС) и их неблагоприятных исходов, представляется целесообразным выяснить особенности продукции окиси азота в сопоставлении с клиническим состоянием у доношенных новорожденных детей, перенесших внутриутробную гипоксию.

Материалы и методы

Обследовано 129 доношенных новорожденных, из которых 55 детей перенесли внутриутробную гипоксию. В зависимости от длительности и тяжести гипоксии они были разделены на следующие группы:

I группа — 15 новорожденных детей, внутриутробное развитие которых протекало без осложнений, но во время родового акта наблюдались симптомы угрожающей гипоксии плода (выявление мекония в околоплодных водах или нарушение

функционального состояния плода по данным КТГ в виде единичных вариабельных или поздних децелераций любой степени тяжести или только сглаженной кривой, зарегистрированной после начала родовой деятельности и не связанной с введением медикаментов). Оценка по шкале Апгар составила ≥ 7 баллов. Масса тела детей 3200 ± 205 г, рост — $50,1 \pm 1,8$ см.

II группа — 12 детей, внутриутробное развитие которых протекало без осложнений, но во время родов наблюдались симптомы начавшейся гипоксии плода (нарушение функционального состояния плода по данным КТГ в виде неоднократных децелераций). Кроме того, все дети родились в асфиксии (оценка по шкале Апгар 4–6 баллов). Масса тела детей была 3230 ± 210 г, рост — $52,1 \pm 1,8$ см.

III группа — 10 новорожденных, перенесших хроническую внутриутробную гипоксию в результате осложнения беременности гестозом и хронической плацентарной недостаточностью, подтвержденной гистологическим исследованием последа. Оценка по шкале Апгар составила ≥ 7 баллов. Масса тела детей была 3150 ± 75 г, рост — $50,1 \pm 1,0$ см.

IV группа — 18 детей, перенесших внутриутробную хроническую гипоксию и родившихся в асфиксии. Оценка по шкале Апгар 4–6 баллов. Масса тела детей 3100 ± 100 г, рост — $50,1 \pm 0,5$ см.

В контрольную группу вошли 74 здоровых новорожденных ребенка, внутриутробное развитие которых, рождение и ранний неонатальный период протекали без осложнений. Масса тела 3420 ± 112 г, рост — $52 \pm 0,5$ см. Оценка по шкале Апгар 8–9 баллов. Все дети были выписаны домой на 5–6-й день жизни под наблюдение педиатра. Продолжительность и тяжесть внутриутробного страдания ребенка оценивали на основании изучения особенностей течения беременности и родового акта, а также результатов гистологического исследования последа. Обращали особое внимание на динамику показателей доплерометрии и кардиотокографии.

Обследование детей включало оценку в динамике клинического состояния с определением степени тяжести поражений ЦНС, данных лабораторных исследований (клинический анализ крови, показатели кислотно-основного состояния и др.). Результаты ультразвукового исследования мозга, а также микробиологических и вирусологических обследований для исключения инфицирования матери и ребенка.

О продукции окиси азота в организме ребенка судили на основании определения суммарной концентрации в моче нитратов и нитритов с помощью метода, описанного F. Madueno и M. G. Guerra (1991) с использованием реактива Грисса [16].

Сбор мочи у детей производили в первые и четвертые сутки жизни отдельно в дневное (9.00–21.00) и ночное (21.00–9.00) время суток.

Статистическая обработка материала проведена с помощью стандартного приложения прикладных программ Statgraphica 6,0. Достоверность различий между средними величинами параметров определяли с помощью t-критерия Стьюдента, а для независимых выборок использовали непараметрический критерий U Вилкоксона–Манна–Уитни. Качественные различия признаков оценивали по точному методу Фишера.

Результаты исследований

Результаты исследования показали, что у доношенных новорожденных, перенесших внутриутробную гипоксию, сохранялся суточный ритм суммарной концентрации нитратов и нитритов в моче, как и у здоровых детей. При этом уровень суммарной концентрации зависел от тяжести и длительности перенесенной гипоксии (рис. 1).

Установлено, что самые высокие показатели продукции окиси азота отмечались у детей I и II групп, перенесших угрожающую и умеренную асфиксию при рождении. У этих детей отмечалось быстрое снижение (в 2–3 раза) суммарной концентрации к 4-му дню жизни. В то же время у новорожденных, развивавшихся в условиях хронической гипоксии (группы III и IV), повышение суммарной концентрации нитратов и нитритов сохранялось в динамике на прежнем уровне в течение всего раннего неонатального периода (таблица 1).

Сопоставление полученных результатов с клиническим состоянием новорожденных показало, что у детей I и II групп в раннем неонатальном периоде наблюдалась умеренная неврологическая симптоматика в виде возбуждения ЦНС до 3–4-го дня жизни. Нейросонографическое исследование патологии не выявило. В динамике неврологическая симптоматика регрессировала и дети были выписаны домой под наблюдение педиатра.

Все дети III и IV группы имели неврологические нарушения средней и тяжелой степени, что выражалось в угнетении центральной нервной системы более 7–10 дней. По данным нейросонографии наблюдался длительно сохраняющийся перивентрикулярный или диффузный отек паренхимы мозга. Большинство детей этой группы были переведены в больницу для дальнейшего лечения с диагнозом церебральная ишемия II степени.

Из экспериментальных исследований известно, что в ответ на гипоксию наблюдается резкое возрастание продукции окиси азота, что способ-

Таблица 1

Суммарная концентрация нитратов и нитритов в моче у новорожденных, перенесших острую и хроническую гипоксию (мкМ)

Группы	Дни	1-е сутки		P1	4-е сутки		P2
		день	ночь		день	ночь	
Острая гипоксия (n=27)		15,7±3,2***	35,8±3,6*** ^	< 0,001	8,8±2,2*	19,2±4,5**	< 0,001
Хроническая гипоксия (n=28)		11,0±1,3*	24,5±2,8***	< 0,02	8,8±2,1*	19,8±2,4**	< 0,001
Контрольная группа (n=74)		3,2±0,4	10,4±1,1	< 0,05	3,02±0,8	10,5±2,5	< 0,05

Примечание: Достоверность различий между показателями дневной и ночной концентрации в 1 и 4 дни жизни — P1, P2; ***p<0,001, **p<0,01, * p<0,05 — с контролем; ^ — p<0,05 — достоверность различий между показателями концентрации при острой и хронической гипоксии.

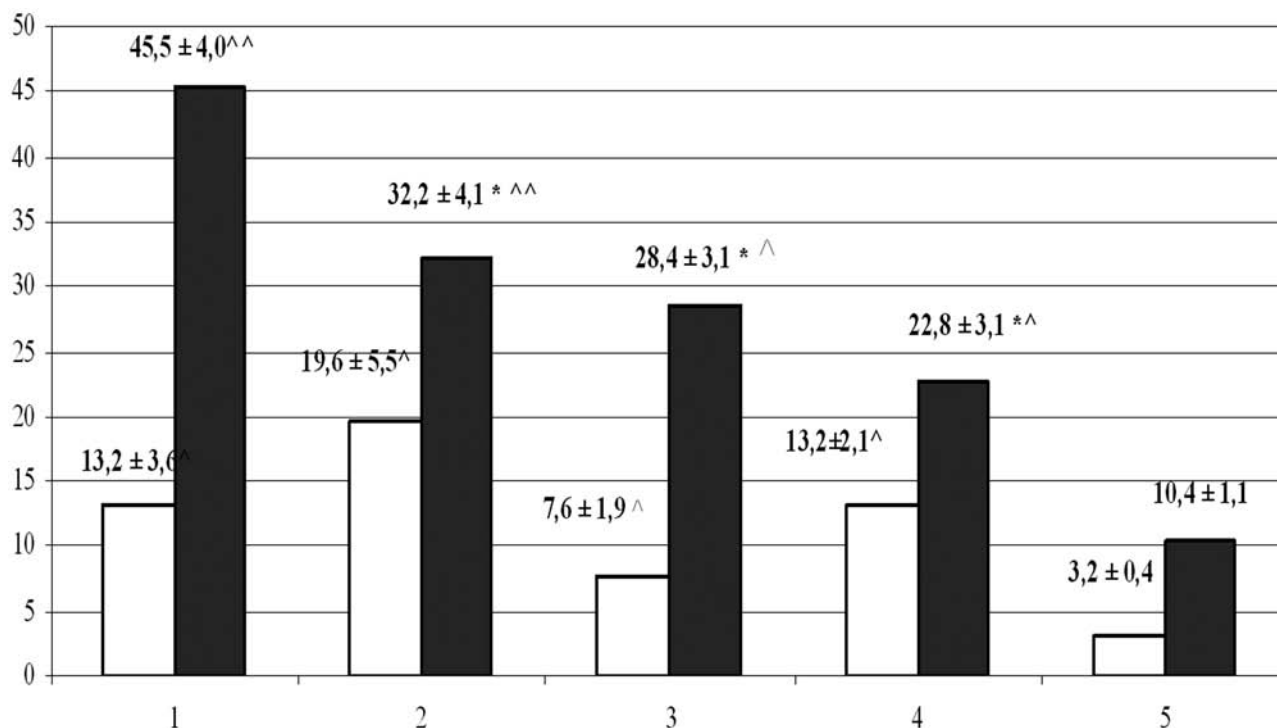


Рис. 1. Суммарная концентрация нитратов и нитритов (мкМ) в моче новорожденных детей в первые сутки жизни в зависимости от тяжести перенесенной гипоксии. 1 — угрожающая гипоксия плода (n=15), 2 — начавшаяся гипоксия + асфиксия при рождении (n=12), 3 — хроническая гипоксия до рождения (n=10), 4 — хроническая гипоксия + асфиксия при рождении (n=18), 5 — контроль (n=74).

□ — дневная концентрация, ■ — ночная концентрация.

* — p < 0,05 — достоверность различий показателей с таковыми у детей 1 группы; ^ — p < 0,05, ^^ — p < 0,01 — достоверность различий показателей с таковыми у здоровых детей.

ствует поддержанию кальциевого гомеостаза клеток, защищая их от гибели [7, 14]

Кроме того, повышенная продукция NO в условиях гипоксии способствует снижению тонуса пинальных артерий головного мозга, улучшению микроциркуляции и питания нервных клеток, ингибированию избытка образующихся свободных радикалов [13, 9].

Таким образом, повышение и последующее быстрое снижение продукции NO у детей, перенесших острую гипоксию, можно рассматривать как срочную компенсаторно-приспособительную реакцию, направленную на защиту нервной системы от неблагоприятного влияния в острый период адаптации.

Однако в случае длительной гипоксии происходит истощение продукции окиси азота из предшественника L-аргинина, так как эта реакция может осуществляться только в присутствии кислорода. Мы полагаем, что в этих условиях активируется более древний механизм продукции NO из нитратов и нитритов — нитритредуктазный путь, который на определенном этапе способствует нормализации состояния клеточных мембран [7].

Показано, что длительная гипоксия приводит к окислительной модификации белков, нарушает связывание с ионами NO_2^- , уменьшает образование NO, а следовательно, нарушает функции ферментов, регулирующих электролитный обмен

[6]. В этих условиях даже не столь значительное повышение продукции окиси азота может оказывать отрицательное влияние вследствие цитотоксического действия. Токсический эффект NO обусловлен связыванием его с супероксидным анионом (O_2^-) и образованием долгоживущего аниона пероксинитрита ($ONOO^-$) — мощного инициатора процессов ПОЛ [26, 3]. В отличие от окиси азота, пероксинитрит стимулирует захват Ca^{2+} митохондриями, разобщая тем самым процессы тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования, что в итоге обуславливает падение энергетического потенциала клеток, повреждение клеточного ДНК и гибель клеток [22, 23]. Возрастание активности NO-синтазы и снижение уровня глутатионпероксидазы приводит к избыточному образованию свободных радикалов, повышению перекисного окисления липидов [4]. Это способствует вазоконстрикции, тромбообразованию, повышению вязкости крови и ведет к нарушению микроциркуляции в тканях и органах, возникновению ишемических поражений. Все эти факторы играют важную роль в генезе нарушений постнатальной адаптации у детей II группы, а также тяжести и длительности неврологических расстройств у новорожденных III и IV группы.

Заключение

Результаты исследований показали, что у новорожденных детей, перенесших гипоксию в период внутриутробного развития и/или рождения, повышена продукция окиси азота, что на определенном этапе является компенсаторно-приспособительной реакцией. Однако в условиях длительной гипоксии она может играть существенную роль в генезе тяжести неврологических расстройств и нарушений адаптации новорожденных.

Литература

1. *Бараишев Ю. И.* Перинатальная неврология. — М.: Триада-Х, 2001.
2. *Ванин А. Ф.* Оксид азота в биомедицинских исследованиях // Вестник РАМН. — 2000. — № 4. — С. 3–5.
3. *Васильева Е. М., Марков Х. М.* Влияние системы L- аргинина NO на активность АТФаз и ПОЛ эритроцитов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1999. — Т. 125, № 9. — С. 321–324.
4. *Дубинина Е. Е.* Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток. — СПб., 2006.
5. *Евсюкова И. И.* Проблемы перинатальных поражений мозга, их ранней диагностики и профилактики // Актуальные вопросы физиологии и патологии репродуктивной функции женщин: материалы XXV научной сессии НИИ АГ им. Отта / Под ред. Э. К. Айламазяна. — СПб., 1996–1997. — С. 60–63.
6. *Манухина Е. Б., Лапишина А. В., Машина С. Ю.* Функциональное состояние эндотелия и продукция окиси азота в организме крыс, адаптированных к периодической гипоксии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1995. — № 11. — С. 495–496.
7. *Реутов В. П., Сорокина Е. Г., Охотин В. Е.* Циклическое превращение окиси азота в организме млекопитающих. — М.: Наука, 1997. — 155 с.
8. *Шабалов Н. П.* Неонатология: Учебное пособие. В 2 т. — М.: МЕДпресс-информ, 2004.
9. *Allen J. D., Gow A. J.* Nitrite, NO and hypoxic vasodilation // Br. J. Pharmacol. — 2009. — Vol. 157, № 8. — P. 1523–1530.
10. *Baader S. L., Bucher S., Schilling K.* The developmental expression of neuronal nitric oxide synthase in cerebellar granule cells is sensitive to GABA and neurotrophins // Dev. Neurosci. — 1997. — Vol. 19, N3. — P. 283–290
11. Endothelial nitric oxide synthase in placental villous tissue from normal, pre-eclamptic and intrauterine growth restricted pregnancies / Myatt L. [et al.] // Hum. Reprod. — 1997. — Vol. 12, № 1. — P. 167–172.
12. eNOS, NO, and the activation of ERK and AKT signaling at mid-gestation and near-term in an ovine model of intrauterine growth restriction / Arroyo J.A. [et al.] // Syst. Biol. Reprod. Med. — 2010. — Vol. 56, № 1. — P. 62–73.
13. *Fleming I., Gray G. A., Schott C.* Inducible but not constitutive production of nitric oxide by vascular smooth muscle cells // EUR. J. Pharmacol. — 1991. — Vol. 200. — P. 375–376.
14. *Kaur C., Foulds W. S., Ling E. A.* Hypoxia-ischemia and retinal ganglion cell damage // Clin. Ophthalmol. — 2008. — Vol. 2, № 4. — P. 879–889.
15. *Kindom J. C. P., Macara L. M., Whittle M. J.* Fetoplacental circulation in health and disease // Arch. Dis. Child. — 1994. — Vol. 70. — P. 161–162.
16. *Madueno F., Guerro M. G.* Use of a mutant strain of the cyanobacterium *Synechococcus* R2 for the determination of nitrate // Anal. Biochem. — 1991. — Vol. 198, № 1. — P. 200–202.
17. *Marin J., Rodrigues-Martinez M. A.* Role of vascular NO in physiological and pathological conditions // Pharmacol. Ther. — 1997. — Vol. 75, N2. — P. 111–134.
18. *Moncada S., Palmer R. M., Higgs E. A.* Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology // Pharmacol. Rev. — 1991. — Vol. 43, N 2. — P. 109–142.
19. *Nathan C., Xie Q. W.* Regulation of biosynthesis of nitric oxide // J. Biol. Chem. — 1994. — Vol. 269, N 19. — P. 13725–13728.
20. Nitric oxide synthase (NOS) in the human umbilical cord vessels. An immunohistochemical study / Dikranian K. [et al.] // Acta Histochem. — 1994. — Vol. 96. — P. 145–149.
21. *Peryor W. A., Squadrio G. L.* The chemistry of peroxy-nitrite — oxide with superoxide // Am. J. Physiol. — 1995. — Vol. 286. — P. L669–L722.
22. *Radi R., Cassina A., Hodara R.* Nitric oxide and peroxy-nitrite interactions with mitochondria // Biol. Chem. — 2002. — Vol. 383. — P. 401–409.
23. *Schwartz S. M.* Cell death and caspase cascade // Circulation. — 1998. — Vol. 97. — P. 227–229.

24. *Taylor C. T., Moncada S.* Nitric oxide, cytochrome C oxidase, and the cellular response to hypoxia // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2010. — Vol. 30, № 4. — P.643-647.
25. *Tikvica A., Kusanjukić M., Pintarić I.* Nitric oxide synthesis in placenta is increased in intrauterine growth restriction and fetal hypoxia // *Coll. Antropol.* — 2008. — Vol. 32, № 2. — P.565-570.
26. *Vioii F., Morioka N., Milite M. T.* Nitric oxide and role lipid peroxidation // *Diabetes Melab. Res. Rev.* — 1999. — Vol. 15, № 4. — P. 283-288.

Статья представлена Э. К. Айламазяном,
ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта,
Санкт-Петербург

NITROGEN OXIDE FORMATION WITH THE NEW-BORN WHO HAD INTRAUTERINE HYPOXIA

Oparina T. I., Andreyeva A. A.

■ **Summary:** Nitrogen oxide formation has been shown to be two times higher with the full-term new-born who had chronic hypoxia, when compared to the group consisting of healthy babies. The steady increase in nitrogen oxide formation with these children in the early neonatal period plays an important role in the genesis of cerebral ischemia.

■ **Key words:** nitrogen oxide; newborn; hypoxia.

■ Адреса авторов для переписки

Андреева Анна Алексеевна — к. м. н., с. н. с. отделения физиологии и патологии новорожденных.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: annaandreeva@list.ru

Опарина Татьяна Ивановна — к. б. н., с. н. с. лаборатории биохимии.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: oparinat@mail.ru

Andreeva Anna Alekseevna — PhD, Department of Physiology and Pathology of newborns.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS.
199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3.

E-mail: annaandreeva@list.ru

Oparina Tatiana Ivanovna — PhD, lab of biochemistry.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS.
199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3.

E-mail: oparinat@mail.ru

© Н. А. Блохина, Ю. П. Милютин,
А. В. Корневский

СОДЕРЖАНИЕ СЕРОТОНИНА В ТРОМБОЦИТАХ ЗДОРОВЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ

ГУ НИИ акушерства и гинекологии
им. Д. О. Отта СЗО РАМН

УДК: 616-053.34/35-07

■ Установлено, что содержание серотонина в тромбоцитах здоровых новорожденных детей, родившихся естественным путем, значительно выше, чем у детей, извлеченных путем операции кесарева сечения, и не отличается от такового у взрослого человека. Уровень серотонина в богатой тромбоцитами плазме пуповинной крови новорожденных вдвое ниже, чем в богатой тромбоцитами плазме взрослых, и не зависит от способа родоразрешения.

■ **Ключевые слова:** серотонин; тромбоциты; новорожденный.

Введение

В последние десятилетия отмечается увеличение частоты неврологических расстройств у детей разных возрастных групп, при этом частота перинатальных поражений головного мозга составляет 60–80% [2]. Это определяет необходимость изучения механизмов перинатальных поражений центральной нервной системы для своевременной профилактики и лечения данной патологии.

Известно, что в морфофункциональном развитии головного мозга в раннем онтогенезе важную роль играют нейротрансмиттеры, в частности — серотонин [3, 6, 10]. Показано, что дефицит серотонина в постимплантационный период вызывает задержку развития и дифференциации нейрональных и глиальных клеток, формирования ряда структур головного мозга (неокортекса, лимбических структур, моноаминергических ядер), что ведет в дальнейшем к нарушению развития функций центральной нервной системы [4, 5, 10].

В раннем постнатальном онтогенезе серотонинергическая система головного мозга участвует в регуляции деятельности многих функциональных систем организма, что определяет адаптивные возможности новорожденного ребенка [8]. В связи с этим изучение состояния серотонинергических структур головного мозга необходимо для понимания механизмов нарушений, связанных с перинатальной патологией.

Установлено, что тромбоциты крови человека по своим морфоцитологическим свойствам являются идентичными серотонинергическим нейронам головного мозга [13]. Тромбоцитарный и нейрональный 5-НТ-белок кодируется одним и тем же геном [16]. Поэтому тромбоциты могут служить удобной моделью для изучения функционального состояния серотонинергических нейронов.

Имеющиеся в литературе сведения о содержании серотонина в тромбоцитах новорожденных детей немногочисленны и противоречивы. В связи с этим в настоящей работе поставлена цель изучить содержание серотонина в тромбоцитах здоровых новорожденных детей в сопоставлении с показателями здоровых взрослых людей.

Материалы и методы исследования

Обследовано 48 здоровых доношенных новорожденных детей, матери которых не имели соматической патологии, вредных привычек (не употребляли алкоголь, наркотики, не курили), а также не принимали препараты, влияющие на уровень серотонина в крови. В зависимости от способа родоразрешения дети были разделены на две группы.

Первую группу составили 24 ребенка, родившиеся через естественные родовые пути. Масса тела — $3598,8 \pm 91,7$ г, рост $51,7 \pm 1,9$ см. Оценка по шкале Апгар 7–8 баллов. Внутриутробное развитие и ранний неонатальный пери-

Таблица 1

Содержание серотонина в тромбоцитах новорожденных детей

Группы	Число наблюдений	Количество тромбоцитов в БТП	Содержание серотонина в тромбоцитах нМ/10 ⁹ Тг
I	16	528,56±64	1,078±0,215
II	17	739,71±97,29	0,504±0,101
III	31	704,39±50,83	1,245±0,101

од протекали без осложнений. Максимальная убыль массы тела на 2–3-й день жизни составила 5,9±0,4%, ее восстановление началось с 4–5-й дня жизни.

Во вторую группу вошли 24 ребенка, извлеченные путем операции кесарева сечения, предпринятой по показаниям со стороны матери (рубец на матке, рубцовая деформация шейки матки, заболевания глаз и опорно-двигательного аппарата, сужение таза). Масса тела детей — 3323,9±81,8 г, рост 50,7±0,4 см. Оценка по шкале Апгар 7–8 баллов. Внутриутробное развитие и ранний неонатальный период протекали без осложнений. Максимальная убыль массы тела на 2–5-й день жизни — 6,7±0,5% от первоначальной, ее восстановление началось с 3–6-го дня жизни.

Все дети были выписаны на 4–8-й день жизни под наблюдение участкового педиатра.

Третья — группа сравнения — 31 здоровый доброволец в возрасте 35–45 лет.

Уровень серотонина определяли в богатой тромбоцитами плазме (БТП), приготовленной из взятой при рождении ребенка крови вены пуповины, а также в БТП крови добровольцев. Кроме того, определяли содержание серотонина в тромбоцитарной взвеси, приготовленной из периферической венозной крови новорожденных детей и взрослых добровольцев. В БТП подсчитывали количество тромбоцитов. О содержании серотонина в тромбоцитах судили по показателю, полученному в результате деления количества серотонина в тромбоцитарной взвеси на число тромбоцитов.

Забор крови проводили в пробирки с К₃EDTA в количестве 4 мл из вены пуповины у 11 детей первой группы и у 20 детей второй группы, а через 3 часа после рождения до начала вскармливания — в количестве 1 мл из периферической вены у 16 детей первой группы и 17 детей второй группы. У добровольцев получали 4 мл крови из кубитальной вены.

Для получения БТП кровь центрифугировали в течение 5 минут при 1000 об/мин. Из БТП крови периферической вены при повторном центрифугировании в течение 20 мин при 3500 об/мин получали тромбоцитарную взвесь, которую промывали 2,0 мл физиологического раствора при центрифугировании в течение 20 мин со скоростью 3500 об/мин.

Количественный анализ серотонина проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с электрохимическим детектированием, хроматографический анализ проводили на колонке Reprosil 80 ODS-2 (100×4 мм, 3 мкм, Dr. Maisch GmbH, Германия). Детектирование проводили на аналитической ячейке модели 5100A Coulochem II (ESA, США) при потенциале +0,65 В. Подвижная фаза содержала 6 мМ цитратного буфера, 2 мМ этилендиаминтетраацетата натрия, 1,1 мМ октилсульфоната натрия и 14% ацетонитрила (v/v). Расход элюента — 0,75 мл/мин.

Статистическая обработка материала проведена с помощью стандартного приложения прикладных программ «Statistica» для персонального компьютера IP 166 MMX. Достоверность различий оценена с использованием U-критерия Манна–Уитни.

Результаты исследований и обсуждение

Результаты исследований показали, что содержание серотонина в БТП пуповинной крови у здоровых доношенных новорожденных детей значительно ниже, чем в БТП здоровых взрослых людей, и составляет соответственно 0,455±0,063 мкМ/л и 0,876±0,078 мкМ/л (P<0,001). При этом данный показатель у новорожденных имеет сходные значения при различных способах родоразрешения и составляет соответственно 0,471±0,119 мкМ/л у детей, родившихся через естественные родовые пути, и 0,446±0,075 мкМ/л у детей, извлеченных путем операции кесарева сечения (P>0,05).

Содержание серотонина в тромбоцитах венозной крови достоверно выше у детей, родившихся через естественные родовые пути, и соответствует уровню у взрослых людей, P>0,05 (таблица 1). В то же время у новорожденных, извлеченных путем операции кесарева сечения, этот показатель существенно ниже (соответственно 1,078±0,215 нМ/10⁹Тг и 0,504±0,101 нМ/10⁹Тг, P<0,001).

Полученные данные о низком уровне серотонина в БТП пуповинной крови новорожденных детей согласуются с имеющимися в литературе [11, 14]. Авторы указывают на возрастание уровня серотонина в крови уже в течение первой недели жизни, к концу которой он достигает показателей взрослого человека [9].

Низкий уровень серотонина у новорожденных, вероятно, обусловлен особенностями его продукции, в частности, хромоаффинными клетками слизистой кишечника, являющимися его основным резервуаром [14]. Этому способствует низкая активность основного фермента синтеза серотонина — 5-гидрокситриптофандекарбоксилазы [12].

В то же время содержание серотонина в тромбоцитах детей, родившихся через естественные родовые пути, значительно выше, чем в БТП и чем у детей, извлеченных путем операции кесарева сечения.

Известно, что родовой стресс лежит в основе активации ферментативных систем и метаболических процессов в организме ребенка, что способствует быстрому осуществлению адаптивных реакций. Кратковременные гипоксические состояния, испытываемые плодом в период маточных сокращений, ведут к усилению процессов свободнорадикального окисления, что запускает систему антиоксидантной защиты. Поэтому увеличение содержания серотонина в тромбоцитах, а следовательно, и в серотонинергических нейронах головного мозга, у детей после естественных родов следует считать компенсаторно-приспособительной реакцией, способствующей поддержанию нормального метаболизма мозговых структур. Подтверждением этому служат данные об участии серотонина в нейтрализации свободных радикалов кислорода [15]. Вероятно, увеличение уровня мозгового серотонина у плода в процессе родов обеспечивает состояние гипбернации подобно тому, которое описано в филогенезе у млекопитающих (зимняя спячка) [1, 7]. Известно, что в этот период повышается уровень серотонина в ряде стволовых образований головного мозга. Наличие подобного увеличения уровня серотонина у плода в родах определяет исчезновение дыхательных движений, замедление кровотока, снижение болевой чувствительности, и в целом — снижение активности метаболических процессов и, следовательно, энергетических затрат. Все это способствует не только сохранению нормальной жизнедеятельности ребенка в родах, но и успешной постнатальной адаптации. Отсутствие увеличения содержания серотонина в тромбоцитах детей, извлеченных путем кесарева сечения, возможно, определяет особенности их адаптации к внеутробной жизни.

Полученные данные указывают на необходимость дальнейших исследований роли серотонина в генезе перинатальной патологии ЦНС и ее последствий.

Литература

1. *Бабкин П. С., Бабкина И. П.* Интранатальная гипбернация плода. — Воронеж: Изд-во ВГУ, 1987. — 120 с.
2. *Бараишев Ю. И.* Поражение нервной системы при асфиксии // Перинатальная неврология. — М.: Триада-Х, 2001. — С. 249–289.
3. *Бузников Г. А.* Нейротрансмиттеры в эмбриогенезе. — М.: Наука, 1987. — 232 с.
4. *Громова Е. А.* Сертонин и его роль в организме. — М.: Медицина, 1966. — 183 с.
5. *Курский М. Д., Бакиев Н. С.* Биохимические основы механизма действия серотонина. — Киев: Наукова думка, 1974. — 296 с.
6. *Отеллин В. А.* Формирование патологии головного мозга в эмбриональный период. URL: <http://www.rfbr.ru/pics/28196ref/file.pdf> (дата обращения: 17.05.2010).
7. *Попова Н. К., Науменко Е. В., Колпаков В. Г.* Сертонин и поведение. — Новосибирск: Наука, 1978.
8. *Скворцов И. А., Ермоленко Н. А.* Развитие нервной системы у детей в норме и патологии. — М.: Медпресс-информ, 2003. — 368 с.
9. Содержание серотонина в сыворотке крови новорожденных детей с гипоксически-ишемическим поражением ЦНС / И. Г. Михеева [и др.] // Педиатрия. — 2008. — Т. 87, № 1. — С. 40–44.
10. *Хожай Л. И.* Клеточные и тканевые реакции развивающегося головного мозга млекопитающих на воздействия неблагоприятных факторов среды: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — СПб., 2008. — 45 с.
11. Determination of reference values for serotonin concentration in platelets of healthy newborns, children, adults, and elderly subjects by HPLC with electrochemical detection / Flachaire E. [et al.] // Clin. Chem. — 1990. — Vol. 36, N 12. — P. 2117–2120.
12. *Hazra M., Benson S., Sandler M.* Blood 5-hydroxytryptamine levels in the newborn // Archives of disease in childhood. — 1965. — Vol. 40. — P. 513–515.
13. *Oreland L., Hallman J.* Blood platelets as a peripheral marker for the central serotonin system // Nordic Journal of Psychiatry. — 1989. — Vol. 43, N 20. — P. 43–51.
14. Platelet serotonin in newborns and infants: ontogeny, heritability, and effect of in utero exposure to selective serotonin reuptake inhibitors / Anderson G. M. [et al.] // Pediatric research. — 2004. — Vol. 56, N 3. — P. 418–422.
15. Serotonin acts as a radical scavenger and is oxidized to a dimer during the respiratory burst of activated microglia / Huether G. [et al.] // J. Neurochemistry. — 1997. — Vol. 69. — P. 2096–2101.
16. *Stahl S. M.* The human platelet. A diagnostic and research tool for the study of biogenic amines in psychiatric and neurologic disorders // Arch. Gen. Psychiatry. — 1977. — Vol. 34. — P. 509–516.

Статья представлена А. В. Арутюняном,
ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта,
Санкт-Петербург

PLATELET SEROTONIN LEVEL IN HEALTHY NEWBORNS

Blokhina N. A., Milyutina Yu. P., Korenevsky A. V.

■ **Summary:** Platelet serotonin level has been shown to be significantly higher in newborns born in vaginal birth, when compared to those born in Caesarean section, and not to differ from that in adults. Serotonin level in cord blood platelet-rich plasma was a half that in the adults and did not depend on the way of delivery.

■ **Key words:** serotonin; platelets; newborn.

■ **Адреса авторов для переписки**

Блохина Наталия Александровна — аспирант.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: tata-83@bk.ru

Милютин Юлиа Павловна — научный сотрудник.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: iagmail@ott.ru

Корневский Андрей Валентинович — старший научный сотрудник.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: iagmail@ott.ru

Blokhina Nathalia Aleksandrovna — aspirant.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS.
199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3.

E-mail: tata-83@bk.ru

Milyutina Yuliya Pavlovna — research Assistant.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS.
199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3.

E-mail: iagmail@ott.ru

Korenevsky Andrei Valentinovich — senior researcher.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS.
199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3.

E-mail: iagmail@ott.ru

© И. И. Евсюкова, А. В. Арутюнян,
Д. С. Додхоев, О. В. Ковальчук-
Ковалевская

МЕХАНИЗМЫ ЗАДЕРЖКИ ВНУТРИУТРОБНОГО РАЗВИТИЯ ЦНС РЕБЕНКА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

ГУ НИИ акушерства и гинекологии
им. Д. О. Отта СЗО РАМН

УДК: 618.36-008.64]:618.29:612.8-007.12

■ Установлены объективные клинические (оценка постурального, активного, пассивного тонуса и рефлекторных реакций), нейрофизиологические (количественная и качественная оценка циклической организации сна) и биохимические критерии (определение уровня экскреции с мочой 6-сульфатоксимелатонина (6-СОМТ), а также активности мозгового изофермента креатинкиназы — СК-ВВ), использование которых позволяет выделить среди новорожденных с ЗВУР нуждающихся в ранней терапии и последующей реабилитации на первом году жизни с целью оптимизации функционального развития ЦНС.

■ **Ключевые слова:** хроническая плацентарная недостаточность; ЗВУР; ЦНС; свободнорадикальное окисление; мелатонин.

В последние годы отмечается значительный рост числа новорожденных детей, имеющих задержку внутриутробного развития (ЗВУР) вследствие осложнения беременности хронической плацентарной недостаточностью [3, 8]. Возникающие при этом иммунные, трофические, эндокринные, а также метаболические нарушения функций плаценты, связанные, в первую очередь, с активацией свободнорадикального окисления (СРО), оказывают на плод повреждающее воздействие [12, 13, 15, 18]. Известно, что при наличии у ребенка ЗВУР значительно затруднен процесс постнатальной адаптации, нарушено становление функций нервной, сердечно-сосудистой и других функциональных систем организма, высока частота неврологических расстройств не только в перинатальном периоде, но и в последующие годы жизни [4, 11, 20]. В связи с этим актуальной проблемой является изучение патогенеза задержки формирования функций ЦНС у детей с ЗВУР с целью разработки адекватных подходов к их профилактике, терапии и оптимальной реабилитации.

Известно, что в морфофункциональном развитии мозга ребенка значительную роль играют пептидные гормоны и биогенные амины [11, 19, 28]. Однако имеющиеся в литературе сведения, касающиеся их продукции при хронической плацентарной недостаточности и, в частности, мощного антиоксиданта и нейромодулятора мелатонина, немногочисленны, а онтогенетические аспекты подобного влияния практически не изучены [9].

Цель исследования

Выяснить роль возникающих у ребенка в условиях гипоксии при хронической плацентарной недостаточности изменений состояния системы свободнорадикального окисления / антиоксидантной защиты (СРО/АОЗ) и продукции мелатонина в генезе задержки функционального развития ЦНС.

Материал и методы исследований

Проведена оценка ранней неонатальной адаптации, состояния постурального, пассивного, активного тонуса и рефлекторных реакций у 115 новорожденных детей, причиной ЗВУР которых явилось осложнение беременности хронической плацентарной недостаточностью. Дети родились при сроке ≥ 36 недель. Известно, что к этому времени завершаются процессы формирования циклической организации поведенческих состояний и позотонических реакций, что создает возможность объективной оценки соответствия функциональной зрелости ЦНС гестационному возрасту ребенка. Были сформированы следующие группы: I группа — 39 пар мать–ребенок (дети с симметричной формой ЗВУР); II группа — 52 пары (дети

с асимметричной формой ЗВУР, гипотрофия III степени); III группа — 24 пары (дети с асимметричной формой ЗВУР, гипотрофия I–II степени). Контрольную группу составили 50 матерей и их здоровые доношенные новорожденные дети. В исследование не включали детей с пороками развития и стигмами дизэмбриогенеза, с внутриутробной инфекцией, а также родившихся от матерей с сахарным диабетом.

Характер и степень ЗВУР определяли согласно общепринятой классификации с помощью центильных таблиц (Дементьева Г. М., 1981). Соответствие развития тонических и рефлекторных реакций должным для данного гестационного возраста определяли в 1–3-и сутки и в динамике на 10–14-е сутки с помощью таблиц С. Amiel-Tisson (1974) и S. A. Dargassies (1974). Наряду с этим на 5–6-й день жизни проводили оценку формирования циклической организации сна на основании электрополиграфических исследований с помощью электроэнцефалографа фирмы «Мицар» (Россия). Характеристику частотно-амплитудного спектра ЭЭГ и мощность колебаний оценивали с помощью программного обеспечения «ЭЭГ-2000» («Мицар», Россия).

Клиническое состояние детей оценивали при рождении и в течение раннего неонатального периода в сопоставлении с результатами инструментальных (ЭКГ, ЭхоКГ, нейросонография, рентгенография), лабораторных, микробиологических и вирусологических исследований, включавших выявление грамтрицательной и грамположительной флоры, микоплазм, хламидий, вирусов простого герпеса и цитомегалии.

Проводили гистологическое исследование последствий и определение экспрессии мелатонина в плацентах методом непрямой иммунофлюоресценции с применением специфической антисыворотки к мелатонину и кроличьей люминесцентной сыворотки (CID tech. Res. Inc., Канада).

Изучали состояние свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты у 73 детей основной и у 50 новорожденных контрольной группы на основании определения интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) и общей антиокислительной активности (ОАА) кровиметодом хемилюминесценции. Антирадикальную активность (АРА) крови определяли, используя стабильные радикалы 1,2-дифенилпикрилгидразила. Забор крови для исследований проводили в первые 6 часов жизни ребенка.

С целью выяснения степени нарушений целостности биомембран нейронов вследствие хронической гипоксии определяли активность мозгового изофермента креатинкиназы с помощью поликлональных антител к М-СК мономеру фер-

мента («Konelab», Финляндия). Забор крови проводили в первые 6 часов жизни ребенка.

Продукцию мелатонина у детей оценивали на основании определения уровня экскреции 6-сульфатоксимелатонина (основного метаболита мелатонина) в моче в дневное (9:00–21:00) и ночное (21:00–9:00) время в 1 и на 10-е сутки жизни иммуноферментным методом («DRG Instruments GmbH», Германия).

Достоверность различий между средними величинами параметров определяли с помощью *t*-критерия Стьюдента, а для независимых и малых выборок использовали критерий *U* (непараметрический критерий Манна–Уитни), для сравнения относительных величин — критерий *F* (точный критерий Фишера). Корреляционный анализ проводили с использованием параметрического критерия Пирсона, а для малых выборок — непараметрического критерия Спирмана. Статистическую обработку материала проводили с помощью программных пакетов «Microsoft Office 2003», «SPSS 13.0».

Результаты исследований и обсуждение

Результаты исследований показали, что при наличии у беременной сочетания патологии нервной, эндокринной и иммунной систем наблюдается формирование хронической плацентарной недостаточности. Это дает основание полагать, что у данного контингента женщин имеется неполноценность диффузной нейроиммуноэндокринной системы (ДНИЭС), состояние которой определяет не только наступление беременности, но и морфофункциональное развитие плаценты и плода [1, 2, 16]. Классические пептидные гормоны (хориональный гонадотропин, пролактин, кортикотропный рилизинг-гормон, лептин, соматостатин, эндотелины), белки-мессенджеры (синцитин, эндоглин, цитокин), биогенные амины (серотонин, мелатонин, гистамин, катехоламины), внутри- и межклеточные сигнальные молекулы (цитокины, нейропептиды, интегрины, хемокины, шапероны и многие другие) регулируют функцию плаценты и тем самым влияют на процесс морфофункционального развития плода. Одним из наиболее изученных биогенных аминов ДНИЭС является мелатонин. В плаценте при нормальном ее развитии он продуцируется и депонируется в структурных элементах ворсинчатого хориона: синцитиотрофобласте, синцитиокапиллярных мембранах, синцитиальных узлах, единичных клетках стромы и в эндотелии сосудов [10, 16]. Оказалось, что экспрессия мелатонина в плаценте возрастает при хронической плацентарной недостаточности, причем достоверное увеличение площади экспрессии наблюдается при субкомпенсированной плацентар-

ной недостаточности и наличии у ребенка ЗВУР ($14,43 \pm 0,79\%$ по сравнению с $9,38 \pm 1,32\%$ в контроле, $p=0,006$). Наряду с этим возрастает оптическая плотность свечения ($2,6$ усл. ед. по сравнению с $1,66$ усл. ед. при компенсированной форме хронической плацентарной недостаточности ($p=0,04$) и $1,34$ усл. ед. в контроле ($p=0,03$), что свидетельствует о значительном накоплении мелатонина на единице площади.

Увеличение представленности мелатонина, коррелирующее с тяжестью плацентарной недостаточности, является компенсаторной реакцией в условиях возникающего при плацентарной недостаточности дисбаланса системы СРО/АОЗ. Известно, что мелатонин является мощным поглотителем свободных радикалов, активирует глутатионпероксидазу в хорионе и регулирует активность NO-синтаз [14, 23, 28]. Увеличение экспрессии мелатонина в плаценте при хронической субкомпенсированной плацентарной недостаточности, сочетающееся с наличием ЗВУР плода, может быть обусловлено повышением его синтеза мелатонинпродуцирующими клетками, а также, возможно, переносом этого гормона в плаценту из организма матери и плода. Известно, что при наличии хронической плацентарной недостаточности и синдрома задержки внутриутробного развития плода в крови беременных содержание мелатонина снижено [21, 23]. У новорожденных детей с тяжелой степенью ЗВУР значительно снижено содержание мелатонина в тромбоцитах, которые в норме вырабатывают до 40% внеэпифизарного мелатонина и переносят его в нужное место в нужное время [10,17]. Благодаря повышенному содержанию мелатонина в плаценте создаются условия для поддержания ее функции и сохранения жизнеспособности внутриутробного плода. Однако при этом у ребенка нарушается генетическая программа морфофункционального развития, что проявляется не только в остановке роста и массы, но и в отставании формирования функций ЦНС.

Оценка постурального, пассивного и активного тонуса, а также рефлекторных реакций выявила их отставание у 80% детей, имеющих симметричную и у 30% детей с асимметричной формой ЗВУР III степени, причем только у них наблюдалась прогностически неблагоприятная диссоциированная задержка развития тонических и рефлекторных реакций.

Нами установлено, что у детей с ЗВУР даже при нормальном состоянии тонических и рефлекторных реакций наблюдается укорочение длительности ортодоксальной ($14,0 \pm 1,9$ по сравнению с $27,3 \pm 1,9$ мин. в контрольной группе, $p=0,04$) и парадоксальной ($23,6 \pm 0,5$ по сравнению с $36,1 \pm 2,3$ мин. в контрольной группе, $p=0,0004$) фаз сна, но соотноше-

ние между ними, как и у здоровых новорожденных, сохраняется с преимущественной представленностью парадоксальной фазы.

Однако наблюдаются существенные качественные изменения сна. Так, во время ортодоксальной фазы на ЭЭГ отмечается снижение амплитуды дельта-волн ($22,4 \pm 0,4$ мкВ против $34,0 \pm 2,1$ мкВ в норме, $p<0,001$) и тета-волн ($10,9 \pm 0,04$ мкВ против $16,1 \pm 0,9$ мкВ, $p<0,001$), появление приливов альфа-волн, наблюдаются частые пробуждения ребенка. В период парадоксального сна, напротив, слабо выражена десинхронизация ЭЭГ. Так, амплитуда дельта, тета- и альфа-волн в теменно-затылочных отведениях значительно превышает характерную для здоровых доношенных новорожденных детей (дельта-волны — $55,7 \pm 4,6$ мкВ против $27,5 \pm 1,6$ мкВ в норме, $p<0,001$; тета-волны — $24,0 \pm 2,1$ против $15,9 \pm 0,7$ в норме, $p<0,01$). Высока частота глазодвигательных реакций и обусловленных ими активаций. В то же время общая двигательная активность выражена в меньшей степени и составляет всего 6,4% от общей длительности фазы, тогда как в норме — 12%.

При наличии у ребенка ЗВУР и диссоциированного отставания тонических и рефлекторных реакций циклическая организация сна отсутствует. Регистрируются фрагменты сна, близкие по характеру вегетативных и двигательных реакций ортодоксальному или парадоксальному сну, однако при этом нет корреляции с биоэлектрической активностью мозга. Недифференцированный сон часто прерывается криком и пробуждениями ребенка.

Отсутствие циклической организации сна у доношенных новорожденных детей рассматривается как свидетельство функциональной незрелости ЦНС или следствие повреждающего воздействия гипоксии на развивающийся мозг [9]. Можно полагать, что отмеченные нами изменения продолжительности цикла сна обусловлены особенностями обмена биогенных аминов — серотонина и норадреналина [24]. В то же время наличие диссоциации тонических и рефлекторных реакций в сочетании с отсутствием циклической организации сна указывает на поражение мозговых структур на клеточном и субклеточном уровнях.

Известно, что одним из основных повреждающих воздействий в условиях длительной гипоксии является активация СРО [6, 22]. Результаты наших исследований показали, что при субкомпенсированной хронической плацентарной недостаточности и наличии у ребенка симметричной или тяжелой асимметричной формы ЗВУР (гипотрофия III степени) наблюдается снижение антирадикальной активности (АРА) и увеличение общей антиокислительной активности (ОАА)

Таблица 1

Показатели процессов ПОЛ, АРА и ОАА в первый день жизни у детей с различной степенью ЗВУР

Группы	Показатели	ПОЛ (отн. ед.)	АРА (мкМ)	ОАА (отн. ед.)
Симм. ЗВУР + Асимм. ЗВУР (гипотрофия III) n = 29		10,0 ± 0,1	845,9 ± 16,0***	0,296 ± 0,03*
Асимм. ЗВУР (гипотрофия I-II) n = 11		9,4 ± 1,3	938,6 ± 33,3	0,221 ± 0,02
Здоровые дети n = 50		10,5 ± 0,6	945,0 ± 19,1	0,223 ± 0,01
Примечание: достоверность различий показателей с таковыми у детей контрольной группы: * — p < 0,05; *** — p < 0,001.				

(табл. 1). Корреляционная связь этих показателей с интенсивностью ПОЛ отсутствуют.

Поскольку мелатонин является мощным поглотителем свободных радикалов [27], представлялось важным выяснить уровень его продукции в организме ребенка. Кроме того известно, что мелатонин, обладая нейромодуляторными свойствами, играет большую роль в формировании синаптических связей, а, следовательно, и в развитии функций ЦНС, в том числе и в становлении циклической организации сна [14, 17, 28]. Это особенно важно в связи с тем, что у новорожденных еще не сформирован нормальный циркадианный ритм мелатонина, несмотря на то, что по данным ряда авторов шишковидная железа плода продуцирует его, начиная с 14 недель гестации [7]. Вследствие этого pineальная железа новорожденного вряд ли может осуществлять контроль над основным осциллятором биоритмов организма, расположенным в супрахиазматических ядрах гипоталамуса.

Результаты проведенных нами исследований выявили низкий уровень экскреции с мочой 6-COMT как в первые сутки, так и на 10-й день жизни. Так, в первые сутки жизни его дневная и ночная экскреция составила соответственно 4, 5 ± 1,0 нг/л и 3, 6 ± 1,1 нг/л, тогда как у здоровых новорожденных — 14, 1 ± 2,2 нг/л и 7,7 ± 1,7 нг/л (p < 0,01). На десятый день жизни экскреция 6-COMT в дневное время у детей с ЗВУР составила 1, 4 ± 0,2 нг/л по сравнению с 12, 9 ± 1,7 в норме (p < 0,01), а ночью — 1,3 ± 0,2 нг/л по сравнению с 4,3 ± 1,1 нг/л в норме (p < 0,01). В отличие от здоровых новорожденных, у которых продукция мелатонина в дневное время суток выше, чем ночью, у детей с ЗВУР суточный ритм отсутствует, продукция мелатонина одинаково низкая в дневные и ночные часы.

Индивидуальный анализ показал, что наиболее низкие показатели уровня экскреции 6-COMT с мочой отмечаются в тех случаях, когда задержка морфологического развития сочетается с отставанием формирования тонических и рефлекторных реакций ЦНС (r = 0,67, p < 0,001). При этом чем он ниже, тем меньше антирадикальная активность крови (r = 0,74, p < 0,05).

Известно, что продукция биогенных аминов и других пептидов в раннем онтогенезе человека существенно превышает таковую в последующие пе-

риоды его жизни [9]. Вероятно, снижение продукции мелатонина в организме новорожденного при тяжелой форме ЗВУР связано прежде всего с возрастанием его потребления в условиях истощения других антиоксидантов [25, 26, 28]. Вместе с тем большую роль играет обусловленное длительным воздействием гипоксии нарушение рецепторного аппарата клеток, что может вести к нарушению захвата серотонина и синтеза мелатонина в клетках ДНИЭС. Не исключена возможность поступления материнского мелатонина в кровотоки плода через плацентарный барьер, а также переноса мелатонина в плаценту тромбоцитами плода [7].

При недостатке мелатонина в крови повышается активность циклооксигеназы в тромбоцитах и продукция тромбоксана В₂, что способствует повышению их функциональной активности [17]. Кроме того, повышается активность NO-синтазы и снижается уровень глутатионпероксидазы, что приводит к избыточному образованию свободных радикалов, повышению пероксинитрита и ПОЛ [7, 25]. Это способствует вазоконстрикции, тромбообразованию, повышению вязкости крови и ведет к нарушению микроциркуляции в тканях и органах, возникновению ишемических поражений. Все эти факторы лежат в основе нарушения постнатальной адаптации данного контингента детей. Результаты наших исследований показали, что большинство новорожденных имели неврологические нарушения в виде синдрома повышенной возбудимости (нарушение сна и двигательной активности до 3–4-го дня жизни, тремор конечностей и подбородка, оживленные физиологические рефлексы). Среди новорожденных детей I и II групп эти нарушения наблюдались чаще: (82,0 ± 6, 1% и 61,5 ± 6,8%, p < 0,05) по сравнению с 29,2 ± 9,3% в III группе (p < 0,001 и p < 0,01 соответственно). Несмотря на проводимую терапию неврологические нарушения сохранялись до 7–10-го дня жизни. По данным ультразвукового исследования у ряда детей длительно до 8 дня жизни наблюдалась гиперэхогенность перивентрикулярных зон мозга.

Поскольку в основе выявленных патологических состояний могут лежать изменения на клеточном уровне, мы изучили активность мозгового и сердечного изоферментов креатинкиназы у новорожденных детей с ЗВУР.

Таблица 2

Показатели активности общей креатинкиназы (СК) и ее мозгового (СК-ВВ) изофермента у новорожденных детей с различными формами ЗВУР

Показатели Группы	Общая СК (ед./л)	СК-ВВ (ед./л)
Симметричная ЗВУР	709,6 ± 196,4	12,1 ± 2,8
Асимметричная ЗВУР	669,9 ± 205,9	11,2 ± 3,3
Контрольная группа	480,3 ± 77,7	8,2 ± 0,7

Результаты наших исследований показали, что активность мозгового изофермента креатинкиназы имеет тенденцию к повышению у всех детей основной группы (табл. 2).

Значительное (более, чем в 2 раза) повышение активности мозгового изофермента креатинкиназы наблюдается в случае наличия у ребенка выраженной задержки формирования тонических и рефлекторных реакций, а также циклической организации сна ($20,9 \pm 3,6$ ед./л против $8,2 \pm 0,7$ ед./л в норме, $p=0,005$), что свидетельствует о нарушении целостности биологических мембран нейронов [5].

Таким образом, на основании результатов комплексных клинических обследований матери и но-

ворожденного ребенка в сопоставлении с данными гистологического исследования плаценты и экспрессии в ней мелатонина, а также исследований состояния ПОЛ, ОАА, АРА, нейроспецифического изофермента креатинкиназы в сопоставлении с экскрецией 6-SOMT в организме ребенка, механизм задержки формирования функций ЦНС при хронической плацентарной недостаточности можно представить следующим образом (схема 1).

Наличие у женщин патологии нескольких функциональных систем организма (в первую очередь нервной, эндокринной, иммунной и т. д.) свидетельствует о нарушении состояния ДНИЭС организма. В условиях недостаточности ДНИЭС создаются предпосылки для нарушения нормального развития и функционирования плаценты. Неблагоприятное воздействие окружающей среды, равно как осложнение беременности гестозом и/или активация хронических воспалительных заболеваний инициируют, раннее формирование хронической плацентарной недостаточности. В физиологических условиях по мере прогрессирования беременности происходит постепенное развитие компенсаторно-приспособительных реакций. При воздействии па-



Схема 1. Механизм задержки формирования функций ЗВУР при хронической плацентарной недостаточности

тологических факторов, прежде всего, возникают морфологические изменения, направленные на обеспечение гемодинамических приспособительных реакций в системе мать–плацента–плод. Однако при нарушении закономерного морфофункционального созревания плаценты затрудняется развитие адекватной компенсаторной реакции плацентарного барьера, что служит основанием для срыва адаптационных механизмов фетоплацентарной системы. В результате нарушается транспортная, трофическая, эндокринная и метаболическая функции плаценты, т. е. формируется субкомпенсированная хроническая плацентарная недостаточность с характерным для нее синдромом задержки внутриутробного развития плода. В условиях длительной хронической гипоксии в организме плода происходит активация процессов свободнорадикального окисления. Одновременно активируются компенсаторно-приспособительные процессы, направленные на использование в этих условиях филогенетически древних механизмов антиоксидантной защиты. В первую очередь активируются нитритредуктазные системы, связанные с гемсодержащими белками. Дефицит кислорода является сигналом для перехода на нитратно-нитритное дыхание, в условиях которого увеличивается продукция оксида азота, который выступает как регулятор и ограничитель окислительных реакций. Однако в условиях продолжающейся гипоксии расход низкомолекулярных антиоксидантов, взаимодействующих с органическими радикалами и блокирующих цепные окислительные реакции, превышает их биосинтез, что приводит к истощению антирадикальной активности и активации перекисного окисления липидов. Следствием этого является окислительное повреждение ферментов, белков, нуклеиновых кислот, ионных каналов клетки. Наряду с этим нарушаются процессы захвата и высвобождения серотонина и снижается продукция мелатонина тромбоцитами и другими клетками ДНИЭС.

Избыточное потребление мелатонина в условиях снижения способности мелатонинпродуцирующих клеток к его воспроизводству, а также возможный переход мелатонина в плаценту приводят к низкому его уровню в организме ребенка. Создаются условия, в которых дефицит такого важного для развития ЦНС регулятора клеточной пролиферации и межклеточных взаимодействий, модулятора нейроиммуноэндокринных взаимоотношений ведет к задержке экспрессии генов и, как следствие, — задержке функционального развития ЦНС, интенсивность которого максимальна в перинатальный период онтогенеза. Задержка тонических и рефлекторных реакций и формирования такой важной для психомоторного развития ребенка функции, как циклическая организация сна, в частности парадок-

сальной фазы сна, влечет за собой нарушение осуществления при переходе в новые условия окружающей среды адекватных адаптивных реакций всех органов и систем, а также способствует возникновению расстройств гомеостаза.

Заключение

Полученные данные указывают на необходимость выявления среди детей с ЗВУР тех, кто имеет отставание функционального развития ЦНС. Установлены объективные клинические (оценка пострурального, активного, пассивного тонуса и рефлекторных реакций), нейрофизиологические (количественная и качественная оценка циклической организации сна) и биохимические критерии (определение уровня экскреции с мочой 6-СОМТ, а также активности мозгового изофермента креатинкиназы — СК-ВВ), использование которых позволяет выявить новорожденных, нуждающихся в ранней терапии и последующей реабилитации на первом году жизни с целью оптимизации функционального развития ЦНС.

Литература

1. Айламазян Э. К. Антенатальная диагностика и коррекция нарушений развития плода // Российский вестник перинатологии и педиатрии. — 1999. — Т. 44, №3. — С. 6–11.
2. Айламазян Э. К., Кветной И. М. Молекулярная нейроиммуноэндокринология: роль и значение в регуляции репродуктивной функции // Ж. акуш. жен. болезн. — 2003. — Т. LII, №4. — С. 4–11.
3. Барашнев Ю. И. Гипоксическая энцефалопатия: гипотезы патогенеза церебральных расстройств и поиск методов лекарственной терапии // Российский вестник перинатологии и педиатрии. — 2002. — Т. 47, №1. — С. 29–35.
4. Барашнев Ю. И. Перинатальная неврология. — М.: Медицина, 2001. — 638 С.
5. Биохимические маркеры нарушения развития мозга / Арутюнян А. В. [и др.] // Нейрохимия. — 1966. — Т. 13, №3. — С. 187–103.
6. Бурлев В. А. Свободнорадикальное окисление в системе мать–плацента–плод при акушерской патологии: автореф. дис. ... д-ра. мед. наук. — М., 1992. — 50 с.
7. Дедов И. И., Дедов В. И. Биоритмы гормонов. — М.: Медицина, 1992. — 256 с.
8. Евсюкова И. И. Патогенез перинатальной патологии у новорожденных детей, развивавшихся в условиях хронической гипоксии при плацентарной недостаточности // Ж. акуш. жен. болезн. — 2004. — Т. 53, №2. — С. 26–29.
9. Евсюкова И. И. Формирование диффузной нейроэндокринной системы в онтогенезе человека // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. — 2006. — Т. 42, №1. — С. 3–10.
10. Пальцев М. А., Кветной И. М. Руководство по нейроиммуноэндокринологии — М.: Медицина, 2006. — 384 с.
11. Пальчик А. Б., Шабалов Н. П. Гипоксически-ишемическая энцефалопатия новорожденных. — СПб.: Питер, 2000. — 224 с.

12. Прокопенко В. М. Процессы свободнорадикального окисления в плаценте при преждевременных родах // Ж. акуш. жен. болезн. — 2000. — Т. 49, № 2. — С. 37–40.
13. Радзинский В. Е., Смалько П. Я. Биохимия плацентарной недостаточности. — М.: РУДН, 2001. — 273 с.
14. Райхлин И. Т., Кветной И. М. Мелатонин: внеэпифизарные источники гормона в норме и патологии // Нейробиологические аспекты современной эндокринологии. — М., 1991. — С. 46–50.
15. Рыжавский Б. Я. Развитие головного мозга в ранние периоды онтогенеза: последствия некоторых воздействий // Соросовский образовательный журнал. — 2000. — Т. 6, № 1. — С. 37–43.
16. Сигнальные молекулы – маркеры зрелости плаценты / Кветной И. М. [и др.]. — М.: МЕДпресс-информ, 2005. — 96 с.
17. Третьякова М. Б. Мелатонин и функциональная активность тромбоцитов у новорожденных детей с задержкой внутриутробного развития: автореф дис... канд. мед. наук. — СПб., 2006. — 23 с.
18. Федорова М. В., Калашикова Е. П. Плацента и ее роль при беременности. — М.: Медицина, 1986. — 256 с.
19. Экспрессия биогенных аминов при плацентарной недостаточности / Аржанова О. Н. [и др.] // Ж. акуш. жен. болезн. — 2006. — Т. LV, № 1. — С. 44–49.
20. De Bie H. M. A., Oostrom K. J., Delemarre-van de Waal. Brain Development, Intelligence and Cognitive Outcome IN Children Born Small for Gestational Age // Horm. Res. Paediatr. — 2010. — Vol. 73. — P. 6–14.
21. Diaz B., Diaz E., Colmenero. Maternal melatonin influences rates of somatic and reproductive organs postnatal development of male offspring // Neuroendocrinol. Lett. — 1999. — Vol. 20. — P. 69–76.
22. Hypoxia-induced Bax and Bcl-2 protein expression, caspase-9 activation, DNA fragmentation, and lipid peroxidation in mitochondria of the cerebral cortex of newborn piglets: the role of nitric oxide / Mishra O. P. [et al.] // Neuroscience. — 2006. — Vol. 141, N 3. — P. 1339–1349.
23. Maternal-fetal transfer of melatonin in pregnant women near term / Okatani Y. [et al.] // J. Pineal Res. — 1998. — Vol. 25, N. 3. — P. 129–134.
24. Melatonin levels during the first week of life and their relation with the antioxidant response in the perinatal period / Muñoz-Hoyos A. [et al.] // Neonatology. — 2007. — Vol. 92, N 3. — P. 209–216.
25. Melatonin protects against pro-oxidant enzymes and reduces lipid peroxidation in distinct membranes induced by the hydroxyl and ascorbyl radicals and by peroxyxynitrite / Teixeira A. [et al.] // Journal of Pineal Research. — 2003. — Vol. 35, N4. — P. 262–268.
26. Pardi G., Marconi A. M., Cetin I. Placental-fetal Interrelationship in IUGR Fetus – A Review // Placenta. — 2002. — Vol. 16. — P. 136–141.
27. Reiter R. J. Melatonin: clinical relevance // Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab. — 2003. — Vol. 17. — P. 273–285.
28. The role of melatonin in the human fetus / Thomas L. [et al.] // Int. J. Mol. Med. — 1998. — Vol. 1, N 3. — P. 539–543.

Статья представлена Э. К. Айламазяном,
ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта,
Санкт-Петербург

INTRAUTERINE CENTRAL NERVOUS SYSTEM GROWTH RETARDATION MECHANISMS IN CHILDREN WITH CHRONIC PLACENTAL INSUFFICIENCY

Evsyukova I. I., Arutjunyan A. V., Dodkhoev D. S., Kovalchuk-Kovalevskaya O. V.

■ **Summary:** Objective clinical (the assessment of postural, active and inactive tonuses and of reflex phenomena), neurophysiological (the quantitative and qualitative assessment of periodic sleep structure) and biochemical tests (the determination of 6-sulphateoxymelatonin secretion and creatine kinase brain isoform activity) have been designed. These tests allow identifying among the new-born with intrauterine growth retardation those in need of early therapy and follow-up rehabilitation in the first year of life in order for the central nervous system functional development optimization.

■ **Key words:** chronic placental insufficiency; intrauterine growth retardation; central nervous system; free radical oxidation; melatonin.

■ Адреса авторов для переписки

Евсюкова Инна Ивановна — д. м. н., профессор, руководитель отделения физиологии и патологии новорожденных детей.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: iagmail@ott.ru.

Ковальчук-Ковалевская Ольга Владимировна — к. м. н., с. н. с. отделения физиологии и патологии новорожденных детей.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: kovkolga@yandex.ru.

Арутjunян Александр Вартанович — д. б. н., проф. рук. лаборатории биохимии. ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: arutjunyan@aa3703.spb.edu.

Evsyukova Inna Ivanovna — MD., professor head of the Department of Physiology and Pathology of newborns.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3.

E-mail: iagmail@ott.ru.

Kovalchuk-Kovalevskaya Olga Vladimirovna — PhD, Department of Physiology and Pathology of newborns.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3.

E-mail: kovkolga@yandex.ru.

Arutjunyan Alexandr Vartanovich — Dr. Sci., Head of the department of biochemistry. D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034, Russia, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3.

E-mail: arutjunyan@aa3703.spb.edu.

© О. В. Ковальчук–Ковалевская,
В. М. Прокопенко, А. В. Арутюнян

ГУ НИИ акушерства и гинекологии
им. Д. О. Отта СЗО РАМН

ОСОБЕННОСТИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКИСЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ТРОМБОЦИТОВ У ДЕТЕЙ С ЗАДЕРЖКОЙ ВНУТРИУТРОБНОГО РАЗВИТИЯ

УДК: 616-053.3:618.33-007.12]-07

■ Показано, что у новорожденных детей с задержкой внутриутробного развития в первые часы после рождения имеется дисбаланс системы СРО/АОЗ в тромбоцитах. Повышение интенсивности перекисного окисления липидов и снижение буферной емкости антиокислительной системы играет важную роль в повреждении нервных клеток, что обуславливает затруднение периода постнатальной адаптации у детей с задержкой внутриутробного развития и способствует развитию неврологических нарушений в последующем.

■ **Ключевые слова:** перекисное окисление липидов; новорожденный; задержка внутриутробного развития.

Введение

В последние годы наблюдается увеличение числа новорожденных с задержкой внутриутробного развития (ЗВУР), для которых характерны высокая перинатальная заболеваемость и значительные отклонения нервно-психического и соматического развития в последующие годы жизни [17].

Известно, что задержка внутриутробного развития возникает при наличии хронической плацентарной недостаточности, при которой плод развивается в условиях хронической гипоксии [2, 6]. Считают, что новорожденные дети, внутриутробное развитие которых протекало в условиях хронической плацентарной недостаточности, подвержены высокому риску реализации токсического действия активных форм кислорода (АФК) и продуктов их метаболизма [9, 11, 15]. Наиболее благоприятные условия для развития перекисного окисления липидов (ПОЛ) существуют в ЦНС, что обусловлено ее анатомо-физиологическими особенностями — высоким содержанием воды и липидов, наличием развитой системы мембран, высоким потреблением кислорода и низкой активностью антиоксидантных ферментов [7]. В связи с этим представляет интерес изучение процессов перекисного окисления липидов и антиокислительной системы ЦНС у новорожденных детей с задержкой внутриутробного развития в раннем неонатальном периоде.

С учетом недоступности исследования нейронов в клинической практике, сходство нейронов по многим своим характеристикам с тромбоцитами позволяет рассматривать тромбоцит как модель нейрона [19, 20, 21].

В литературе мы не встретили данных о состоянии перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиокислительной системы в тромбоцитах новорожденных детей с задержкой внутриутробного развития.

Цель исследования

Изучение особенностей перекисного окисления липидов и антиокислительной системы тромбоцитов у детей с задержкой внутриутробного развития.

Материалы и методы исследования

Обследовано 20 новорожденных детей с тяжелыми формами ЗВУР. Из них 13 детей имели асимметричную форму ЗВУР III степени — отставание массы тела от должной — <3%, а 7 детей — симметричную форму ЗВУР-отставание массы тела и роста от должных величин <3%. Диспластический вариант ЗВУР в исследование не включен. Гестационный возраст составил 36–40 недель. Причина ЗВУР — развитие плода в условиях рано сформировавшейся хронической плацентарной недостаточности у женщин, имеющих патологию трех и более

Таблица 1

Показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ), общей антиокислительной активности (ОАА) тромбоцитов у новорожденных в зависимости от способа родоразрешения

	ПОЛ, отн. ед/10 ⁶ тромбоцитов	ОАА, отн.ед
Дети, рожденные через естественные родовые пути, n=14	0,439±0,09 n=12	0,210±0,03 n=12
Дети, рожденные путем операции кесарева сечения, n=8	0,731±0,09 n=7	0,246±0,03 n=7
p	>0,05	>0,05

функциональных систем (эндокринной, иммунной, сердечно-сосудистой, мочевыделительной, пищеварительной и т. д.) и осложнение беременности гестозом. Рождение каждого второго ребенка произошло с помощью операции кесарева сечения.

Масса тела новорожденных составила 2279,5±73,4 г (от 1660 г до 2970 г), длина тела — 46,5±0,5 см (от 42 см до 52 см). Оценка по шкале Апгар — 7 баллов.

Контрольную группу составили 22 доношенных новорожденных ребенка, масса тела которых составила 3438,2±103,4 г, рост 51,4±0,5 см. Оценка по шкале Апгар составила 7–8 баллов. При этом 14 детей родились через естественные родовые пути, 8 детей были извлечены путем операции планового кесарева сечения по показаниям со стороны. Ранний неонатальный период у всех детей протекал без осложнений.

У всех детей в первый день жизни производили забор крови из периферической вены в объеме 1,0 мл в пробирку с 3,8% цитратом натрия в соотношении 1:9. Для получения богатой тромбоцитами плазмы (БТП) кровь центрифугировали 5 минут при 1000 об/мин. После определения количества тромбоцитов, при повторном центрифугировании в течение 20 минут при 4000 об/мин из БТП получали тромбоцитарную взвесь. Полученную тромбоцитарную взвесь промывали в 2,0 мл физиологического раствора (при центрифугировании в течение 20 минут при 4000 об/мин), после чего физиологический раствор удаляли. Интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и общую антиокислительную активность (ОАА) определяли в тромбоцитах методом хемилюминисцентного диализа. Регистрацию свечения осуществляли на люминометре БХЛ-06-М (Нижний Новгород, Россия) в реактивной смеси, содержащей 200 мкл фосфатного буфера (pH 7,4), 200 мкл 0,01 мМ раствора сульфата железа и 20 мкл тромбоцитарной взвеси. Для инициации процесса в пробу вводили 100 мкл 2% перекиси водорода. Сигнал регистрировали в течение 50 секунд, получаемую информацию выводили на дисплей компьютера в виде непрерывной кинетической кривой.

Интенсивность процесса ПОЛ определяли при комнатной температуре по величине светосуммы за 30 секунд и измеряли в относительных единицах, которые соответствовали милливольтам в секунду на 10⁶ тромбоцитов в БТП. Общую антиокислительную активность в тромбоцитах выражали в относительных единицах, коррелирующих с величиной показателя тангенса угла наклона кривой на стадии максимального убывания вспышки.

Статистическая обработка материала проведена с помощью стандартного приложения прикладных программ «Statistica» для персонального компьютера IP 166 ММХ. Достоверность различий оценена с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Результаты исследований (таблица 1) показали, что у здоровых новорожденных детей в первые часы после рождения интенсивность ПОЛ в тромбоцитах составила 0,546±0,09 отн. ед/10⁶ тромбоцитов, а ОАА в тромбоцитах — 0,223±0,02 отн.ед. Следует отметить большой индивидуальный разброс показателей антиоксидантной защиты и свободнорадикального окисления в тромбоцитах: ПОЛ — от 0,021 отн.ед/10⁶ тромбоцитов до 1,66 отн.ед/10⁶ тромбоцитов, ОАА — от 0,09 отн. ед. до 0,383 отн. ед. Ранее было показано, что наличие как низких, так и высоких значений ПОЛ сыворотки крови у здоровых новорожденных детей отражает генетически детерминированное разнообразие адаптивных реакций ребенка при переходе в новые условия окружающей среды [18].

Известно, что существенным моментом, определяющим течение ранней постнатальной адаптации новорожденного, является влияние родового акта. Родовой стресс является одной из причин активации процессов свободнорадикального окисления вследствие интенсивного выброса катехоламинов и глюкокортикоидов в кровь плода, приводящего к повышению активности фосфолипаз и накоплению жирных кислот [10]. Поэтому мы сопоставили показатели активности свободнорадикального окисления

Таблица 2

Показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ), общей антиокислительной активности (ОАА) тромбоцитов у новорожденных с ЗВУР

	ПОЛ, отн. ед/10 ⁶ тромбоцитов	ОАА, отн. ед
Дети с ЗВУР, n=20	1,615±0,05 n=20	0,141±0,03 n=19
Здоровые новорожденные дети, n=22	0,546±0,09 n=19	0,223±0,02 n=19
p	<0,001	<0,01

и состояния системы антиоксидантной защиты тромбоцитов у здоровых новорожденных, рожденных через естественные родовые пути и извлеченных путем операции кесарева сечения (табл. 1).

Из таблицы видно, что показатели активности свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты тромбоцитов у новорожденных детей не зависят от влияния родового стресса. Это согласуется с данными наших предыдущих исследований, не выявивших различий между показателями ПОЛ и ОАА в сыворотке крови у новорожденных детей, рожденных через естественные родовые пути и извлеченных путем операции кесарева сечения [13], и свидетельствует о том, что антиокислительная система формируется как система, устойчивая к экстремальным воздействиям.

Известно, что у новорожденных, перенесших внутриутробную гипоксию, наблюдается дисбаланс системы ПОЛ-АОЗ: повышение активности процессов ПОЛ и снижение антиокислительной активности плазмы по сравнению со здоровыми новорожденными [3, 5, 11, 15]. Имеются данные, что в условиях хронической гипоксии, провоцирующей высокую активность процессов перекисидации на фоне низкого уровня антиокислительной защиты, мембраны тромбоцитов оказываются несостоятельными. [12] Поскольку объективным критерием тяжести внутриутробного страдания плода в условиях хронической плацентарной недостаточности является наличие задержки его внутриутробного развития, представляло интерес оценить состояние ПОЛ и АОЗ в тромбоцитах новорожденных детей с задержкой внутриутробного развития.

Результаты исследований (таблица 2) показали, что у новорожденных детей с задержкой внутриутробного развития в первые часы после рождения имеется дисбаланс системы СРО/АОЗ в тромбоцитах. Интенсивность перекисного окисления липидов в тромбоцитах детей с задержкой внутриутробного развития достоверно выше, чем в тромбоцитах здоровых новорожденных детей, при этом общая антиокислительная активность снижена.

Сопоставление полученных данных с клиническим состоянием детей с ЗВУР в период ранней

постнатальной адаптации показало, что у всех детей на первый план в клинической картине выступала неврологическая симптоматика. Наблюдался синдром угнетения функций ЦНС (снижение мышечного тонуса и физиологических рефлексов), который сочетался с длительно сохраняющейся (по данным НСГ) гиперэхогенностью перивентрикулярных зон боковых желудочков мозга. Отставание формирования активного, пассивного, постурального тонуса и рефлекторных реакций ЦНС отмечалось у всех детей.

Известно, что первая реакция на гипоксию — повышение активности ферментов АОЗ. В условиях длительного гипоксического воздействия происходит их истощение [8, 9]. Результаты настоящего исследования свидетельствуют о токсическом действии АФК на клетки в условиях длительной хронической внутриутробной гипоксии, сопровождающейся интенсификацией свободнорадикальных процессов и снижением активности системы антиокислительной защиты, нарушением ее мобилизации в ответ на повышение активности прооксидантной системы. Это согласуется с данными литературы о снижении активности супероксиддисмутазы в тромбоцитах у новорожденных с последствиями хронической гипоксии в раннем неонатальном периоде, что свидетельствует об истощении резервов компенсации [12].

Интенсивность процессов перекисидации рассматривают как показатель деструкции клеточных мембран, а состоятельность антиокислительной защиты (АОЗ) — как свидетельство клеточной адаптации к стрессовым воздействиям [1, 5, 14, 16]. Наши исследования указывают на дестабилизацию мембран в результате хронической гипоксии. В литературе имеются данные об угнетении при хронической гипоксии в тромбоцитах новорожденных активности всех ферментов трансмембранного транспорта (Na⁺, K⁺-АТФазы, Mg²⁺, Ca²⁺-АТФазы), что способствует увеличенному току ионов кальция внутрь клетки [12] и неконтролируемому каскаду Ca²⁺-зависимых реакций (активация протеолитических ферментов, липаз, эндонуклеаз, НО-синтазы). Происходит активация лизосомальных ферментов, что приводит к интенсивному разрушению клеток. Активация фосфолипазы А2 сопровождается освобождением таких сигнальных

молекул, как арахидоновая кислота, и включением ферментов «неконтролируемого каскада» арахидоновой кислоты. С каскадом арахидоновой кислоты связано образование 4-гидрокси-2-ноненала, который повреждает ключевые ферменты клетки: Na^+ , K^+ -АТФазу, глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназу, различные киназы, стимулирует стресс-активируемые протеинкиназы, такие как JNK и p38. Таким образом, в результате метаболизма арахидоновой кислоты происходит генерация АФК и продуктов перекисидации липидов, что приводит к нарушению метаболизма фосфолипидов клеточных мембран. Считается, что интенсивный распад фосфолипидов клеточных мембран является ранним признаком развивающейся нейродегенерации [18]. Активация цикло- и липооксигеназного путей в тканях сопровождается накоплением лейкотриенов, тромбоксанов и простагландинов, которые способствуют спазму сосудов. Генерация активных форм кислорода является причиной нарушения митохондриального энергетического метаболизма, приводящего к увеличению гибели нейронов [4]. Все описанные процессы обуславливают неврологическую симптоматику в период ранней постнатальной адаптации и вызывают последующие неврологические нарушения у детей с задержкой внутриутробного развития.

Литература

1. Бурмистров С. О., Дубинина Е. Е., Арутюнян Е. В. Перекисное окисление липидов, белков и активность антиоксидантной системы сыворотки крови новорожденных и взрослых // *Акушерство и гинекология*. — 1997. — №6. — С. 36–40.
2. Гармашева Н. Л. Введение в перинатальную медицину. — М.: Медицина, 1978. — 296 с.
3. Диагностика гипоксии плода по данным показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности / Мусаев А. Т. [и др.] // *Педиатрия*. — 1991. — №12. — С.88.
4. Дубинина Е. Е. Роль окислительного стресса при патологических состояниях нервной системы // *Успехи функциональной нейрхимии* / ред. С. А. Дамбинова, А. В. Арутюнян. — СПб.: Изд-во СПбГУ, 2003. — С. 285–301.
5. Дубинина Е. Е., Раменская Н. П., Софронова Л. Н. Особенности антиоксидантной системы крови у новорожденных с асфиксией // *Педиатрия*. — 1986. — №5. — С. 75
6. Евсеенко Д. А., Ещенко Ю.В. Изменения в фетоплацентарном комплексе при острой и хронической внутриутробной гипоксии // *Педиатрия*. — 2002. — №1. — С. 5–9.
7. Зозуля Ю. А., Барабой В. А., Сутковой Д. А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга. — М.: Знание-М, 2000. — 344 с.
8. Кузнецова В. А. Клинико-метаболические проявления энергетической недостаточности у плода и новорожденного, развивавшихся при нарушении маточно-плацентарного и плодового кровообращения: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1992. — 43 с.
9. Павлова Т. А. Структурно-функциональные свойства клеточных мембран и их коррекция у новорожденных, перенесших острую гипоксию: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 1992.
10. Паллади Г. А., Робу А. И., Дондюк Ю. В. Родовой стресс и постнатальная адаптация новорожденных при кесаревом сечении // *Акушерство и гинекология*. — 1992. — №3–7. — С.27.
11. Пасенюк Т. А. Клиническое значение фосфолипидного спектра, перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у новорожденных с перинатальным поражением нервной системы: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Одесса, 1988. — 22 с.
12. Роль структурно-функциональных нарушений клеточных мембран в клинико-патогенетических проявлениях перинатальной гипоксии у новорожденных, пути коррекции / Петрушина А. Д. [и др.] // *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. — 2000. — №1. — С. 22–23.
13. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная система у здоровых доношенных новорожденных детей / Косов М. Н. [и др.] // *Физиология человека*. — 2001. — Т. 27, №3. — С. 133–136.
14. Свободнорадикальное окисление и механизмы клеточной адаптации у новорожденных / Камиллов Ф. Х. [и др.] // *Здравоохранение Башкортостана*. — 1999. — № 3. — С. 94–98.
15. Свободнорадикальное окисление у доношенных новорожденных детей с различной патологией / Евсюкова И. И. [и др.] // *Педиатрия*. — 1996. — №1. — С. 13–16.
16. Состояние перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у новорожденных / Забродина Л. В. [и др.] // *Педиатрия*. — 1992. — №2. — С. 34–37.
17. Яцык Г. В., Бомбардинова Е. П. Состояние здоровья детей первого года жизни в России // *Права ребёнка*. — 2004. — №1. — С. 42–43.
18. Farooqui A. A., Ong W. Y., Horrocks L. A Biochemical aspects of neurodegeneration in human brain: involment of neural membrane phospholipids and phospholipases A2 // *Neurochem.Res.* — 2004. — Vol. 29, №1. — P. 1961–1977.
19. Langer S. Z., Glazin A. M. Studies on the serotonin transporters in platelets // *Experientia*. — 1988. — Vol. 44. — P. 127–131.
20. Lesch K. P., Wolozin B. L., Murphy D. L. Primary structure of the human platelet serotonin uptake site Identify with the brain serotonin transporter // *J. Neurochem.* — 1993. — Vol. 60. — P. 2319–2322.
21. Muscettola G., Di Lauro A., Giannini C. P. Blood cells as biological trait markers in affective disorders // *J. Psychiatr. Res.* — 1984. — Vol. 18. — P. 447–456.

Статья представлена В. В. Абрамченко
ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта,
Санкт-Петербург

PECULIARITY OF PLATELET LIPID PEROXIDATION
AND ANTIOXIDANT SYSTEM IN NEWBORN
WITH INTRAUTERINE GROWTH RETARDATION

Kovalchuk-Kovalevskaya O. V., Prokopenko V. M.,
Arutjunyan A. V.

■ **Summary:** The imbalance of platelet lipid peroxidation and antioxidant system was showed among the newborn with intrauterine growth retardation. The lipid peroxidation increase and the antioxidant system reduction play a significant role in the injury of the neurons, and cause a difficulty of newborn with intrauterine growth retardation adaptation. It promote the neurologic damages in the future.

■ **Key words:** lipid peroxidation; newborn; intrauterine growth retardation.

■ **Адреса авторов для переписки**

Ковальчук-Ковалевская Ольга Владимировна — к. м. н., с. н. с. отделения физиологии и патологии новорожденных детей.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: kovkolga@yandex.ru

Прокопенко Валентина Михайловна — к. б. н., с. н. с. лаборатории биохимии.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: vmp47@mail.ru

Арутjunян Александр Вартанович — д. б. н., проф. рук. лаборатории биохимии.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: arutjunyan@aa3703.spb.edu

Kovalchuk-Kovalevskaya Olga Vladimirovna — PhD, Department of Physiology and Pathology of newborns.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS.
199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3.

E-mail: kovkolga@yandex.ru

Prokopenko Valentina Mikhailovna — PhD, lab of biochemistry.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS.
199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3.

E-mail: vmp47@mail.ru

Arutjunyan Alexandr Vartanovich — Dr. Sci., Head of the department of biochemistry.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS.
199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3.

E-mail: arutjunyan@aa3703.spb.edu

© Л. И. Колесникова,
Н. А. Курашова, Л. А. Гребенкина,
М. И. Долгих, Н. В. Завьялова

Научный Центр проблем здоровья семьи
и репродукции человека СО РАМН,
г. Иркутск

ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССОВ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И ГОРМОНАЛЬНОГО СТАТУСА У ЖЕНЩИН С ГИПОТАЛАМИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ В РАЗЛИЧНЫЕ ВОЗРАСТНЫЕ ПЕРИОДЫ

УДК: 618.1:616.831.4]-07

■ В работе представлены результаты исследования процессов перекисного окисления липидов — состояния антиоксидантной защиты и гормональных показателей у женщин с гипоталамическим синдромом по сравнению со здоровыми женщинами. У женщин с гипоталамическим синдромом в различные возрастные периоды установлена активация процессов перекисного окисления липидов и выявлено достоверное повышение пролактина, ЛГ, ТТГ, Т3 и Т4.

■ **Ключевые слова:** гипоталамический синдром; пероксидация липидов; антиоксидантный статус; гормоны.

Гипоталамический синдром (ГС) является одним из распространенных нейроэндокринных нарушений у женщин. Актуальность изучения данной патологии определяется, прежде всего, ее заметной распространенностью, которая колеблется от 7,1 [13] до 25% [3, 15]. В связи с этим приобретают особое значение возрастные особенности адаптационного и дезадаптационного характера при формировании данного патологического состояния. При ГС отмечается дисбаланс в важнейших адаптационных системах, свидетельствующий об изменении регуляции гипоталамуса, функции гипофизарно-надпочечниковой, гипофизарно-тиреоидной, гипофизарно-яичниковой систем, а также нарушения в системе ПОЛ–АОЗ [8, 14]. Нарушения гормональной регуляции при ГС чаще всего проявляются гиперпролактинемией, гиперкортизолемией, гиперлептинемией, увеличением соотношения ЛГ/ФСГ и содержания тестостерона [2]. Важным звеном патогенеза ГС с репродуктивными нарушениями является антиоксидантная недостаточность [13], которая в целом при бесплодии на фоне гипоталамо-гипофизарной дисфункции регистрируется в 86% случаев [17].

Результатом дисбаланса системы ПОЛ–АОЗ является окислительный стресс — важный патогенетический фактор многих заболеваний, в том числе репродуктивных, связанных с функциональными нарушениями биологических барьеров [10].

Гипоталамический синдром в свете современных представлений о болезни и типовых патологических процессах является системной реакцией организма на действие этиологических факторов, которые оказывают влияние на нейрогормональную регуляцию и процессы липопероксидации. Известно, что данные процессы могут меняться в зависимости от длительности и интенсивности функциональной активности, направленной на восстановление и поддержание гомеостаза организма. В связи с этим широко ведутся исследования роли свободнорадикального окисления и нейрогормональной регуляции при различных патологических нарушениях, дисбаланс соотношений которых приводит к нарушениям в кислороднотранспортной функции эритроцитов, формированию окислительного стресса, мембранной патологии и нарушению клеточного метаболизма. Все перечисленные нарушения в той или иной степени обуславливают состояние адаптивных и дезадаптивных реакций организма, определяющих стадии развития ГС.

Имеются сведения о том, что продукты СРО (гидроперекиси липидов, диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид

и др.), образующиеся на различных этапах этой цепной реакции, отражают интенсивность процессов свободнорадикального окисления липидов и в избыточных концентрациях являются токсичными [4, 12], обладают мутагенным и тератогенным эффектами [5]. Показано также, что при гипоталамическом синдроме содержание продуктов ПОЛ в плазме крови и эритроцитах повышено, что сопровождается небольшим дефицитом α -токоферола в эритроцитах. Антиоксидантная недостаточность регистрируется у женщин, страдающих бесплодием на фоне гипоталамо-гипофизарной дисфункции [1, 17] и при воспалительных заболеваниях репродуктивной системы [18, 19].

При физиологических условиях антиоксидантная защита предотвращает развитие в организме чрезмерной интенсификации процессов СРО, в экстремальных ситуациях емкость антиоксидантных систем повышается за счет стрессорной активации, гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и симпатoadреналовой систем с повышенной продукцией биогенных аминов, глюкокортикоидов, эндогенных опиоидов, γ -оксималяной кислоты и др. [16].

О состоянии процессов свободнорадикального окисления липидов и антиоксидантной защиты при ГС имеются самые разноречивые мнения — выявлено повышение интенсивности СРО и снижение АОЗ в развитии нейрообменно-эндокринного синдрома [21]. В то же время у женщин с ГС отмечалось значительное, в 2,5 раза, повышение уровня α -токоферола по сравнению с контрольной группой, при этом суммарная АОА не отличалась от здоровых, что говорило о повышении неферментативного звена антиоксидантной защиты; уровни ДК, γ МДА у пациенток с ГС не отличались от таковых в группе контроля [9].

Результаты изучения взаимоотношений процессов свободнорадикального окисления липидов, антиоксидантной защиты организма и нейроэндокринной регуляции могут служить своеобразной моделью становления патологической системы у женщин с ГС. Изучение их соотношений важно для понимания патогенетических механизмов формирования, ранней диагностики, прогнозирования развития ГС на различных стадиях нарушений и, возможно, могут стать основой успешной профилактики формирующейся патологии.

Материалы и методы

Проведено обследование 121 женщины, 78 из которых (1-я группа) имели клинические проявления ГС с длительностью заболевания от 3 до

16 лет (7,93±0,41). В контрольную группу (2-ю) включены 43 соматически здоровые женщины без репродуктивных нарушений. Возраст всех женщин составил от 17 до 30 лет (24,86±0,74 и 23,07±0,41 в группах, соответственно).

Диагноз ГС был установлен при наличии у пациентки не менее трех из перечисленных симптомокомплексов: нейроэндокринные нарушения (избыточная масса тела или ожирение с ИМТ более 30 кг/м²), трофические (стрии), мотивационные, вегетативно-сосудистые, терморегуляционные, нарушения сна, неврологические и психоэмоциональные изменения, нарушения водно-солевого и углеводного обмена, лакторея, предменструальный синдром, нарушение менструального цикла и репродуктивной функции. Оценка степени ожирения вычислялась по ИМТ (G. Brey, 1978) как отношение массы тела в килограммах к длине тела в метрах, возведенной в квадрат: $ИМТ = [(масса\ тела\ (кг)/рост\ (м)]^2$. Начало заболевания всех пациенток связано с перенесенным гипоталамическим синдромом пубертатного периода.

Во всех группах, включая контрольную, проводилось эпидемиологическое обследование с применением анкетирования с учетом биологических, социальных и анамнестических данных, а также общеклиническое, инструментальное и лабораторное исследования. Получение информированного согласия на участие в проводимом исследовании являлось обязательной процедурой при включении пациенток в одну из групп.

Материалом исследования служили сыворотка крови и гемолизат эритроцитов. Интенсивность ПОЛ оценивали по содержанию его продуктов — диеновых конъюгатов (ДК), кетодиенов и сопряженных триенов (КДиСТ), а также по показателю ненасыщенности липидов — двойных связей (ДВ СВ) [7]. Содержание ТБК-активных продуктов — малонового диальдегида (МДА) — определяли флуориметрическим методом [6]. Об активности системы АОЗ судили по общей антиоксидантной активности (АОА) [11], а также по содержанию ее компонентов (α -токоферола, ретинола [20], супероксиддисмутазы (СОД) [22]. Измерения проводили на спектрофлуориметре SHIMADZU RF-5000 (Япония).

Гормональное обследование включало в себя определение значений пролактина, ЛГ, тироксина и трийодтиронина методами иммуноферментного анализа с использованием анализатора «Cobos EIL» (Швейцария), тест-систем «Диа-Плюс» — «Рош-Москва» и радиоиммунологического анализатора «Иммунотест» (Россия), наборов реагентов CIS-BIO International (Франция).

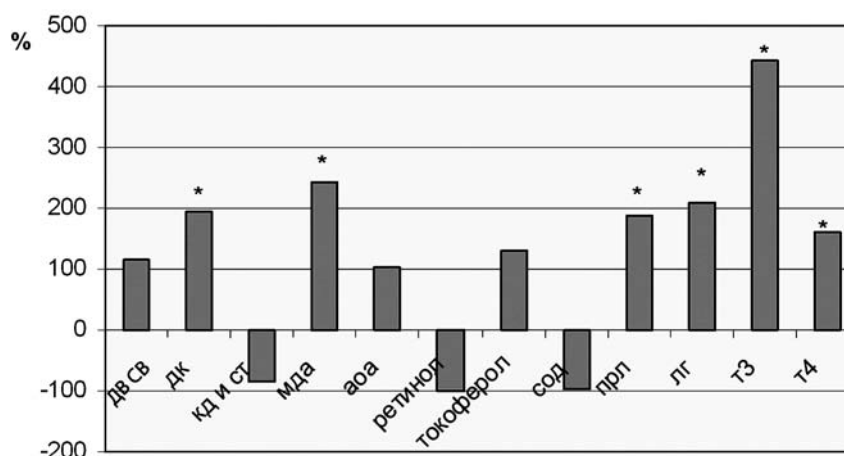


Рис. 1. Параметры гормональной регуляции и свободнорадикального окисления липидов (в %) у женщин с ГС в возрасте до 20 лет по отношению к контролю (* — $p < 0,05$)

В исследовании использовались вычислительные процедуры методов математической статистики, реализованные в лицензионном интегрированном статистическом пакете комплексной обработки данных STATISTICA 6.1 Stat-Soft Inc, США (правообладатель лицензии — НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН) и критерия для оценки статистически значимых различий, применяемых в медико-биологических исследованиях ($P < 0,05$).

Результаты исследования

В результате проведенного исследования нами было выявлено, что в возрасте до 20 лет у девушек с ГС имеет место увеличение продуктов ПОЛ — ДК и МДА (в 1,9 раза и в 2,4 раза, соответственно, по сравнению с контрольной группой, $p < 0,05$). В гормональной системе установлено статистически значимое повышение ПРЛ в 1,9 раз ($p < 0,05$), ЛГ в 2,1 раза ($p < 0,05$), ТЗ в 4,4 раза ($p < 0,05$) и Т4 в 1,6 раза ($p < 0,05$) по сравнению с группой соматически здоровых женщин. В возрасте 20–25 лет женщин с ГС установлено статистически значимое увеличение МДА в 1,5 раза (рис. 1).

О значительных гормональных перестройках в группе девушек с ГС до 20 лет свидетельствует установленное статистически значимое повышение ПРЛ, ЛГ, ТЗ и Т4, что обуславливает характерную клиническую картину: вегетативную дисфункцию, нарушения менструального цикла, ожирение, интенсивно окрашенные стрии и др. Поскольку функция щитовидной железы находится под контролем передней доли гипофиза, и непосредственно ТТГ, то его измененный уровень в сыворотке крови свидетельствует о функциональном патологическом состоянии щитовидной железы, что подтверждается высокими значениями показателей ТЗ и

Т4. Именно гормональные перестройки влекут за собой интенсификацию метаболических процессов, в частности активацию процессов перекисного окисления липидов. Выявленное увеличение продуктов ПОЛ — ДК и МДА подтверждает активацию липопероксидации, которая, по всей вероятности, служит проявлением компенсаторно-приспособительных реакций организма, направленных на обеспечение адекватных метаболических процессов (изменения активности мембраносвязанных ферментов, ионного транспорта, энергетического статуса клетки, генерации биологически активных соединений и др.). Накопление в организме продуктов липопероксидации приводит к тому, что происходит повышение проницаемости и повреждение мембран, а также подавление деления и регенерации клеток.

В возрасте 20–25 лет у женщин с ГС установлено статистически значимое увеличение МДА в 1,5 раза, что, вероятно, характеризует активацию процессов ПОЛ без компенсаторного ответа системы антиоксидантной защиты (рис. 2). Высокий уровень МДА в крови больных также может свидетельствовать не только об интенсивном метаболизме первичных продуктов ПОЛ, что хорошо известно в клинике многих заболеваний, но, возможно, и о замедленном выведении этих токсичных веществ из организма. В гормональной системе в данной возрастной группе значимых различий не было. Также некоторыми исследователями отмечается, что как низкое, так и высокое содержание МДА является неблагоприятным показателем гомеостаза и отражает снижение обменных процессов в мембранах клеток.

У женщин с гипоталамическим синдромом в более поздние возрастные сроки (25–30 лет) характер различий изменился, о чем свидетельству-

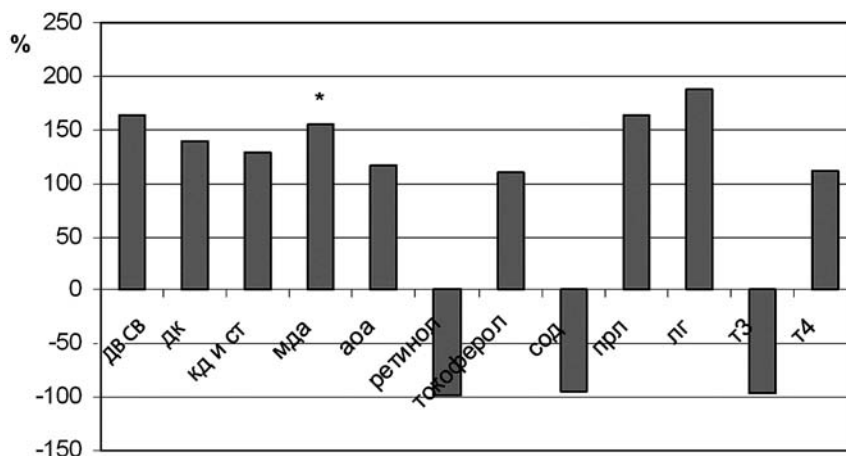


Рис. 2. Параметры гормональной регуляции и свободнорадикального окисления липидов (в %) у женщин с ГС в возрасте 20–25 лет по отношению к контролю (* — $p < 0,05$)

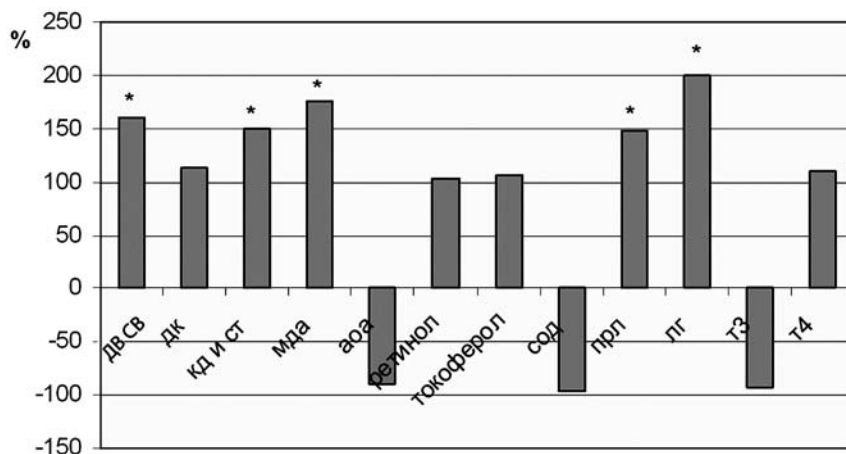


Рис. 3. Параметры гормональной регуляции и свободнорадикального окисления липидов (в %) у женщин с ГС в возрасте 25–30 лет по отношению к контролю (* — $p < 0,05$).

ют повышенные концентрации в крови субстратов с сопряженными двойными связями, КДиСТ, МДА (рис. 3). Данное повышение первичных и вторичных продуктов пероксидации липидов может быть обусловлено изменениями в системе антиоксидантной защиты. Но так как концентрация витаминов значимо не изменилась, можно предположить, что в данной группе у больных женщин с овариальными нарушениями именно пролактин выполняет роль антиоксиданта. Изменения в гормональной системе характеризуются повышением показателей ПРЛ и ЛГ (рис. 3). Увеличение концентрации пролактина указывает на изменение в функциональной активности его секреции, которая происходит практически во всех тканях организма. В дальнейшем его повышенные концентрации могут привести к многообразным изменениям в репродукции и лактации, водно-солевом обмене и обмене веществ в целом.

Отмеченные изменения в гормональной системе женщин 25–30 лет с гипоталамическим синдромом с повышенными значениями ПРЛ и ЛГ могут быть связаны с установленным синдромом поликистозных яичников в данной группе больных.

Таким образом, у женщин в различных возрастных группах при ГС определена значимость изменений гормональной регуляции, процессов свободнорадикального окисления липидов, в том числе системы антиоксидантной защиты, что поможет установить прогностические критерии развития тех или иных осложнений при формировании ГС. Полученные результаты могут быть использованы в комплексе диагностических тестов при лечении женщин с гипоталамическим синдромом в различных возрастных периодах, а заблаговременная коррекция гормонально-метаболических нарушений при ГС может рас-

смагиваться как существенный резерв для снижения частоты акушерских и перинатальных осложнений.

Литература

- Активность антиоксидантной системы крови у беременных после оперативного лечения синдрома поликистозных яичников / Орлов В. И. [и др.] // Материалы 4 Российского форума «Мать и дитя», 21-25 октября 2002 г. Ч. 1. — М., 2002. — С. 455–456.
- Артымук Н. Е. Лептин и репродуктивная система женщин с гипоталамическим синдромом // Акушерство и гинекология. — 2003. — № 4. — С. 36–39.
- Артюкова О. В., Коколина В. Ф. Гипоталамический синдром пубертатного периода // Вестник Российской ассоциации акушеров и гинекологов. — 1997. — № 2. — С. 45–49.
- Балаболкин М. И., Клебанова Е. М. Роль окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений диабета (лекция) // Проблемы эндокринологии. — 2000. — Т. 46, № 6. — С. 29–34.
- Величковский Б. Т. Свободнорадикальное окисление как звено срочной и долговременной адаптации организма к факторам окружающей среды // Вестник Российской академии медицинских наук. — 2001. — № 6. — С. 45–52.
- Гаврилов В. Б., Гаврилова А. Р., Мажуль Л. М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой // Вопр. мед. хим. — 1987. — № 1. — С. 118–122.
- Гаврилов В. Б., Мишкорудная М. И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лабораторное дело. — 1983. — № 3. — С. 33–36.
- Гогаева Е. В. Ожирение и нарушения менструальной функции // Гинекология. — 2001. — Т. 3, № 5. — С. 174–176.
- Даржаев З. Ю. Вторичный поликистоз яичников при нейроэндокринной форме гипоталамического синдрома (вопросы патогенеза и диагностики: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Иркутск, 2000. — 32 с.
- Окислительный стресс: биохимический и патофизиологический аспекты / Зенков Н. К. [и др.]. — М.: Наука/Интерпериодика, 2001. — 343 с.
- Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов / Г. И. Клебанов [и др.] // Лабораторное дело. — 1988. — № 5. — С. 59–62.
- Перекисное окисление и стресс / Барабой В. А. [и др.]. — СПб.: Наука, 1992. — 148 с.
- Сутурина Л. В. Гипоталамический синдром: основные звенья патогенеза, диагностика, патогенетическая терапия и прогноз: автореф. дис. ... д-ра. мед. наук. — Иркутск, 2002. — 45 с.
- Сутурина Л. В., Колесникова Л. И. Основные патогенетические механизмы и методы коррекции репродуктивных нарушений у больных с гипоталамическими синдромами. — Новосибирск: Наука, 2001. — 134 с.
- Терещенко И. В. Лечение, профилактика и прогноз пубертатно-юношеского гипоталамического диспитуитаризма: автореф. дис. ... д-ра. мед. наук. — Пермь, 1996. — 87 с.
- Тиреоидные гормоны и мелатонин как средства антиоксидантной терапии / Диде Г. П. [и др.] // Анестезиология и реаниматология. — 2001. — № 4. — С. 43–46.
- Ткаченко Л. В. Новый подход к патогенетической терапии женского бесплодия при гипоталамо-гипофизарной дисфункции // Новые технологии в акушерстве и гинекологии: материалы научного форума. — М., 1999. — С. 318–319.
- Хамадьянова А. У. Роль антиоксидантной недостаточности в патогенезе хронического рецидивирующего сальпингоофорита // Профилактика, диагностика и лечение гинекологических заболеваний: материалы международного конгресса, 12–16 мая 2003 г. — М., 2003. — С. 101–102.
- Хемилюминисцентное исследование перекисного и антиоксидантного гомеостаза у больных с острым воспалением органов малого таза / Степанькова Е. А. [и др.] // Профилактика, диагностика и лечение гинекологических заболеваний: материалы международного конгресса, 12–16 мая 2003 г. — М., 2003. — С. 100.
- Черняускене Р. Ч., Варшкявичене З. З., Грибаускас П. С. Одновременное определение концентраций витаминов Е и А в сыворотке крови // Лабораторное дело. — 1984. — № 6. — С. 362–365.
- Эгамбердыева Л. Д. Роль перекисного окисления липидов антиоксидантной защиты при нейроэндокринных нарушениях и альгодисменорее: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Казань, 1998. — 18 с.
- Misra H. P., Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase // J. Biol. Chem. — 1972. — Vol. 247. — P. 3170–3175.

Статья представлена А. В. Арутюняном,
ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта,
Санкт-Петербург

SPECIFIC FEATURES OF FREE RADICAL PEROXIDATION PROCESSES AND HORMONES STATUS IN THE WOMEN WITH HYPOTHALAMIC SYNDROME IN DIFFERENT AGE-RELATED PERIODS

Kolesnikova L. I., Kurashova N. A., Grebenkina L. A., Dolgikh M. I., Zavjalova N. V.

■ **Summary:** The research presents the study results of lipid peroxidation — antioxidant protection and hormones rates processes in women with hypothalamic syndrome in comparison with the control group. Activation of lipid peroxidation processes

and reliable increase of prolactin, luteinizing hormone, thyroid-stimulating hormone, triiodothyronine, thyroxine was identified in the women with hypothalamic syndrome in different age-related periods.

■ **Key words:** hypothalamic syndrome; lipid peroxidation; antioxidant state; hormones.

■ **Адреса авторов для переписки**

Колесникова Любовь Ильинична — директор, член.-корр. РАМН, профессор.

УРАМН НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН. 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16.

E-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Курашова Надежда Александровна — н. с. лаборатории патофизиологии репродукции, к. б. н.

УРАМН НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН. 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16.

E-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Гребенкина Людмила Анатольевна — с. н. с. лаборатории патофизиологии репродукции, к. б. н.

УРАМН НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН. 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16.

E-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Долгих Мария Игоревна — н. с. лаборатории патофизиологии репродукции, к. б. н.

УРАМН НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН. 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16.

E-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Kolesnikova Lubov Iljinichna — MD, professor, a Fellow member of the RAMS, director.

Scientific Centre of the Problems of Family Health and Human Reproduction, SB RAMS.

E-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Kurashova Nadezhda Aleksandrovna — the scientific employee of laboratory pathophysiology reproductions.

Scientific Centre of the Problems of Family Health and Human Reproduction, SB RAMS.

E-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Lyudmila Anatolevna Grebenkina — the scientific employee of laboratory pathophysiology reproductions.

Scientific Centre of the Problems of Family Health and Human Reproduction, SB RAMS.

E-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Dolgikh Mariya Viktorovna — the scientific employee of laboratory pathophysiology reproductions.

Scientific Centre of the Problems of Family Health and Human Reproduction, SB RAMS.

E-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

© Л. И. Колесникова,
Н. В. Семенова, А. В. Лабыгина,
Л. В. Сутурина, Л. Ф. Шолохов

ОЦЕНКА АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА У ЖЕНЩИН С ЭНДОКРИННЫМ БЕСПЛОДИЕМ

Учреждение РАМН Научный центр проблем
здоровья семьи и репродукции человека
СО РАМН, Россия, г. Иркутск

УДК: 618.177: 616.43]-07

■ В работе представлены результаты гормонального скрининга и исследования системы антиоксидантной защиты у 71 женщины с разными формами эндокринного бесплодия. У бесплодных женщин установлен высокий уровень общей антиокислительной активности сыворотки крови при повышенном расходе молекулярных антиоксидантов.

■ **Ключевые слова:** гормоны; антиоксидантная система; эндокринное бесплодие.

В настоящее время при изучении патогенетических механизмов различных нейроэндокринных заболеваний, в том числе гинекологических, наряду с исследованием гормонального статуса большое внимание уделяют оценке процессов перекисного окисления липидов–антиоксидантной защиты (ПОЛ-АОЗ). Это связано с тем, что изменение прооксидантно-антиоксидантного баланса может привести к развитию окислительного стресса [2, 4, 9], тем самым усугубляя нейроэндокринные нарушения при данных патологиях [3, 6, 8, 12, 13]. От активности антиоксидантной системы зависит поддержание гомеостаза в организме. В связи с этим исследование системы АОЗ у женщин с эндокринным бесплодием является актуальным и может позволить разработать принципы патогенетически обоснованной коррекции нарушений в системе ПОЛ-АОЗ у больных женщин.

Цель исследования

Изучение особенностей системы АОЗ у женщин в зависимости от формы эндокринного бесплодия.

Материалы и методы

В исследовании была включена 101 женщина репродуктивного возраста. Из них 30 женщин в возрасте от 18 до 34 лет, не страдающих бесплодием и какими-либо эндокринными заболеваниями, составили группу сравнения. В основную группу вошли женщины с эндокринными факторами бесплодия (71 пациентка в возрасте от 22 до 40 лет). Пациентки с эндокринным бесплодием были разделены на 4 группы в зависимости от формы заболевания: с синдромом поликистозных яичников (СПКЯ) (n=18); с гипергонадотропным гипогонадизмом (n=12); с надпочечниковой гиперандрогенией (n=22); с гиперпролактинемией (n=19). По длительности бесплодия группы были сопоставимы между собой.

У всех обследуемых проводилось анкетирование с учетом анамнестических данных, а также общеклиническое, гинекологическое и лабораторное обследование. Получение информированного согласия на участие в проводимом исследовании являлось обязательной процедурой при включении пациентки в одну из групп. Забор крови у женщин проводили из локтевой вены, натощак, с 8 до 9 часов утра в соответствии с общепринятыми требованиями. Полученную сыворотку для гормональных исследований, плазму и гемолизат для оценки антиоксидантного статуса хранили в морозильной камере при температуре -20°C до момента определения. Проведение гормональных исследований осуществлялось в лаборатории физиологии и патологии эндокринной системы Научного центра ПЗСРЧ СО РАМН. Определение концентраций пролактина (ПРЛ), лютеинизиру-

Таблица 1

Содержание гормонов в сыворотке крови обследованных женщин (M±σ)

Гормональный показатель	Контроль, n=30	Бесплодие			
		СПКЯ, n=18	Гипергонадотропный гипогонадизм, n=12	Надпочечниковая гиперандрогения, n=22	Гиперпролактинемия, n=19
ПРЛ, мЕД/мл	307,63±112,49	354,17±127,79	448,50±185,94*	357,09±102,19	905,16±324,00*
ЛГ, мЕД/мл	3,35±1,22	12,25±4,95*	16,49±14,92*	3,87±1,37	3,93±2,06
ФСГ, мЕД/мл	4,57±2,45	5,17±2,19	27,68±22,44*	5,93±1,90*	5,13±1,87
Тс, нмоль/л	2,11±0,82	4,46±0,98*	2,53±1,22	2,58±0,98	2,58±1,04
Корт, нмоль/л	455,5±114,50	465,44±214,44	621,83±310,58*	459,68±163,35	605,68±173,53*
17-ОН-прогест., нмоль/л	1,62±0,41	1,61±0,74	1,40±0,58	3,31±0,71*	1,57±0,73

Примечание: * — при $p < 0,05$ по отношению к контролю.

щего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) проводилось радиоиммунологическим методом с использованием наборов ООО «Диас» (Россия) и анализатора «Иммунотест». Иммуноферментным методом с использованием анализатора «Cobos» проводилось определение уровней кортизола (Корт), тестостерона (Тс) (наборы «Алкор Био», Россия), 17-ОН-прогестерона, дегидроэпиандростерон-сульфата (ДГЭА-С) (наборы «DRG ELISAS», USA).

Исследования показателей антиокислительной защиты проведены в лаборатории патофизиологии репродукции Научного центра ПЗСРЧ СО РАМН. Антиоксидантный статус оценивали по общей антиокислительной активности крови (АОА) [5], содержанию низкомолекулярных антиоксидантов α -токоферола, ретинола [7], аскорбата [1], восстановленного и окисленного глутатионов (GSH, GSSG) [10] и активности супероксиддисмутазы (СОД) [11]. Регистрацию оптических плотностей и флуоресценции проводили с помощью спектрофотометра SHIMADZU RF-5000 и спектрофотометра СФ-56.

Обработку данных проводили с помощью известных статистических методов и прикладных программ различными методами параметрической (средней ошибки (m), средне-квадратичного отклонения (δ), достоверность различий средних величин по t-критерию Стьюдента, F-критерию Фишера) и непараметрической статистики (критерий Манна-Уитни). Критический уровень значимости принимался равным 0,05.

Результаты исследования

Результаты исследования, характеризующие состояние гипофизарно-гонадной и гипофизарно-надпочечниковой систем у пациенток с разными формами эндокринного бесплодия, представлены в таблице 1.

В сыворотке крови бесплодных женщин с СПКЯ увеличены концентрации ЛГ в 3,7 раза ($p < 0,05$) и тестостерона в 2,1 раза ($p < 0,05$).

Гормональный статус пациенток с бесплодием и гипергонадотропным гипогонадизмом характеризуется повышением в сыворотке крови концентраций ЛГ в 4,9 раза ($p < 0,05$), ФСГ в 6,1 раза ($p < 0,05$), пролактина в 1,5 раза ($p < 0,05$) и кортизола в 1,4 раза ($p < 0,05$).

В сыворотке крови бесплодных женщин с надпочечниковой гиперандрогенией повышены концентрации 17-ОН-прогестерона в 2 раза ($p < 0,05$) и ФСГ в 1,3 раза ($p < 0,05$). Концентрации ДГЭА-С соответствовали нормативным значениям ($4,89 \pm 0,49$ мкмоль/л).

Группа пациенток с бесплодием и гиперпролактинемией характеризуется повышенными концентрациями в сыворотке крови пролактина в 2,9 раза ($p < 0,05$) и кортизола в 1,3 раза ($p < 0,05$).

Результаты исследований, характеризующие состояние системы АОЗ у женщин с различными формами эндокринного бесплодия, представлены в таблице 2.

У пациенток с бесплодием и СПКЯ отмечено увеличение содержания в сыворотке крови GSSG в 1,16 раз ($p < 0,05$) при незначительном снижении уровня GSH. У этих женщин регистрировали снижение содержания в сыворотке крови α -токоферола на 20% ($p < 0,05$), ретинола на 65% ($p < 0,05$) и аскорбата на 16% ($p < 0,05$). Таким образом, за счет усиленного расхода молекулярных антиоксидантов, общая АОА сыворотки крови увеличивалась в 1,78 раза ($p < 0,05$). Результаты дисперсионного анализа (F-критерий) показали наличие изменений АОА, СОД, GSH, α -токоферола в данной группе пациенток по сравнению с группой контроля.

В группе бесплодных женщин с гипергонадотропным гипогонадизмом увеличивалось содержание в сыворотке крови GSSG в 1,16 раза ($p < 0,05$) при базальном уровне GSH. Помимо этого, отмечено снижение в сыворотке крови пациенток с бесплодием содержания α -токоферола на 28% ($p < 0,05$) и ретинола на 68% ($p < 0,05$). При этом общая АОА сыворотки крови увеличена в 1,86 раз

Таблица 2

Общая АОА и содержание антиоксидантов в сыворотке крови женщин контрольной группы и пациенток с разными формами эндокринного бесплодия (M±σ)

Показатель	Группа контроля, n=30	Бесплодие			
		СПКЯ, n=18	Гипергонадотропный гипогонадизм, n=12	Надпочечниковая гиперандрогения, n=22	Гиперпролактинемия, n=19
АОА, усл. ед.	11,09±1,96	19,69±7,18*	20,65±7,20*	19,28±6,85*	20,57±4,56*
СОД, усл. ед.	1,63±0,07	1,76±0,17	1,65±0,19	1,59±0,26	1,66±0,22
GSH, ммоль/л	2,34±0,34	2,09±0,57	2,28±0,34	2,19±0,23	2,17±0,22
GSSG, ммоль/л	1,76±0,24	2,05±0,27*	2,04±0,25*	1,99±0,23	1,94±0,25
α-токоферол, мкмоль/л	11,29±1,26	9,01±4,54*	8,08±2,28*	8,98±4,30*	9,11±3,22*
Ретинол, мкмоль/л	1,88±0,23	0,65±0,28*	0,60±0,17*	0,70±0,27*	0,65±0,20*
Аскорбат, мкмоль/л	66,49±4,82	55,68±16,70*	68,48±13,48	54,52±17,21*	56,27±19,68*

Примечание: * — при $p < 0,05$ по отношению к контролю.

($p < 0,05$). Кроме того, в данной группе пациенток по сравнению с контролем в отношении АОА, СОД, α-токоферола и аскорбата были обнаружены изменения по дисперсиям (F-критерий).

У пациенток с бесплодием и надпочечниковой гиперандрогенией по сравнению с показателями контрольной группы отмечено увеличение содержания в сыворотке крови GSSG в 1,13 раза ($p < 0,05$) при неизменном уровне GSH. Кроме того, в группе больных женщин отмечено снижение содержания в сыворотке крови: α-токоферола на 20% ($p < 0,05$), ретинола на 63% ($p < 0,05$) и аскорбата на 18% ($p < 0,05$). Общая АОА сыворотки крови бесплодных женщин повышена в 1,74 раза ($p < 0,05$) относительно контрольных значений. Также было обнаружено увеличение диапазона изменений (F-критерий) общей АОА, СОД, α-токоферола и аскорбата по сравнению с данными контрольной группы.

У пациенток с бесплодием и гиперпролактинемией отмечено: увеличение уровня общей АОА сыворотки крови в 1,85 раза ($p < 0,05$), увеличение содержания в крови GSSG в 1,10 раза ($p < 0,05$) при неизменном уровне GSH, снижение содержания α-токоферола на 19% ($p < 0,05$), ретинола на 65% ($p < 0,05$) и аскорбата на 15% ($p < 0,05$). В отношении АОА, СОД, GSH, α-токоферола и аскорбата обнаружены изменения по дисперсиям (F-критерий) в сравнении с группой контроля.

При сравнении показателей системы АОЗ в группах бесплодных женщин между собой отличия заключаются в повышенной активности СОД в группе пациенток с СПКЯ по сравнению с бесплодными женщинами с надпочечниковой гиперандрогенией в 1,11 раз ($p < 0,05$). Разница заключается также в более высоком содержании аскорбата в сыворотке крови пациенток с гипергонадотропным гипогонадизмом по сравнению с бесплодными с СПКЯ в 1,23 раза ($p < 0,05$) и надпочечниковой гиперандрогенией в 1,26 раза ($p < 0,05$). Отличия по дисперсиям (F-критерий) выявлены в отношении GSH в группе женщин с

СПКЯ по сравнению с пациентками с надпочечниковой гиперандрогенией и гиперпролактинемией, а также по α-токоферолу в группе больных с гипергонадотропным гипогонадизмом по сравнению с группами с СПКЯ и надпочечниковой гиперандрогенией.

Обсуждение результатов

Таким образом, у женщин с эндокринным бесплодием установлены изменения гормонального статуса, характерные для каждой формы данного патологического состояния.

При оценке состояния системы АОЗ отмечено повышение уровня общей АОА сыворотки крови у всех больных, при повышенном содержании в крови GSSG и сниженном содержании α-токоферола и ретинола. Низкий уровень аскорбата выявлен во всех группах больных, кроме пациенток с гипергонадотропным гипогонадизмом. Являясь «ловушками радикалов», молекулярные антиоксиданты участвуют в блокировке процессов липопероксидации, чем и объясняется их повышенный расход. Скорее всего, у бесплодных женщин происходит гиперактивация процессов ПОЛ, что влечет за собой истощение резервов системы АОЗ. В связи с этим рекомендуется включение различных антиоксидантов в комплексную терапию для коррекции нарушений процессов ПОЛ у женщин с разными формами эндокринного бесплодия.

Литература

1. Биохимические исследования в токсикологическом эксперименте / Портяная Н. И. [и др.]; ред. М. Ф. Савченкова, В. М. Прусакова. — Иркутск: Изд-во Иркутского ун-та, 1990. — С. 123–128.
2. Дубинина Е. Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса // Вопросы медицинской химии. — 2001. — Т. 47, вып. 6. — С. 561–581.
3. Лабьгина А. В. Эффективность эфферентных методов в комплексной терапии больных с гипоталамическим

- синдромом и репродуктивными нарушениями: автореф. дис. ... к-та мед. наук. — Иркутск, 2004. — 26 с.
4. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты / Меньщикова Е. Б. [и др.]. — М.: Слово, 2006. — 556 с.
 5. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов / Клебанов Г. И. [и др.] // Лабораторное дело. — 1988. — № 5. — С. 59–62.
 6. *Сутурина Л. В., Колесникова Л. И.* Основные патогенетические механизмы и методы коррекции репродуктивных нарушений у больных с гипоталамическими синдромами. — Новосибирск: Наука, 2001. — 134 с.
 7. *Черняускене Р. Ч., Варикявичене З. З., Грибаускас П. С.* Одновременное определение концентраций витаминов Е и А в сыворотке крови // Лабораторное дело. — 1984. — № 6. — С. 362–365.
 8. *Agarwal A., Allamaneni S. S.* Role of free radicals in female reproductive diseases and assisted reproduction // *Reprod Biomed Online*. — 2004. — Vol. 9. — P. 338–347.
 9. *Betteridge D. J.* What is oxidative stress // *Metabolism*. — 2000. — Vol. 49. — P. 1865–1874.
 10. *Hisin P. J., Hilf R.* Fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues // *Anal. Biochem.* — 1976. — Vol. 74. — P. 214–226.
 11. *Misra H.P., Fridovich I.* The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase // *J. Biol. Chem.* — 1972. — Vol. 247. — P. 3170–3175.
 12. Oxidative stress and the ovary / Behrman H. R. [et al.] // *J. Soc. Gynecol. Investig.* — 2001. — Vol. 8. — P. 40–42.
 13. The effects of rosiglitazone and metformin on oxidative stress and homocysteine levels in lean patients with polycystic ovary syndrome / Yilmaz M. [et al.] // *Human Reproduction*. — 2005. — Vol. 20, № 12. — P. 3333–3340.

Статья представлена А. В. Арутюняном,
ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта,
Санкт-Петербург

ESTIMATION OF THE ANTIOXIDANT STATUS AT WOMEN WITH ENDOCRINE STERILITY

Kolesnikova L. I., Semenova N. V., Labigina A. V., Suturina L. V., Sholohov L. F.

■ **Summary:** In work results of hormonal screening and research of system antioxidant protection at 71 women with different forms of endocrine sterility are presented. At sterility women high level of general antioxidant activity of the blood at raised expense of molecular antioxidants is established.

■ **Key words:** hormones; antioxidant system; endocrine sterility.

■ Адреса авторов для переписки

Колесникова Любовь Ильинична — директор, член.-корр. РАМН, профессор.

УРАМН НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН. 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16.

E-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Семенова Наталья Викторовна — м. н. с. лаборатории патофизиологии репродукции, к. б. н.

УРАМН НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН. 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16.

E-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Лабыгина Альбина Владимировна — д. м. н., с. н. с. лаборатории гинекологической эндокринологии.

УРАМН НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН. 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16.

E-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Сутурина Лариса Викторовна — руководитель отдела охраны репродуктивного здоровья, зав. лаборатории гинекологической эндокринологии, д. м. н., профессор.

УРАМН НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН. 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16.

E-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Шолохов Леонид Федорович — руководитель лаборатории физиологии и патологии эндокринной системы, д. м. н.

УРАМН НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН. 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16.

E-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Kolesnikova Lubov Iljichna — MD, professor, a Fellow member of the RAMS, director.

Scientific Centre of the Problems of Family Health and Human Reproduction, SB RAMS.

E-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Semenova Natalia Viktorovna — the scientific employee of laboratory phatophysiology reproductions.

Scientific Centre of the Problems of Family Health and Human Reproduction, SB RAMS.

E-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Labygina Albina Vladimirovna — PhD, MD Laboratory gynecological endocrinology.

Scientific Centre of the Problems of Family Health and Human Reproduction, SB RAMS.

E-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Suturina Larissa Viktorovna — MD, Professor, Head of the Laboratory of gynecological endocrinology.

Scientific Centre of the Problems of Family Health and Human Reproduction, SB RAMS.

E-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Sholohov Leonid Fedorovich — M.D, head of laboratory of physiology and pathology of endocrine system.

Scientific Centre of the Problems of Family Health and Human Reproduction, SB RAMS.

E-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

© Н. Г. Кошелева, С. И. Назарова,
Т. И. Опарина, В. М. Прокопенко

НИИ акушерства и гинекологии
им. Д. О. Отта СЗО РАМН,
НИИ АГ и П МЗРТ, Душанбе

ПРИМЕНЕНИЕ ЛИПОВОЙ КИСЛОТЫ И ВИТАГМАЛА У БЕРЕМЕННЫХ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ I ТИПА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

УДК: 618.3-06:616.379-008.64]-08

■ С целью профилактики и лечения окислительного стресса в комплексное лечение сахарного диабета первого типа включены липоевая кислота и витагмал. Проведено два курса лечения по две недели во втором и третьем триместрах беременности. Получено повышение общей антиокислительной активности (ОАА) сыворотки крови и эритроцитов, а также антирадикальной активности (АРА).

■ **Ключевые слова:** сахарный диабет; беременность; профилактика; окислительный стресс.

В комплексе лечебных мероприятий у беременных с сахарным диабетом I типа (СД I) обосновано широкое применение препаратов, обладающих антиоксидантным эффектом [2, 5, 8]. Современная антиоксидантная терапия у беременных женщин представлена различными препаратами: витамин Е, аскорбиновая кислота, унитиол, эссенциале, микроэлементы [5, 6].

В настоящее время для профилактики и лечения окислительного стресса и сосудистых осложнений у больных с СД I широкое применение получили препараты α -липоевой (тиоктовой) кислоты. Липоевая кислота необходима для нормального функционирования цикла витаминов Е, С и генерации убихинона Q10, являющихся одними из основных звеньев системы антиоксидантной защиты организма [1, 2]. Она представлена в качестве кофактора во многих многоферментных комплексах, которые катализируют окислительное декарбонилирование многих α -кислот. Липоевая кислота является мощным природным антиоксидантом. Это универсальный «чистильщик» свободных радикалов, который осуществляет свое влияние как в клеточной мембране, так и в клеточной цитоплазме. Клиническое применение липоевой кислоты и ее лекарственной формы (тиоктацида) показало снижение активности процессов свободнорадикального окисления, стимуляцию синтеза нервных факторов роста и регенерации нервных волокон [2, 3, 7].

Для защиты от свободных радикалов используют также вытяжки и травяные сборы из растений-фитоадаптогенов из семейства аралиевых (женьшень, аралия, элеутерококк, родиола). Витагмал — это водноспиртовой экстракт биомассы тропического лекарственного растения из семейства аралиевых *Polyscias filicifolia*. Известно, что адаптогены обладают тонизирующим и общеукрепляющим действием, повышают работоспособность и снимают усталость. Витагмал обладает мощным антиоксидантным действием, не только подавляя свободные радикалы, но и повышая в организме уровень ферментов антиоксидантной защиты — супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы. Кроме того, он повышает содержание сульфгидрильных защитных групп, восстановленных форм никотинамидных коферментов, способствует сохранению резерва металлов Cu, Zn, Fe [4].

Цель исследования

Оценить эффективность комплексного применения липоевой кислоты и витагмала на состояние антиоксидантной системы у беременных женщин, больных СД I типа.

Таблица 1

Частота и характер осложнений беременности у женщин, больных сахарным диабетом I типа

Осложнение беременности	Без сосудистых осложнений диабета, n=11		С непролиферативной ретинопатией, n=4		С пролиферативной ретинопатией и диабетической нефропатией, n=10	
	n	M±m	n	M±m	n	M±m
Гестозы:	2	18,2±11,6	2	50,0±25,0	8	80,0±12,6**
Отеки	2	18,2±11,6	1	25,0±21,6	1	10,0±9,5
Нефропатия I	0	0	1	25,0±21,6	3	30,0±14,5
Нефропатия II	0	0	0	0	3	30,0±14,5°
Нефропатия III	0	0	0	0	1	10,0±9,5
Хроническая плацент.недост.	2	18,8±11,6	1	25,0±21,6	4	40,0±15,5
Многоводие	3	27,3±13,4	0	0	2	20,0±12,6
Анемия беременных	1	9,09±8,6	0	0	2	20,0±12,6

Примечание: * — p1-3 < 0,05, ** — p1-3 < 0,01, ° — p2-3 < 0,05

Таблица 2

Показатели ПОЛ (усл. ед.) и ОАА (усл. ед.) в сыворотке крови беременных женщин с СД I до и после лечения

Момент исследования	Без сосудистых осложнений диабета, n=11		С непролиферативной ретинопатией, n=4		С пролиферативной ретинопатией после ЛК и диабетической нефропатией, n=10	
	ПОЛ, M±m	ОАА, M±m	ПОЛ, M±m	ОАА, M±m	ПОЛ, M±m	ОАА, M±m
До лечения	28,12±0,43	0,780±0,023	28,46±0,22	0,763±0,016	29,34±0,51	0,745±0,026
После I курса терапии	28,27±0,33	0,860±0,029*	28,53±0,12	0,786±0,040	28,47±0,56	0,780±0,041
До лечения	28,40±0,25	0,812±0,042	28,62±0,30	0,821±0,042	31,20±0,65*	0,810±0,033
После II курса терапии	28,74±0,46	0,840±0,020*	28,08±0,25	0,849±0,037*	30,48±0,60	0,866±0,031*

Примечание: * — p < 0,05 дано при сравнении с показателями до начала 1-го курса терапии.

Материалы и методы

В комплексную терапию 25 беременных женщин с СД I были включены липоевая кислота и витамин В1, было проведено 2 курса терапии во II и III триместрах беременности. Курс терапии липоевой кислотой и витамином В1 составил 2 недели: липоевая кислота по 1 таблетке 4 раза в сутки, витамин В1 по 15 капель 1 раз в день, утром после завтрака.

У всех беременных диабет был компенсирован интенсивной инсулинотерапией в базис-болюсном режиме.

Средний возраст обследуемых женщин составил 25,7±0,8, длительность заболевания составила от 1 года до 24 лет.

В таблице 1 представлены частота и характер осложнений беременности у женщин, больных СД I в зависимости от выраженности диабетических микроангиопатий до и после проведения 2 курсов терапии. Как видно из таблицы 1, в подгруппе с пролиферативной ретинопатией (после лазерной коагуляции) и диабетической нефропатией была высока частота тяжелых форм гестозов.

Интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и ОАА в сыворотке крови и в мембранах эритроцитов определялась методом индуцированной перекисной хемилюминесценции [1].

АРА сыворотки крови определяли с использованием стабильного радикала 1,1-дифенил-2-пикрилгидразила [1].

Для обработки результатов исследования использовали метод вариационного анализа с определением t-критерия Стьюдента с помощью пакета прикладных компьютерных программ Statistica 6,0.

Результаты и обсуждение

В процессе наблюдения за клиническими особенностями течения беременности у женщин, получавших в комплексном лечении липоевую кислоту и витамин В1, отмечалось улучшение эмоционального состояния (уменьшалась напряженность, исчезали симптомы слабости, усталости).

Как видно из таблицы 2, в подгруппе без сосудистых осложнений диабета уже после 1-го курса терапии отмечено достоверное повышение ОАА сыворотки крови: 0,860±0,029 усл.ед. и 0,780±0,023 усл. ед. (p < 0,05); после проведения 2-го курса терапии показатели ОАА также оставались высокими: 0,840±0,020 и 0,780±0,023 усл. ед. (p < 0,05). При этом в подгруппе без сосудистых осложнений диабета показатели процессов ПОЛ в сыворотке крови не повышались.

В подгруппе с диабетической непролиферативной ретинопатией при проведении терапии процессы ПОЛ в сыворотке не усиливались, а ОАА достоверно повышалась после 2-го курса: 0,849±0,037 усл. ед. и 0,763±0,016 усл. ед. (p < 0,05).

В подгруппе с пролиферативной ретинопатией и диабетической нефропатией, где была высока

Таблица 3

Показатели ПОЛ (усл. ед.) и ОАА (усл. ед.) в мембранах эритроцитов у беременных женщин с СД I до и после лечения

Момент исследования	Без сосудистых осложнений диабета, n=11		С непролиферативной ретинопатией, n=4		С пролиферативной ретинопатией и диабетической нефропатией, n=10	
	ПОЛ, М±m	ОАА, М±m	ПОЛ, М±m	ОАА, М±m	ПОЛ, М±m	ОАА, М±m
До лечения	2,56±0,32	0,174±0,035	1,95±0,20	0,167±0,017	3,12±0,41°	0,197±0,051
После 1-го курса терапии	2,72±0,27	0,210±0,028	2,23±0,27	0,257±0,026*	3,88±0,34°	0,230±0,026
До лечения	3,16±0,40	0,194±0,044	2,74±0,32*	0,226±0,037	3,64±0,36	0,276±0,042
После 2-го курса терапии	2,92±0,37	0,236±0,062	2,58±0,27	0,285±0,033*	3,75±0,27°	0,247±0,056

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с показателями до начала 1 курса терапии; ° — $p_{1-3} < 0,05$; • — $p_{2-3} < 0,05$.

Таблица 4

Показатели АРА (мкМ) в сыворотке крови беременных женщин с СД I до и после лечения

Момент исследования	Без сосудистых осложнений диабета, n=11	С непролиферативной ретинопатией, n=4	С пролиферативной ретинопатией и диабетической нефропатией, n=10
	АРА (мкМ), М±m	АРА (мкМ), М±m	АРА (мкМ), М±m
До лечения	780,0±33,6	810,0±20,6	827,0±26,3
После 1-го курса терапии	883,0±29,1*	848,4±19,3	830,0±32,0
До лечения	820,5±30,0	780,8±25,4	810,6±21,5
После 2-го курса терапии	875,3±24,6*	885,0±15,8*	836,0±20,0

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с показателями до начала 1 курса терапии.

частота гипертензивных форм гестозов, несмотря на проводимую комплексную терапию процессы ПОЛ в сыворотке усиливались: $31,20 \pm 0,65$ усл.ед. и $29,34 \pm 0,51$ усл.ед. ($p < 0,05$). После проведения 2-го курса терапии в 3-й подгруппе также имело место достоверное повышение ОАА в сыворотке крови: $0,866 \pm 0,031$ усл. ед. и $0,745 \pm 0,026$ усл. ед. ($p < 0,05$).

В таблице 3 приведены показатели ПОЛ и ОАА в мембранах эритроцитов у женщин с СД I до и после каждого курса терапии, изученные методом индуцированной перекисной хемилюминесценции. Как видно из таблицы 5.4.3., в подгруппе без сосудистых осложнений диабета в мембранах эритроцитов процессы ПОЛ достоверно не изменялись после проведения 2 курсов комплексной терапии с включением витагмала и липоевой кислоты. ОАА также достоверно не изменялась. Можно полагать, что благодаря проведенной терапии сохранился баланс между прооксидантной и антиоксидантной системами организма.

В подгруппе с непролиферативной ретинопатией имело место достоверное повышение ОАА после 1-го курса терапии: $0,257 \pm 0,026$ усл. ед. и $0,167 \pm 0,017$ усл. ед. ($p < 0,05$). На фоне активизации свободнорадикальных процессов в III триместре беременности повышалась и ОАА в мембранах эритроцитов: $2,74 \pm 0,32$ усл. ед. и $1,95 \pm 0,20$ усл. ед. ($p < 0,05$); $0,285 \pm 0,033$ усл. ед. и $0,167 \pm 0,017$ усл. ед. ($p < 0,05$) соответственно.

В подгруппе с пролиферативной ретинопатией и диабетической нефропатией свободнорадикаль-

ные процессы протекали несколько интенсивнее, чем в 1–2 подгруппах, что связано с высокой частотой гестозов в этой подгруппе. Следует отметить, что усиления процессов ПОЛ в этой подгруппе на фоне проводимой терапии не отмечалось, а ОАА в мембранах эритроцитов оставалась высокой и не претерпевала достоверных изменений в процессе лечения.

В таблице 4 представлены показатели антирадикальной активности сыворотки крови, являющегося интегральным показателем неферментативного звена АОС до и после лечения.

Как видно из таблицы 4 в подгруппе без сосудистых осложнений диабета уже после 1-го курса терапии имело место повышение АРА сыворотки крови: $883,0 \pm 29,1$ мкМ и $780,0 \pm 33,6$ мкМ ($p < 0,05$). После 2-го курса терапии уровень АРА также оставался высоким: $875,3 \pm 24,6$ мкМ и $780,0 \pm 33,6$ мкМ ($p < 0,05$). В подгруппе с непролиферативной ретинопатией уровень АРА сыворотки достоверно повысился после 2-го курса терапии: $885,0 \pm 15,8$ мкМ и $810,0 \pm 20,6$ мкМ ($p < 0,05$). В подгруппе с пролиферативной ретинопатией и диабетической нефропатией уровень АРА достоверно не изменялся. Несмотря на высокую частоту гипертензивных форм гестозов в этой подгруппе уровень АРА сыворотки достоверно не понижался. Можно полагать, что этому способствовало включение в комплексную терапию гестозов липоевой кислоты и витагмала.

Таким образом, полученные результаты позволяют полагать, что включение в комплексную

терапию беременных, больных СД I витагмала и липоевой кислоты повышает активность антиоксидантной защиты организма.

С целью профилактики и лечения окислительного стресса целесообразно широкое применение антиоксидантных препаратов у больных с СД I как на этапе планирования беременности, так и в динамике беременности

Литература

1. Арутюнян А. В., Дубинина Е. Е., Зыбина Н. Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма. — СПб, 2000. — 104 с.
2. Балаболкин М. И., Клебанова Е. М. Роль окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений диабета // Проблемы эндокринологии. — 2000. — № 6. — С. 29–34.
3. Бондарь Т. П., Козинец Г. И. Лабораторно-клиническая диагностика сахарного диабета и его осложнений. — М.: МИА, 2003. — 88 с.
4. Котин А. М. В поисках средства от всех заболеваний. Витагмал. — М., 2001. — 28 с. URL: <http://www.vitagmal.ru/info/docs?start=30> (дата обращения 09.06.2010).
5. Федорова М. Ф., Краснополяский В. И., Петрухин В. А. Сахарный диабет, беременность и диабетическая фетопатия. — М.: Медицина, 2001. — 288 с.
6. Early increase of Oxidative Stress and Reduced Antioxidant Defenses in Patients with Uncomplicated type 1 diabetes / Marra G. [et al.] // *Diabetes Care*. — 2002. — Vol. 25. — P. 370–375.

■ Адреса авторов для переписки

Коселева Нонна Георгиевна — з. д. н. РФ, д. м. н., в. н. с. акушерского отдела, профессор.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: iagmail@ott.ru

Назарова Сурайё Изатуллоевна — к. м. н., зам. директора по лечебной работе.

Таджикский НИИ АГ и П.

734002 ул. Мирзо Турсун-заде д. 31. Душанбе, Таджикистан.

E-mail: sygaue_535@yahoo.com

Опарина Татьяна Ивановна — к. б. н., с. н. с. лаборатории биохимии.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: oparinat@mail.ru

Прокопенко Валентина Михайловна — к. б. н., с. н. с. лаборатории биохимии.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: vmp47@mail.ru

Арутюнян Александр Вартанович — д. б. н., проф. рук. лаборатории биохимии.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: arutjunyan@aa3703.spb.edu

7. Oxidative stress and antioxidant status in type 1 diabetes mellitus / Vessby J. [et al.] // *J. of Internal. Medicine*. — 2002. — Vol. 251. — P. 69–76.

8. Wolff S. P. Diabetes mellitus and free radicals // *Br. Med. Bull.* — 1993. — Vol. 49. — P. 642–652.

Статья представлена В. В. Абрамченко

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта, Санкт-Петербург

LIPOIC ACID AND VITAGMAL APPLICATION IN PREGNANT WOMEN WITH DIABETES MELLITUS FOR OXIDATIVE STRESS PREVENTION

Kosheleva N. G., Nazarova S. I., Oparina T. I., Prokopenko V. M.

■ **Summary:** In complex therapy of 25 pregnant women sick diabetes mellitus with purpose of preventive maintenance of oxidative stress have been included lipoic acid and vitagmal, possessing antioxidant action. The general was investigated antioxidant activity and processes the in whey of blood and in membranes erythrocyte by a hemiluminiscent method, and also antiradical activity of whey of blood. The received results testify to strengthening antioxidant protection of an organism at pregnant women with diabetes mellitus at application lipoic acid and vitagmal.

■ **Key words:** diabetes mellitus; pregnancy; oxidative stress; prevention.

Kosheleva Nonna Georgievna — MD, Honored figure, leading researcher of Obstetrics department.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleevskaya Line, 3.

E-mail: iagmail@ott.ru

Nazarova Surayo Izatulloevna — MD Deputy director on treatment.

Tajik Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Perinatology. M. Tursun-zade street, 31, 734002 Dushanbe, Tadjikistan.

E-mail: iagmail@ott.ru

Oparina Tatiana Ivanovna — PhD, lab of biochemistry.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleevskaya Line, 3.

E-mail: oparinat@mail.ru

Prokopenko Valentina Mikhailovna — PhD, lab of biochemistry.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleevskaya Line, 3.

E-mail: vmp47@mail.ru

Arutjunyan Alexandr Vartanovich — Dr. Sci., Head of the department of biochemistry.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleevskaya Line, 3.

E-mail: arutjunyan@aa3703.spb.edu

© М. А. Кучеренко

ГУ НИИ акушерства и гинекологии
им. Д. О. Отта СЗО РАМН**ВЕДЕНИЕ ПОСЛЕРОДОВОГО ПЕРИОДА
У РОДИЛЬНИЦ С ТРАВМАМИ ПРОМЕЖНОСТИ**

УДК: 618.7:618.218-001.43

■ Травмы промежности являются частым осложнением родового акта. Они могут служить входными воротами для проникновения инфекции и приводить к формированию функциональной недостаточности мышц тазового дна. В статье представлены общие тенденции лечения ран промежности на основе современных представлений о сущности раневого процесса.

■ **Ключевые слова:** роды; послеродовой период; промежности; раны промежности.

Известно, что в 15–19% случаев проявлением послеродовых инфекционных осложнений является раневая инфекция мягких тканей родовых путей. Каждый случай нагноения и расхождения швов промежности в акушерском стационаре рассматривается как событие чрезвычайное, таящее в себе опасность септических осложнений. Пока существует рана, всегда есть входные ворота для инфекции. Помимо септических осложнений, существует еще один важный аспект этой проблемы. Известно, что плохое заживление раны в области промежности в дальнейшем может приводить к диспареунии [16] и вторичным заболеваниям гениталий [6]. Заживление швов вторичным натяжением приводит к развитию пролапса гениталий у 13,8–47,3% женщин [4, 10], причем на протяжении последних лет отмечается тенденция к «омоложению» заболевания. Эта патология возникает у женщин в полном расцвете лет и, по данным исследователей, от 30 до 50% больных с пролапсом тазовых органов — это женщины репродуктивного возраста [2, 13].

Акушерские травмы промежности наблюдаются достаточно часто и обусловлены множеством причин. Предрасполагают к разрыву промежности инфантилизм, высокая промежность, рубцовые изменения после бывших разрывов при родах или пластических операций, при узком влагалище и воспалительных изменениях тканей. Наступлению разрыва способствует неправильное ведение родов, плотность костей и размеры головки и плечевого пояса плода [1]. Наиболее глубокие и обширные повреждения мягких тканей родовых путей возникают при оперативных вмешательствах в родах (наложение акушерских щипцов, вакуум-экстрактора и др.) [12, 14, 15].

Разрывы промежности бывают самопроизвольные, происходящие без какого-либо внешнего воздействия во время родов, и насильственные, наступающие в результате применения влагалищных родоразрешающих операций или технических погрешностей во время приема родов [1]. Разрыв может начинаться во влагалище, затем распространяться с задней стенки влагалища на мышцы промежности. Такой механизм происхождения разрыва нередко приводит к тому, что при сохранившейся коже промежности наблюдается обширное повреждение стенок влагалища и мускулатуры промежности, которое диагностируется лишь при осмотре мягких родовых путей после родов [9]. Подобный разрыв промежности чаще наблюдается при оперативном родоразрешении, чем при самопроизвольных родах. Разрывы промежности, происходящие при прорезывании головки во время родов, начинаются с задней спайки и распространяются кзади по средней линии промежности и на стенки влагалища.

Разрывы промежности принято делить на три степени [1]. К первой степени относят разрывы задней спайки, задней стенки влагалища в области ладьевидной ямки и кожи промежности. При второй степени к указанным повреждениям добавляются разрывы мускулатуры тазового дна: мышцы, сжимающей влагалище (*m. constrictor cuni s. bulbocavernosus*), поверхностной и глубокой поперечных мышц промежности (*mm. transversus perinei superficialis et profundus perinei*) и сухожильного центра с (*centrum tendineum*) с нарушением целостности или отрывом мышцы, поднимающей задний проход (*m. levator ani*). Разрыв промежности второй степени распространяется на влагалище, в одну или в обе его стороны. Разрывы промежности относятся к третьей степени, если нарушается целостность частично (неполный) или полностью (полный разрыв промежности) наружного сфинктера и прямой кишки.

Частота разрывов промежности отражает качество акушерской помощи в родовспомогательном учреждении. Согласно литературным данным [4], травмы тазового дна в родах составляют от 10,3 до 40% случаев, у первородящих они встречаются в 73% случаев, а при оперативных вмешательствах достигают 90%. Разрывы промежности III степени колеблются от 0,4 до 5% [8].

Эрнст Бумм описывал: «...как только произошло расползание ткани, трудно приостановить дальнейшее их разрывание, головка находит себе ложный путь через промежность и до какой степени последняя тогда разрывается, зависит от случайных обстоятельств. Так как произвольные разрывы к тому же обыкновенно проходят через толщу мышц промежности, тяжело нарушая функцию тазового дна, то лучше пойти им навстречу и создать пространство при помощи искусственного разреза».

Профилактикой этого осложнения является своевременно произведенная перинеотомия [1]. К сожалению, нередко перинеотомия, как метод предупреждения разрывов, производится с явным запозданием, когда длительное стояние головки на тазовом дне и усиленное сгибание ее в целях предупреждения разрыва приводит к разможению глубоких тканей, начинающемуся расползанию и даже разрыву слизистой влагалища и кожи промежности. Д. О. Отт, являющийся сторонником рассечения промежности в родах, в целях сохранения мышц тазового дна [7], обращал внимание на ложный консерватизм в сохранении промежности при родах, выражающийся в том, что перинеотомия производится тогда, когда тка-

ни промежности начинают уже разрываться. Принцип применения профилактической перинеотомии как раз и заключается в том, что разрез должен предупреждать разрыв, а не присоединяться к нему.

Зашиванию подлежит всякий разрыв промежности. Чтобы обеспечить их хорошее заживление, необходим тщательный уход за родильницей в послеродовом периоде.

Лечение ран в акушерстве имеет свои особенности, хотя общие закономерности раневого процесса не зависят от локализации ран и характера повреждений. Со времен Галена различают заживление раны первичным натяжением — *per primam intentionem (p. p.)* и вторичным натяжением — *per secundam intentionem (p. s.)*. При этом термин «интенция» относится не к физиологической природе процесса заживления, а к намерению врача по возможности добиться первичного заживления раны со сближенными, нерасходящимися краями раны. При вторичном заживлении требуется образование большого количества замещающей ткани, что является определяющим с точки зрения прогноза.

Первичным заживлением раны называют такое заживление, при котором отсутствует нагноение. Воспаление носит серозный характер, клеточная реакция выражена слабо. Молодая ткань не носит характера грануляционной ткани, так как ее образование идет путем организации фибрина. Результатом первичного заживления является узкий линейный рубец, который вначале из-за обилия сосудов имеет красный цвет, а затем по мере уменьшения их числа белеет и становится светлее, чем окружающие его области нормальной кожи [3, 11].

Вторичное заживление раны всегда протекает при наличии гнойного воспаления. Оно происходит в условиях большого повреждения ткани, дефект которой частично заполняется воспалительно измененной подкожной жировой клетчаткой и фиброзно-гнойным экссудатом. Бактериальное загрязнение раны при вторичном натяжении выражено значительно и для закрытия раны должна возникнуть грануляционная ткань [3, 11].

Заживление любой раны включает определенные фазы, которые перекрываются по времени и не могут быть резко разграничены. Деление на фазы ориентируется на основные морфологические изменения в ходе процесса репарации. Выделяют три основные фазы в заживлении любой раны [5]:

- 1) воспалительная или экссудативная фаза, в ходе которой происходят изменения, обуславливающие весь дальнейший ход заживления раны;

- 2) пролиферативная фаза, являющаяся основной в восстановлении тканей раны и направленная на развитие грануляций;
- 3) фаза дифференциации (реорганизации), включающая созревание и образование рубца.

Воспалительная (экссудативная) фаза начинается с момента ранения и в физиологических условиях продолжается около трех дней. Местные реакции на травму практически во всех случаях обусловлены взаимодействием двух повреждающих факторов: наличием очага тканевой деструкции и микробным возбудителем. Микрофлора разрушает естественные защитные барьеры организма, что облегчается наличием в них травматического дефекта и местного повреждения тканевых структур [3].

Воспаление представляет собой сложную защитную реакцию организма на воздействие самых разнообразных повреждающих факторов и, таким образом, является необходимой прелюдией к репарации [5]. Цель ее состоит в том, чтобы ликвидировать или инактивировать эти повреждающие факторы и создать предпосылки для последующих пролиферативных процессов. Очищение раны от гнойно-некротического секвестра свидетельствует о наступлении репаративной стадии воспаления.

Во время второй фазы заживления раны (пролиферативная фаза) преобладает пролиферация клеток, направленная на восстановление сосудистой системы и заполнение дефекта грануляционной тканью. Она начинается примерно на 4-й день после возникновения раны, но предпосылки для этого создаются уже во время воспалительно-экссудативной фазы. Эпителизация раны происходит параллельно с созреванием грануляционной ткани, которую можно рассматривать как «временную примитивную» ткань или же как орган, который «окончательно» закрывает дефект и служит «ложем» для последующей эпителизации [3]. Название «грануляция» было введено в 1865 году Бильротом и связано с тем, что при развитии ткани на ее поверхности видны светло-красные стекловидно-прозрачные зерна (*granula*). Каждому из этих зернышек соответствует сосудистое деревце с многочисленными тонкими капиллярными петлями, которые возникли в процессе формирования новых сосудов. При хорошей грануляции зернышки увеличиваются количественно так, что возникает оранжево-красная влажно блестящая поверхность. Такая грануляция свидетельствует о хорошем заживлении. Если процессы заживления приняли затяжной характер, то гранулы покрыты серым налетом, имеют бледный и губчатый вид.

Важнейшим условием нормального хода заживления раны является строгая синхронизация процесса эпителизации, с одной стороны, и созревания грануляционной ткани — с другой. Равновесие между созреванием и рассасыванием грануляций и рубцовой ткани лежит в основе феномена раневой контракции — равномерного концентрического сокращения краев и стенок раны. Во второй и третьей фазах заживления раневая контракция, как правило, сочетается с интенсивной эпителизацией, что свидетельствует о нормальном течении раневого процесса.

Фаза реорганизации рубца (3-я фаза) — сложный процесс, механизм которого еще недостаточно выяснен. Примерно между 6-м и 10-м днями начинается вызревание коллагеновых волокон. Рана стягивается, грануляционная ткань становится все более бедной водой и сосудами и преобразуется в рубцовую ткань. В результате процессов ауторегуляции устанавливается равновесие между синтезом и катаболизмом коллагена в фибробластах, между клеточными и волокнистыми элементами в рубцовой ткани. Этим завершается процесс ремоделирования рубца. Наступает стабилизация рубцовой ткани, на что уходит несколько месяцев, хотя медленно протекающие процессы перестройки могут наблюдаться достаточно долго.

Рассмотренный патогенез раневого процесса отражает фазность его течения, неразрывность отдельных фаз и переход одной фазы в другую. Выделения отдельных фаз и стадий воспалительного процесса носит условный характер, так как невозможно провести строгую грань между окончанием одной и началом другой. Стабильной остается последовательность смены этих фаз, каждая из которых характеризуется определенными функциональными и морфологическими изменениями, протекающими в ране и окружающих тканях.

Длительность течения отдельных фаз воспаления определяется целым рядом различных факторов, среди которых основное значение имеют характер повреждения, активность микроорганизмов, состояние реактивности организма и метод лечения раневого процесса.

Местные (локальные) проявления воспалительного процесса характеризуется четырьмя симптомами: покраснением (*Rubor*), повышением температуры (*Color*), опухолью (*Tumor*) и болью (*Dolor*). Инфильтрат в области швов промежности может появиться в день родов, но чаще на 3–4-е сутки послеродового периода роженица жалуется на боли в области швов промежности. При осмотре ушитой раны обращает на себя внимание выраженный отек окружаю-

щих тканей. Кожа над зоной отека становится гиперемированной, горячей и болезненной при пальпации. Отделяемое из раны отсутствует. В этот период проводится консервативное лечение, заключающееся в наружном применении антисептических растворов и физиотерапевтических процедурах. Это, прежде всего, ультрафиолетовое облучение раны и окружающих тканей. Целесообразно применение возрастающих эритемных доз УФ-лучей, которые останавливают воспаление, а при невозможности ускоряют процесс отторжения поврежденных клеток и появление экссудации, что способствует вымыванию из раны продуктов распада. Вместе с тем УФО оказывает противовоспалительное и болеутоляющее действие. Общее лечение родильницы проводится с учетом ее соматической патологии, течения родового акта и характера оперативного вмешательства. При необходимости начинается антибактериальная терапия препаратами широкого спектра — ингибиторозащищенными пенициллинами или цефалоспорины I–III поколения в сочетании с метронидазолом.

В случаях благоприятного течения раневого процесса через 3–5 дней от момента травмы происходит воспалительная демаркация нежизнеспособных тканей, которые затем отторгаются и лизируются в ране. Одновременно происходит очищение раны от микроорганизмов. Воспалительная реакция постепенно стихает, и раневой процесс переходит в фазу репарации, клиническим признаком которого служит появление в ране грануляционной ткани.

При продолжающемся воспалении наступает гнойно-некротическая фаза воспаления, которая длится в среднем 8–10 дней и характеризуется углублением воспалительных и дегенеративных изменений. Дно раны и ее содержимое приобретают грязно-серый цвет, края уплотняются и отекают, причем зона отека всегда несколько шире, чем зона инфильтрации. Гнойный экссудат и боль в ране, усиливающая при нарушении оттока отделяемого, являются характерными признаками воспалительного процесса. Раневое отделяемое в значительной мере зависит от вида микробного возбудителя, но во всех случаях является гнойным. Некротические ткани в начальной фазе воспаления плотно фиксированы ко дну и краям раны, количество их при неблагоприятном течении процесса может возрастать за счет вторичных некрозов. Тактика ведения в этот период строится на известных хирургических принципах, требующих разведения краев раны в месте нагноения, дренирования и регулярной обработки гнойных полостей антисеп-

тическими растворами. При гнойном пропитывании и некрозе тканей последние должны быть иссечены. В этот период применяется местное лечение раны с помощью различных дренажей и средств, обладающих этими свойствами. Среди них наиболее известен дренаж с 10% раствором хлорида натрия. При его применении происходит активное очищение раны — отсасывание экссудата, расщепление и удаление некротических масс. Однако длительное употребление гипертонического раствора (свыше 4–5 дней) тормозит скорость регенерации тканей. Для быстрого очищения раны применяется энзимотерапия. Протеолитические ферменты (трипсин, химотрипсин) вызывают расщепление некротической ткани, фиброзных пленок, гноя в ране, оказывают противоотечное, противовоспалительное и фибринолитическое действие. В результате рана быстро очищается от гнойного детрита и микробов. Ферменты не только очищают рану от гнойных и некротических масс, но, расщепляя фибрин в межтканевых и межклеточных пространствах, улучшают микроциркуляцию и трофику тканей, способствуя ускорению регенерации. Их можно сочетать с местным применением антибактериальных препаратов. Протеолитические ферменты применяются местно в виде влажных повязок или присыпок порошком. Широко используются мази, созданные на основе антибактериальных препаратов (Левомиколь), протеолитических ферментов (Ируксол, Солкосерил), действие которых направлено на активацию ретикулоэндотелиальной системы и окислительных процессов в ране. Продолжается антибактериальная терапия, желательна с учетом чувствительности микрофлоры. При развитии интоксикации проводится инфузионная терапия. Хорошее действие оказывают физиотерапевтические способы лечения. Помимо указанного выше УФ-облучения, в этот период широко используется УВЧ-терапия. Она оказывает анальгезирующее, противовоспалительное, бактерицидное и дегидратационное действие. Под влиянием УВЧ-терапии наступает быстрое ограничение процесса, уменьшение воспалительной отечности, усиление функции ретикуло-эндотелиальной системы. При плохом очищении раны показано применение низкочастотного лазерного излучения, которое уменьшает болевой синдром, ускоряет очищение раны и стимулирует рост грануляций.

После того как рана очистилась от некроза, появились яркие грануляции с блестящей, легко кровоточащей поверхностью, количество отделяемого уменьшается, становится серозным, начинается фаза грануляции. Наличие микро-

организмов в ране во II и III фазах заживления уже существенно не сказывается на клиническом течении раневого процесса. Инфекция к этому моменту приобретает латентный характер. III фаза — фаза эпителизации, длится около 30 дней, если заживление раны идет вторичным натяжением и характеризуется выполнением раны грануляциями, раневой контракцией и началом краевой эпителизации. Эпителий нарастает с краев на поверхность грануляционной ткани в виде белесоватой каймы. Скорость эпителизации раны является величиной постоянной и составляет 1 мм по периметру раны за 7–10 суток. Антибактериальная терапия к концу II — началу III фазы заканчивается. Проводится общеукрепляющая терапия с учетом состояния родильницы и течения послеродового периода. Применяются препараты, оказывающие выраженное регенерирующее действие на рану промежности (метилурациловая мазь, актовегин, депантенол). При вялогранулирующих ранах с плотными краями успешно применяется ультразвуковая терапия в виде местного озвучивания краев раны и окружающих тканей. Используется лазерное облучение, диадинамический ток, малые дозы УФ-облучения, которые улучшают трофические процессы, стимулируют рост грануляций и эпителизацию раны. В этот период с целью ускорения заживления на рану промежности накладывается вторичный шов. Практическая ценность вторичного шва заключается в предупреждении отдаленных осложнений в результате нарушения целостности промежности и тазового дна, а также в возможности менее длительного пребывания родильницы в стационаре.

Таким образом, травмы промежности являются одним из наиболее частых осложнений родового акта. Несмотря на существенные успехи в лечении травм мягких родовых путей, инфекционные осложнения развиваются у каждой 4–5-й родильницы, приводят к нагноению и расхождению швов промежности, заживлению ран вторичным натяжением. Большинство исследователей указывают на связь между родовой травмой промежности и развитием пролапса тазовых органов.

Профилактика родового травматизма заключается, прежде всего, в грамотном ведении родов в периоде изгнания, своевременном выполнении перинеотомии, правильном восстановлении анатомического и функционального состояния мышц тазового дна и проведении лечебно-профилактических мероприятий, направленных на полноценное заживление раны промежности в послеродовом периоде.

Литература

1. Акушерство: учебник для медицинских вузов / Айламазян Э. К. [и др.]. — 6-е изд. — СПб.: СпецЛит, 2007. — 528 с.
2. Беженарь В. Ф., Богатырева Е. В. Методы хирургического лечения ректоцеле у женщин при опущении и выпадении внутренних половых органов // Журнал акушерства и женских болезней. — 2009. — Т. LVIII, вып. 2. — С. 16–22.
3. Волков Н. А. Лечение ран в акушерстве и гинекологии. — Вильнюс: Мокслас, 1986. — 147 с.
4. Глебова Н. Н., Трубин В. Н., Латыпов А. С. Опущение и выпадение внутренних гениталий женщин. — Уфа, 1997. — 117 с.
5. Кузин М. И., Костюченко Б. М. Раны и раневая инфекция. — М.: Медицина, 1981. — 687 с.
6. Кулавский В. А., Никитин Н. И. Факторы риска формирования несостоятельности тазового дна у женщин репродуктивного возраста // Материалы VI Российского научного форума «Мать и дитя». — М., 2004. — 393 с.
7. Отт Д. О. Мероприятия профилактического сохранения функции промежности // Гинекология и акушерство. — 1928. — №2. — С. 115–117.
8. Оценка состояния тазового дна после родов через естественные родовые пути / Кулаков В. И. [и др.] // Акушерство и гинекология. — 2004. — N4. — С. 26–30.
9. Персианинов Л. С., Расстригин Н. Н. Неотложная помощь в акушерстве и гинекологии. — М.: Медицина, 1983. — 670 с.
10. Пролапс гениталий — следствие травматичных родов или генерализованной дисплазии соединительной ткани? / Смольнова Т. Ю. [и др.] // Акушерство и гинекология. — 2001. — № 4. — С. 33–37.
11. Селихова М. Е., Котовская М. В. Ведение послеродового периода у женщин с травмами мягких родовых путей / Акушерство и гинекология. — 2009. — №6. — С. 48–49.
12. Altman D., Falconer Ch. Perioperative morbidity using transvaginal mesh in pelvic organ prolapses repair // Obstet. Gynecology. — 2007. — Vol. 100, N2. — P. 1.
13. Dietz H. P., Steensa A. B. The role of childbirth in etiology of rectocele // BJOG. — 2006. — Vol. 113, N 7. — P. 849.
14. Hudelist G., Singer G., Ruseklinger E. Factors predicting severe perineal trauma during childbirth. Role of forceps delivery routinely combined with mediolateral episiotomy // Am. J. Obstet. Gynecol. — 2000. — Vol. 192, N3. — P. 875–881.
15. Rochner G., Walberg V., Olund A. Episiotomy and perineal trauma during childbirth // J. Adv. Nurs. — 1989. — Vol. 14, N4. — P. 246–248.
16. Weber A. M., Walters M. D., Piedmonte M. R. Sexual function and vaginal anatomy in women before and after surgery for pelvic organ prolapse and urinary incontinence // Am. J. Obstet. Gynecol. — 200. — Vol. 182, N6. — P. 1610–1615.

Статья представлена Е. Н. Байлюком,
ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта,
Санкт-Петербург

KEEPING POSTPARTUM PARTURIENT WOMEN
WITH PERINEAL TRAUMA

Kucherenko M. A.

■ **Summary:** Injuries are a frequent complication of perineal descent act. These can serve as a gateway for the penetration of infection and lead to the formation of functional insufficiency of the pelvic floor muscles. The article presents general trends of treatment of wounds of the perineum on the basis of modern ideas about the nature of the wound process.

■ **Key words:** delivery; perineum; puerperium; perineum wound.

■ **Адреса авторов для переписки**

Кучеренко Марина Анатольевна — к. м. н., заведующая 1-м акушерским физиологическим отделением.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН,
1 акушерское физиологическое отделение
199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: iagmail@ott.ru

Kucherenko Marina Anatolevna — candidate of medical science,
Head of Department Obstetric Physiological № 1.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS.
199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3.

E-mail: iagmail@ott.ru

© Э. Н. Попов, Т. И. Опарина,
В. М. Прокопенко, М. Г. Степанов

ГУ НИИ акушерства и гинекологии
им. Д. О. Отта СЗО РАМН,
СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова

КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ МАТКИ

УДК: 618.145-007.415+618.14-006.36]-07

■ **Цель исследования** — изучение значимости нарушений про- и антиоксидантных систем организма в патогенезе гиперпластических процессов матки и обоснование применения препаратов, обладающих антиоксидантной активностью в их комбинированном лечении. Обследовано 25 больных, имеющих сочетанные доброкачественные гиперпластические процессы матки (миома матки, аденомиоз, простая гиперплазия эндометрия) и 45 больных с единичным узлом миомы матки. Показано, что в сыворотке крови пациенток с множественными гиперпластическими процессами, в отличие от больных с миомой матки, заметно снижена активность ферментативного звена антиоксидантной системы — СОД, повышен уровень ПОЛ и содержания нитритов. Также выявлено нарушение физиологического ритма и снижение секреции мелатонина. Послеоперационная коррекция имевшихся расстройств про- и антиоксидантной систем у больных с миомой матки позволила снизить риск рецидива после органосохраняющих операций.

■ **Ключевые слова:** антиоксидантная система; доброкачественные гиперпластические процессы матки.

Значимость проблемы профилактики, диагностики и лечения гиперпластических процессов матки определяется их высоким удельным весом в структуре гинекологической заболеваемости. Частота встречаемости миомы матки у женщин репродуктивного и перименопаузального возраста составила 30–35%, аденомиоза — 12–25%, гиперпластических процессов эндометрия — 5–10% [1, 5, 7, 8]. Сочетания этих патологических состояний встречаются с частотой от 30 до 85%, что существенно повышает риск неопластической трансформации [2, 5, 7, 8]. Особую актуальность проблема гиперпластических процессов в органах репродуктивной системы приобрела в последнее время, в связи с широким внедрением в повседневную клиническую практику органосохраняющих оперативных вмешательств. Их применение определяет необходимость раннего выявления гиперплазий всех локализаций, прогнозирование риска развития гиперпластических процессов в других органах и рецидивов, определение маркеров, являющихся предикторами развития патологической пролиферации [7, 8, 10].

Нельзя не отметить, что развитие гиперпластических процессов матки часто происходит на фоне наиболее распространенных таких экстрагенитальных заболеваний, как варикозная болезнь, ожирение, заболевания сердечнососудистой системы, желудочно-кишечного тракта, ограничивающих возможность проведения традиционной гормональной терапии [5, 8]. Оптимизация подходов к прогнозированию, диагностике и лечению сочетанных гиперпластических процессов матки связана с поиском общих метаболических реакций, универсальных для развития различных деструктивных и гиперпластических процессов в тканях и возможности влияния на них. К числу таких универсальных процессов, определяющих патогенез пролиферации на тканевом уровне, относятся реакции свободнорадикального окисления (СРО) [2, 3, 4, 10, 12]. Активные формы кислорода, образующиеся в процессе СРО, повреждают нити ДНК и приводят к формированию измененного клона клеток, способных к патологической пролиферации [3, 4, 9, 11]. При этом антиоксидантная защита клетки, представленная ферментами — семейством супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазой (ГП), каталазой, низкомолекулярными антиоксидантами первичной защиты — глутатионом, аскорбиновой кислотой, таурином и другими «ловушками» свободных радикалов оказывается несостоятельной [3, 12]. Один из сильнейших эндогенных антиоксидантов — мелатонин, наиболее важными физиологическими эффектами которого являются — подавление клеточной пролиферации и противоопухолевое действие. Изменения синтеза мелатонина, отмеченные при различных онкологических заболеваниях, в том числе при аденокарцино-

ме эндометрия, возможно, значимы и в патогенезе доброкачественных гиперплазий матки [6].

Цель исследования

Изучение роли нарушений про- и антиоксидантных систем организма в патогенезе гиперпластических процессов матки, обосновании применения препаратов, обладающих антиоксидантной активностью, в их комбинированном лечении.

Материалы и методы

Обследовано 80 женщин. Основную группу составили 25 больных с сочетанными доброкачественными гиперпластическими процессами матки, 45 больных с миомой матки вошли в группу сравнения, в контрольную группу были включены 10 женщин. В группе сравнения 25 пациенткам (группа сравнения 1) проведено хирургическое лечение в объеме миомэктомии, у 20 пациенток (группа сравнения 2) хирургическое лечение дополнено послеоперационным назначением препаратов — Индинол и Эпигаллат компании «Миракс-Фарма». Индинол — фитопрепарат, полученный из растений семейства крестоцветных, содержит высокоочищенный индол-3-карбинол. Эпигаллат содержит эпигаллокатехин-3-галлат — один из катехинов зеленого чая. Препараты применяются для профилактики заболеваний женской репродуктивной системы, в основе развития которых лежат процессы патологической клеточной пролиферации, обладают выраженным антиоксидантным действием. Терапия заключалась в ежедневном приеме сочетания: Индинола по 100 мг — 4 раза в день и Эпигаллата по 300 мг — 4 раза в день, в течение 6 месяцев.

Критерии включения в основную группу: выполненная гистерэктомия, гистологическое подтверждение сочетания заболеваний: миома матки, простая гиперплазия эндометрия и аденомиоз, возраст 19–50 лет, индекс массы тела 18,5–24,9 кг/м² (нормальная масса).

Критерии включения в группу сравнения: выполненная миомэктомия, гистологически подтвержденный диагноз миомы матки, отсутствие гиперпластических процессов эндометрия по данным гистологического исследования, отсутствие ультразвуковых признаков аденомиоза, возраст 19–50 лет, индекс массы тела 18,5–24,9 кг/м² (нормальная масса).

Критерии исключения для основной группы и группы сравнения: подозрение или подтвержденный злокачественный процесс любой локализации, острый воспалительный процесс любой локализации, беременность, гормональная терапия в предшествующие обследованию 6 месяцев, тяжелая соматическая патология: гипертоническая болезнь, сахарный диабет.

Критерии включения в контрольную группу: возраст 19–45 лет, отсутствие клинических и ультразвуковых признаков гиперпластических процессов эндо- и миометрия, отсутствие хронической экстрагенитальной патологии.

Всем обследуемым проведена комплексная оценка состояния про- и антиоксидантной системы: по показателю активности супероксиддисмутазы (СОД), определяемой с применением системы, обеспечивающей восстановление нитросинего тетразолия, по уровню активности глутатион пероксидазы (ГП), определяемой в реакции с гидроперекисью третичного бутила, а также по общей антиокислительной активности (АОА), исследованной хемиллюминиметрическим методом, и по антирадикальной активности (АРА), измеряемой с использованием стабильного радикала 1,1-дифенил-2-пикрилгидразила в сыворотке крови. Также в сыворотке крови определялся уровень ПОЛ хемиллюминиметрическим методом и нитритов с реактивом Грисса [2]. В моче проведено определение 6-сульфатоксимелатонина методом конкурентного иммуноферментного анализа, при этом оценивались общая экскреция мелатонина в дневное и ночное время, часовая экскреция мелатонина в дневное и ночное время, а также соотношение ночной и дневной часовой экскреции.

Математическую обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Excel XP, статистическую достоверность полученных результатов определяли по критерию Стьюдента.

Результаты обследования и их обсуждение

Средний возраст пациенток основной группы составил 43,96±5,27 лет, группы сравнения 38,4±6,33, контрольной группы — 37,4±4,6 лет. У всех пациенток основной и контрольной групп были в анамнезе беременности, закончившиеся родами, при этом у каждой пятой женщины в основной группе — двое родов. В группе сравнения 13 женщин были с реализованной репродуктивной функцией, 10 женщины с первичным и 16 с вторичным бесплодием. Из гинекологических заболеваний наиболее часто встречались: хронический сальпингоофорит вне обострения в основной группе 6 случаев и 17 — в группе сравнения, фоновые заболевания шейки матки у 8 больных в основной группе и у 15 — в группе сравнения.

В основной группе заболевания желудочно-кишечного тракта (хронический холецистит, хронический гастродуоденит вне обострения) отмечены у 10 женщин, в группе сравнения — у 19, в контрольной группе — у 4 пациенток.

Длительность заболевания в основной группе колебалась от 1 до 10 лет (в среднем составила

Таблица 1

Показатели антиоксидантной системы в сыворотке крови пациенток с множественными гиперпластическими процессами матки и миомой матки

Показатель	Основная группа (n=25), M±m	Группа сравнения (n=45), M±m	Контрольная группа (n=10), M±m
АРА (мкМ)	11,36±0,36	11,67±0,24*	10,85±0,23*
Нитриты (мкМ)	5,60±0,10*	5,46±0,14	5,30±0,07
СОД (у. е./мгбелка)	0,5±0,01**	0,51±0,04	0,59±0,02
ПОЛ (Отн. ед./мгбелка)	4,6±0,24***	4,13±0,03°	3,70±0,05
АОА (Отн. е.)	0,76±0,02**	0,72±0,04	0,68±0,0,02
ГП (mGSH мин/мг белка)	0,14±0,01	0,10±0,03	0,13±0,01

Примечание: * — p<0,05; ** — p<0,01; *** p<0,001 по сравнению с контрольной группой ° — p<0,05 по сравнению с основной группой

6,9±3,5 лет). Преобладающими клиническими проявлениями множественных гиперпластических процессов матки у 19 женщин (76%) были обильные и длительные менструации, болевой синдром — у 12 (48%), ациклические кровотечения — у 3 (12%). У каждой пятой пациентки основной группы отмечена железодефицитная анемия, уровень гемоглобина в среднем составил 92,4±7,8 г/л. В группе сравнения продолжительность заболевания колебалась от нескольких месяцев до 12 лет и в среднем составила 7,6±4,9 лет. Более чем в половине случаев у пациенток с миомой матки отмечено бессимптомное течение, при этом показанием к лечению явилось планирование беременности. Среди клинических проявления отмечены длительные и обильные менструации у 17 (37%), болевой синдром у 6 (13%) женщин, ациклические кровотечения — у 3 (6,6%). Железодефицитная анемия отмечена у 16 пациенток группы сравнения, уровень гемоглобина в среднем составил 89,7±9,4 г/л.

Объем матки или миоматозного узла определялся по формуле Nealy G. B.: $V (\text{см}^3) = \pi/6 \times A \times B \times C$, где А — длина, В — толщина, С — ширина матки или миоматозного узла. Размеры матки у женщин с множественными гиперпластическими процессами в среднем составили 178,2±51,4 см³. Увеличение матки у пациенток этой группы было связано с сочетанием миомы и диффузной формой аденомиоза. Преимущественно (более чем в 90%) обнаружены множественные межмышечные миоматозные узлы, объем каждого из которых в среднем составил 1,8±0,5 см³. В группе сравнения средние размеры матки были 327,6±78,3 см³. При наличии множественных узлов размер доминантного узла не превышал 129,6±47,2 см³.

Как видно из данных, представленных в таблице 1, в сыворотке крови пациенток основной группы с множественными гиперпластическими процессами матки была статистически достоверно снижена активность ферментативного звена антиоксидантной системы СОД (p<0,01) в срав-

нении с контрольной группой. Показатели активности СОД у женщин группы сравнения были ниже показателей контрольной группы, но выше, чем в основной группе, однако эти различия не были статистически достоверны. По уровню активности ГП показатели в группах не отличались. Показатели ОАО в сыворотке крови пациентов с множественными гиперпластическими процессами матки статистически достоверно (p<0,01) были выше чем в группе контроля, в группе сравнения не отличались от контрольной группы. АРА в основной и группе сравнения не отличалась от контрольной группы. Указанные изменения показателей антиоксидантной защиты в основной группе сопровождались заметным повышением интегрального показателя ПОЛ по отношению к группе сравнения (p<0,05) и контрольной группе (p<0,001). Кроме того, в сыворотке крови пациенток основной группы (в отличие от группы сравнения) был повышен уровень нитритов (p<0,01) по отношению к контрольной группе.

Кроме того, согласно данным, приведенным в таблице 2, у женщин с множественными гиперпластическими процессами матки обнаружено статистически значимое снижение общей ночной экскреции мелатонина и, соответственно, снижение почасовой ночной экскреции. Отмеченное различие в виде повышения дневной экскреции мелатонина было статистически не значимым. Соотношение между ночной и дневной экскрецией мелатонина было заметно выше в контрольной группе, что свидетельствует о нарушении физиологического ритма продукции мелатонина, развивающееся при множественных гиперплазиях матки.

Таким образом, развитие гиперпластических процессов матки сопровождается выраженными расстройствами всех уровней антиоксидантной защиты.

При наблюдении в течение 12 месяцев за пациентками группы сравнения, получавшими терапию Индинолом и Эпигалатом (20 женщин), ни в одном случае не отмечено рецидивов заболева-

Таблица 2

Показатели секреции мелатонина пациенток с множественными гиперпластическими процессами матки и контрольной группы

Показатель	Основная группа (n=25), M ± m	Контрольная группа (n=10), M ± m
Экскреция мелатонина за ночь, нг	5927 ± 1464**	13393 ± 2344
Экскреция мелатонина за день, нг	2075 ± 403	1723 ± 325
Ночная часовая экскреция, нг/час	756 ± 272**	1673 ± 248
Дневная часовая экскреция, нг/час	140 ± 64	112 ± 25
Коэффициент, ночь/день	5,65 ± 2,98*	14,60 ± 2,72

Примечание: * — p < 0,05; ** — p < 0,01; *** — p < 0,001.

Таблица 3

Показатели антиоксидантной системы в сыворотке крови пациенток с миомой матки, получавших комбинированное лечение до и после терапии

Показатель	Группа сравнения 2, до лечения (n=20), M ± m	Группа сравнения 2, после лечения (n=20), M ± m
АРА (мкМ)	11,78 ± 0,43	11,88 ± 0,56
Нитриты (мкМ)	5,88 ± 0,26*	5,18 ± 0,22
СОД (у. е./мг белка)	0,5 ± 0,02**	0,61 ± 0,02
ПОЛ (Отн. ед./мг белка)	4,28 ± 0,11*	3,88 ± 0,15
АОА (Отн. ед.)	0,78 ± 0,04	0,73 ± 0,03
ГП (мGSH мин/Мг белка)	0,10 ± 0,01	0,12 ± 0,01

Примечание: * — p < 0,05; ** — p < 0,01; *** — p < 0,001.

Таблица 4

Показатели антиоксидантной защиты в сыворотке крови пациенток с миомой матки после комбинированного лечения и контрольной группы

Показатель	Группа сравнения 2, после лечения (n=20), M ± m	Контрольная группа (n=10), M ± m
АРА (мкМ)	11,88 ± 0,54	10,85 ± 0,23
Нитриты (мкМ)	5,18 ± 0,25	5,30 ± 0,07
СОД (у. е./мг.белка)	0,61 ± 0,02	0,59 ± 0,02
ПОЛ (Отн. ед./мг.белка)	3,88 ± 0,15	3,70 ± 0,05
АОА (Отн. ед.)	0,73 ± 0,03	0,68 ± 0,02
ГП (мGSH мин/Мг белка)	0,12 ± 0,01	0,13 ± 0,01

ния. У 4 из 25 пациенток, не получавших терапии, в течение 12 месяцев обнаружены клинически не значимые миоматозные узлы, что расценено как рецидив заболевания.

При этом сравнение показателей активности свободнорадикальных процессов и механизмов защиты в группе сравнения 1 и группе сравнения 2 выявило существенные различия (таблица 3).

Согласно полученным данным, после комбинированного лечения отмечены статистически значимые изменения содержания в сыворотке крови нитритов, СОД и интегрального показателя ПОЛ — p < 0,05, p < 0,01 и p < 0,05 соответственно. Сравнение показателей в сыворотке крови пациенток после комбинированного лечения показало отсутствие статистически значимых различий с контрольной группой.

Заключение

Полученные данные свидетельствуют о том, что процессы свободнорадикального окисления играют

важную роль в развитии гиперпластических заболеваний матки. Развитие множественных гиперпластических процессов матки происходит на фоне несостоятельности защитных реакций. Изменения экскреции мелатонина у женщин с множественными доброкачественными гиперпластическими процессами матки сходны с изменениями, описанными при развитии злокачественных опухолей, однако носят менее выраженный характер.

Отмеченная в результате комбинированного лечения миомы нормализация показателей ПОЛ, нитритов и СОД позволяет рекомендовать препараты с антиоксидантной активностью в комбинированной терапии гиперпластических процессов матки, в том числе после органосохраняющих операций на матке для предупреждения рецидива заболевания.

Литература

1. Адамян Л. В., Кулаков В. И., Андреева Е. Н. Эндометриозы. — М.: Медицина, 2006. — 410 с.

2. *Арутюнян А. В., Дубинина Е. Е., Зыбина Н. Н.* Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты организма. — СПб.: Фолиант, 2000. — 104 с.
3. *Бохман Я. В., Рыбин Е. П.* Полинеоплазии органов репродуктивной системы. — СПб.: Нева, 2001. — 240 с.
4. *Вихляева Е. М.* Руководство по диагностике и лечению лейомиомы матки. — М.: Медпресс-информ, 2004. — 399 с.
5. *Зыбина Н. Н.* Проблемы и перспективы исследования процессов свободнорадикального окисления в клинической практике // Проблемы окружающей среды и природных ресурсов. — 2001. — №7. — С. 24–59.
6. *Кветная Т. В., Князькин И. В.* Мелатонин: роль и значение в возрастной патологии. — СПб., 2003. — 93 с.
7. Органосберегающее хирургическое лечение доброкачественных заболеваний матки / Стрижаков А. Н. [и др.] // *Вопр. гинекологии, акушерства и перинатологии.* — 2003. — Т. 2, Т 3. — С. 5–9.
8. *Сидорова И. С., Шецукова Н. А., Закаблуква С. В.* Патология эндометрия при наличии миомы матки // *Гинекология.* — 2000. — Т. 8, № 4.
9. Ashok Agarwal / Role of oxidative stress in endometriosis // *Reproductive BioMedicine Online.* — 2006. — Vol. 13, N 1. — P. 126–134.
10. *Hong-Nerng Ho, Ming-Yih Wu* Total antioxidant status and nitric oxide do not increase in peritoneal fluids from women with endometriosis // *Human Reproduction.* — 1997. — Vol. 12, № 12. — P. 2810–2815.
11. *Jackson L. W., Schisterman E. F.* Oxidative stress and endometriosis // *Human Reproduction.* — 2005. — Vol. 20, N. 7. — P. 2014–2020.
12. *Rosselli M., Keller P. J., Dubey R. K.* Role of nitric oxide in the biology, physiology and pathophysiology of reproduction // *Human Reproduction Update.* — 1998. — Vol. 4, N 1. — P. 3–24.

■ Адреса авторов для переписки

Попов Эдуард Николаевич — д. м. н, доцент.

Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. академика И. П. Павлова.

197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6/8.

E-mail: edwardpopov@mail.ru

Прокопенко Валентина Михайловна — с. н. с.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта РАМН.

199034 Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: vmp47@mail.ru

Опарина Татьяна Ивановна — с. н. с.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.

199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: oparinat@mail.ru

Степанов Михаил Григорьевич — Ведущий научный сотрудник лаборатории перинатальной биохимии.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.

199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: ms2027@hotmail.com

Статья представлена М. А. Тарасовой
ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта,
Санкт-Петербург

CLINICO-PATHOGENETIC SUBSTANTIATION OF THE COMBINED TREATMENT OF BENIGN HYPERPLASTIC PROCESSES OF THE UTERUS

Popov E. N., Oparina T. I., Prokopenko V. M.,
Stepanov M. G.

■ **Summary:** The aim of this study was to investigate antioxidant system markers in women with multiply hyperplastic processes of uterus. The study involved 25 patients with different combination of benign hyperplastic processes of the uterus (uterine fibroids, adenomyosis, simple endometrial hyperplasia) and 45 patients with single node of uterine fibroids. Comparisons showed that in the serum of patients with multiple hyperplastic processes activity of antioxidant enzyme systems SOD was significantly decreased, levels of lipid peroxidation and nitrite content was increased in contrast to patients with single uterine myoma. Also these patients showed a violation of the physiological rhythm and decreased secretion of melatonin. The postoperative treatment of the patients with myoma eliminated the pro- and antioxidant balance disorders and reduced the risk of recurrence after organ-preserving surgery by the normalization of the content of nitrites, superoxide dismutase and lipid peroxidation.

■ **Key words:** antioxidant system; benign hyperplastic processes of uterus.

Popov Edward Nikolayevich — medical doctor (MD), specialist, prof. assist.

St.-Petersburg Acad. Pavlov State Medical University.

197022 St.-Petersburg, L. Tolstoy st. 6/8.

E-mail: edwardpopov@mail.ru

Prokopenko Valentina Michailovna — PhD, senior researcher of Perinatal Biochemistry Unit.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology.

199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3.

E-mail: vmp47@mail.ru

Oparina Tatiana Ivanovna — PhD, senior researcher of Perinatal Biochemistry Unit.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS.

199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3.

E-mail: oparinat@mail.ru

Stepanov Mikhail Grigorievich — Leading Researcher.

Laboratory of Perinatal Biochemistry, D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS.

199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3.

E-mail: ms2027@hotmail.com

© А. В. Разыграев, Ю. П. Милютин,
А. В. Корневский, И. В. Залозная,
М. Г. Степанов, А. В. Пустыгина,
А. В. Арутюнян

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ КАТЕХОЛАМИНОВ В ГИПОТАЛАМИЧЕСКИХ СТРУКТУРАХ САМОК КРЫС В ПРЕОВУЛЯТОРНЫЙ ПЕРИОД

ГУ НИИ акушерства и гинекологии
им. Д. О. Отта СЗО РАМН

УДК: 612.663:611.814.1-07-092.9

■ Изучена динамика содержания катехоламинов (норадреналина — НА и дофамина — ДА) в медиальной преоптической области (МПО) и медиальном вентральном гипоталамусе (включающем срединное возвышение) половозрелых самок крыс в непродолжительный период дневной фазы суток на стадии проэструса (9:40–10:10 до 11:15–11:50 от начала дневной фазы; режим освещения — 12 ч света: 12 ч темноты). В данный период для МПО было подтверждено существование резкого снижения содержания НА. При этом также происходит достоверное снижение соотношения [НА]/[ДА]. Для того же периода выявлена достоверная положительная корреляционная связь между содержанием НА в МПО и в медиальном вентральном гипоталамусе. У крыс данные области являются местами преимущественного сосредоточения, соответственно, тел и проекций гонадолибернергических нейронов. Поскольку снижение [НА] и [НА]/[ДА] в МПО происходит в период преовуляторной гиперсекреции гонадолиберина, можно предполагать необходимость наличия данных изменений для интенсификации и/или последующего снижения продукции данного нейромедиа. Положительная корреляционная связь между [НА] в МПО и [НА] в медиальном вентральном гипоталамусе может указывать на согласованность в функционировании отдельных компонентов норадренергической системы, что может иметь значение для регуляции продукции гонадолиберина.

■ **Ключевые слова:** моноамины; норадреналин; дофамин; корреляция; медиальная преоптическая область; срединное возвышение; гипоталамус; проэструс; крыса.

Проблема регуляции репродуктивной функции женского организма является одной из сложнейших в нейроэндокринологии. Особого внимания заслуживает функционирование сложно организованной гипоталамической системы, включающее механизмы синтеза и секреции ключевого регулятора половой цикличности — гонадолиберина (ГЛ), рилизинг-гормона, стимулирующего выработку гонадотропинов гипофиза.

В настоящее время не вызывает сомнений тот факт, что моноаминергические системы вовлечены в гипоталамический контроль продукции данного нейромедиа. Для каждого из основных нейромедиаторов-моноаминов, т. е. для норадреналина (НА), дофамина (ДА) и серотонина, показано участие в формировании преовуляторного пика ГЛ. Представления о вкладе моноаминергических систем сводятся к следующему: НА и ДА считаются позитивными регуляторами синтеза ГЛ в медиальной преоптической области (МПО) (в особенности это относится к НА); что же касается секреции ГЛ из срединного возвышения гипоталамуса (СВ), то ДА, в противоположность НА, рассматривается как негативный регулятор. В отношении серотонина известно ингибирующее влияние на продукцию ГЛ. Для различных моноаминов показано наличие изменений в их содержании и секреции в МПО и медиальном базальном гипоталамусе на стадии проэструса, приуроченных к вечернему времени, что связывают с осуществлением их регуляторной роли в отношении формирования пика ГЛ [9, 10, 11]. Таким образом, в отношении даже одних моноаминов можно говорить о сложном, комплексном механизме регуляции синтеза и секреции ГЛ.

Недавно в нашей лаборатории было обнаружено, что у самок крыс в МПО, где у грызунов локализовано большинство перикарионов — нейронов, продуцирующих ГЛ и проецирующихся в СВ, в короткий интервал вечернего времени (с 9:30–10:00 до 11:00–12:00 от начала дневной фазы суток при режиме 12 ч света: 12 ч темноты) на стадиях проэструса и диэструса (метэструс + диэструс-2) происходит выраженное снижение содержания НА. Для ДА подобных изменений выявлено не было [3]. Известно, что в МПО можно зарегистрировать пик высвобождения НА у овариэктомированных крыс, обработанных эстрогеном, наблюдаемый именно в вечернее время, отсутствующий у животных, лишенных соответствующего уровня полового стероида [8]. На наш взгляд, обнаруженное снижение содержания НА в непродолжительный интервал времени, соответствующий преовуляторному периоду, может иметь непосредственное отношение к регуляции продукции ГЛ в МПО. Ввиду того что моноаминергическая регуляция продукции ГЛ имеет сложный комплексный характер,

Таблица 1

Содержание катехоламинов (нг/мг белка, $M \pm SD$) в медиальной преоптической области (МПО) и вентро-медиальном гипоталамусе (СВ-Арк) самок крыс во второй половине дневной фазы экспериментальных суток (12 ч света : 12 ч темноты)

Периоды	Норадреналин		Дофамин	
	1	2	1	2
МПО	28,0±6,8	20,7±7,6*	7,9±1,6	8,6±3,6
СВ-Арк	46,7±8,6	37,6±8,9	22,6±4,9	20,7±4,4

Периоды: 1 — 9:40–10:10, 2 — 11:15–11:50 (отсчет времени — от начала дневной фазы суток). В период 1 исследовано одиннадцать животных, в период 2 — восемь.
* — $p < 0,05$ при сравнении со значением для периода 1.

была поставлена цель изучить динамику функционирования катехоламинергических систем в МПО и медиальном вентральном гипоталамусе в преовуляторный период и оценить согласованность в состоянии данных систем между МПО и СВ. В связи с этим была исследована динамика соотношений между концентрациями НА и ДА в МПО и вентро-медиальном гипоталамусе, содержащем СВ, для интервала времени, в который происходит резкое снижение содержания НА в МПО. Наряду с этим была произведена оценка корреляционных связей в содержании данных соединений между указанными областями.

Материалы и методы

Исследование проводили в весенне-летний период на 19 крысах-самках линии Вистар (вес 238 ± 18 г, $M \pm SD$), полученных из питомника «Рапполово» РАМН. Животные содержались в виварии с искусственным освещением (фотоцикл — 12 ч света : 12 ч темноты, включение света в 7:00) и получали стандартный корм и воду.

Стадии эстрального цикла определяли по соотношению клеток трех типов, присутствующих в вагинальных мазках [7]. Животных декапитировали на стадии проэструса в следующие периоды (отсчет времени — от начала дневной фазы): 9:40–10:10 и 11:15–11:50 (1-й и 2-й временные интервалы, соответственно). Из мозга декапитированных животных выделяли МПО и вентро-медиальный гипоталамус, содержащий СВ с прилежащими к нему аркуатными ядрами (СВ-Арк), замораживали и хранили при -85°C до начала анализа.

После размораживания исследуемые структуры мозга гомогенизировали в 0,25 мл 0,1 М хлорной кислоты, содержащей метабисульфит калия (0,05%), центрифугировали (10000 g, 15 мин, $+4^\circ\text{C}$), супернатант переносили в прибор для микрофльтрации и фильтровали через капроновый фильтр с диаметром пор 0,2 мкм; фильтрат подвергали хроматографическому анализу в тот же день.

Количественный анализ НА и ДА в исследуемых областях гипоталамуса проводили методом

ВЭЖХ с электрохимическим детектированием в условиях, позволяющих в ходе одного анализа определять содержание каждого из этих соединений в пробе [1]. Хроматографическое разделение биогенных аминов осуществляли на колонке Reprosil 80 ODS-2 (100×4 мм, 3 мкм, Dr. Maisch GmbH, Германия). Детектирование проводили на аналитической ячейке модели 5100A Coulochem II (ESA, США) при потенциале +0,65 В. Подвижная фаза содержала 6 мМ цитратный буфер, 2 мМ этилендиаминтетраацетат натрия, 1,1 мМ октилсульфонат натрия и 7% ацетонитрил (v/v). Расход элюента — 0,75 мл/мин. Содержание определяемых веществ рассчитывали в нанограммах на миллиграмм белка, который определяли по методу Vera [12].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием ранговых критерия Уайта (T) и коэффициента корреляции Спирмена (rs).

Результаты и обсуждение

В результате проведенного исследования в МПО и СВ-Арк были выявлены значения содержания НА и ДА, представленные в таблице 1.

Для НА обнаруживается достоверное снижение его содержания в МПО от 9:40–10:10 экспериментальной дневной фазы к 11:15–11:50 ($p < 0,05$). В отношении содержания НА в СВ-Арк, а также ДА в МПО и СВ-Арк достоверная динамика не обнаружена.

В результате расчета отношений концентраций исследуемых соединений в МПО была выявлена динамика отношения [НА]/[ДА]. Данный показатель изменяется от $3,55 \pm 0,22$ для периода 9:40–10:10 экспериментального времени суток до $2,53 \pm 0,26$ для 11:15–11:50 ($p < 0,05$). В отношении других сочетаний исследуемых соединений в двух различных гипоталамических областях динамика соотношений их концентраций не выявляется.

При объединении вариант из 1-го и 2-го интервалов экспериментального времени суток (таким образом охватывается период, в который происходит преовуляторная гиперсекреция ГЛ) было

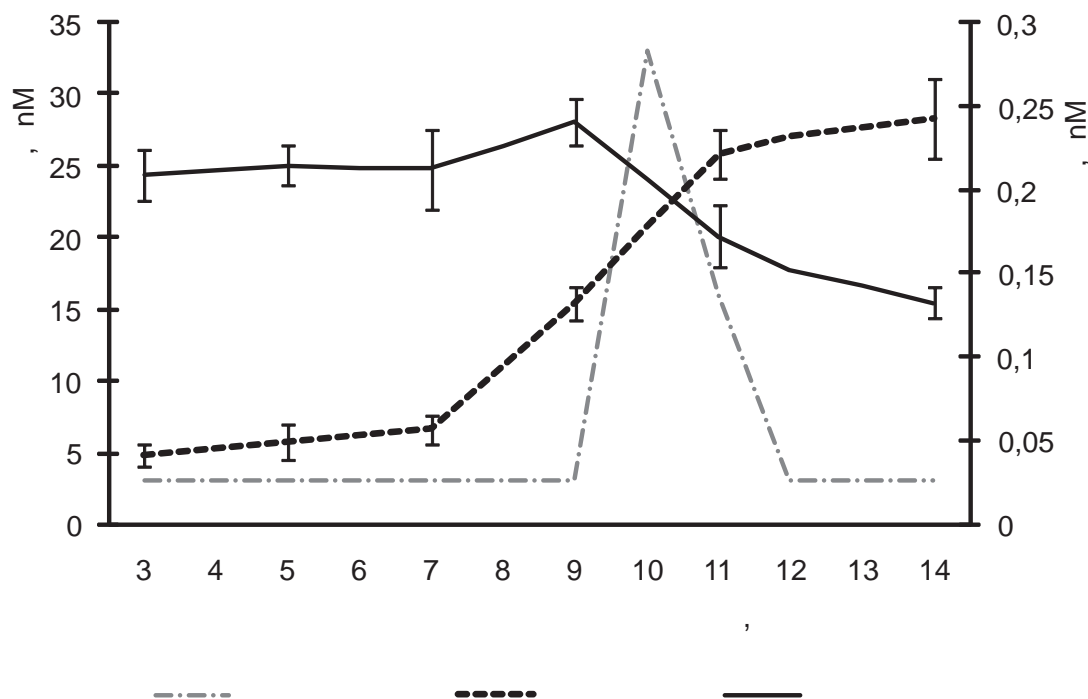


Рис. 1. Динамика уровней эстрадиола, прогестерона и гонадолиберина (ГЛ) в сыворотке крови крыс на стадии проэструса. Фотоцикл — 12 ч света : 12 ч темноты. Крыс декапитировали с 2-часовым интервалом. Определение стероидов проводили радиоиммунным методом [6]. Пик секреции ГЛ приведен в соответствии с литературными данными о связи продукции нейрогормона с динамикой содержания половых стероидов [2,4]. $M \pm m$ ($n=10-15$)

выявлено достаточно высокое положительное значение коэффициента корреляции для пары НА в МПО: НА в СВ-Арк ($r_s=0,51$, $p<0,05$). В отношении ДА корреляционная связь между МПО и СВ-Арк не обнаружена.

Результаты настоящего исследования подтверждают существование резких изменений в состоянии норадренергических проекций в МПО в преовуляторный период. Согласно современным представлениям, норадренергические проекции в МПО вносят наибольший вклад в контроль продукции ГЛ у грызунов по сравнению с другими моноаминергическими системами [5]. В связи с этим вполне понятно то, что содержание НА в МПО претерпевает наиболее выраженные изменения в вечернее время, что позволяет обнаружить достоверные различия статистическим методом, использованным в настоящем исследовании.

А. Е. Herbison в своем подробном обзоре по физиологии гонадолиберинпродуцирующей системы подчеркивает важность норадренергической модуляции для обеспечения продукции ГЛ. Установлено, что введение крысам в третий желудочек НА или агонистов адренорецепторов приводит к подавлению продукции лютеинизирующего гормона (ЛГ), что, по всей видимости достигается благодаря проникновению данных веществ в окружение гонадолиберинергических нейронов в МПО. Однако тот же самый эффект вызывает введение антагонистов

альфа-адренорецепторов — снижается продукция ГЛ и ЛГ. Подобные факты можно объяснить тем, что НА оказывает перmissive (разрешающий) эффект на гонадолиберинергическую нейронную сеть. Присутствуя в определенных количествах в терминалях норадренергических нейронов, проецирующихся в гонадолиберинпродуцирующие структуры, НА делает последних способными осуществлять гиперпродукцию ГЛ. Существенные отклонения от требуемых концентраций НА препятствуют возникновению преовуляторного пика продукции нейрогормона [5]. Обнаруженные в настоящем исследовании изменения содержания НА, вероятно, отражают модулирующую активность данного нейромедиатора в отношении продукции ГЛ в МПО.

В пользу этого предположения говорят данные о динамике концентраций стероидных гормонов в сыворотке крови, полученные в наших экспериментах на крысах, находящихся на стадии проэструса и содержащихся в тех же условиях светового режима (рис. 1). Прогрессивное снижение концентрации эстрадиола происходит в диапазоне от 9 до 11 ч от начала дневной фазы суток и именно в этот интервал наблюдается наиболее выраженное увеличение концентрации прогестерона. Согласно литературным сведениям, во время таких перемен в стероидном фоне осуществляется пик секреции ЛГ [2, 4]. На основании этих

данных можно говорить о том, что гиперсекреция ГЛ реализуется в указанный период, т. е. как раз в то время, когда происходит обнаруженное нами выраженное снижение концентрации НА в МПО.

Как показано в настоящем исследовании, данный период характеризуется достоверным снижением соотношения [НА]/[ДА] в МПО. Это может означать, что одним из решающих факторов усиления и/или ослабления синтеза ГЛ является соотношение между концентрациями НА и ДА в МПО.

Наличие положительной корреляционной связи между содержанием НА в МПО и СВ-Арка в тот же непродолжительный вечерний период может быть связано с согласованностью и однонаправленностью в работе норадренергических систем для обеспечения скоординированного контроля над процессами синтеза и секреции ГЛ.

Остается неизвестным, характерны ли подобные явления в состоянии катехоламинергических систем в МПО и СВ-Арка для других стадий репродуктивного цикла. Ответ на этот вопрос будет способствовать пониманию того, вовлечены ли описанные перемены, происходящие у самок крыс в вечернее время суток, в пусковой механизм для инициации и/или терминации пика синтеза и секреции ГЛ, или же данные процессы обеспечивают ежедневное формирование условий, благоприятствующих реализации преовуляторной гиперпродукции нейрогомона, т. е. выполняют исключительно модулирующую функцию.

Заключение

В МПО гипоталамуса самок крыс в непродолжительный период в вечернее время происходит выраженное снижение содержания НА. В тот же непродолжительный период вечернего времени происходит снижение соотношения [НА]/[ДА], что, возможно, обуславливает преовуляторные изменения в продукции ГЛ. Корреляционная связь между содержанием НА в МПО и НА в СВ-Арка, возможно, отражает согласованность и однонаправленность в норадренергической регуляции синтеза и секреции ГЛ.

Литература

1. Арутюнян А. В., Степанов М. Г., Корневский А. В. Нарушение нейромедиаторного звена гипоталамической регуляции репродуктивной функции под влиянием нейротоксических ксенобиотиков // *Нейрохимия*. — 1998. — Т. 15, N 4. — С. 264–270.
2. Вундер П. А. Эндокринология пола. — М.: Наука, 1980. — 253 с.
3. О взаимосвязи циркадианных и овариальных циклов в гипоталамической регуляции репродукции (экспериментальное исследование) / Корневский А. В. [и др.] // Жур-

нал акушерства и женских болезней. — 2007. — № 4. — С. 24–30.

4. Bauer-Dantoin A. C., Hollenberg A. N., Jameson J. L. Dynamic regulation of gonadotropin-releasing hormone receptor mRNA levels in the anterior pituitary gland during the rat estrous cycle // *Endocrinology*. — 1993. — Vol. 133, N 4. — P. 1911–1914.
5. Herbison A. E. Physiology of the gonadotropin-releasing hormone neuronal network / Ed. Neill D. J. — Third edition. — Amsterdam: Elsevier, 2006.
6. Jurjens H., Pratt J., Woldring M. Radioimmunoassay of plasma estradiol without extraction and chromatography // *J. Clin. Endocrinology and Metabolism*. — 1975. — Vol. 40. — P. 19–25.
7. Marcondes F. K., Bianchi F. J., Tanno A. P. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations // *Brazilian Journal of Biology*. — 2002. — Vol. 62, N 4a. — P. 609–614.
8. Mohankumar S. M. J., Mohankumar P. S. Aging alters norepinephrine release in the medial preoptic area in response to steroid priming in ovariectomized rats // *Brain Research*. — 2004. — Vol. 1023. — P. 24–30.
9. Mohankumar P. S., Thyagarajan S., Quadri S. K. Cyclic and age-related changes in norepinephrine concentrations in the medial preoptic area and arcuate nucleus // *Brain Res. Bull.* — 1995. — Vol. 38, № 6. — P. 561–564.
10. Ogilvie K. M., Stetson M. H. The neuroendocrine control of clock-timed gonadotropin release in the female Syrian hamster: role of serotonin // *J. Endocrinology*. — 1997. — Vol. 155. — P. 107–119.
11. Thyagarajan S., Mohankumar P. S., Quadri S. K. Cyclic changes in the release of norepinephrine and dopamine in the medial basal hypothalamus: effects of aging // *Brain Research*. — 1995. — Vol. 689. — P. 122–128.
12. Vera J. C. Measurement of microgram quantities of protein by a generally applicable turbidimetric procedure // *Analyt. Biochem.* — 1988. — Vol. 174. — P. 187–196.

Статья представлена Е. К. Комаровым,
ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта,
Санкт-Петербург

CATECHOLAMINE CONTENT DYNAMICS IN RAT HYPOTHALAMIC AREAS DURING PREOVULATORY PERIOD

Razygraev A. V., Milyutina Yu. P., Korenevsky A. V.,
Zalozniaya I. V., Stepanov M. G., Pustygina A. V.,
Arutjunyan A. V.

■ **Summary:** The dynamics of catecholamine (norepinephrine and dopamine) content has been studied in the medial preoptic area and medial ventral hypothalamus (including the median eminence) of mature Wistar female rats in proestrus during afternoon (9:40–10:10 to 11:15–11:50 after the day phase

started; the light regimen being 12:12 h light/darkness). A sharp decrease in norepinephrine content was confirmed for the medial preoptic area, and the ratio [NE]/[DA] was significantly decreased in the same period. A significant positive correlation appears between norepinephrine content in the medial preoptic area and that in the medial ventral hypothalamus. These rat brain areas are predominant clustering sites of gonadotropin-releasing hormone neural cell bodies and projections, respectively. Since norepinephrine content and the ratio [NE]/[DA] decrease in the medial preoptic area in the period of preovulatory hypersecretion of gonadotropin-releasing hormone, the necessity of these

changes may possibly be suggested for the given neurohormone production to be increased and/or decreased afterwards. The positive correlation between norepinephrine content in the medial preoptic area and that in the medial ventral hypothalamus can denote the concurring functioning of the noradrenergic systems in the hypothalamic areas, which may be important for gonadotropin-releasing hormone production regulation.

■ **Key words:** monoamine; catecholamine; norepinephrine; dopamine; correlation; preoptic area; median eminence; hypothalamus; proestrus; rat.

■ Адреса авторов для переписки

Разыграев Алексей Вячеславович — к. б. н., научный сотрудник лаборатории перинатальной биохимии.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: alexeyrh@mail.ru

Милотина Юлия Павловна — научный сотрудник.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: iagmail@ott.ru

Корневский Андрей Валентинович — к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории перинатальной биохимии.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: a.korenevsky@yandex.ru

Залозная Ирина Владимировна — лаборант лаборатории перинатальной биохимии.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: irinabiolog@rambler.ru

Степанов Михаил Григорьевич — ведущий научный сотрудник лаборатории перинатальной биохимии.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: ms2027@hotmail.com

Пустыгина Антонина Васильевна — научный сотрудник лаборатории перинатальной биохимии.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: apustygina@rambler.ru

Арутюнян Александр Вартанович — д. б. н., проф. рук. лаборатории биохимии.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: arutjunyan@aa3703.spb.edu

Razygrayev Alexey Vyacheslavovich — PhD, research assistant.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS.
199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleevskaya Line, 3.

E-mail: alexeyrh@mail.ru

Milyutina Yuliya Pavlovna — research Assistant.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS.
199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleevskaya Line, 3.

E-mail: iagmail@ott.ru

Korenevsky Andrey Valentinovich — PhD, senior researcher.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS.
199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleevskaya Line, 3.

E-mail: a.korenevsky@yandex.ru

Zaloznyaya Irina Vladimirovna — technician.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS.
199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleevskaya Line, 3.

E-mail: irinabiolog@rambler.ru

Stepanov Mikhail Grigorievich — Leading Researcher.

Laboratory of Perinatal Biochemistry, D. O. Ott Research Institute of
Obstetrics and Gynecology, RAMS.

199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleevskaya Line, 3.

E-mail: ms2027@hotmail.com

Pustygina Antonina Vasilyevna — research assistant.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS.
199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleevskaya Line, 3.

E-mail: apustygina@rambler.ru

Arutjunyan Alexandr Vartanovich — Dr. Sci., Head of the department
of biochemistry.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS.
199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleevskaya Line, 3.

E-mail: arutjunyan@aa3703.spb.edu

© М. С. Степанова¹, Е. Р. Булыгина²,
А. А. Болдырев^{1,2}

¹ Научный Центр неврологии РАМН, Москва

² Московский Государственный университет
имени М. В. Ломоносова, Москва

КАРНОЗИН ЗАЩИЩАЕТ МОЗГ В УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА, СОЗДАВАЕМОГО В ПЕРИОД ПРЕНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

УДК: 618.3:612.82]-07-092.9

■ В обзоре описаны две модели окислительного стресса мозга, создаваемого в период пренатального развития крыс. Как пренатальная гипоксия, так и пренатальная гипергомоцистемия приводят к развитию окислительного стресса в мозге, следствием чего являются нарушения функционирования NMDA-рецепторов и гибель нейронов, что в дальнейшем отражается в нарушении поведения и обучения животных. Введение карнозина крысам в период беременности препятствует развитию окислительного стресса в мозге потомства и предотвращает развитие нарушений поведения и когнитивных способностей животных.

■ **Ключевые слова:** окислительный стресс; карнозин; гипоксия; гомоцистеин; NMDA-рецепторы глутамата.

1. Окислительный стресс как фактор риска при беременности

Нарушения метаболизма матери во время беременности могут повлиять на развитие эмбриона. Анемия, гипертензия, недостаточный размер плаценты, курение, потребление алкоголя, а также недостаток кислорода при нахождении в горах могут привести к нарушению функционирования плаценты и гипоксии плода [30]. Это особенно важно, поскольку неоднократно показано, что нарушения метаболизма у новорожденных детей, как и у новорожденных животных, могут быть следствием острой или хронической гипоксии [34].

Хроническая гипоксия может возникнуть из-за нарушений, влияющих на кровообращение в плаценте. Острая гипоксия обычно возникает при осложнениях при родах или при кратковременных нарушениях кровообращения. Любое из этих событий индуцирует развитие окислительного стресса, что, в свою очередь, вызывает нарушение целостности нейрональных мембран, увеличение внутриклеточной концентрации кальция, окисление клеточных белков и липидов и индукцию смерти нейрональных клеток [34]. Гипоксическая атака может активировать гены, ответственные за апоптоз [26], что будет нежелательным образом вмешиваться в формирование межнейронных связей в формирующемся мозге [34].

Внутриутробная гипоксия является индуктором формирования целого ряда патологических состояний новорожденных, способным вызывать стойкие отдаленные последствия. Центральная нервная система на момент ее закладки в период органогенеза наиболее чувствительна к гипоксическому воздействию. Наибольшие нарушения происходят в зонах, контролирующих движение, таких как кора, базальные ганглии, гиппокамп, мозжечок [34]. Многочисленные данные указывают на то, что пренатальная гипоксия сказывается на показателях высшей нервной деятельности потомства, вызывая отставание в физическом и психическом развитии: у новорожденных животных наблюдается замедленный рост, отклонения в развитии поведенческих характеристик, повышенная тревожность, снижение способности к обучению [1,10,27,20]. У них также отмечается нарушение баланса биогенных аминов и кортикостероидов, что коррелирует с расстройствами поведения в постнатальном периоде [20].

Особую роль в повреждении нейронов мозга при гипоксии играет окислительный стресс, связанный с гиперпродукцией активных форм кислорода (АФК) [7,17]. Одним из факторов, способствующих хронической гипоксии плода вследствие нарушения кровообращения плаценты и вызывающих усиление окислительного стресса в организме, является повышенный уровень гомоцистеина в крови. Гомоцистеин (ГЦ) — серосодержащая аминокис-

лота, образующаяся из метионина, — аминокислоты, содержащейся во многих продуктах (сыр, яйца, мясо, рыба, птица). Он является токсином для сосудистой стенки, клеток плаценты, а также для нервных клеток плода, вызывая в них окислительный стресс, повреждение ДНК и апоптоз [33].

Гипергомоцистеинемия при беременности приводит к таким осложнениям развития, как нарушения формирования нервной трубки, врожденный порок сердца [14], преэклампсия, внезапные выкидыши и преждевременные роды [24]. Уровень гомоцистеина является фактором риска при развитии синдрома Дауна [9] и шизофрении [12]. При использовании витаминдефицитной диеты гипоксия беременных самок приводит к увеличению уровня гомоцистеина в крови потомства за счет снижения активности ферментов его метаболизма [25]. При этом наблюдается накопление гомоцистеина в гранулярных клетках мозжечка, СА1 слое гиппокампа, стриатуме и субвентрикулярной зоне, а также усиление апоптоза в СА1 слое гиппокампа, сопровождающееся нарушением двигательной и снижением исследовательской активности и когнитивных функций животных [19].

Гомоцистеин повреждает ткани сосудов, инициируя высвобождение цитокинов, циклинов и других медиаторов воспаления и деления клеток. Действуя на гладкомышечные клетки, ГЦ приводит к образованию атеросклеротических бляшек, фиброза, кальцификации, отложению протеогликанов и повреждению эластичного слоя ткани. Гомоцистеин способствует отложению фибрина и образованию артериальных тромбов. Кроме того, ГЦ тиолактон, реагируя с белками плазмы, формирует новые антигены и провоцирует выделение аутоантител, усиливающих воспалительный процесс [23].

Часть эффектов ГЦ осуществляется через воздействия на NMDA-рецепторы гладкомышечных клеток и нейронов [2, 31, 16]. Гомоцистеин увеличивает продукцию O_2^- , индуцирует активность NADPH-оксидазы и индуцибельной NO-синтазы, увеличивает экспрессию TNF- α [32], матриксных металлопротеиназ и интерлейкина- β [16]. Гомоцистеин препятствует вазодилатации под действием NO, поскольку образует S-нитрозогомоцистеин, что приводит к нарушению функционирования эндотелия [23]. Таким образом, действие ГЦ на стенки сосудов приводит к развитию окислительного стресса и воспалению ткани, что в дальнейшем сопровождается дисфункцией эндотелия [22, 18].

Уровень гомоцистеина может повышаться при приеме метионина, дефиците витаминов B_{12} , B_6 и фолиевой кислоты, а также при мутациях генов, кодирующих ферменты, отвечающие за метаболизм гомоцистеина (такие, как метилтетра-

гидрофолатредуктаза и цистатионин- β -синтаза). Причиной гипергомоцистеинемии может также стать атрофический гастрит, воспалительные заболевания почек и пищеварительного тракта, прием слабительных, антиконвульсантов и диуретиков, а также курение [33].

Ранние сроки формирования эмбриона характеризуются интенсивным делением клеток и синтезом ДНК и РНК, а избыточная концентрация гомоцистеина способна нарушать процесс синтеза нуклеотидов, а также изменять степень метилирования ДНК [32] и, как следствие, — препятствовать нормальному развитию организма [13]. Другим важным следствием гипергомоцистеинемии является тромбофилия плаценты, которая может приводить к выкидышам на ранних сроках беременности [28]. Кроме того, повреждение сосудов при гипергомоцистеинемии вызывает нарушения кровообращения в плаценте, что вызывает хроническую гипоксию плода.

Наиболее распространенные осложнения беременности на поздних сроках, включая преэклампсию, разрывы плаценты и преждевременные роды, ассоциированы с повышенным уровнем гомоцистеина в крови беременной женщины [29]. На более поздних стадиях беременности гипергомоцистеинемия является причиной развития хронической фетоплацентарной недостаточности и хронической внутриутробной гипоксии плода.

Таким образом, гипергомоцистеинемия является существенным фактором индукции окислительного стресса, приводящего к гиперактивации NMDA-рецепторов в мозге, повреждению клеточных мембран, нарушению метаболических процессов, истощению энергетических запасов клетки и активации клеточной смерти [7, 17]. Все эти факторы ставят на повестку дня поиск природных метаболитов, которые могли бы защищать организм в условиях гипергомоцистеинемии. Решение этой задачи делает необходимым разработку новых моделей для исследования механизмов окислительного стресса при беременности.

2. Экспериментальные модели окислительного стресса при беременности

2.1. Пренатальная гипоксия

Среди известных способов индукции окислительного стресса при беременности наиболее эффективными, на наш взгляд, являются пренатальная гипоксия и пренатальная гипергомоцистеинемия. Гипоксической гипоксии подвергают беременных крыс на 10-й день беременности — срок, при котором у потомства происходит закладка нервной системы [6]. Создаваемое разрежение воздуха должно быть достаточным для формиро-

Таблица 1

Динамика изменений веса новорожденных в первые дни после рождения

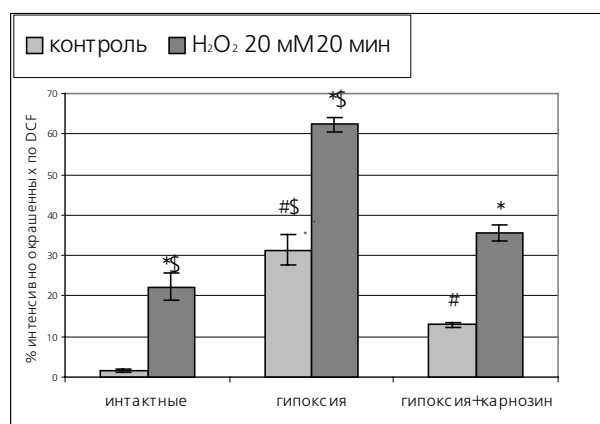
Группы животных	1 день	3 дня	5 дней	7 дней	11 дней	13 дней
Интактные	6,0±0,0	10,0±0,2	13,3±1,2	17,7±0,5	19,5±2,1	21,3±2,0
«Гипоксия»	5,8±0,2	7,2±0,3*	9,2±0,3*	11,7±1,2*	17,5±3,2	21,7±2,3
«Гипоксия + карнозин»	6,2±0,2	10,4±1,0	12,7±0,9	14,5±1,7	16,3±3,0	20,0±2,5

* — соответствует достоверному отличию от группы интактных животных с $p < 0,05$

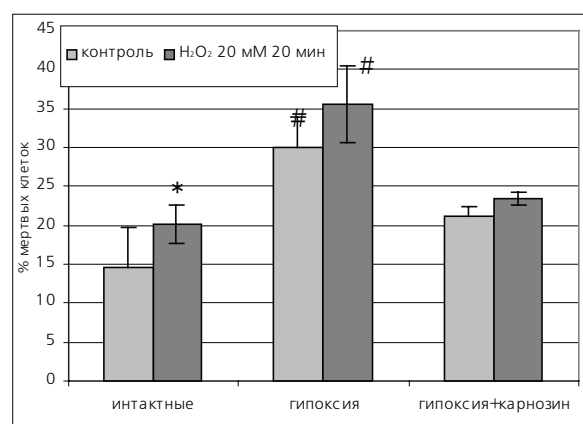
Таблица 2

Характеристика Fe^{2+} -индуцированной хемилюминесценции гомогенатов мозга и активность СОД в митохондриальной фракции различных групп животных

Группы животных	Активность Мп-СОД, ед/мг белка	Параметры Fe^{2+} -индуцированной хемилюминесценции		
		Липидные гидроперекиси, отн. ед.	Латентный период окисления, с	Скорость окисления, отн. ед.
Интактные (n=7)	3,96 ± 0,56	129,3 ± 35,5	102,9 ± 16,8	5,05 ± 0,78
«Гипоксия» (n=7)	3,87 ± 0,77	252,7 ± 72,5*	77,1 ± 16,3*	6,92 ± 0,53*
«Гипоксия + карнозин» (n=7)	4,17 ± 0,26	115,1 ± 36,5#	100,4 ± 13,5#	4,66 ± 0,29#

* — соответствует достоверному отличию от группы интактных животных с $p < 0,05$ # — соответствует достоверному отличию от группы «гипоксия» с $p < 0,05$ [4]

А



Б

Рис. 1. Влияние перекиси водорода на уровень свободнорадикальных соединений, измеренных с помощью флуоресцентной метки дихлорфлуоресцеина (DCF) — А, и на уровень некротических клеток, метящихся иодидом пропидия (PI) — Б в популяции нейронов мозжечка животных разных исследованных групп (* — соответствует достоверному отличию от контроля; # — соответствует достоверному отличию от группы интактных животных; \$ — соответствует достоверному отличию от других групп, $p < 0,05$)

вания сигнала, доходящего до мозга развивающихся зародышей, — обычно оно составляет величину, соответствующую подъему на высоту 12 000 м над уровнем моря. Разрежение осуществляется постепенно (за 60–70 с), после чего животных выдерживают в условиях гипоксии вплоть до остановки дыхания (180–240 с) [4].

Животные, подвергшиеся воздействию пренатальной гипоксии, имеют выраженное отставание в весе (табл. 1). При исследовании митохондриальной фракции мозга 12-дневных крысят показано, что уровень Мп-СОД у них практически неотличим от такового у интактных животных, хотя в гомогенатах мозга достоверно повышено содержание липидных гидроперекисей, укорочен

латентный период индуцированного окисления, а его скорость, напротив, повышена (табл. 2).

Нейроны, выделенные из мозжечка животных, перенесших гипоксию, отличаются более высоким уровнем мертвых клеток (30% против 12–15% в контроле), повышенным уровнем флуоресценции маркера свободных радикалов, DCF (50 ед против 20 ед в контроле), что свидетельствует о более чем двукратном повышении внутриклеточного уровня АФК в нейронах этих животных. Инкубация этих нейронов в среде с перекисью водорода приводит к резкому возрастанию в них уровня свободных радикалов (рис. 1).

NMDA также является фактором, способным вызывать окислительный стресс у этих клеток.

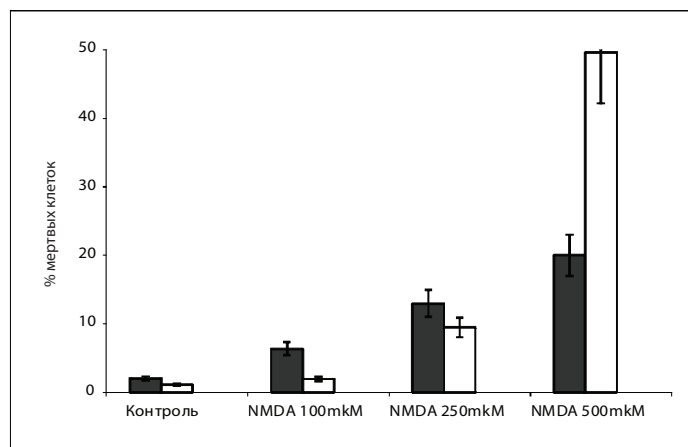


Рис. 2. Влияние NMDA на количество мертвых клеток в суспензии, выделенной из мозжечка разных групп животных (черные столбики – интактные животные, белые — «метиониновые» животные, инкубация с NMDA 45 мин при 37°C).

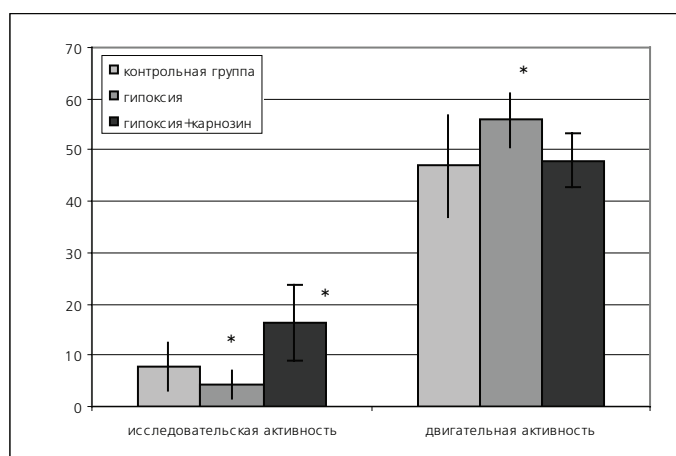


Рис. 3. Тестирование животных в открытом поле (данные представлены в виде $M \pm SD$, * — соответствует достоверному отличию от контрольной группы с $p < 0,05$) [4]

На рис. 2 представлена иллюстрация того, что инкубация нейронов мозжечка с нарастающими концентрациями NMDA приводит к прогрессивному возрастанию доли клеток, метящихся маркером некроза — иодидом пропидия. При этом высокая концентрация NMDA, вызывающая экзайтотоксический эффект (500 мкМ), оказывает гораздо более токсическое действие на «гипоксические», чем на интактные нейроны.

При тестировании в «открытом поле» у животных «гипоксической» группы наблюдается несколько повышенный уровень двигательной активности и резко сниженная исследовательская активность по сравнению с интактными животными (рис. 3). Хотя при обучении животных в Т-образном лабиринте достоверных различий между группами выявлено не было — на 10-й день обучения среднее число успешных попыток в разных группах животных не отличалось (рис. 4), процессы памяти у животных, перенесших пренатальную гипоксию, оказались существенно

нарушенными: после двухдневного перерыва в обучении (на 13-й день опыта) эти животные демонстрировали худшие результаты поиска пищи в Т-образном лабиринте по сравнению с интактным потомством (рис. 4). В дальнейшем (на 35-й день опыта) число успешных попыток у животных этой группы также оставалось более низким, чем в контроле.

2.2. Пренатальная гипергомоцистеинемия

Гипергомоцистеинемия также является существенным фактором индукции окислительного стресса в период внутриутробного развития. Она может быть создана диетой, лишенной витаминов группы В, введением в кровь гомоцистеина или гомоцистеиновой кислоты, или внесением избытка метионина в состав ежедневной диеты (1 г/кг веса с питьевой водой в сутки). Недостатком первой модели является длительность применения витаминдефицитной диеты в течение периода, превышающего срок

Таблица 3

Характеристика помета исследованных групп животных

Группы животных	Количество особей	Среднее количество потомства в помете	Вес к 10-му дню (г)
<i>Интактные</i>	n=30	12 ± 2	23,34±0,44
«Метиониновые»	n=36	7 ± 1*	18,52±0,34*
«Метионин+карнозин»	n=40	13 ± 2	24,1±0,64

* — соответствует статистически достоверному отличию от группы интактных животных с $p < 0,05$) [3]

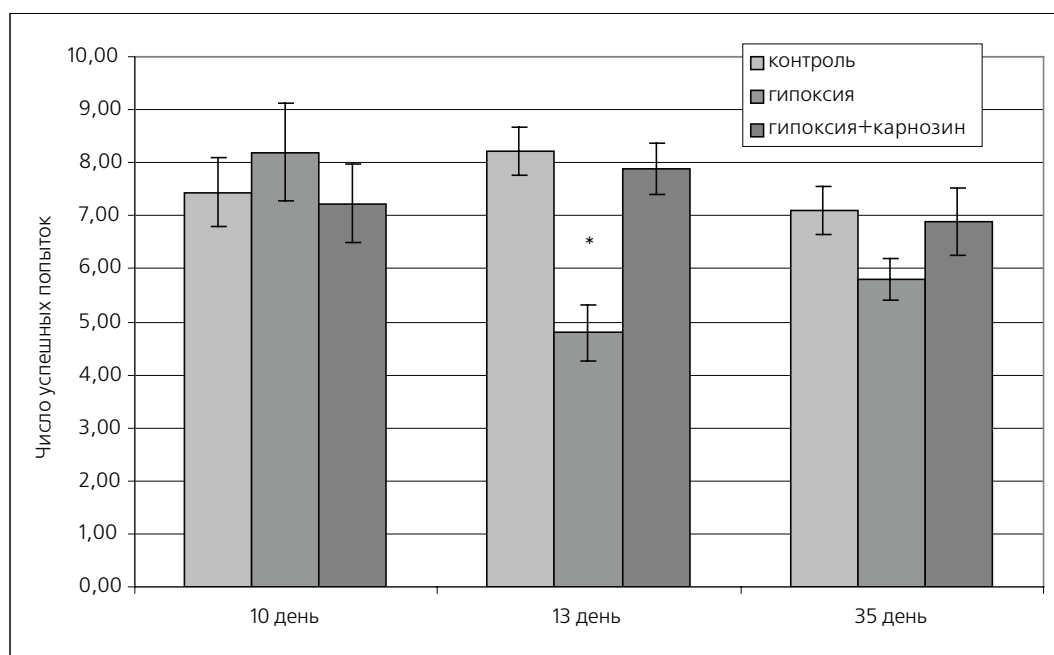


Рис. 4. Исследование обучения крыс в Т-образном лабиринте (* — соответствует достоверному отличию от контрольной группы с $p < 0,05$) [4]. Измерено число успешных попыток поиска пищи на 10-й день обучения и после двухдневного (13-й день) и двухнедельного (35-й день) перерыва

беременности и частое возникновение ситуации невынашивания беременности, затрудняющее получение экспериментального материала. При использовании второй модели оказывается трудно сохранить стабильно повышенный уровень ГЦ в крови экспериментальных животных, а передозировка ГЦ приводит к резорбции плода или к выкидышам.

Ежедневная пищевая нагрузка метионином является подходом, лишенным указанных недостатков. При метиониновой нагрузке начиная со 2-го триместра беременности и осуществлении ее в течение всего периода эксперимента как развитие эмбрионов, так и рост потомства осуществляется на фоне выраженной гипергомоцистеинемии (при примерно 10-кратном увеличении в крови уровня общего ГЦ). Это создает условия, схожие с таковыми у беременных женщин, поскольку показано, что увеличение плацентарного кровотока во время третьего триместра беременности усиливает влияние гомоцистеина в плазме крови матери на развитие плода [8].

Концентрация гомоцистеина в плазме крови самок по окончанию периода лактации, определяемая методом ВЭЖХ в наших экспериментах достигала 42 мкмоль/л (у интактных животных — 5 мкмоль/л). Таким образом, у подопытных животных в этих условиях развивалась гипергомоцистеинемия средней степени тяжести.

В первые дни после рождения потомство из группы «метиониновых» животных имело существенно меньшие размеры, чем животные из контрольной группы, при этом количество животных в помете также различалось (табл. 3).

Эти данные согласуются с результатами статистического исследования, проведенного при изучении влияния повышенного уровня гомоцистеина в крови и амниотической жидкости у беременных женщин на вес новорожденных [15, 21].

Уровень активности СОД у 12-дневных животных в мозге животных «метиониновой» группы был достоверно ниже, чем в контрольной группе: $1,64 \pm 0,28$ против $2,16 \pm 0,22$ ($p < 0,05$), свидетельствуя о более глубоких нарушениях в системе эн-

Таблица 4

Результаты оценки когнитивных свойств животных в тесте Морриса

Регистрируемый параметр	Интактные животные	Группа «Метионин»	Группа «Метионин+карнозин»
Время нахождения платформы, с	20 ± 7	140 ± 18*	45 ± 6 [#]
Средняя скорость, м/с	0,24 ± 0,02	0,18 ± 0,02*	0,25 ± 0,04 [#]

* — соответствует статистически достоверному отличию от группы интактных животных с $p < 0,01$;
[#] — соответствует достоверному отличию от группы животных, получавших метионин, с $p < 0,01$ [3].

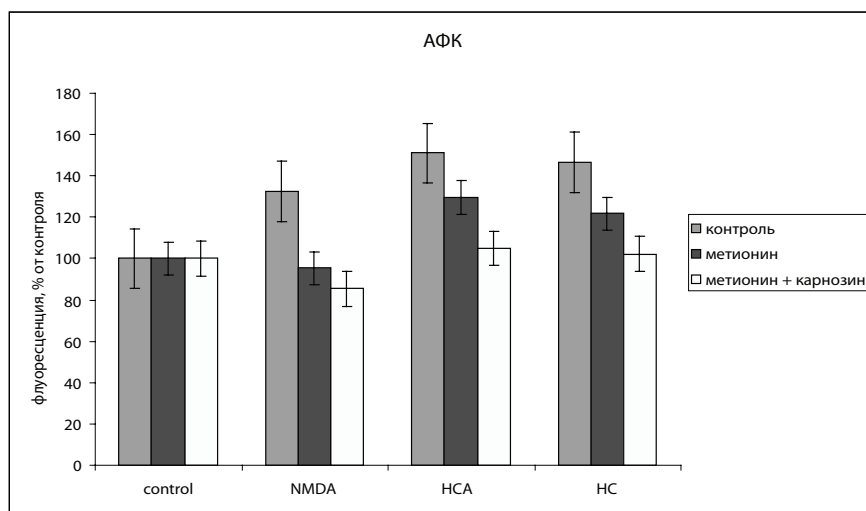


Рис. 5. Продукция АФК нейронами, выделенными из мозжечка исследованных животных, в контроле и при инкубации с NMDA, гомоцистеиновой кислотой (HCA) или гомоцистеином (HC) (концентрация лигандов 500 мкмоль/л, время инкубации 30 мин). * — соответствует достоверному отличию от контроля с $p < 0,05$.

догенной антиоксидантной защиты мозга, чем это имело место в случае первой из применяемых моделей. Это согласуется и с тем обстоятельством, что количество мертвых нейронов в суспензии, получаемой из мозжечка крысят, составляет в случае интактных животных $15,5 \pm 1,5\%$, а в случае животных с гипергомоцистеинемией вдвое большую величину — $30,3 \pm 2,5\%$. При этом живые нейроны, полученные из мозжечка животных «метиониновой» группы, характеризовались более высоким исходным уровнем АФК, что предполагало увеличение вероятности их гибели от последствий окислительного стресса.

Характерно, что нейроны мозжечка «метиониновых» крысят практически не активировались NMDA, хотя отвечали несколько более высокой флуоресценцией метки на внутриклеточные АФК (DCF) при инкубации с ГЦ или гомоцистеиновой кислотой (ГЦК) (рис. 5). Эффект этих лигандов не зависел от присутствия селективного антагониста NMDA-рецепторов МК-801, но снижался при добавлении антагонистов метаботропных рецепторов AIDA или MSOP.

Поскольку ранее было установлено, что ГЦ и продукт его превращений гомоцистеиновая кислота реализуют свое действие на нейроны как через ионотропные рецепторы NMDA-класса,

так и через метаботропные глутаматные рецепторы, было сделано заключение, что длительная гипергомоцистеинемия вызывает стойкий окислительный стресс в нейронах головного мозга, сопровождающийся десенситизацией глутаматных рецепторов NMDA-класса [3].

В соответствии с этими данными находятся и результаты оценки когнитивных способностей животных. Так, у потомства животных, характеризующихся стойкой гипергомоцистеинемией («метиониновая» группа), наблюдалось семикратное увеличение времени и четырехкратное увеличение пути поиска платформы в тесте Морриса. При этом скорость плавания у «метиониновой» группы была на 25% ниже, чем в контрольной группе (табл. 4). Эти результаты свидетельствуют как о снижении способности к обучению и запоминанию, так и об ослаблении мышечной активности животных.

3. Защита карнозином мозга, развивающегося в условиях окислительного стресса

Обе описанные модели были использованы нами для оценки возможности защиты организма от токсических последствий гипергомоцистеинемии. В качестве протектора мы использо-

вали широко распространенный антиоксидант и мембранопротектор карнозин. Карнозин является природным дипептидом, присущим возбудимым тканям позвоночных животных и обладающим широким спектром биологической активности [5].

Введение карнозина (100 мг/кг с питьевой водой) самкам крыс одновременно с метионином или в постгипоксическом периоде приводило к явному ослаблению повреждений, развивающихся у потомства в результате индукции окислительного стресса. Так, у новорожденных животных, подвергшихся воздействию гипоксии, в отличие от животных, не получавших карнозина, не наблюдалось отставания в весе (табл. 1). Нейроны, выделенные из мозжечка этих животных, были более устойчивы к окислительному стрессу: уровень АФК и процент мертвых клеток был не таким высоким, как в «гипоксической группе» (рис. 1). Это согласовалось и с уменьшением гидроперекисей в мозге, увеличением латентного периода и снижением скорости окисления при хемилюминесцентном анализе гомогенатов мозга этих животных (табл. 2). При этом у них повышалась исследовательская активность и нормализовалась двигательная активность (рис. 3), а нарушения памяти были менее выражены (рис. 4).

В модели пренатальной гипергомоцистеинемии введение карнозина одновременно с метионином также приводило к ослаблению последствий окислительного стресса, при этом среднее число особей в потомстве доходило до нормального уровня, и вес крысят к 10-му дню не отличался от такового у интактных животных (табл. 3). Благоприятно действовало введение карнозина и на поведение животных в тесте Морриса — время нахождения платформы в бассейне понижалось, приближаясь к контрольному, и скорость плавания восстанавливалась до контрольного уровня (табл. 4).

Интересно отметить, что несмотря на благоприятное действие карнозина, уровень ГЦК в крови у крыс этой группы не снижался. Таким образом, у животных, получавших карнозин, невеликовало отставание в весе, нейроны этих животных были более устойчивы к окислительному стрессу, когнитивные способности и двигательная активность животных в тесте Морриса достоверно не отличалась от таковой у интактных животных, несмотря на остающееся высоким значение в крови величины общего ГЦ. Это означает, что защитное действие карнозина заключается не в ускоренном метаболизме этого нейротоксина или его выведении из организма, а в устранении его токсического эффекта.

4. Заключение

Представленные результаты в совокупности показывают, что пренатальное развитие, протекающее в условиях стойкого окислительного стресса в мозге, сопровождается снижением активности эндогенной системы антиоксидантной защиты, повышенной склонности нейронов к гибели, десенситизации NMDA-рецепторов и, как следствие, к глубокому нарушению когнитивных функций. В ряде публикаций гипергомоцистеинемия считают главным фактором ухудшения работе когнитивных способностей животных, вызывающим задержку формирования мозга, о чем свидетельствует снижение экспрессии специфических белков мозга: нейронального белка S100, глиального кислого белка, а также белков клеточной адгезии [11].

Таким образом, в период внутриутробного развития, совпадающего по времени с закладкой элементов нервной системы, как однократный острый гипоксический эпизод, так и хроническая гипергомоцистеинемия приводят к выраженным отдаленным последствиям, которые проявляются в отчетливых сдвигах клеточного метаболизма, нарушении поведения и когнитивных способностей животных. Введение карнозина в рацион таких животных защищает мозг от негативных последствий гипоксии и гипергомоцистеинемии, что позволяет считать карнозин перспективным природным соединением, способным обеспечить защиту развивающегося организма от токсического действия гомоцистеина.

Работа поддержана грантами РФФИ №№ 09-04-00507 и 10-04-01461.

Литература

1. Биоамины мозга и поведение потомства после антенатальной гипоксии: эффекты пептидных нейромодуляторов / Маслова М. В. [и др.] // Нейрохимия. — 2001. — Т. 18, №3. — С. 212–215.
2. Болдырев А. А. Молекулярные механизмы токсичности гомоцистеина // Биохимия. — 2009. — Т. 74, №6. — С. 725–736.
3. Карнозин защищает от окислительного стресса, вызванного гипергомоцистеинемией / Махро А. В. [и др.] // Бюл. эксп. биол. мед. — 2008. — Т. 25, №3. — С. 1–8.
4. Карнозин защищает от окислительного стресса, вызванного пренатальной гипоксией / Федорова Т. Н. [и др.] // ДАН. — 2006. — Т. 408, №1. — С. 1–4.
5. Карнозин: новейшая история давно известного вещества / Стволинский С. Л. [и др.] // Бюллетень МОИП. Отдел биологический. Приложение №1. — 2007. — Т. 112, вып. 1. — С. 107–123.
6. Объекты биологии развития / ред. Э. Д. Бакулина [и др.]. — М.: Наука, 1975. — 579 с.

7. Пренатальный гипоксический стресс: физиологические и биохимические последствия, коррекция регуляторными пептидами / Соколова Н. А. [и др.] // Успехи физиологических наук. — 2002. — Т. 33, № 2. — С. 56–67.
8. *Baschat A. A.* Fetal responses to placental insufficiency: an update // *BJOG*. — 2004. — Vol. 111, N 10. — P. 1031–1041.
9. *Bjorke Monsen A. L., Ueland P. M.* Homocysteine and methylmalonic acid in diagnosis and risk assessment from infancy to adolescence // *Am. J. Clin. Nutr.* — 2003. — Vol. 78, N 1. — P. 7–21.
10. *De Grauw T. J., Myers R. E., Scott W. J.* Fetal growth retardation in rats from different levels of hypoxia // *Biol. Neonate*. — 1986. — Vol. 49, N 2. — P. 85–89.
11. Effects of maternal hyperhomocysteinemia induced by high methionine diet on the learning and memory performance in offspring / Baydas G. [et al.] // *Int. J. Dev. Neurosci.* — 2007. — Vol. 25, N 3. — P. 133–139.
12. Elevated prenatal homocysteine levels as a risk factor for schizophrenia / Brown A.S. [et al.] // *Arch. Gen. Psychiatry*. — 2007. — Vol. 64, N 1. — P. 31–39.
13. *Eskes T. K.* From birth to conception. Open or closed // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* — 1998. — Vol. 78, N 2. — P. 169–177.
14. Genetic and lifestyle factors related to the periconception vitamin B12 status and congenital heart defects: a Dutch case-control study / Verkleij-Hagoort A.C. [et al.] // *Mol. Genet. Metab.* — 2008. — Vol. 94, N 1. — P. 112–119.
15. Homocysteine levels in amniotic fluid. Relationship with birth-weight / Grandone E. [et al.] // *Thromb. Haemost.* — 2006. — Vol. 95, N 4. — P. 625–628.
16. Homocysteine-induced vascular dysregulation is mediated by the NMDA receptor / Qureshi I. [et al.] // *Vasc. Medicine*. — 2005. — Vol. 10, N 3. — P. 215–223.
17. In vivo effect of chronic hypoxia on the neurochemical profile of the developing rat hippocampus / Raman L. [et al.] // *Brain. Res. Dev. Brain. Res.* — 2005. — Vol. 156, N 2. — P. 202–209.
18. Increased superoxide production in coronary arteries in hyperhomocysteinemia: role of tumor necrosis factor- α , NAD(P)H oxidase, and inducible nitric oxide synthase / Ungvari Z. [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2003. — Vol. 23, N 3. — P. 418–424.
19. Influence of preconditioning-like hypoxia on the liver of developing methyl-deficient rats / Blaise S. A. [et al.] // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* — 2007. — Vol. 293, N 6. — P. E1492–1502.
20. Long-term prenatal hypoxia alters maturation of brain catecholaminergic systems and motor behavior in rats / Perrin D. [et al.] // *Synapse*. — 2004. — Vol. 54, N 2. — P. 92–101.
21. Maternal Homocysteine before Conception and throughout pregnancy predicts fetal homocysteine and birth weight / Murphy M. M. [et al.] // *Clin. Chem.* — 2004. — Vol. 50, N 8. — P. 1406–1412.
22. *McCully K. S.* Chemical pathology of homocysteine. IV. excitotoxicity, oxidative stress, endothelial dysfunction, and inflammation // *Ann. Clin. Lab. Sci.* — 2009. — Vol. 39, N 3. — P. 219–232.
23. *McCully K. S.* Homocysteine, vitamins, and vascular disease prevention // *Am. J. Clin. Nutr.* — 2007. — Vol. 86, N 5. — P. 1563S–1568.
24. Methionine metabolism in human pregnancy / Dasarthy J. [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* — 2010. — Vol. 91, N 2. — P. 357–365.
25. Mild neonatal hypoxia exacerbates the effects of vitamin-deficient diet on homocysteine metabolism in rats / Blaise S. [et al.] // *Pediatr. Res.* — 2005. — Vol. 57, N 6. — P. 777–782.
26. *Mishra O. P., Delivoria-Papadopoulos M.* Cellular mechanisms of hypoxic injury in the developing brain // *Brain Res. Bull.* — 1999. — Vol. 48, N 3. — P. 233–238.
27. *Nyakas C., Buwalda B., Luiten P. G.* Hypoxia and brain development // *Prog. Neurobiol.* — 1996. — Vol. 49, N 1. — P. 1–51.
28. *Pabinger I., Vormittag R.* Thrombophilia and pregnancy outcomes // *J. Thromb. Haemost.* — 2005. — Vol. 3, N 8. — P. 1603–1610.
29. Plasma total homocysteine, pregnancy complications, and adverse pregnancy outcomes: the Hordaland Homocysteine Study / Vollset S. E. [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* — 2000. — Vol. 71, N 4. — P. 962–968.
30. Prenatal hypoxia impairs the postnatal development of neural and functional chemoafferent pathway in rat / Peyronnet J. [et al.] // *J. Physiol.* — 2000. — Vol. 524, N 2. — P. 525–537.
31. Role of NMDA receptor in homocysteine-induced activation of mitogen-activated protein kinase and phosphatidylinositol 3-kinase pathways in cultured human vascular smooth muscle cells / Doronzo G. [et al.] // *Thromb. Res.* — 2010. — Vol. 125, N 2. — P. e23–32.
32. *Tamura T., Picciano M. F.* Folate and human reproduction // *Am. J. Clin. Nutr.* — 2006. — Vol. 83, N 5. — P. 993–1016.
33. The homocysteine hypothesis of depression / Folstein M. [et al.] // *Am. J. Psychiatry*. — 2007. — Vol. 164, N 6. — P. 861–867.
34. *Zhuravin I. A., Dubrovskaya N. M., Tumanova N. L.* Postnatal physiological development of rats after acute prenatal hypoxia // *Neurosci. Behav. Physiol.* — 2004. — Vol. 34, N 8. — P. 809–816.

Статья представлена А. В. Арутюняном,
ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта,
Санкт-Петербург

BRAIN PROTECTION FROM OXIDATIVE STRESS AT PRENATAL DEVELOPMENT BY CARNOSINE

Stepanova M. S., Bulygina E. R., Boldyrev A. A.

■ **Summary:** Two brain oxidative stress models during pregnancy period are described in the review. Both prenatal hypoxia and prenatal hyperhomocysteinemia leads to development of oxidative stress in brain, which accompanied

by NMDA receptor dysfunction and subsequent neuronal death following by later disturbances of animal behavior and cognitive function. Treatment of rats with carnosine during pregnancy attenuates consequences of brain oxidative stress in progeny.

■ **Key words:** prenatal hypoxia; prenatal hyperhomocysteinemia; N-methyl-D-aspartic acid; homocysteine; homocysteic acid; oxidative stress; carnosine.

■ **Адреса авторов для переписки**

Степанова Мария Сергеевна — к. б. н., научный сотрудник лаборатории клинической и экспериментальной нейрохимии НЦН РАМН. Научный Центр неврологии РАМН, Москва. Волоколамское шоссе д. 80, 125367, г. Москва.
E-mail: lea13@list.ru

Булыгина Елена Романовна — к. б. н., научный сотрудник лаборатории клинической и экспериментальной нейрохимии НЦН РАМН. Московский Государственный университет имени М. В. Ломоносова. Волоколамское шоссе д. 80, 125367, г. Москва. **E-mail:** erb2000@mail.ru

Болдырев Александр Александрович — д. б. н., профессор кафедры биохимии, Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова; заведующий лабораторией клинической и экспериментальной нейрохимии НЦН РАМН. Волоколамское шоссе д. 80, 125367, г. Москва.
E-mail: aaboldyrev@mail.ru

Stepanova Maria Sergeevna — PhD, scientific researcher. Scientific Center of Neurology RAMS. 125367 Russia, Moscow, Volokolamskoe Shosse 80.
E-mail: stepanova.mar@gmail.com

Bulygina Elena Romanovna — PhD, scientific researcher. Scientific Center of Neurology RAMS. 125367 Russia, Moscow, Volokolamskoe Shosse 80.
E-mail: erb2000@mail.ru

Boldyrev Alexandr Alexandrovich — Professor Head of the laboratory of clinical and experimental neurochemistry. Scientific Center of Neurology RAMS. 125367 Russia, Moscow, Volokolamskoe Shosse 80.
E-mail: aaboldyrev@mail.ru



© М. С. Зайнулина, А. В. Арутюнян,
Е. А. Корнюшина, А. В. Пустыгина,
М. И. Миращвили

ГУ НИИ акушерства и гинекологии
им. Д. О. Отта СЗО РАМН
СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова,
кафедра акушерства и гинекологии

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ДИАГНОСТИКЕ, МЕДИКАМЕНТОЗНОЙ ТЕРАПИИ И ПРОФИЛАКТИКЕ АКУШЕРСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ЖЕНЩИН С ТРОМБОФИЛИЕЙ

УДК: 618.3-06:616.151.5

■ Обследовано 106 беременных с тромбофилией и невынашиванием в анамнезе и 36 здоровых женщин с физиологически протекающей беременностью. Выявлена более высокая частота наследственной тромбофилии и мультигенной тромбофилии у беременных с невынашиванием по сравнению со здоровыми женщинами. Применение коррекции нарушений гемостаза у 56 беременных с невынашиванием с первого триместра беременности позволило достичь более высокой частоты срочных родов и снизить частоту осложнений беременности.

■ **Ключевые слова:** невынашивание беременности; тромбофилия; Д-димер; фраксипарин; курантил; гестоз; плацентарная недостаточность; задержка внутриутробного развития плода.

Введение

Репродуктивное здоровье женщин с неблагоприятными исходами беременности в анамнезе определяется множественными факторами, предрасполагающими к развитию осложнений при последующей беременности. Поиск этих факторов с целью их коррекции при планировании беременности включает в себя следующее: обследование на инфекции урогенитального тракта, эндокринное, иммунологическое обследование, выявление пороков развития полового аппарата, исключение хромосомных аномалий. В свете последних исследований в протокол обследования пациенток с отягощенным акушерским анамнезом многие центры в нашей стране и за рубежом включают выявление наследственной тромбофилии. Связь мутации фактора V Leiden, мутации 20210 G→A в гене протромбина, полиморфизма 677C→T в гене метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) с осложненным течением и неблагоприятными исходами беременности наиболее активно изучалась в ходе исследований, проведенных за последнее десятилетие. Однако количество работ, оценивавших генетический статус женщин с отягощенным акушерским анамнезом, во много раз превышает количество исследований, посвященных оценке коагулологических параметров у этой группы пациенток.

Адаптивные изменения гемостаза при физиологическом течении беременности, служащие для предотвращения избыточной кровопотери в родах, хорошо изучены. Наиболее выражены данные изменения в третьем триместре беременности, когда выявляется повышение VII, X, VIII факторов, фибриногена V, фактора Виллебранда. Наряду с активацией коагуляционного потенциала наблюдается подавление функционирования антикоагулянтной системы крови, в частности развивается резистентность к протеину С (ПС) и снижение активности протеина S [12, 22]. В исследовании Donohoe S. и соавт. помимо значительного повышения уровня ф XIIa, VIIa при нормальной беременности выявлялось повышение комплекса тромбин–антитромбин, фрагментов протромбина F1+2, Д-димера. [21]. В результате в II и III триместрах беременности наблюдается незначительная активация внутрисосудистого свертывания крови. Наши знания о генетической предрасположенности к тромбообразованию — наследственной тромбофилии объясняют развитие тромбозов различной локализации у беременных, в том числе и тромбообразования в сосудах маточно-плацентарного кровеносного русла. Однако полиморфизмы, предрасполагающие к тромбофилии, обнаруживаются и

у здоровых женщин, соматический и акушерский анамнез которых не отягощен. С другой стороны, при наличии отягощенного акушерского анамнеза, в том числе преждевременной отслойки нормально расположенной плаценты, привычного невынашивания, тяжелого гестоза, задержки внутриутробного развития плода не всегда выявляется генетическая предрасположенность к тромбофилии. В связи с этим возникает вопрос — какие патофизиологические механизмы лежат в основе срыва физиологического адаптивного режима функционирования системы гемостаза и переход его к избыточной активации, что влечет за собой нарушения микроциркуляции в различных регионах кровообращения в организме беременной и предрасполагает к развитию акушерских осложнений? Какие факторы способствуют реализации наследственной тромбофилии в виде нарушений коагуляции и какие факторы обеспечивают компенсацию и состояние здоровья при ее наличии?

От 15 до 20% всех беременностей заканчиваются потерей плода. Привычное невынашивание определяется как 2 или более спонтанных выкидышей и встречается с частотой около 5% у женщин репродуктивного возраста. После исключения всех возможных причин до 20% повторных выкидышей остаются необъяснимыми. Эпидемиологические исследования говорят о том, что наследственная тромбофилия матери предрасполагает к развитию патогенетических механизмов этого состояния [31, 32, 39, 45].

Уникальное клеточное строение материнского сосудистого русла в гемохориальной плаценте поднимает важный вопрос о регуляции местного гемостаза. По данным исследований [13, 14, 15, 20, 27, 35, 41], человеческий и мышинный трофобласт экспрессируют большое число продуктов генов, регулирующих гемостаз, экспрессируемых также и эндотелием. Это такие молекулы, как тромбомодулин (ТМ), эндотелиальный рецептор протеина С (ЭРПС), ингибитор пути тканевого фактора (ИПТФ) и другие, регулирующие активность тромбина. Клетки трофобласта экспрессируют регуляторы вазодилатации и функции тромбоцитов, такие, как NO-синтаза 2, циклооксигеназа-2 и простаглицлин-синтаза. В трофобласте также экспрессируются регуляторы фибринолиза — ингибитор активатора плазминогена и тканевой активатор плазминогена. Эти данные говорят о подобии эндотелия и трофобласта в отношении способности регулировать антикоагулянтную и фибринолитическую системы. Особенностью регуляции плацентарного гемостаза является то, что за экспрессию факторов, регулирующих его, ответственны как гены матери, так и гены плода. Для успешного контроля свертывания необходимо содружественное

полноценное функционирование продуктов генов трофобласта и материнских генов. Такое двойное регулирование может служить своеобразной «подушкой безопасности», позволяющей компенсировать состояние гемостаза в случае одностороннего наследственного дефекта. С другой стороны, некоторые продукты генов трофобласта могут представлять возможный риск неблагоприятного течения беременности у женщин с тромбофилией. Исследования на генетически модифицированных мышцах подтверждают эту гипотезу [43].

ТМ, ЭРПС и ИПТФ — ассоциированные с мембраной молекулы, осуществляющие свои функции на поверхности трофобласта. Если целостность пути ПС (регулируемого ЭРПС и ТМ) необходима для пролонгирования беременности, полный дефицит ПС плода сам по себе совместим с нормальной функцией плаценты. Это наблюдение согласуется с мнением о том, что ТМ и ЭРПС, локализованные на трофобласте, обеспечивают свою необходимую антикоагулянтную функцию, взаимодействуя с ПС матери. Имеются также данные о том, что наличие тромбофилических мутаций не всегда связано с тромбозом плаценты, но может вызывать структурные аномалии формирующейся плаценты [19]. Женщины с привычным невынашиванием имеют риск невынашивания при последующей беременности, составляющий около 30–34%. У беременных с тромбофилией еще более возрастает. [50].

В ряде исследований, проведенных среди женщин с неблагоприятными исходами беременности, показано, что наследственная тромбофилия может увеличивать риск потери плода [1, 2, 3]. В 1996 году в ретроспективном исследовании случай-контроль, в которое были включены женщины из семей с наследственной тромбофилией и тромбозами, было показано значительное увеличение риска мертворождения у носительниц наиболее тяжелых форм тромбофилии (мутации фактора V Leiden, протромбина G 20210A, гена *MTHFR 677 C/T*), комбинированных дефектов или дефицита антитромбина-III [28]. В систематическом обзоре Robertson L. и соавт. делается вывод о том, что имеется положительная связь привычного невынашивания с гетерозиготной мутацией фактора V Leiden или протромбина G20210A [46]. Носители этих дефектов имели более высокий риск потери плода в первом и втором триместрах, но абсолютный риск все же оставался низким. В метаанализе данных о тромбофилии и потери беременности сообщается о связи наличия двух или более случаев потери беременности и носительства фактора V Leiden, гомозиготный полиморфизм гена *MTHFR 677 C/T* не подтвержден как фактор риска [7, 17, 47]. Однако есть и противоположное мнение. В ходе двух популяционных исследований,

включавших 3020 женщин, у носителей фактора V Leiden не выявлено повышенной частоты невынашивания во II триместре, а также гестоза и задержки внутриутробного развития плода [5,40]. Возможно, различие результатов перечисленных работ обусловлено различным популяционным составом исследуемых групп, а также и различным объемом генетического обследования — в большинстве работ определялись мутация фактора V Leiden, полиморфизм гена *MTHFR 677 C/T*, гена протромбина. Неоднозначность результатов наводит на мысль о том, что для оценки степени риска тромбофилии для развития осложнений беременности информации только о генотипе недостаточно. Риск, по всей видимости, может быть адекватно оценен только с учетом фенотипических проявлений генетических дефектов, которые проявляются клиническими симптомами тромбофилии и могут быть выявлены при коагулологическом исследовании. Такой подход к оценке риска тромбофилии подтверждается в работе Rai R. и соавторов, где была показана большая связь привычного невынашивания с наличием приобретенной резистентности к протеину С, чем с наличием мутации фактора V Leiden при обследовании 1000 женщин [18].

Несмотря на разнородность оценки риска невынашивания при том или ином варианте тромбофилии, в литературе есть сообщения об улучшении исходов беременности при проведении антикоагулянтной и антиагрегантной терапии беременным с невынашиванием и наследственной тромбофилией [6, 9, 10, 16, 29, 34].

Патогенетическое обоснование эффективности данной терапии, по-видимому, состоит в предотвращении тромбоза в плаценте. Интерес представляет тот факт, что тромбозы в плацентарной ткани обнаруживались у женщин с невынашиванием неясного генеза независимо от наличия тромбофилии. Более того, провоспалительные изменения, такие как изменение соотношения цитокинов Т-хелперов 1 и Т-хелперов 2, активация системы комплемента, также выявляются у данной группы пациенток. В связи с этим, Monien S. и соавторы связывают положительный эффект терапии низкомолекулярными гепаринами (НМГ) для профилактики неблагоприятных исходов беременности у 162 женщин с привычным невынашиванием неясного генеза не только с антикоагулянтным, но и с противовоспалительным действием. Маркеры тромбофилии были выявлены у 27,8% беременных. Необходимо особо отметить, что у пациенток с тромбофилией частота рождения живых детей не отличалась от таковой у женщин без наследственной тромбофилии. Эти данные поддерживают утверждение о том, что НМГ эффективны у паци-

енток с привычным невынашиванием как при наличии тромбофилии, так и в ее отсутствии. [50].

С накоплением данных о значимости наследственной тромбофилии для развития осложнений беременности формируется неоднозначное отношение к наличию полиморфизмов генов, предрасполагающих к тромбофилии. Основное внимание, по нашему мнению, в настоящий момент привлекает изучение факторов, реализующих патологический генотип. В силу того что на данном этапе развития науки эти факторы четко не очерчены, в практической деятельности можно опираться на клинические и лабораторные (коагулологические) ориентиры для выявления пациенток с повышенным риском осложнений беременности. Клиническим ориентиром риска осложнений беременности могут служить неблагоприятные исходы беременности и акушерские осложнения в анамнезе. По мнению Greer I. A., неблагоприятное течение беременности — это проявление материнского фенотипа, которое, как и коагулологические изменения, отражает протромботическую тенденцию при беременности, приводящую к повреждению плаценты [25], что требует обязательного рассмотрения вопроса о предгравидарной подготовке и ведения последующей беременности с применением антиагрегантов и антикоагулянтов.

Таким образом, вопрос о роли тромбофилии в развитии осложненного течения беременности является приоритетным как в научных исследованиях, так и в практической деятельности.

Методы исследования

Нами обследовано 106 беременных с невынашиванием, которые наблюдались в Центре тромбофилий НИИ акушерства и гинекологии в 2006–2009 гг. В анамнезе у пациенток имелось от 1 до 5 потерь беременности в 1-м и/или во 2-м триместрах. В исследование не включали женщин, имеющих тяжелую соматическую патологию и хронические заболевания в стадии декомпенсации, сахарный диабет, заболевания печени. Пациентки наблюдались в Центре с момента диагностики беременности до родоразрешения. В комплекс обязательного обследования входило выявление наследственной тромбофилии, коагулологическое исследование крови по 12 параметрам, определение Д-димера, гомоцистеина, агрегационной активности тромбоцитов. Определение фактора Виллебранда, фибронектина, плазмин- α 2-антиплазминового комплекса, Д-димеров проведено иммуноферментным методом.

Методом полимеразной цепной реакции с использованием технологии биочипов выявляли мутации в гене фактора V (FV Leiden), мутации 20210 G→A в гене протромбина, полиморфизма 675 4G→5G в гене *PAI-1*, полиморфизма

455 G→A в гене фибриногена, полиморфизма 1565T→C в гене гликопротеина GPIIb, полиморфизма 677C→T в гене метилентетрагидрофолатредуктазы, полиморфизма I/D в гене тканевого активатора плазминогена (PLAT). На сегодня технология биочипов занимает лидирующую позицию среди подходов, применяемых для анализа генетического полиморфизма и мутаций.

Все пациентки были разделены на 2 группы. Основную группу составили 56 беременных, которым помимо стандартного лечения осложнений беременности проводилась коррекция гемостаза с применением фраксипарина и/или курантила по показаниям с первого триместра. В группу сравнения вошли 50 женщин, не получавших антикоагулянтов и/или антиагрегантов. Средний возраст обследованных в основной группе и группе сравнения достоверно не различался и составил соответственно $30,66 \pm 0,63$ и $31,04 \pm 0,66$ лет. Контрольную группу составили 36 женщин с физиологически протекающей беременностью. Средний возраст беременных из контрольной группы достоверно не отличался от такового у беременных основной группы и группы сравнения ($31,97 \pm 0,82$), сроки беременности при включении в исследование также достоверно не различались и составили в основной группе $7,82 \pm 0,43$, в группе сравнения — $7,61 \pm 0,62$ и в контрольной группе — $8,1 \pm 0,39$ недель.

Результаты исследования

Общая частота встречаемости наследственной тромбофилии была достоверно выше при невынашивании беременности по сравнению с контрольной группой (100 и 77,78% соответственно, $p < 0,001$). Частота мультигенной тромбофилии у беременных с невынашиванием составила 71,69% и также статистически значимо превышала таковую в контрольной группе 50% ($p < 0,05$). Нами не было выявлено значимых различий по частоте встречаемости отдельных полиморфизмов, однако сочетание полиморфизмов, отвечающих за нарушения в системе фибринолиза — PAI-1 и PLAT, достоверно чаще определялось при невынашивании беременности по сравнению с контрольной группой (33,96% и 13,89% соответственно, $p < 0,05$). При невынашивании выявлена более высокая частота наличия одновременно 3-х полиморфизмов — 22,64% по сравнению с контрольной группой — 2,78% ($p < 0,01$). Также в группе женщин с невынашиванием встречались сочетания мутации фактора V Leiden с тремя и четырьмя другими полиморфизмами, в отличие от контрольной группы (частота составила соответственно 2,83% и 0,94%). Эти данные подчеркивают значимость мультигенной тромбофилии для реализации осложнений беременности.

По нашим данным, нарушения в системе гемостаза у беременных с невынашиванием развиваются с первого триместра беременности, при исследовании свертывающейся крови с ранних сроков беременности определяются маркеры повышенного внутрисосудистого свертывания и повышение агрегационной активности тромбоцитов. Состояние гиперкоагуляции выявлялось в первом триместре беременности с относительно невысокой частотой — до 6,5%, однако средняя концентрация Д-димера в первом триместре у беременных с невынашиванием составила $314,29 \pm 34,23$ нг/мл в основной и $330,46 \pm 38,93$ нг/мл в группе сравнения, что достоверно выше, чем в контрольной группе $221,94 \pm 19,43$ нг/мл ($p < 0,05$) и свидетельствует об активации внутрисосудистого свертывания крови уже с первого триместра. При невынашивании беременности у беременных с тромбофилией проводилась предгравидарная подготовка. При выявлении повышения агрегации тромбоцитов и/или повышения содержания в крови фактора Виллебранда назначается курантил в дозе 25 мг 3 раза в сутки с 5-го по 25-й день менструального цикла. В случае нарушения агрегационной функции тромбоцитов антиагрегантная терапия курантилом в дозе 25–75 мг 3 раза в день курсами по 21 дню была продолжена в первом триместре беременности.

При наличии гиперкоагуляции и/или активации внутрисосудистого свертывания крови (повышение концентрации Д-димера) в этот период назначали антикоагулянтную терапию. В качестве антикоагулянтной терапии применяли фраксипарин курсами по 5–10 дней и более в суточной дозе от 0,3 до 0,6 мл. Длительность применения и доза препарата подбирались в зависимости от веса тела, клинической картины и темпа нормализации показателей системы гемостаза, и в ряде случаев, при стойких нарушениях свертывающей системы, терапия продолжалась на протяжении всей беременности.

При наличии АФС помимо коррекции нарушений системы гемостаза по описанной схеме были проведены курсы плазмафереза и курсы иммуноглобулинов (интраглобин). При наличии гипергомоцистеинемии помимо антикоагулянтной терапии применялась фолиевая кислота и витамины группы В (препарат ангиовит по 1–2 таблетки в день).

У женщин с наследственной тромбофилией и невынашиванием частым осложнением беременности является отслойка плодного яйца. В основной группе и группе сравнения частота данного осложнения составила 46,42% и 38% и достоверно не различалась. При наличии отслойки плодного яйца выявлена достоверно более высокая частота повышения в крови антикоагулянтного плацентарного протеина аннексина 5 в первом триместре, чем при отсут-

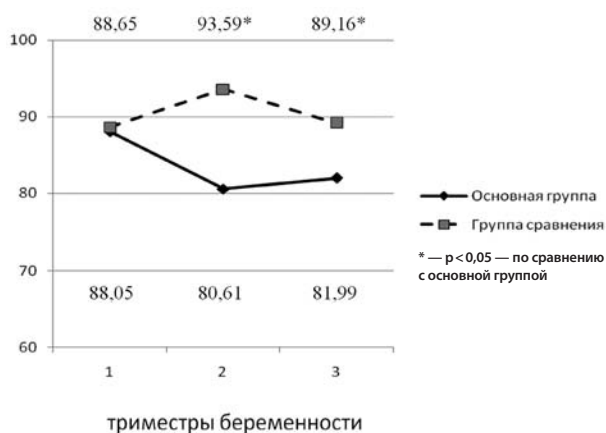


Рис. 1. Степень индуцированной агрегации тромбоцитов с АДФ, концентрация 2мкМ (%)

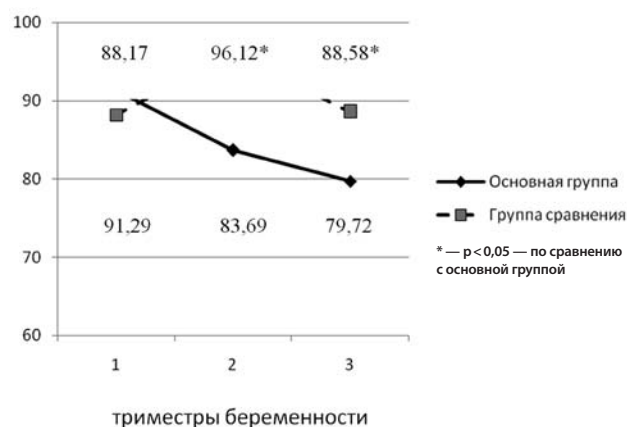


Рис. 2. Скорость индуцированной агрегации тромбоцитов с АДФ, концентрация 2мкМ (%/мин)

ствии данного осложнения (45% и 10,50%, $p < 0,05$), что, возможно, связано с отщеплением аннексина 5 с поверхности трофобласта. Таким образом, можно предположить, что отслойка плодного яйца в первом триместре беременности наблюдается у беременных с мембранопатией, что является показанием для назначения мембранопротекторных препаратов, например омега-3 полиненасыщенных жирных кислот. При развитии отслойки плодного яйца возможно продолжение антиагрегантной терапии, так как при этом, по нашим данным, не наблюдалось прогрессирования отслойки. Антикоагулянтную терапию мы рекомендуем продолжить при появлении признаков организации очага отслойки плодного яйца.

Контроль параметров свертывания крови проводился каждые 2–3 недели или чаще в зависимости от тяжести нарушений свертывания. Контроль необходимо продолжать во втором и третьем триместрах беременности с целью своевременной коррекции нарушений гемостаза, которая должна проводиться с учетом показателей физиологически протекающей беременности.

При обследовании в первом триместре в обеих группах показатели степени и скорости индуцированной агрегации тромбоцитов с АДФ (2мкМ) достоверно не различались, однако на терапии степень и скорость индуцированной агрегации тромбоцитов с АДФ (2мкМ) во втором и третьем триместре беременности была достоверно ниже в основной группе, чем в группе сравнения (см. рисунок 1 и 2).

Концентрация Д-Димера во втором и третьем триместрах беременности с основной группе составила $429,15 \pm 47,73$ нг/мл и $557,21 \pm 38,83$ нг/мл и была достоверно ниже, чем в группе сравнения, — $652,86 \pm 75,84$ нг/мл и $715,5 \pm 37,84$ нг/мл соответственно ($p < 0,05$).

Принципиальное значение имеет ранняя коррекция нарушений гемостаза на этапе формиро-

вания плаценты, когда закладываются условия для физиологического протекания беременности. Эффективность данного подхода показывают результаты нашего исследования. При применении своевременной коррекции нарушений гемостаза у беременных с невынашиванием в анамнезе беременность достоверно чаще завершается срочными родами, чем при отсутствии данного лечения (91,07 и 72% соответственно, $p < 0,05$). В основной группе женщин, получавших лечение нарушений свертывания крови в первом триместре, наблюдалась только легкая степень гестоза, в отличие от группы, не получавшей лечения, где гестоз средней степени развился в 8%, а гестоз тяжелой степени в 2% случаев. Необходимо отметить более раннее начало проявлений гестоза в отсутствие проводимой терапии, чем в основной группе ($31,23 \pm 0,67$ недель и $34,44 \pm 0,56$ недель соответственно, $P < 0,001$). В основной группе также наблюдалось достоверное снижение гистологически подтвержденной плацентарной недостаточности по сравнению с группой женщин, не получавших лечения в первом триместре беременности (8,82 и 33,33% соответственно, $p < 0,05$). Задержка внутриутробного развития плода встречалась с частотой 11,36% в группе без коррекции гемостаза с первого триместра и не выявлена в основной группе.

Необходимо отметить, что антикоагулянтная терапия НМГ должна занять должное место в практике амбулаторного лечения беременных. Эффективность и безопасность данного режима длительного лечения подтверждается как нашими данными, так и данными зарубежных исследователей [38].

Одной из положительных сторон использования НМГ по сравнению с нефракционированным гепарином является снижение потенциального риска кровотечения. Это представляется особенно важным в акушерской практике, так как послеродовое кровотечение является причиной развития серьезной материнской заболеваемости в послеро-

довом периоде [52]. Применение НМГ не связано с повышением риска кровотечения во время родов. В одном из систематических обзоров [26] частота серьезных кровотечений составила 1,98% по сравнению с риском массивного кровотечения (0,7%) (определяемого как потеря крови более 1500 мл) по данным проспективного исследования, где НМГ не применялся [52]. Известно, что риск тромбоцитопении, вызванной применением НМГ, намного ниже, чем при применении нефракционированного гепарина, и описывается в обзоре Greeg и Nelson-Piercy [26], где не было отмечено случаев развития связанной с тромбозом тромбоцитопении среди 2777 беременных женщин, проходящих лечение НМГ.

В свете понимания изменения фармакокинетики дальтепарина и эноксапарина во время беременности [4, 11], рекомендовано их применение 2 раза в день для лечения венозных тромбозов (ВТЭ) во время беременности (эноксапарин 1 мг/кг раз в день, дальтепарин 100 ед/кг 2 раза в день). Предварительные биохимические данные сравнительно небольшого количества женщин показали, что введение тинзапарина 1 раз в день (175 ед/кг) может быть использовано для лечения ВТЭ во время беременности [48].

Рутинное измерение на пике активности анти-Ха для пациенток во время беременности не рекомендовано, кроме случаев женщин с экстремальными показателями массы тела (менее 50 кг или более 90 кг) или женщин с другими отягощающими факторами (с нарушением функции почек или с повторными ВТЭ), что предрасполагает к повышенному риску [24]. Рутинный подсчет количества тромбоцитов проводить не рекомендуется (кроме случаев применения нефракционированного гепарина) [30, 51]. Женщины с ВТЭ в антенатальном периоде могут получать подкожное введение НМГ до окончания беременности [23, 24, 33, 36, 44] в режиме применения каждые 12 часов. Если эта терапия требует мониторинга (например, при экстремальных показателях веса тела или при нарушении функции почек), целью является достичь пика анти-Ха активности через 4 часа после инъекции. Терапевтическая область анти-Ха активности составляет 0,64–0,96 ед/мл, профилактическая область — 0,16–0,24 ед/мл.

Подкожное введение НМГ имеет преимущества по сравнению с использованием гепарина под АПТВ-мониторингом с целью поддерживающего лечения ВТЭ во время беременности. Упрощенная терапевтическая схема НМГ является удобной и позволяет проводить лечение вне стационара. Женщины должны быть обучены инъекции сами, что позволяет вести таких пациенток на дому до родов.

Во избежание нежелательного эффекта антикоагулянтов во время родов введение НМГ нужно

прекратить, как только женщина думает, что роды начались либо при подтверждении начала родов. Во время планированных родов введение НМГ нужно прекратить за 24 ч до индукции родов или кесарева сечения. Кровотечения, связанные с введением НМГ, очень редки [49].

При проведении терапии НМГ необходимо обращать пристальное внимание на развитие кожных реакций, которые встречаются в 0,3–0,6% случаев. В исследованиях [8] сообщается, что кожные реакции наиболее распространены при беременности. Кожные проявления встречаются при гепарин-индуцированной тромбоцитопении (ГИТ), поэтому ГИТ необходимо исключать при наличии кожных проявлений. Смена НМГ может разрешить данное побочное явление, однако если развивается перекрестная реакция, то выбор НМГ ограничивается. В большинстве случаев у пациенток с некрозом кожи ГИТ и тромбоз развиваются если гепарин не отменяют вовремя. Фондапаринукс — прямой ингибитор тромбина, который может служить альтернативой для пациенток с гиперчувствительностью к НМГ, однако его влияние на течение беременности полностью не изучено [42].

Необходимо также учитывать, что лечение эндокринной патологии, приводящей к невынашиванию и бесплодию, в частности гормональная терапия с применением эстрогенов, стимуляция овуляции требуют мониторинга состояния свертывания крови в качестве неотъемлемого компонента успешной предгравидарной подготовки. Стимуляция овуляции связана с повышением таких факторов коагуляции, как фактор V, фибриноген, фактор Виллебранда, повышение маркеров активации коагуляции, фрагментов протромбина 1+2 и Д-димеров, нарушение антикоагулянтной системы, снижение антитромбина и протеина S. При наличии синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ) нарушения свертывающей системы крови носят более выраженный характер [37]. Авторы сообщают, что концентрация Д-димера и комплекса тромбин–антитромбин выше у женщин с СГЯ с неблагоприятным исходом беременности, несмотря на то, что уровень Д-димера положительно связан с уровнем эстрадиола и количеством ооцитов. Последнее говорит о важной роли коагуляции в процессе имплантации. При нормально протекающем цикле ЭКО изменения гематокрита незначительны и эффект гемоконцентрации минимален [37]. Нами было обследовано 45 женщин, имеющих в анамнезе неудачные попытки ЭКО (от одной до восьми). Каждой пациентке было проведено исследование свертывающей системы крови по 12 параметрам, определение фактора Виллебранда, фибронектина, плазмин-

α 2-антиплазминового комплекса, гомоцистеина, агрегации тромбоцитов, содержания Д-димеров. Методом полимеразной цепной реакции с использованием технологии биочипов выявляли тромбофилические мутации. Мультигенная тромбофилия была выявлена у 92,8% обследованных. В 52,1% случаев имелся высокий риск акушерских осложнений, в 46,1% — умеренный риск. Частота выявления мутации фактора V Leiden составила 4,7%, полиморфизм G20210-A в гене протромбина был выявлен в 7,1% случаев. Антифосфолипидный синдром наблюдался у 23,8% женщин, при этом в 90% случаев он сочетался с наследственной тромбофилией. Гипергомоцистеинемия выявлена у 33,3% пациенток. При первичном обращении в 75% случаев было выявлено повышение степени и скорости агрегации тромбоцитов, в 45,4% случаев обнаружен повышенный Д-димер. Всем женщинам проводилась предгравидарная подготовка с учетом выявленных изменений. Перед циклом ЭКО при выявлении гипергомоцистеинемии назначали ангиовит в дозе 2 таблетки в день на протяжении одного месяца, при гиперагрегации тромбоцитов — курантил по 75–225 мг в сутки, при выявлении активации внутрисосудистого свертывания крови (повышение содержания Д-димера) назначали фраксипарин в дозе 0,3–0,6 мл, длительность терапии зависела от динамики показателей гемостаза. Фраксипарин отменялся за сутки до пункции и до переноса эмбриона и возобновлялся через 24 часа после пункции и через 4 суток после переноса. В результате предгравидарной подготовки все женщины к началу ЭКО имели нормальные показатели агрегации тромбоцитов и Д-димера. В результате предгравидарной подготовки и коррекции изменений гемостаза во время цикла ЭКО беременность наступила у 88,4% пациенток с неудачами ЭКО в анамнезе.

Таким образом, у женщин с неудачами ЭКО и с невынашиванием выявлены мультигенная тромбофилия и активация внутрисосудистого свертывания крови, что потребовало прегравидарной подготовки и коррекции системы гемостаза с ранних сроков беременности.

Обследование на наличие наследственной тромбофилии и оценка параметров гемостаза — обязательный компонент обследования женщин с отягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом и беременных с акушерской патологией, поскольку тромбофилия может выступить и как этиологический фактор, и как важное патогенетическое звено различных осложнений беременности. Кроме того, обследование на наследственную тромбофилию должно быть комплексным и включать в себя изучение тромбофилических полиморфизмов генов факторов свертывания, фибринолитической

системы, рецепторов тромбоцитов и ферментов, участвующих в обмене метионина, так как именно мультигенная тромбофилия является фоном для развития осложненного течения беременности. Женщинам с отягощенным анамнезом необходимо проводить исследование свертывающей системы крови при подготовке к беременности и мониторинг коагулограммы на протяжении беременности даже в отсутствие наследственной тромбофилии, так как у этих пациенток часто выявляются признаки активации внутрисосудистого свертывания, требующие адекватной коррекции.

Коррекция нарушений в системе гемостаза у беременных с тромбофилией в период формирования плаценты до завершения инвазии трофобласта необходима для пролонгирования беременности и профилактики таких отдаленных осложнений, как тяжелые формы гестоза, плацентарная недостаточность, задержка внутриутробного развития плода, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты.

Литература

1. Айламазян Э. К., Зайнулина М. С., Петрищев Н. Н. Роль тромбофилии в развитии акушерской патологии // Акуш. и гин. — 2007. — № 5. — С. 38–42.
2. Макацария А. Д., Бицадзе В. О. Тромбофилии и противотромботическая терапия в акушерской практике. — М.: Триада-Х, 2003. — 904с.
3. Тромбофилии и пути совершенствования антитромботической профилактики и терапии при беременности / Баркаган З. С. [и др.] // Сибирский медицинский журнал. — 2004. — № 5. — С. 62–68.
4. A pharmacokinetic study of dalteparin (Fragmin) during late pregnancy / Blomback M. [et al.] // Blood Coag. Fibrinol. — 1998. — Vol. 9. — P. 343–50.
5. Activated protein C resistance (FV:Q506) and pregnancy / Lindqvist P. G. [et al.] // Thromb. Haemost. — 1999. — Vol. 81, N 4. — P. 532–537.
6. Antithrombotic prophylaxis during pregnancy in women with deficiency of natural anticoagulants / Grandone E. [et al.] // Blood Coagul. Fibrinolysis. — 2008. — Vol. 19, N3. — P. 226–230.
7. Attia J., Dudding T., Infante-Rivard C. Addendum to: The association between adverse pregnancy outcomes and maternal factor V Leiden genotype. A meta-analysis // Thromb. Haemost. — 2004. — Vol. 92, N2. — P. 434.
8. Baglin T. P. Low-molecular-weight heparins and new strategies for the treatment of patients with established venous thrombosis. // Haemostasis. — 1996. — Vol. 26, N2. — С. 10–15.
9. Brenner B. Enoxaparin treatment improves the gestational outcome of pregnant women with thrombophilia and recurrent pregnancy loss: The LIVE-ENOX Study // Blood. — 2003. — Vol. 102.
10. Brenner B., Kupferminc M. J. Inherited thrombophilia and poor pregnancy outcome // Best. Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. — 2003. — Vol. 17, N 3. — P. 427–439.

11. Changes in the pharmacokinetics of the low molecular weight heparin enoxaparin sodium during pregnancy / Casele H. L. [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* — 1999. — Vol. 181. — P. 1113–1117.
12. Development of resistance to activated protein C during pregnancy / Cumming A. M. [et al.] // *Br. J. Haematol.* — 1995. — Vol. 90. — P. 725–727.
13. Developmentally regulated gene expression of thrombomodulin in postimplantation mouse embryos / Weiler-Guettler H. [et al.] // *Development.* — 1996. — Vol. 122, N7. — P. 2271–2281.
14. Distribution of endothelial cell protein C/activated protein C receptor (EPCR) during mouse embryo development / Crawley J. T. [et al.] // *Thromb. Haemost.* — 2002. — Vol. 88, N2. — P. 259–266.
15. *Edstrom C. S., Calhoun D. A., Christensen R. D.* Expression of tissue factor pathway inhibitor in human fetal and placental tissues // *Early Hum. Dev.* — 2000. — Vol. 59, N2. — P. 77–84.
16. Efficacy and safety of nadroparin in the treatment of pregnant women with antiphospholipid syndrome: a prospective cohort study / Ruffatti A. [et al.] // *Lupus.* — 2005. — Vol. 14, N2. — P. 120–128.
17. Evaluation of the association between hereditary thrombophilias and recurrent pregnancy loss: a meta-analysis / Kovalevsky G. [et al.] // *Arch. Intern. Med.* — 2004. — Vol. 164, N5. — P. 558–563.
18. Factor V Leiden and acquired activated protein C resistance among 1000 women with recurrent miscarriage / Rai R. [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2001. — Vol. 16, N5. — P. 961–965.
19. Fetal gene defects precipitate platelet-mediated pregnancy failure in factor V Leiden mothers / Sood R. [et al.] // *J. Exp. Med.* — 2007. — Vol. 204, N5. — P. 1049–1056.
20. Fetomaternal cross talk in the placental vascular bed: control of coagulation by trophoblast cells / Sood R. [et al.] // *Blood.* — 2006. — Vol. 107, N8. — P. 3173–3180.
21. Fluctuations in levels of antiphospholipid antibodies and increased coagulation activation markers in normal and heparin-treated antiphospholipid syndrome pregnancies / Donohoe S. [et al.] // *Lupus.* — 2002. — Vol. 11, N1. — P. 11–20.
22. Functional and immunologic protein S levels are decreased during pregnancy / Comp P. C. [et al.] // *Blood.* — 1986. — Vol. 68, N4. — P. 881–885.
23. *Gillis A., Shushan A., Eldor A.* Use of low molecular weight heparin for prophylaxis and treatment of thromboembolism in pregnancy // *Int. J. Gynecol. Obstet.* — 1992. — Vol. 39. — P. 297–301.
24. *Greer I., Hunt B. J.* Low molecular weight heparin in pregnancy: current issues // *Br. J. Haematol.* — 2005. — Vol. 128. — P. 593–601.
25. *Greer I. A.* Low molecular weight heparin for pregnancy complications? // *Thromb. Res.* — 2009. — Vol. 123, suppl. 3. — P. 22–25.
26. *Greer I. A., Nelson-Piercy C.* Low-molecular-weight heparins for thromboprophylaxis and treatment of venous thromboembolism in pregnancy: a systematic review of safety and efficacy // *Blood.* — 2005. — Vol. 106. — P. 401–407.
27. Increase in expression and activity of thrombomodulin in term human syncytiotrophoblast microvilli / Fazel A. [et al.] // *Placenta.* — 1998. — Vol. 19, N4. — P. 261–268.
28. Increased fetal loss in women with heritable thrombophilia / Preston F. E. [et al.] // *Lancet.* — 1996. — Vol. 348, N9032. — P. 913–916.
29. Inherited thrombophilia in women with recurrent miscarriages and pregnancy loss in anamnesis—own experience / Agnieszka S. M. [et al.] // *Ginekol. Pol.* — 2008. — Vol. 79, N9. — C. 630–634.
30. *Keeling D., Davidson S., Watson H.* The Haemostasis and Thrombosis Task Force of the British Committee for Standards in Haematology. The management of heparin-induced thrombocytopenia // *Br. J. Haematol.* — 2006. — Vol. 133. — P. 259.
31. *Kujovich J. L.* Thrombophilia and pregnancy complications // *Am. J. Obstet. Gynecol.* — 2004. — Vol. 191, N2. — P. 412–424.
32. *Kutteh W. H., Triplett D. A.* Thrombophilias and recurrent pregnancy loss // *Semin. Reprod. Med.* — 2006. — Vol. 24, N1. — P. 54–66.
33. Low molecular weight heparin for the treatment of venous thromboembolism in pregnancy: case series / Rodie V. A. [et al.] // *BJOG.* — 2002. — Vol. 109. — P. 1020–1024.
34. Low-molecular weight heparin in patients with recurrent early miscarriages of unknown aetiology / Badawy A. M. [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol.* — 2008. — Vol. 28, N3. — P. 280–284.
35. *Maruyama I., Bell C. E., Majerus P. W.* Thrombomodulin is found on endothelium of arteries, veins, capillaries, and lymphatics, and on syncytiotrophoblast of human placenta // *J. Cell. Biol.* — 1985. — Vol. 101, N2. — P. 363–371.
36. *Monreal M.* Long-term treatment of venous thromboembolism: the place of low molecular weight heparin // *Vessels.* — 1997. — Vol. 3. — P. 18–21.
37. *Nelson S. M.* Prophylaxis of VTE in women — during assisted reproductive techniques. // *Thromb. Res.* — 2009. — Vol. 123, Suppl. 3. — P. 8–15.
38. Out of hospital treatment with subcutaneous low molecular weight heparin in patients with acute deep-vein thrombosis: a prospective study in daily practice / Zidane M. [et al.] // *Haematologica.* — 2006. — Vol. 91, N8. — P. 1052–1058.
39. Pabinger I., Vormittag R. Thrombophilia and pregnancy outcomes // *J. Thromb. Haemost.* — 2005. — Vol. 3, N 8. — P. 1603–1610.
40. Prospective evaluation of the risk conferred by factor V Leiden and thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms in pregnancy / Murphy R. P. [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2000. — Vol. 20, N1. — P. 266–270.
41. Protease nexin 1 is expressed in the human placenta. / White E. A. [et al.] // *Thromb. Haemost.* — 1993. — Vol. 69, N2. — P. 119–123.
42. *Schapkaitz E., Jacobson B. F.* Delayed hypersensitivity to low-molecular-weight heparin (LMWH) in pregnancy // *Afr. Med. J.* — 2007. — Vol. 97, N 12. — P. 1255–1257.
43. *Sood R.* Thrombophilia and fetal loss: Lessons from gene targeting in mice // *Thromb. Res.* — 2009. — Vol. 123, Suppl. 2. — P. 79–84.
44. *Thomson A. J., Walker I. D., Greer I. A.* Low molecular weight heparin for the immediate management of thromboembolic disease in pregnancy // *Lancet.* — 1998. — Vol. 352. — P. 1904.

45. Thrombophilia and pregnancy complications / Brenner B. [et al.] // *Thromb. Haemost.* — 2004. — Vol. 92, N4. — P. 678–681.
46. Thrombophilia in pregnancy: a systematic review. Thrombosis: Risk and Economic Assessment of Thrombophilia Screening (TREATS) Study / Robertson L. [et al.] // *Br. J. Haematol.* — 2006. — Vol. 132, N2. — P. 171–196.
47. Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis / Rey E. [et al.] // *Lancet.* — 2003. — Vol. 361, N 9361. — P. 901–908.
48. Tinzaparin sodium for thrombosis treatment and prevention during pregnancy. / Smith M. P. [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* — 2004. — Vol. 190. — P. 495–501.
49. Use of antithrombotic agents during pregnancy: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and thrombolytic therapy / Bates S. M. [et al.] // *Chest.* — 2004. — Vol. 163. — P. 627–644.
50. Use of heparin in women with early and late miscarriages with and without thrombophilia / Monien S. [et al.] // *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* — 2009. — Vol. 15, N6. — P. 636–644.
51. *Warkentin T. E., Greinacher A.* Heparin-induced thrombocytopenia: recognition, treatment, and prevention; the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy // *Chest.* — 2004. — Vol. 126, suppl. 3. — P. 311–337.
52. *Waterstone M., Bewley S., Wolfe C.* Incidence and predictors of severe obstetric morbidity: case-control study // *BMJ.* — 2001. — Vol. 322. — P. 1089–1093.

Статья представлена О. Н. Аржановой
ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта,
Санкт-Петербург

CURRENT APPROACH TO DIAGNOSIS, MEDICATION AND PROPHYLAXIS OF OBSTETRICAL COMPLICATIONS IN WOMEN WITH THROMBOPHILIA

M. S. Zainulina, A. V. Arutjunyan, E. A. Kornjushina,
A. V. Pustygina, M. I. Mirashvili

■ **Summary:** We examined 106 pregnant patients with thrombophilia and a history of miscarriage and 36 healthy women with normal pregnancy. Our data demonstrated higher frequency of inherited thrombophilia and combined thrombophilic polymorphisms in women with a history of miscarriage compared to healthy women. The use of medication for haemostatic lesions correction in 56 patients with a history of miscarriage during the first trimester allowed to achieve higher frequency of term labor and lower frequency of pregnancy complications.

■ **Key words:** miscarriage; thrombophilia; D-dimer; nadroparin; dipyridamole; EPH gestosis; placental insufficiency; fetal growth retardation.

■ Адреса авторов для переписки

Арутюнян Александр Вартанович — д. б. н., проф. рук. лаборатории биохимии.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.
E-mail: arutjunyan@aa3703.spb.edu

Зайнулина Марина Сабировна — д. м. н., заместитель директора по лечебной и научной работе.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.
E-mail: iagmail@ott.ru

Корнюшина Екатерина Амировна — аспирант.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.
E-mail: iagmail@ott.ru

Пустыгина Антонина Васильевна — научный сотрудник лаборатории перинатальной биохимии.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.
E-mail: apustygina@rambler.ru

Мирашвили Марина Ивановна — клинический ординатор.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.
E-mail: mmirashvili@mail.ru

Arutjunyan Alexandr Vartanovich — Dr. Sci., Head of the department of biochemistry.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS.
199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleevskaya Line, 3.
E-mail: arutjunyan@aa3703.spb.edu

Zainulina Marina Sabirovna — MD, deputy director for medical and scientific work.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS.
199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleevskaya Line, 3.
E-mail: iagmail@ott.ru

Kornjushina Ekaterina Amirovna — post-graduate.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS.
199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleevskaya Line, 3.
E-mail: iagmail@ott.ru

Pustygina Antonina Vasilyevna — research assistant.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS.
199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleevskaya Line, 3.
E-mail: apustygina@rambler.ru

Mirashvili Marina Ivanovna — resident.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS.
199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleevskaya Line, 3.
E-mail: mmirashvili@mail.ru

© Е. И. Тюлькова, Л. А. Ватаева,
М. О. Самойлов, В. А. Отеллин

УРАН Институт физиологии
им. И. П. Павлова РАН,
Санкт-Петербург

МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ РЕАКЦИЙ МОЗГА НА ДЕЙСТВИЕ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ В РАЗЛИЧНЫЕ СРОКИ ПРЕНАТАЛЬНОГО ПЕРИОДА РАЗВИТИЯ У КРЫС

УДК: 618.33-008.922.1-001.83:612.82]-092.9

■ В работе представлен обзор литературы и собственные данные, полученные на крысах линии Вистар, позволившие определить периоды перинатального онтогенеза, в течение которых гипоксия оказывает наиболее значительное влияние на развитие организма. Изучали поведенческие нарушения, внутриклеточные регуляторные механизмы мозга, изменения экспрессии продуктов генов антиоксидантов, системы перекисного окисления липидов; чувствительность глутаматных рецепторов.

■ **Ключевые слова:** пренатальная гипобарическая гипоксия; мозг; поведение; обучение; фосфоинозитиды; кальций; метаболитные глутаматные рецепторы; перекисное окисление липидов; антиоксиданты.

Гипоксия плода является одним из самых часто встречающихся осложнений при беременности и родах. Многие последствия перинатальной гипоксии являются необратимыми, могут проследиваться в течение длительного времени или со значительной задержкой после воздействия. Пренатальная гипоксия оказывает крайне неблагоприятное влияние на физическое, эмоциональное и когнитивное развитие ребенка и может являться причиной возникновения различных нарушений и патологических состояний. Воздействие гипоксии в перинатальном онтогенезе значительно повышает риск возникновения психических и нейродегенеративных заболеваний на более поздних этапах развития [10, 28]. Причины гипоксии плода различны: вредные привычки (курение) и заболевания беременной женщины (анемия, сердечно-сосудистые заболевания, сахарный диабет и т. д.), нарушения плодно-плацентарного потока, заболевания плода (резус-конфликт, инфицирование плода), а также неблагоприятные воздействия окружающей среды [23, 43]. Диагностика и лечение последствий пренатальной гипоксии сопряжены с определенными сложностями, что обусловлено рядом факторов. Прежде всего, можно отметить недостаточное понимание механизмов влияния гипоксии на развивающийся организм. Эта и многие другие проблемы, связанные с действием гипоксии в раннем онтогенезе, требуют особого внимания и являются предметом изучения в специально проводимых экспериментах на животных.

За последние годы появилось немало обзоров, в которых подробно анализируются нарушения нормальной деятельности мозга человека и животных, подвергавшихся действию гипоксии после достижения ими взрослого состояния. Установлено, что в условиях недостатка кислорода первым страдают нейроны, потребность которых в энергетическом обеспечении выше, чем всех других клеток организма. Гипоксическая экспозиция приводит к развитию ацидоза, окислительного стресса, повышению активности возбуждающей глутаматной системы. Наблюдается также активация эндогенных фосфолипаз и распад мембранных фосфолипидов, увеличение текучести мембран и их проницаемости, вследствие чего клетка теряет ионы K^+ и перегружается ионами Na^+ , Ca^{2+} [11, 40, 43]. Следует, однако, отметить, что многие исследователи выступают против прямого переноса данных, полученных при изучении мозга взрослых животных, для объяснения разрушающего влияния гипоксии на развивающийся мозг. Одна из причин заключается в том, что гипоксия опосредует свое влияние на плод через организм матери и плаценту. При остром недостатке кислорода запускается целый каскад эффектов, включающих в себя выброс большого количества стрессовых гормонов в кровь матери и структурно-функциональные изменения в материнской и фетальной частях плаценты. Нельзя не учитывать

также определенных различий в механизмах адаптации к гипоксии у взрослых и незрелых животных. Так, например, известно, что согласно представлениям о норме для взрослых плод в матке находится в условиях глубокой гипоксии. Считается, что плод не страдает от недостатка кислорода потому, что его потребности гораздо ниже, чем у взрослого, а гемоглобин плода обладает более высоким сродством к кислороду. Наряду с этим высказывается предположение, что внутриутробная гипоксия является необходимым условием развития организма [2]. В пользу этого предположения свидетельствуют данные, показавшие, что гипоксия способствует усилению пролиферации и накоплению прогениторных клеток в условиях культуры [36].

Эффекты пренатальной гипоксии не всегда соответствуют степени ее тяжести. Для развития организма первостепенное значение имеют сроки онтогенеза, в которые произошла экспозиция гипоксии. В течение перинатального и раннего постнатального онтогенеза выделяют несколько критических периодов, когда организм становится особенно восприимчивым к неблагоприятным внешним воздействиям [8, 34]. Нарушения, обусловленные действием повреждающих факторов во время раннего онтогенеза, могут приводить к возникновению не только грубых дефектов развития (врожденные аномалии — уродства), но и различных функциональных расстройств в деятельности клеток, органов и систем всего организма. При действии повреждающих факторов в ранние сроки, в период активного органогенеза, может происходить рассасывание плодов или их гибель, увеличение частоты хромосомных aberrаций в клетках тканей организма, а также появление таких пороков развития, как анэнцефалия, ацефалия, анофтальмия, заячья пасть, фокомелия, амелия, атрезия ротового отверстия и др. [2, 14, 12, 19, 49, 55, 57]. Появление функциональных нарушений связывают с более поздними сроками перинатального онтогенеза [2, 16, 9, 5, 18, 19, 49, 55, 25, 41].

В течение ряда лет в двух лабораториях Института физиологии им. И. П. Павлова (лаборатория онтогенеза нервной системы и лаборатория регуляции функций нейронов мозга) интенсивно проводятся исследования по изучению развития потомков крыс, подвергавшихся воздействию гипобарической гипоксии в различные сроки беременности. В этих исследованиях беременных самок линии Вистар подвергали экспозиции тяжелой гипобарической гипоксии (соответствующей подъему на высоту 11 км над уровнем моря) в первой или второй половине периода основного органогенеза или в период раннего гистогенеза. Оценивались ближайшие и отдаленные последствия пренатальной гипоксии.

В течение первых дней жизни не было обнаружено достоверных различий между показателями соматического и сенсомоторного развития потомков крыс, подвергавшихся воздействию тяжелой гипобарической гипоксии трижды в течение 3 часов на 11–13-е (1-я экспериментальная группа), 14–16-е (2-я экспериментальная группа) или 18–20-е (3-я экспериментальная группа) сутки беременности. Это позволило усреднить полученные данные по всем трем экспериментальным группам. Показано, что масса тела экспериментальных крысят на 3-е сутки жизни в среднем была на 20–25% меньше, чем у контрольных животных. Различия в массе сохранялись и в более позднем возрасте. По сравнению с контролем у экспериментальных животных выделение ушных раковин, разделение пальцев, появление шерсти, резцов, сосков у самок и прозрение происходило с отставанием на 1–2 дня. Полученные данные показывают, что соматическое развитие крысят, матери которых подвергались воздействию тяжелой гипобарической гипоксии в различные сроки перинатального онтогенеза, в значительной мере замедлено.

Анализ динамики развития сенсомоторных характеристик, однако, не выявил столь однозначных результатов. Так, характер проявления сгибания (флексии) пальцев передних конечностей и экстензии задних конечностей, формирующихся в первые дни жизни, не отличался от наблюдаемого у контрольных животных. Было показано также, что возрастная динамика выполнения переворачивания на горизонтальной поверхности, выявленная у животных экспериментальной и контрольной групп, практически совпадала. Несколько иные результаты были получены при исследовании поведения крысят в тестах «избегания наклонной плоскости (негативный геотропизм)» и «избегания края (обрыва) плоскости». В тесте «избегания наклонной плоскости (негативный геотропизм)» крысят сажали на наклонную шершавую поверхность головой вниз. Угол наклона плоскости составлял 20°, 30° или 40°. Регистрировали угол и время поворота животных, стремившихся занять нормальное положение головой вверх. У контрольных 3-суточных крысят при наклоне плоскости 20° и 30° угол поворота головы и тела животных в среднем составлял $36,6 \pm 5,6^\circ$. Сходные результаты были получены и при тестировании 3-суточных экспериментальных крысят. При тестировании на плоскости с наклоном 40° показатели у экспериментальных 3-суточных крысят были достоверно ниже, чем у контроля при $p < 0,05$. В возрасте 7 суток различия между контрольными и экспериментальными крысятами в большей степени проявились в тестах, в которых наклон плоскости составлял 20° и 30°. Так, у 7-суточных экспериментальных крысят

угол поворота при 20°, 30° и 40° был соответственно на 43%, 32% и 25% меньше, чем у контрольных животных. Выявить достоверные различия в поведении контрольных и экспериментальных 9-суточных крысят в тесте «избегания наклонной плоскости (негативный геотропизм)» не удалось.

Различий в поведении 3-суточных контрольных и экспериментальных крысят в тесте «избегания края (обрыва) плоскости» обнаружено не было. Контрольные 7-суточные крысята, помещенные на край приподнятой поверхности, разворачивали голову и туловище в среднем на 105,4±11,6°, стремясь занять безопасное положение. Время поворота на 45°, 90° и 180° у них составляло соответственно 25,3±2,3, 41,4±2,7 и 51,1±2,9 с. Экспериментальные 7-суточные крысята в этом тесте в среднем поворачивались на 58,2±6,8° (достоверность различий с контролем при $p < 0,001$), при этом время поворота на 45°, 90° и 180° было следующим — 32,8±1,9, 50,4±2,4 и 57,7±3,0 с. В возрасте 9 суток контрольные крысята поворачивались в среднем на 164,0±10,6°, затрачивая на поворот на 45°, 90° и 180° соответственно 9,0±1,0, 13,0±1,1 и 19,0±1,3 с. У 9-суточных экспериментальных крысят угол поворота составлял 138,0±9,1° (достоверность различий с контролем при $p < 0,05$). При этом экспериментальные 9-суточные крысята поворачивались значительно медленнее, чем контрольные животные того же возраста. Время поворота на 45°, 90° и 180° составляло у них, соответственно, 22,0±2,3, 27,0±2,7 и 40,0±3,8 с (достоверность различий с контролем для всех сравнений при $p < 0,05$).

Таким образом, обусловленные действием гипоксии нарушения сенсомоторных реакций обнаруживаются не сразу после рождения крысят, а лишь на второй неделе жизни. Важно отметить, что нарушения проявляются в увеличении времени реакции. Показано также, что в тесте «избегания края (обрыва) плоскости» признаки дефектов развития, вызванные воздействием гипоксии в различные сроки перинатального онтогенеза, обнаруживаются существенно дольше (более 9 дней), чем в тесте «избегания наклонной плоскости (негативный геотропизм)».

Исследования последних лет представили большое количество доказательств возможности выработки условных рефлексов на запаховые раздражители у незрелорождающихся млекопитающих уже в первые часы и дни жизни [7, 42]. Представляло интерес выяснить, меняется ли в течение первых дней жизни способность к выработке и сохранению этих рефлексов под влиянием пренатальных воздействий тяжелой гипоксии. Были проведены опыты, в которых крысятам (интактным и подвергавшимся воздействию пренатальной гипоксии) в возрасте 7–12

суток предъявлялся обонятельный раздражитель (запах мяты). Известно, что у крысят в течение второй недели жизни формируется условная реакция на присутствующие в гнезде запахи в результате положительного подкрепления, связанного, например, с воздействием таких факторов, как тепло, груминг и кормление крысят самкой, а также контакт с сибсами [39]. В возрасте 13 суток тестировали реакцию крысят на предпочтение запаха мяты. Крысят помещали в обычно используемую для этих целей стандартную плексигласовую камеру с перфорированным полом, разделенным нейтральной полосой шириной 2 см на два отсека. Один — с обычными чистыми опилками под полом, другой — с опилками, смоченными мятным экстрактом. Было показано, что 13-суточные контрольные крысята в основном отличались индифферентной реакцией на запах мяты — они проводили в отсеке с запахом мяты в среднем 47,7% времени тестирования. Присутствие в жилой клетке запаха мяты в течение второй недели жизни привело к изменению у 13-суточных интактных (не подвергавшихся воздействию пренатальной гипоксии) крысят исходно индифферентной реакции на него на положительную. В этой группе время нахождения в отсеке с запахом мяты составляло в среднем 64,9%, что достоверно отличалось от контроля при $p < 0,001$. Крысята, подвергавшиеся воздействию гипоксии, на 14–16-е и 18–20-е сутки гестации, так же как и контрольные крысята, проявляли индифферентную реакцию на предъявляемый им запах мяты. Важно также отметить, что воздействие тяжелой пренатальной гипоксии было связано с нарушениями способности к обучению в течение второй недели жизни в равной мере, как у самцов, так и у самок.

Несколько иные результаты были получены при исследовании влияния пренатальной гипоксии на обучение взрослых самок и самцов крыс. Было изучено влияние тяжелой гипоксии, перенесенной самками в различные сроки беременности, на способность их 1,5-месячного потомства к обучению на примере выработки и воспроизведения условнорефлекторной реакции пассивного избегания (УРПИ) и навыка пространственного распознавания в водном лабиринте Морриса. Опыты по формированию УРПИ поставлены на животных, рожденных интактными самками и самками, подвергавшимися воздействию тяжелой гипоксии на 11–13-е, 14–16-е или 18–20-е сутки беременности. УРПИ вырабатывали в установке, состоящей из двух камер — большой (50×50 см) освещенной и маленькой темной (15×15 см) с электрифицированным решетчатым полом. К концу трехдневного периода привыкания, предшествовавшего обучению, у животных всех экспериментальных групп время, проведенное в темной камере, было практически одинаково и со-

ставляло в среднем у самцов $159,3 \pm 9,7$ с, а у самок $166,3 \pm 2,3$ с. На 4-й экспериментальный день животных помещали в темную камеру и воздействовали на них током. Тестирование на следующий день показало, что у самцов всех опытных групп время пребывания в темной камере достоверно сократилось. Важно также отметить, что по этому показателю достоверных различий между самцами различных групп выявлено не было — в контрольной группе и группе самцов, подвергшихся воздействию гипоксии на 11–13-е, 14–16-е и 18–20-е сутки гестации, время пребывания в темной камере в среднем снизилось на 30–35%. При выработке УРПИ у самок, в отличие от самцов, были выявлены межгрупповые различия. При тестировании УРПИ самки, подвергшиеся гипоксии на 14–16-е сутки гестации, обнаружили лучшие показатели обучения, чем контрольные крысы и животные других экспериментальных групп. После воздействия током время пребывания в темной камере у них снизилось в среднем на 71%, а у контрольных — на 43% ($p < 0,01$).

Напротив, у самок, подвергавшихся гипоксии на 11–13-е и 18–20-е сутки гестации, эти показатели были достоверно хуже, чем у контрольных. Более того, самки, подвергавшиеся воздействию гипоксии на 18–20-е сутки гестации, практически не обнаруживали признаков обучения при тестировании их на следующий день после воздействия током. В группе самок, испытавших воздействие гипоксии на 13-е сутки, время пребывания в темной камере снизилось в среднем на 27% по сравнению с фоном. Сопоставление данных, полученных на самцах и самках, выявило также, что самки после воздействия гипоксии на 16-е сутки гестации по показателям обучения достоверно превосходили самцов, подвергавшихся указанному воздействию в те же сроки ($p < 0,01$).

Одна из задач проводимых нами исследований состояла в изучении влияния гипоксии, перенесенной самками в различные сроки беременности, на способность их 3-месячного потомства к формированию навыка пространственного распознавания в водном лабиринте Морриса. Для выяснения роли гипотермии как фактора влияющего на способность к обучению данного навыка животными контрольных и экспериментальных групп, их тестирование осуществлялось в условиях двух температурных режимов — при низкой и относительно высокой, «комфортной» температуре воды. Лабиринт представлял собой бассейн диаметром 2 м и глубиной 0,7 м. В воде, заполнявшей бассейн, разводили мел, в результате чего она теряла прозрачность. Ежедневно в течение 4 дней проводилось четырехкратное (с интервалом в 60 с) тестирование крыс. При тестировании животные последовательно в определенном порядке помещались в один из четырех секторов лабиринта. При этом местопо-

ложение скрытой под водой платформы (диаметр 15 см) оставалось постоянным. Оно менялось лишь при переходе от тестирования одного животного к другому. Если крыса, помещенная в лабиринт, в течение 60 с не находила платформу, ее принудительно помещали на нее. Время пребывания на платформе составляло 20 с. В первой серии экспериментов (эксперимент 1) лабиринт заполнялся водой, температура которой составляла $23\text{--}24^\circ\text{C}$, во второй (эксперимент 2) — $16\text{--}17^\circ\text{C}$. Опыты поставлены на самцах и самках белых крыс линии Вистар в возрасте от 90 до 95 суток. Животные были рождены интактными самками и самками, подвергавшимися воздействию гипоксии на 11–13-е, 14–16-е или 18–20-е сутки беременности. Гипоксию создавали, помещая беременных самок в барокамеру проточного типа, в которой в течение 3 часов поддерживали давление $160\text{--}180$ мм рт. ст., соответствующее подъему на высоту 11 000 м. Крысят отлучали от кормившей их самки в возрасте 30 дней. В течение всего периода проведения экспериментов крыс содержали при режиме свет/темнота 12:12 ч, при температуре $21\text{--}22^\circ\text{C}$ и при постоянном доступе к воде и пище.

Эксперимент 1. При тестировании контрольных и экспериментальных крыс в лабиринте Морриса при температуре воды $23\text{--}24^\circ\text{C}$ были получены следующие результаты. Во всех группах время, затрачиваемое животными на поиск и локализацию платформы, от опыта к опыту заметно сокращается. В контрольной группе этот показатель в первый день тестирования в среднем составлял $56 \pm 6,0$ с, в последний день тестирования — $14,2 \pm 2,0$ с. У самцов, подвергавшихся гипоксии на 11–13-й сутки гестации, динамика этого показателя на протяжении всех опытных дней практически не отличается от контроля. Напротив, у самцов, испытавших действие гипоксии на 14–16-й сутки гестации, сокращение латентного периода достижения платформы происходило значительно медленнее, чем у контрольных. Самцы этой группы в течение 2-го, 3-го и 4-го дней тестирования затрачивали на поиски платформы в среднем на 12–23 с больше, чем контрольные самцы. Самцы, подвергавшиеся воздействию гипоксии на 18–20-е сутки гестации, характеризовались повышенным по отношению к контролю латентным периодом лишь на 4-й, последний день тестирования. В отличие от самцов, у самок при тестировании их при температуре воды $23\text{--}24^\circ\text{C}$ достоверных различий в величине латентных периодов, определенных для животных контрольной и трех экспериментальных групп в первые 4 дня тестирования, выявлено не было.

Эксперимент 2. При проведении данной серии экспериментов также было обнаружено практически полное совпадение динамики латентного периода достижения платформы в группе контрольных и экспериментальных самцов, испытавших воздей-

ствие гипоксии на 11–13-е сутки гестации. У самцов, испытавших воздействие гипоксии на 14–16-е сутки гестации, латентный период на 2-й, 3-й и 4-й дни тестирования была достоверно ниже, чем у контроля (в среднем на 8–14 с). У самцов, подвергшихся воздействию гипоксии на 18–20-е сутки гестации, сниженный по отношению к контролю латентный период был выявлен лишь на 2-й день тестирования (в среднем разница составляла 20 с). В этой серии экспериментов, также как и в первой, у самок, воздействию гипоксии в различные сроки гестации, латентный период достижения платформы достоверно не отличался от такового у контрольных животных. Таким образом, показано, что при обучении крыс в водном лабиринте Морриса долгосрочные последствия пренатальной гипоксии обнаруживаются лишь у самцов. Выявляемые изменения зависят от срока воздействия гипоксии. В этих опытах была обнаружена еще одна важная особенность: направленность вызываемых пренатальной гипоксией изменений характера обучения по-разному проявляется в зависимости от условий тестирования. В более жестких условиях (в наших опытах при температуре воды 16–17°C) пренатальное гипоксическое воздействие проявляется в улучшении показателей обучения, в более комфортных условиях (при температуре воды 23–24°C) — в ухудшении.

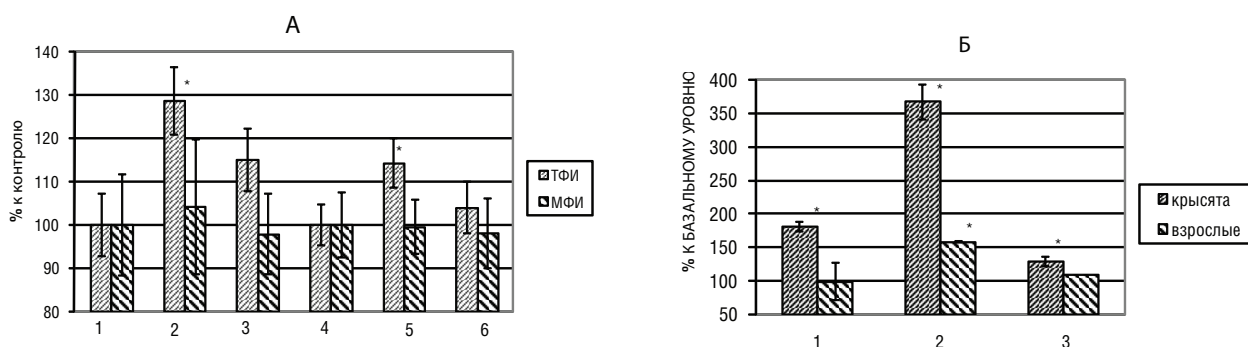
Результаты проведенного исследования подтвердили клинические наблюдения, что основным проявлением пренатальной гипоксии является задержка роста и развития. Нами было установлено, что данный эффект пренатальной гипоксии не зависит от сроков ее воздействия. Наряду с этим нами были получены данные, свидетельствующие о том, что отдаленные последствия гипоксии у крыс более выражены, если ее воздействие приходится на возрастной интервал, включающий период позднего органогенеза и период гистогенеза. Показано также, что общая направленность изменений в поведении носит различный характер, в зависимости от того, когда осуществлялось воздействие гипоксии — в первой или во второй половине последней недели перинатального периода развития.

Наблюдаемые нами нарушения функционального развития, несомненно, являются следствием перестроек, вызванных действием пренатальной гипобарической гипоксии на молекулярно-клеточном уровне. Большой интерес представляют данные о вовлечении процессов внутриклеточной сигнальной трансдукции в механизмы реакций, индуцируемых пренатальным воздействием тяжелой гипобарической гипоксии. Сведения по указанным вопросам малочисленны, что побудило нас к проведению исследований в этом направлении с использованием комплекса молекулярно-клеточных и биохимических методик.

Известно, что одно из ключевых мест в регуляции многих сторон деятельности нервных клеток принадлежит фосфоинозитидной и кальциевой регуляторным системам [1, 11]. В период развития эти системы играют важную роль в процессах, определяющих пролиферацию, миграцию и дифференцировку клеток мозга [24, 31]. Результаты ранее выполненных нами исследований, а также данные литературы свидетельствуют, что в опосредовании эффектов гипоксии на мозг важная роль принадлежит внутриклеточным регуляторным системам [11, 29]. Показано, в частности, что одним из последствий воздействия гипоксии являются стойкие модификации фосфоинозитидной системы, которая, как известно, участвует в регуляции метаболизма и функциональной активности нервных клеток [33, 47, 48].

Нами было проведено изучение уровня содержания полифосфоинозитидов (ПФИ) (фосфатидилинозитол-5-фосфатов и фосфатидил-4,5-дифосфатов) в коре головного мозга крыс в возрасте 15 и 90 суток, а также динамики фосфоинозитидного ответа, сопряженного с глутаматергической сигнальной трансдукцией в мозге потомков крыс, перенесших воздействие гипоксии в различные сроки беременности.

Тяжелая гипоксия, предъявляемая на 14–16-е сутки гестации, приводит к повышению уровня содержания ПФИ в мозге 15-суточных крысят, который сохраняется повышенным и у взрослых (90-суточных) животных (рис. 1, А). Эти результаты подтверждают представление об активации в этот период ПФИ-зависимых процессов миелинизации, пролиферации и дифференцировки клеток мозга [35, 54]. Тяжелая гипоксия, перенесенная крысами на 18–20-е сутки гестации, увеличивает содержание ПФИ мозга только в первые недели после рождения. Эти результаты согласуются с данными, полученными нами в поведенческих экспериментах с обучением потомков крыс, перенесших гипоксию в период гестации [9]. Было показано, что при обучении в водном лабиринте Морриса наиболее выраженные изменения выявлены при обучении самцов крыс, матери которых подвергались воздействию гипоксии именно на 14–16-е сутки беременности. Отмеченные различия в характере обучения определяются условиями опыта. В «жестких» стрессовых условиях (при температуре воды в лабиринте 16–17°C) воздействие гипоксии в период гестации приводит к улучшению показателей обучения относительно контроля, а в более благоприятных условиях (при температуре воды 23–24°C) — к ухудшению. Как показали наши ранние исследования на переживающих срезах мозга, перенесших краткосрочную аноксию и последующую реоксигенацию, повы-



А	Кон. 15-сут.	15-сут.		Кон. взр.	Взрослые		
		14-16	18-20		14-16	18-20	сутки гестации
ТФИ	100	128,6	115	100	114,3	104	
МФИ	100	104,1	97,9	100	99,5	98	
	7,2	7,86	7,15	4,7	5,72	6	
	11,6	15,5	9,42	7,5	6,3	8	
Б		г+глу	г+глу.				
	к+глу	14-16 сут.	18-20 сут.				
крысята	181	367	129				
взрослые	99	158	110				
	7,7	25,5	6,8				
	27,7	0,6	9,5				

Рис. 1. А: Изменения уровня содержания ТФИ (фосфатидилинозитол-4,5-дифосфатов) и МФИ (фосфатидилинозитидов) в коре головного мозга 15- и 90-суточных крыс, перенесших тяжелую гипобарическую гипоксию на 14–16-е и 18–20-е сутки пренатального онтогенеза.

1. 15-суточные крысы, контроль (n=8)
 2. 15-суточные крысы, гипоксия на 14–16-е сутки гестации (n=8)
 3. 15-суточные крысы, гипоксия на 18–20-е сутки гестации (n=8)
 4. 90-суточные крысы, контроль (n=12)
 5. 90-суточные крысы, гипоксия на 14–16-е сутки гестации (n=12)
 6. 90-суточные крысы, гипоксия на 18–20-е сутки гестации (n=12)
- * — достоверные отличия от контроля (p<0,05)

Б. Изменение уровня инозитфосфатов в переживающих срезах мозга крыс в ответ на аппликацию глутамата (50 мкМ) на переживающие срезы мозга крыс.

1. Контрольные животные (n=8)
2. Животные, подвергавшиеся действию пренатальной гипобарической гипоксии на 14–16-е сутки пренатального онтогенеза (n=8);
3. Животные, подвергавшиеся воздействию пренатальной гипоксии на 18–20-е сутки пренатального онтогенеза (n=8).

Мелкая штриховка — 15-суточные крысята.

Крупная штриховка — 90-суточные взрослые крысы.

* — достоверные отличия от контроля (p<0,05).

шение метаболизма ПФИ связано с повышением толерантности мозга к дальнейшим тяжелым гипоксическим воздействиям [1, 15]. Согласно современным представлениям, нарушения метаболизма ПФИ могут приводить к различным нейродегенеративным заболеваниям, в т. ч. синдрому Дауна, болезни Альцгеймера [27, 43, 53], причем увеличение внутриклеточного уровня ПФИ, ингибирующего токсическое действие амилоидного пептида Аβ42, может быть использовано для лечения этих болезней [46].

Известно, что у неонатальных и ювенильных крыс отмечается повышенный уровень метабо-

лизма фосфоинозитидов мозга по сравнению со взрослыми животными [37]. Показано также, что глутаматергическая сигнальная трансдукция опосредуется через гидролиз фосфоинозитидов только в неонатальном периоде [24, 31, 52]. В позднем постнатальном периоде у взрослых животных связь внутриклеточной глутаматергической сигнальной системы с гидролизом фосфоинозитидов в норме не выявляется. Вместе с тем при предъявлении различных видов адаптивных воздействий у них проявляется фосфоинозитидный ответ при активации глутаматергической сигнальной трансдукции [31, 52, 50]. Таким образом, наличие фос-

фоинозитидного ответа на аппликацию глутамата может служить показателем функциональной зрелости фосфоинозитидной регуляторной системы и способности мозга к адаптации к повреждающим воздействиям.

Аппликация глутамата на переживающие срезы обонятельной коры мозга у 15-суточных крысят контрольной группы вызывает значительный фосфоинозитидный ответ в отличие от срезов взрослых животных (рис. 1, Б). Тяжелая гипоксия, предъявляемая на 14–16-е сутки гестации, приводит к значительному увеличению амплитуды фосфоинозитидного ответа на действие глутамата в срезах мозга 15-суточных крысят. При этом фосфоинозитидный ответ на действие глутамата наблюдался и у взрослых животных, перенесших тяжелую гипоксию на 14–16-е сутки гестации. В то же время после воздействия гипоксии на 18–20-е сутки гестации в коре крысят в возрасте 15 суток постнатальной жизни фосфоинозитидный ответ на глутамат ниже, чем в контрольной группе (уровень инозитфосфатов незначительно превышает базальный), а у взрослых крыс он не отличается от контроля (рис. 1, Б). Ранее сходная сенситизация ПФИ системы была выявлена нами в экспериментах с предъявлением гипоксического прекодиционирования, повышающего толерантность зрелого мозг к последующему повреждающему гипоксическому воздействию [1, 15]. Оптимальная активация внутриклеточных регуляторных систем (в том числе кальциевой и фосфоинозитидной) является первым звеном адаптивных реакций нейронов мозга, которая с одной стороны вызывает кратковременные нейропротективные эффекты, связанные с поддержанием клеточного гомеостаза в условиях повреждающих воздействий, а с другой — запускает геном-зависимые реакции, обеспечивающие долговременную толерантность мозга к повреждающим воздействиям [11].

Как известно, глутамат вызывает гидролиз ПФИ в клетках мозга в результате активации метаболитных глутаматных рецепторов I группы (ImGluR), конститутивная активность которых формируется в пренатальном периоде [24, 31, 50]. Можно предположить, что эти рецепторы вовлечены в формирование и/или постнатальное поддержание нарушений, вызываемых пренатальной гипоксией. В совместных исследованиях с Д. Г. Семеновым было проведено изучение последствий влияния пренатальной гипоксии на функциональное состояние полифосфоинозитидной и кальциевой регуляторных систем крыс двух возрастных групп, путем оценки Ca^{2+} сигнализации, опосредуемой возбуждением ImGluR в переживающих срезах обонятельной коры мозга [3].

Обнаружено, что в срезах мозга контрольных 15- и 90-суточных крыс парная аппликация DHPG

вызывает различные смещения уровня Са-с (Ca^{2+} -ответы). В срезах 15-суточных крысят первая аппликация агониста вызывала малое, но достоверное стойкое снижение уровня Са-с, а повторная аппликация — его повышение, превосходящее исходное значение (рис. 2, А (а)). В срезах 90-суточных животных оба Ca^{2+} -ответа были негативными (рис. 2, Б (а)).

У двух таких же возрастных групп животных, подвергнутых пренатальной тяжелой гипоксии на 14–16-е сутки гестации, Ca^{2+} -ответы различались между собой и отличались от соответствующих реакций срезов контрольных животных. У экспериментальных 15-суточных крысят в отличие от их контрольных сверстников оба ответа были позитивными (рис. 2, А (б)), а с возрастом в начале каждого из них проявлялся кратковременный негативный компонент (рис. 2, Б (б)). Таким образом было отмечено, что Ca^{2+} -ответы на DHPG представлены очевидно сосуществующими и противоположно направленными сдвигами (снижение и повышение уровня Са-с). Последствия пренатальной гипоксии проявляются в преобладании тенденции связывания Ca^{2+} , однако с возрастом и у контрольных и экспериментальных животных сильнее проявляется тенденция к высвобождению Ca^{2+} .

Обсуждая возможные причины разнообразия Ca^{2+} -ответов в срезах 4-х исследованных нами групп животных, необходимо напомнить, что концентрация внутриклеточного Ca^{2+} в нейронах является гомеостатическим параметром и в физиологических условиях трансмембранный кальциевый обмен регулируется несколькими механизмами. Известно, что специфическая стимуляция ImGluR инициирует различные сигнальные пути, в том числе два основных PLC-зависимых процесса: IP3-опосредованное высвобождение Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулума и DG/ПКС-опосредованная потенциация Ca^{2+} -проводящей функции ионотропных глутаматных рецепторов [26, 30, 56]. Оба эти пути могут влиять на уровень цитозольного Ca^{2+} в «постсинаптическом» нейроне различным образом. На нейронах стриатума, гиппокампа и коры обнаружена mGluR5-индуцированная потенциация как NMDA, так, видимо, и AMPA рецепторов, которая вызывает усиление входа Ca^{2+} [44, 26, 32]. Вместе с тем, IP3-опосредованный путь снижает содержание Са-с, но повышает уровень ионизированного Ca^{2+} в цитозоле, создавая условия для Ca^{2+} -зависимого торможения активности NMDA каналов [51].

Очевидно в зарегистрированные нами негативные смещения Са-с в ответ на парную аппликацию DHPG (в контроле — первичный ответ у 15 дневных и оба ответа у 90 дневных животных, а в эксперименте — начальные фазы обоих ответов у

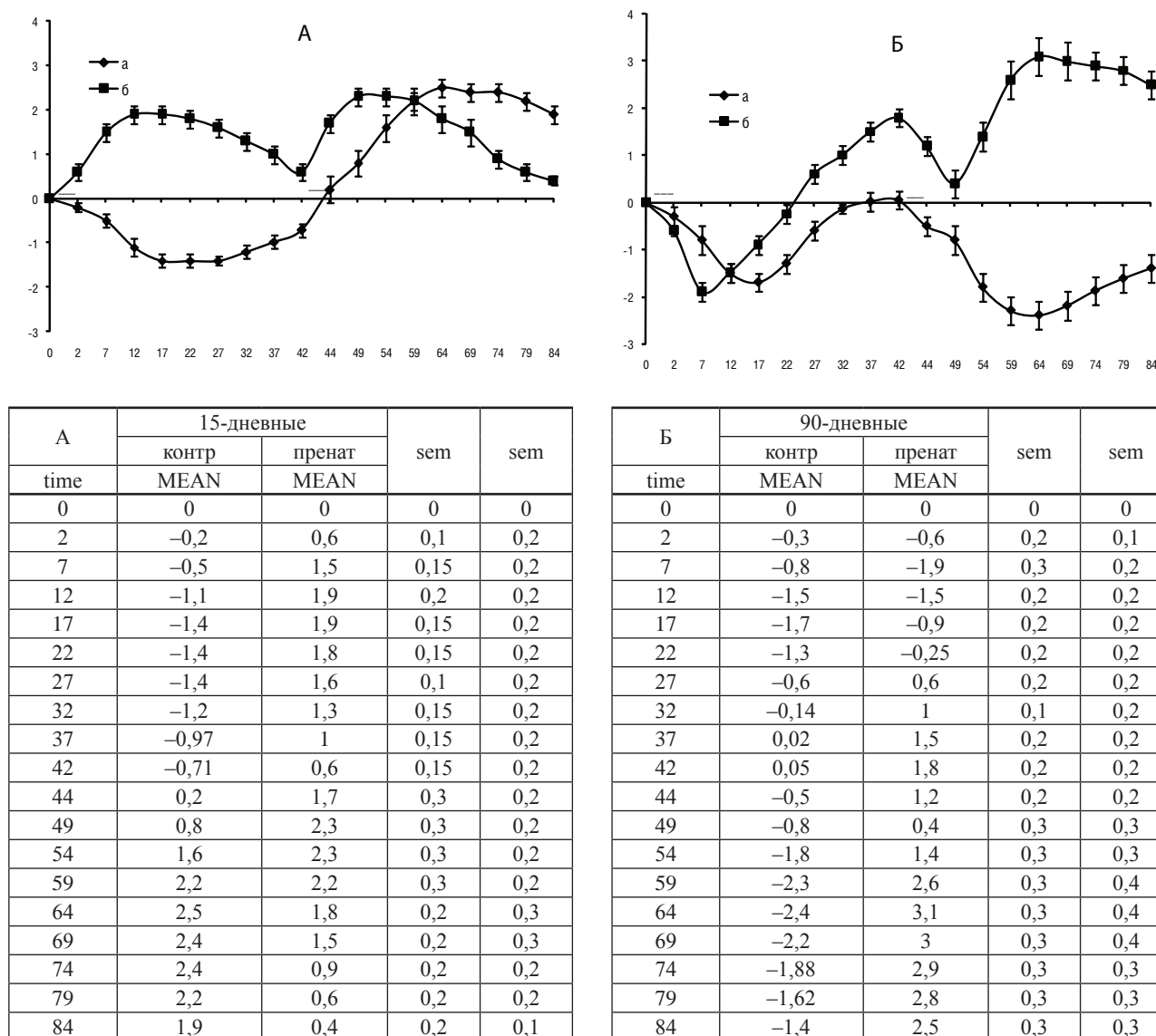


Рис. 1. А. Кальциевые ответы на двукратную аппликацию DHPG (0–2 мин и 42–44 мин, 100 мкМ) в срезах 15-дневных крыс; контрольных (1) и подвергнутых пренатальной гипобарической гипоксии на 14–16-е сутки гестации (2).
 Б. Кальциевые ответы на двукратную аппликацию DHPG (0–2 мин и 42–44 мин, 100 мкМ) в срезах 90-дневных крыс; контрольных (1) и подвергнутых пренатальной гипобарической гипоксии на 14–16-е сутки гестации (2).
 Представлена динамика средних значений для каждого измерения (с 5-мин интервалом) +/- стандартная ошибка среднего.

взрослых животных) отражают преобладание IP3-опосредованного сигнального пути, приводящего к высвобождению Ca^{2+} из эндоплазматического ретикула. Позитивные Ca^{2+} — ответы (вторичный ответ у контрольных 15-суточных животных и все ответы экспериментальных животных), указывают на преобладание DG-ПКС-опосредованного сигнального пути, характеризующего позитивную модуляцию ионотропных глутаматных рецепторов со стороны ImGluR и приводящей ко входу экстраклеточного Ca^{2+} с последующим его связыванием буферными системами.

Таким образом результирующий эффект стимуляции ImGluRs на Ca^{2+} обмен очевидно опреде-

ляется интерференцией двух основных конститутивных сигнальных путей этих рецепторов. Отмеченные нами возрастные особенности Ca^{2+} — ответов ImGluRs и их длительная трансформация под влиянием пренатальной гипоксии, очевидно могут зависеть от множества факторов. Выяснение конкретных мишеней пренатальной гипоксии в кальциевой и фосфоинозитидной регуляторных системах и динамика развития вызываемых ею модификаций в сигнальных путях является предметом дальнейших исследований.

Модификация кальциевой и фосфоинозитидных систем возможно является следствием повреждения клеточных мембран, индуцированных гипоксией.

Причиной повреждения клеточных мембран является оксидативный стресс. Свободно радикальные процессы обуславливают развитие патологических процессов в клетках, однако, при определенных условиях, они способны инициировать эволюционно сложившиеся и генетически детерминированные мобилизующие механизмы приспособительных реакций нервных клеток, направленные на повышение их устойчивости к повреждающему действию неблагоприятных факторов среды.

Особое значение при этом приобретает баланс про- и антиоксидантных систем, наилучшим образом находящий своё отражение в интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), которые могут служить маркером изменений в функциональном состоянии клеток ткани, а так же состояния пластичности их мембран [38]. Изменение уровня ПОЛ характерно для многих физиологических реакций. Вместе с тем, выраженные нарушения активности системы ПОЛ вовлекаются в механизмы постстрессорных и нейродегенеративных патологий [17, 21]. В контексте полученных нами ранее данных возникла необходимость оценить интенсивность окислительных процессов в структурах мозга крыс, перенесших гипоксию в период перинатального онтогенеза. Об активности процессов перекисного окисления судили по содержанию в тканях мозга диеновых и триеновых конъюгатов, продуктов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБКАП) и оснований Шиффа. Степень окисленности мембран оценивали по коэффициенту Клейна. Определяли уровень ПОЛ в коре и гиппокампе у крыс следующих групп: 1) у интактных 14-суточных и взрослых самцов крыс; 2) у 14-суточных самцов крыс, подвергавшихся воздействию тяжелой гипоксии на 14–16-е и 18–20-е сутки перинатального развития.

Анализ собственных результатов и данных других авторов [6] показал, что процессы ПОЛ у интактных 14-суточных крыс протекают более интенсивно, чем у интактных взрослых животных. Различия в уровне ПОЛ в мозге крыс этих двух возрастных групп в наибольшей степени проявились при определении ТБКАП. Было установлено, что уровень вторичных продуктов ПОЛ в неокортексе в 4 раза, а в гиппокампе в 7 раз выше у 14-суточных крыс по сравнению с таковым у взрослых животных.

У 14-суточных крыс, подвергавшихся воздействию гипоксии на 14–16-е или на 17–19-е сутки перинатального развития, уровень вторичных продуктов ПОЛ в гиппокампе был выше контрольных значений соответственно на 25% ($p < 0,05$) и 35,5% ($p < 0,05$). У животных этих двух экспериментальных групп изменения в уровне ПОЛ в неокортексе были менее выражены.

Таким образом, процесс активации перекисного окисления липидов интенсивно вовлекается в индуцируемые тяжелой пренатальной гипобарической гипоксией механизмы структурно-функциональных перестроек чувствительных образований мозга.

При возникновении гипоксии важную роль в адаптации нейронов мозга к недостатку кислорода играет соотношение активностей про- и антиоксидантных системы. Было проведено исследование влияния пренатальной гипоксии на уровень экспрессии тиоредоксина-1 (Тгх-1) в нейронах различных областей гиппокампа у крыс в ранние и в более поздние сроки постнатального онтогенеза [20].

В гиппокампе крысят, перенесших гипоксию в перинатальном периоде (14–16-е сутки), исследовали уровень экспрессии антиоксидантного белка тиоредоксина-1 на 3-и и 14-е сутки после рождения, а также по достижению ими взрослого возраста (80–90-е сутки после рождения). Иммунореактивность к тиоредоксину-1 оценивалась по двум критериям: общему количеству иммунореактивных к тиоредоксину-1 нейронов и числу интенсивно экспрессирующих его нейронов.

Наибольшие изменения экспрессии тиоредоксина 1 наблюдаются в области СА1 гиппокампа. Во всех исследованных возрастных группах воздействие пренатальной гипоксии привело к существенному достоверному снижению иммунореактивных к Тгх-1 нейронов (74, 79 и 76% по сравнению с контролем соответственно у 3-, 14- и 90-суточных крыс ($p < 0,05$)). В областях СА2 и СА3 у 3-суточных животных наблюдалась тенденция к снижению числа иммунореактивных к Тгх-1 клеток (89 и 84% соответственно, по сравнению с контролем), с повышением их уровня к 14-м суткам (115 и 127% соответственно) и некоторому снижению у взрослых животных (на 10–15%). При этом не наблюдалось изменений экспрессии тиоредоксина 1 по сравнению с контролем в зубчатой извилине, формирование которой происходит в более поздние сроки [34].

Таким образом, пренатальная гипоксия неодинаково влияет на экспрессию тиоредоксина-1 в нейронах разных областей гиппокампа. У крыс, переживших гипоксию в пренатальном периоде, в области СА1 гиппокампа экспрессия тиоредоксина 1 достоверно снижается уже в первые дни после рождения. Предполагается, что тиоредоксин, индуцируемый при окислительном стрессе в период перехода с преимущественно анаэробного на аэробный тип обмена, может играть важную роль в регулировании различных процессов, связанных с жизнедеятельностью клеток мозга. Результаты наших исследований показывают, что в столь важ-

ный для развития организма критический период у животных, перенесших пренатальную гипоксию, уровень антиоксидантной защиты мозга может быть снижен. В нейронах области СА1 гиппокампа снижение экспрессии тиоредоксина 1 носит долговременный характер, что может являться одним из факторов, детерминирующих выживаемость нейронов этой области при предъявлении экстремальных воздействий [13] как на ранних, так и на поздних стадиях постнатального онтогенеза. Ранее нами было показано, что к 24 часам после прекодиционирующей умеренной гипобарической гипоксии, повышающей толерантность зрелого мозга к действию последующей тяжелой гипоксии, экспрессия тиоредоксина 1 достоверно снижена во всех областях гиппокампа [4].

Несколько иначе реагировали на пренатальную гипоксию нейроны СА2 и СА3. В этих областях было обнаружено снижение экспрессии тиоредоксина-1 сразу после рождения и ее повышение на 14-е сутки. Можно предположить, что повышенный уровень экспрессии тиоредоксина-1 в период интенсивного роста организма является проявлением компенсаторных реакций, действие которых может быть выявлено лишь в отдельных структурах мозга крыс. Компенсаторные изменения сопровождаются формированием особого соотношения между про- и антиоксидантными системами в мозге животных, подвергавшихся воздействию пренатальной гипоксии.

Таким образом, выявлены механизмы участия внутриклеточной сигнальной системы (кальциевой и фосфоинозитидной), глутаматергической сигнальной трансдукции, про- и антиоксидантных систем в формировании реакций мозга на воздействие тяжелой гипобарической гипоксии на различных этапах перинатального онтогенеза крысы. Последствия пренатальной гипоксии, проявляющиеся в соответствующих изменениях функциональной активности сигнальных систем, обнаруживаются уже на самых ранних стадиях постнатального развития и сохраняются во взрослом состоянии. Вызываемая действием гипоксии модификация активности молекулярно-клеточных процессов сопровождается изменениями в формировании поведения и способности к обучению. Причем эти изменения могут носить как патологический, так и адаптивный характер. Уровень активности фосфоинозитидной внутриклеточной регуляторной системы, а также соотношение про- и антиоксидантных систем в мозге крыс, перенесших пренатальную гипоксию на 14–16-е сутки гестации, соответствуют их состоянию после действия умеренной прекодиционирующей гипоксии у взрослых животных, являющейся протектирующей к действиям различным патологическим воздействиям.

Полученные в ходе работы данные представляют существенный интерес для раскрытия механизмов приспособления развивающегося организма к неблагоприятным воздействиям, а также для разработки путей повышения общей резистентности организма.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 08-04-00655, 10-04-00234.

Литература

1. Адаптивные эффекты гипоксического прекодиционирования нейронов мозга / Самойлов М. О. [и др.] // Российский физиологический журнал. — 2001. — Т. 87. — С. 714–729.
2. *Аршавский И. А.* Физиологические механизмы и закономерности индивидуального развития. — М.: Наука, 1982. — 270 с.
3. Влияние пренатальной гипобарической гипоксии на активность внутриклеточных регуляторных систем мозга крыс / Тюлькова Е. И [и др.] // Гипоксическое, ишемическое прекодиционирование мозга: сб. тр. Российско-Польского симпозиума в рамках дней Польской науки в России. — СПб., 2008. — С. 97–101.
4. Влияние умеренной гипобарической гипоксии на уровень экспрессии тиоредоксина-1 в гиппокампе крыс / Строев С. А. [и др.] // Морфология. — 2008. — № 1. — С. 20–24.
5. *Дубровская Н. М., Журавин И. А.* Онтогенетические особенности поведения крыс, перенесших гипоксию на 14-е или 18-е сутки эмбриогенеза // Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова. — 2008. — Т. 58, № 6. — С. 718–727.
6. Изменения перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы головного мозга крыс в ходе раннего постнатального онтогенеза / Галкина О. В. [и др.] // Нейрохимия. — 2009. — Т. 26, № 2. — С. 111–116.
7. *Кассиль В. Г., Гулина Л. К.* Изменения сигнального значения запаховых раздражителей при сочетании их с отрицательными воздействиями на организм у щенков раннего возраста // Физиологический журнал. — 1987. — Т. 73, № 2. — С. 246–253
8. Критические периоды развития головного мозга / Кассиль В. Г. [и др.] // Российский физиологический журнал. — 2000. — Т. 86, № 11. — С. 1129–1136.
9. Обучение в водном лабиринте Морриса самок и самцов крыс, подвергавшихся действию гипоксии в различные сроки пренатального периода развития / Ватаева Е. И. [и др.] // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. — 2005. — Т. 41. — С. 532–535.
10. *Пальчик А. Б., Шабалов Н. П.* Гипоксически-ишемическая энцефалопатия новорожденных. — СПб.: ПИТЕР, 2001. — 224 с.
11. *Самойлов М. О.* Мозг и адаптация (молекулярно-клеточные механизмы). — СПб., 1999. — 271 с.
12. *Светлов П. Г.* Некоторые закономерности в онтогенезе и их отношение к проблеме охраны антенатального периода жизни // Вестник АМН. — 1966. — № 6. — С. 26–34.

13. Строев С. А., Самойлов М. О. Эндогенные антиоксиданты и гипоксическая толерантность мозга. — СПб., 2006. — 145 с.
14. Трансгенерационные эффекты антенатальной острой гипоксии периода раннего органогенеза / Дунаева Т. Ю. [и др.] // БЭБМ. — 2008. — Т. 146, № 10. — С. 364–366.
15. Тюлькова Е. И., Семенов Д. Г., Самойлов М. О. Участие кальциевой и фосфоинозитидной систем внутриклеточной регуляции в адаптации нейронов срезов мозга к гипоксии *in vitro* // БЭБМ. — 1998. — Т. 125. — С. 259–263.
16. Условнорефлекторная реакция пассивного избегания у самок и самцов крыс, подвергшихся воздействию гипоксии в различные сроки пренатального периода развития / Ватаева Л. А. [и др.] // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. — 2004. — Т. 40, № 3. — С. 250–253.
17. Флеров М. А., Герасимова И. А. Перекисное окисление липидов некоторых отделов головного мозга в развитии постстрессорных депрессивных состояний у крыс с разной стратегией адаптивного поведения // Нейрохимия. — 2006. — Т. 23. — С. 307–312.
18. Формирование структурной и ультраструктурной организации стриатума в постнатальном онтогенезе крыс при изменении условий их эмбрионального развития / Журавин И. А. [и др.] // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. — 2007. — Т. 43. — С. 194–203.
19. Хожай Л. И. Клеточные и тканевые реакции развивающегося головного мозга млекопитающих на воздействие неблагоприятных факторов среды: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — М., 2008
20. 3-time pre-natal (14–16 days) hypoxia modifies the expression of thioredoxin-1 in neurons of CA1, CA2 and CA3 hippocampal areas of rats in postnatal ontogenesis / Stroev S. A. [et al.] // Journal of Neurochemistry. — 2009. — Vol. 110, Suppl. 1. — P. 25. — (4th ESN Conference on Advances in Molecular Mechanisms of Neurological Disorders: abstract of report, July 11–14, 2009, Leipzig, Germany.)
21. Adibhatla R. M., Hatcher J. F. Role of Lipids in Brain Injury and Diseases // Future Lipidol. — 2007. — Vol. 2, № 4. — P. 403–422.
22. Agonist-independent activity of metabotropic glutamate receptors by the intracellular protein Homer / Ango F [et al.] // Nature. — 2001. — Vol. 411. — P. 962–965.
23. Arbeille Ph., Maulik D., Laurini R. Fetal Hypoxia. — N. Y., 1999. — 145 p.
24. Balduini W., Candura S. M., Costa L. G. Regional development of carbachol-, glutamate-, norepinephrine-, and serotonin-stimulated phosphoinositide metabolism in rat brain // Brain Res. Dev. Brain Res. — 1991. — Vol. 62. — P. 115–120.
25. Behavioral alteration in the adult rats prenatally exposed to para-chlorophenylalanine / Vataeva L. A. [et al.] // Brain Res. — 2007. — Vol. 1169. — P. 9–16.
26. Benquet P., Gee C., Gerber U. Two distinct signaling pathways up-regulate NMDA receptor responses via two distinct metabotropic glutamate receptor subtypes // J. Neurosci. — 2002. — Vol. 22. — P. 9679–9686.
27. Berridge M. J., Downes C. P., Hanley M. R. Neural and developmental actions of lithium: a unifying hypothesis // Cell. — 1989. — Vol. 59. — P. 411–419
28. Boksa P. Animal models of obstetric complications in relation to schizophrenia // Brain Res. Rev. — 2004. — Vol. 45. — P. 1–17.
29. Chen J., Simon R. Ischemic tolerance in the brain // Neurology. — 1997. — Vol. 48. — P. 306–311.
30. Conn P., Pin J. Pharmacology and function of metabotropic glutamate receptors // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. — 1997. — Vol. 37. — P. 205–237.
31. Costa L. G. Signal transduction mechanisms in developmental neurotoxicity: the phosphoinositide pathway // Neurotoxicology. — 1994. — Vol. 15. — P. 19–27.
32. Co-stimulation of mGluR5 and N-methyl-D-aspartate receptors is required for potentiation of excitatory synaptic transmission in hippocampal neurons / Kotecha S. [et al.] // J. Biol. Chem. — 2003. — Vol. 278. — P. 27742–27749.
33. Eichberg J., Dawson R. M. C. Phosphoinositides in myelin // Biochem. J. — 1965. — Vol. 96. — P. 644–650.
34. Golan H., Huleihel M. The effect of prenatal hypoxia on brain development^ short- and long-term consequences demonstrated in rodent models // Developmental Sci. — 2006. — Vol. 9. — P. 338–349.
35. Gonzales M. L., Anderson R. A. Nuclear phosphoinositide kinases and inositol phospholipids // J. of Cellular Biochemistry. — 2006. — Vol. 97. — P. 252–260.
36. Hypoxia-driven proliferation of embryonic neural stem / progenitor cells — role of hypoxia-inducible transcription factor-1a / Zhao T. [et al.] // FEBS Journal. — 2008. Vol. 275. — P. 1824–1834
37. In vitro aluminum inhibition of brain phosphoinositide metabolism: comparison of neonatal and adult rats / Mundy W. R. [et al.] // Neurotoxicology. — 1995. — Vol. 16. — P. 35–44.
38. Kishida K. T., Klann E. Sources and targets of reactive oxygen species in synaptic plasticity and memory // Antioxid. Redox Signal. — 2007. — Vol. 9. — P. 233–244.
39. Leon M., Moltz H. Maternal pheromone: discrimination by preweanling albino rats // Physiol. Behav. — 1971. — Vol. 7, N 2. — P. 265–267.
40. Lipton P. Ischemic cell death in brain neurons // Physiol. Rev. — 1999. — Vol. 79. — P. 1431–1568.
41. Maternal para-chlorophenylalanine exposure modifies central monoamines and behaviors in the adult offspring / Vataeva L. A. [et al.] // Brain Res. — 2008. — Vol. 1234. — P. 1–7.
42. McCollum J. F., Woo C. C., Leon M. Granule and mitral cell densities are unchanged following early olfactory preference training // Dev. Brain Res. — 1997. — Vol. 99, N 1. — P. 118–120.
43. McCrea H. J., De Camilli P. Mutations in phosphoinositide metabolizing enzymes and human disease // Physiology. — 2009. — Vol. 24, N 1. — P. 8–16.
44. Metabotropic glutamate receptors modify ionotropic glutamate responses in neocortical pyramidal cells and interneurons / Bandrowski A. [et al.] // Exp. Brain Res. — 2001. — Vol. 136. — P. 25–40.
45. Nyakas C., Buwalda B., Luiten P. D. M. Hypoxia and brain development // Progr. Neurobiol. — 1996. — Vol. 49, N 1. — P. 1–51.

46. Oligomeric amyloid-beta peptide disrupts phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate metabolism / Berman D. E. [et al.] // *Nat. Neurosci.* — 2008. — Vol. 11. — P. 547–554.
47. O'Neill C. Phosphatidylinositol 3-kinase signaling in mammalian preimplantation embryo development // *Reproduction.* — 2008. — Vol. 136. — P. 147–156.
48. O'Neill C. The potential roles for embryotrophic ligands in preimplantation embryo development // *Hum. Reprod. Update.* — 2008. — Vol. 14. — P. 275–288.
49. Petry C. J., Hales C. N. Long-term effects on offspring of intrauterine exposure to deficits in nutrition // *Hum. Reprod. Update.* — 2000. — Vol. 6. — P. 578–586.
50. Rhodes P. G., Cai Z. Intrauterine hypoxia-ischemia reduces phosphoinositide hydrolysis stimulated by metabotropic glutamate receptor agonists in cultured rat cerebellar granule cells // *Brain Res. Dev. Brain Res.* — 1996. — Vol. 93. — P. 129–135.
51. Rosenmund C., Feltz A., Westbrook G. L. Synaptic NMDA receptor channels have a low open probability // *J. Neurosci.* — 1995. — Vol. 5. — P. 2788–2795.
52. Stimulatory effects of the putative metabotropic glutamate receptor antagonist L-AP3 on phosphoinositide turnover in neonatal rat cerebral cortex / Mistry R. [et al.] // *British Journal of Pharmacology.* — 1996. — Vol. 117. — P. 1309–1317.
53. Synaptojanin 1-linked phosphoinositide dyshomeostasis and cognitive deficits in mouse model of Down's syndrome / Voronov S. V. [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2008. — Vol. 105. — P. 9415–9420.
54. Tamiya-Koizumi K. Nuclear lipid metabolism and signaling // *J. Biochem.* — 2002. — Vol. 132. — P. 13–22.
55. Thalhammer O. Pränatale Erkrankungen // *Ann. paediatr.* — 1953. — Bd. 181, N5. — S. 257–276.
56. Valenti O., Conn P., Marino M. Distinct physiological roles of the Gq-coupled metabotropic glutamate receptors coexpression in the same neuronal populations // *J. Cell Physiol.* — 2002. — Vol. 191. — P. 125–137.
57. Winick M. Cellular growth during early malnutrition // *Pediatrics.* — 1971. — Vol. 47. — P. 969–978.

Статья представлена Э. К. Айламазяном,
ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта,
Санкт-Петербург

THE MECHANISMS OF HYPOBARIC HYPOXIA-INDUCED ALTERATION IN BRAIN DEVELOPMENT. INFLUENCE OF GESTATIONAL AGE AT EXPOSURE

E. I. Tiul'kova, L. A. Vataeva, M. O. Samoïlov,
V. A. Otellin

■ **Summary:** The authors' own data obtained in Wistar rats are introduced to determine the windows of fetal rat brain vulnerability to hypoxia when most prominent effects of prenatal hypoxia on the development of organism are produced. The phenomenon is discussed at multiple levels including behavior, an involvement of intracellular regulatory systems, the changes in antioxidant expression and lipid peroxidation, as well as modifications of glutamate receptors affinity.

■ **Key words:** prenatal hypobaric hypoxia; brain; behavior; learning; phosphoinositides; calcium; metabotropic glutamate receptors; lipid peroxidation; antioxidants.

■ Адреса авторов для переписки

Тюлькова Екатерина Иосифовна — к. б. н., ст. научный сотрудник лаборатории регуляции функций нейронов мозга.

УРАН Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН.

199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6.

E-mail: anoxia@pavlov.infran.ru

Ватаева Людмила Анатольевна — с. н. с., д. б. н., ведущий научный сотрудник лаборатории онтогенеза нервной системы.

УРАН Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН.

199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6.

E-mail: vataeva@yandex.ru

Самойлов Михаил Олегович — профессор, д. м. н., зам. директора, заведующий лабораторией регуляции функций нейронов мозга

УРАН Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН.

199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6.

E-mail: mos@kolt.infran.ru

Отеллин Владимир Александрович — д. м. н., чл.-корр. РАМН, проф., засл. деят. науки РФ, заведующий лабораторией онтогенеза нервной системы.

УРАН Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН.

199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6.

E-mail: otellin@infran.ru

Tiul'kova Ekaterina Iosiphovna — Ph.D., Senior Researcher

of Laboratory of Regulation of Function of Brain Neurons.

Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences.

Nab. Makarova, 6, St. Petersburg 199034, Russia.

E-mail: anoxia@pavlov.infran.ru

Vataeva Ludmila Anatolievna — Biol.Sci.D., Senior Researcher of Laboratory of Ontogenesis of the Nervous System.

Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences.

Nab. Makarova, 6, St. Petersburg 199034, Russia.

E-mail: vataeva@yandex.ru

Samoïlov Mikhail Olegovich — Med.Sci.D., Professor, Deputy Head

of Pavlov Institute of Physiology, Head of Laboratory of Regulation

of Function of Brain Neurons.

Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences.

Nab. Makarova, 6, St. Petersburg 199034, Russia.

E-mail: mos@kolt.infran.ru

Otellin Vladimir Aleksandrovich — Med.Sci.D., Member -

correspondent of Russian Academies of Medical Sciences, Professor,

Deserved Personality of Russian Federation, Head of Laboratory of

Ontogenesis of the Nervous System.

Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences.

Nab. Makarova, 6, St. Petersburg 199034, Russia.

E-mail: otellin@infran.ru

© В. Г. Ребекевша

Санкт-Петербургский государственный университет

ОЦЕНКА МАРКЕРОВ ПРОЛИФЕРАЦИИ В АДЕНОМАХ ГИПОФИЗА У ЖЕНЩИН С НАРУШЕНИЕМ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ

УДК: 616.432-006.55:618.1

■ Настоящая статья представляет собой обзор литературы о клинико-морфологических особенностях и эффективности хирургического лечения аденом гипофиза (пролактином и соматотропином). Изучение морфологических характеристик аденом может помочь в прогнозе хирургического лечения с точки зрения возникновения рецидива.

■ **Ключевые слова:** пролактинома; соматотропинома; клеточная пролиферация; нарушения репродуктивной функции.

Аденомы гипофиза (АГ), составляющие 9–19% всех первичных опухолей головного мозга [17, 27], представляют собой опухоль эндокринной системы, проявлением которой служит гипер- или гипосекреция гормонов передней доли гипофиза, а также клинические симптомы, вызванные воздействием новообразования на окружающие sellarную область анатомические структуры [7]. Известно, что с наличием в гипофизе новообразования (аденомы) могут быть непосредственно связаны и нарушения состояния репродуктивной системы. Так, наиболее частым симптомом заболевания у женщин с АГ могут стать галакторея, нарушение менструального цикла, эндокринное бесплодие, гирсутизм, доброкачественные опухоли миометрия. Пролактиномы являются частой причиной галактореи и аменореи. Одним из методов лечения пролактином является хирургический метод. Восстановление полноценного овуляторного цикла в послеоперационном периоде является важнейшим критерием эффективности лечения. Однако специфика дальнейшего клинического поведения опухоли, возможность восстановления репродуктивной функции у женщин после хирургического удаления АГ изучена недостаточно. Представляется важным расширение исследований по прогнозированию результата хирургического лечения с использованием различных молекулярно-биологических маркеров [4, 19].

В настоящее время для изучения патоморфологических особенностей АГ применяют несколько методов: световую микроскопию, гистохимический метод, электронную микроскопию, иммуногистохимический метод, метод клеточных культур, гибридизация *in situ* [52].

Соматотропиномы образованы солидными скоплениями крупных клеток — соматотропоцитов, подразделяющихся на два варианта плотно- и редкогранулированные. Опухоли, состоящие из редкогранулированных соматотропоцитов называются «хромофобными аденомами» [7] и более агрессивны и инвазивны в отличие от плотногранулированных аденом [12, 24]. Оба варианта встречаются с одинаковой частотой. Иммуногистохимически в них выявляется позитивная реакция на гормон роста [11, 24]. Следует отметить, что плотногранулированные аденомы высоко дифференцированы [6, 7].

Аденома, в клетках которой обнаруживаются секреторные гранулы как соматотропного гормона, так и пролактина — маммосоматотропинома составляет примерно 2% всех АГ. Чаще, в 5% случаев, встречается соматопролактинома, состоящая из 2 клеточных типов — одни клетки продуцируют пролактин, другие — соматотропный гормон [24].

Пролактиномы морфологически построены из однородных овальных или полигональных клеток с большими ядрами и хорошо заметными ядрышками, содержащих пролактин [55]. Редкогранулированные аденомы являются самой частой (до 30%) опухолью аденогипофиза. Клетки аденомы чаще являют-

ся хромофобными, реже — слабоацидофильными [7]. Плотнo-гранулированные пролактиномы — высокодифференцированные ацидофильные опухоли. Часто в ткани пролактином, в отличие от аденом других типов, выявляют микрокальцинаты, а также кисты, кровоизлияния и фиброз.

Так как оперативному лечению подвергаются лишь больные с признаками аденомы, морфологические данные о неопухолевых формах незначительны. Изолированная гиперплазия лактотрофов, как первопричина гиперпролактинемии, встречается редко; обычно наблюдается ее сочетание с онкоцитомой больших размеров, сдавливающей ножку гипофиза (синдром изолированного гипофиза), он может обнаруживаться и в случае других АГ, при повреждении ножки гипофиза, наличии супраселлярных опухолей [47].

Как известно, клинические признаки АГ складываются у больных из хиазмального и нейроэндокринного синдромов [18, 26]. Клиническая картина может быть представлена только эндокринными нарушениями до тех пор, пока опухоль не выходит за пределы турецкого седла, то есть остается эндоселлярной. Присоединение хиазмального синдрома происходит в результате воздействия образования на медиальные волокна хиазмы по мере выхода растущей аденомы за пределы турецкого седла [8, 9, 38].

Наиболее ранним симптомом опухоли гипофиза, независимо от ее гистологического типа, могут быть расстройства менструального цикла. В случае интраселлярного роста соматотропиномы может происходить сдавление гонадотрофов, и как его следствие, возникновение недостатка секреции гонадотропных гормонов, с развитием гипогонадизма. В результате этого отмечаются нарушения менструального цикла вплоть до аменореи и бесплодия. Так же при соматотропном гипофизе нередко выявляются фиброзно-кистозная мастопатия, фибромиома матки, поликистоз яичников. При этом нередко имеет место гипертрофия вульвы и клитора, гипертрофия матки и увеличение размеров обоих яичников [2]. С помощью тестов функциональной диагностики выявляется ановуляция. Лакторея, нарушения менструального цикла, как следствие избытка пролактина, наблюдаются в 30–90% случаев [15].

По данным литературы, у больных с аденомой, сопровождающейся клиникой акромегалии, может быть несколько вариантов происхождения гиперпролактинемии. В случае супраселлярного роста опухоли происходит сдавление ножки гипофиза. В результате нарушается влияние дофамина (гипоталамического ингибиторного фактора) на секрецию пролактина, и как следствие

возникает гиперпролактинемия. У пациенток с СТГ/ПРЛ-позитивными аденомами чаще встречаются нарушения менструального цикла и гиперпролактинемия по сравнению с женщинами с СТГ-позитивными аденомами [6]. У женщин с гиперпролактинемией возможно отсутствие лактореи при низком уровне эстрогенов, недостаточном для начала процесса лактации. Лакторея у женщин с нормальным содержанием пролактина в крови, возможно, определяется пролактиноподобным действием гормона роста.

Как правило, врачом, к которому впервые обращаются больные с пролактиномой, является гинеколог, поскольку бесплодие и/или нарушения менструального цикла, варьирующее от опсоолигоменореи до аменореи (чаще вторичной) является основной причиной обращения этих женщин к специалисту [63]. Первичная аменорея наблюдается редко. Около 20% пациенток отмечают нерегулярность менструаций с момента менархе, время наступления которого у многих больных запаздывает (14–15 лет). Бесплодие как первичное, так и вторичное, является одной из основных жалоб, и его устранение представляется основной целью лечения для многих женщин. Большинство пациенток отмечает снижение либидо, фригидность, отсутствие оргазма, сухость во влагалище. Некоторые женщины прослеживают отчетливую связь сексуальных расстройств и заболевания — пролактиномы гипофиза (согласно литературным данным рецепторы пролактина обнаружены в вентромедиальном ядре гипоталамуса, отвечающем за сексуальное поведение) [59, 68]. Лишь у 20% больных галакторея бывает первым симптомом, и довольно редко основной жалобой, т. к. необходимость ее коррекции отступает для большинства больных на второй план по сравнению с нарушением менструального цикла и бесплодием. Степень выраженности галактореи варьирует от спонтанной и обильной до единичных капель при сильном надавливании [3].

В то же время, поскольку на фоне длительной гиперэстрогении в молочной железе происходит замещение железистой ткани жировой, женщины могут отмечать уменьшение галактореи по мере прогрессирования заболевания. Стойкая или транзиторная гиперсекреция пролактина блокирует циклическое выделение гонадолиберина, что, в свою очередь, приводит к снижению цикличности выделения ЛГ, ФСГ, гормональной недостаточности яичников, ановуляции, гипоестрогении.

В настоящее время существенно расширился арсенал методов лечебного воздействия при АГ, включающих в себя применение лучевых, медикаментозных и хирургических способов.

Лечение гиперпролактинемии состоит в нормализации концентрации пролактина, восстановлении репродуктивной функции, уменьшении массы опухоли, достижении стабилизации роста аденомы или ее удалении, устранении эндокринных и сосудистых нарушений [21, 66]. Хирургическое лечение показано при резистентности к медикаментозной терапии либо ее непереносимости. В экстренных случаях — при апоплексии гипофиза, ликворее, угрозе развития слепоты вследствие экстраселлярного распространения пролактиномы, также отдают предпочтение нейрохирургическому вмешательству.

Лечение СТГ-продуцирующих аденом должно быть комплексным и проводиться с учетом размеров опухоли гипофиза и фазы активности заболевания. Главные цели лечения — это ликвидация источника избыточной продукции СТГ, устранение клинических симптомов заболевания, нормализация секреции СТГ и ИРФ-1 [16]. Основными методами лечения СТГ-продуцирующих аденом в настоящее время являются хирургический (в большинстве случаев трансфеноидальная и очень редко — транскраниальная аденомэктомия), медикаментозный и лучевой.

К показаниям для оперативного вмешательства при АГ относятся, прежде всего, наличие опухоли, признаки ее активного роста, появление нарушений зрения и других неврологических дефектов, а также эндокринных синдромов, которые не поддаются медикаментозному лечению. Как известно для удаления АГ применяют трансназально-трансфеноидальный и транскраниальный доступы [5, 12, 46, 48]. Внедрение эндоскопических технологий в трансфеноидальную хирургию опухолей хиазмально-селлярной области позволило решить основную проблему трансназальной микроскопической нейрохирургии — отсутствие широкого панорамного обзора операционного поля [29, 65].

На исход оперативного вмешательства влияет совокупность факторов, в частности: практический опыт и навыки хирурга, продолжительность заболевания, уровень технического оснащения, интраоперационный гормональный мониторинг, МРТ-контроль, размеры и инвазивный характер опухоли, а также степень пролиферативной активности аденоматозных клеток [16].

Для оценки эффективности и радикальности операций необходимо использовать контрольную МРТ или РКТ, которую желательно делать спустя 2 месяца после операции. При гормонально-активных аденомах кроме этого необходимо использовать данные о динамике гормональных показателей [10]. Изучение ре-

зультатов лучевых методов исследования (краниографии КТ и МРТ) и сопоставление их с данными гормональных методов позволяет правильно выбрать рациональную тактику дальнейшего ведения больных. Однако необходимо отметить, что специфика дальнейшего клинического поведения опухоли, в том числе и возможность восстановления репродуктивной функции у женщин после хирургического удаления АГ изучена недостаточно.

В среднем клиничко-лабораторная ремиссия в случае хирургического лечения АГ достигается по результатам разных авторов от 53 до 90% [40, 62]. От 8 до 91% колеблется частота ремиссий после хирургического удаления пролактином, при этом в случае лечения интраселлярных микроаденом зафиксировано наибольшее количество ремиссий (91% ремиссий) [71]. Наилучшие результаты в отношении восстановления репродуктивной функции (от 63% до 84% ремиссий) получены при удалении микропролактином с помощью малоинвазивной эндоскопической микрохирургической техники [23, 25].

Частота онкологических ремиссий варьирует от 50 до 60% в отдаленном периоде [50]. Стойкая ремиссия заболевания обусловлена, как правило, своевременной диагностикой и адекватным лечением, благодаря чему больные сохраняют трудоспособность в течение многих лет. Частота улучшения зрения после операций варьирует от 66 до 80% [32]. Смертность при различных вариантах опухолей наблюдается от 0 до 1,6% при трансфеноидальном [33, 36] и от 1,8 до 25% при транскраниальном удалении [9]. Частота развивающихся осложнений составляет от 0 до 22,6% [36]. По имеющимся данным можно судить, что рецидивы — отмечаются обычно в 13–25% случаев, но, по данным некоторых авторов, могут составлять 47% [9, 30]. Рецидивы микро — и макропролактином после хирургического вмешательства возникают в 2,5–17,3% случаев, продолженный рост наблюдается в 2,9–39,1% случаев [22, 23, 42, 67].

Рецидивы АГ возникают либо при заведомо неполном удалении опухоли, либо в случае инфильтрации опухолевыми клетками прилежащих органов или тканей. Необходимо различать такие категории, как рецидивы опухоли после ее радикального удаления; продолженный рост после частичного удаления; стабильное состояние после частичного удаления. Для суждения о рецидиве аденомы требуется обязательное подтверждение полного ее удаления в близкие после операции сроки с помощью компьютерной томографии (КТ) или магнитно-резонансной томографии (МРТ).

Однако на сегодняшний день вопрос о связи морфологических данных удаленных опухолей с дальнейшим рецидивом остается невыясненным до конца. И в случае хирургического лечения и морфологического исследования биоптата, заключение — «хромофобная аденома гипофиза» является недостаточным. Необходимо оценить митотическую активность опухоли и иммуногистохимически верифицировать тип гормона, который она продуцирует, а также другие морфологические характеристики, чтобы более обоснованно судить о прогнозе и принимать решение о комбинированном лечении.

Выявить больных с высокой вероятностью раннего рецидива позволяет исследование показателей экспрессии молекулярно-биологических маркеров в опухолях [34, 64]. При этом одними из наиболее важных биологических характеристик опухоли в прогнозе болезни считается оценка потенциала ее пролиферативной активности, инвазивной способности [41].

Известно, что уровень экспрессии антигена Ki-67 тесно связан с биологически агрессивным поведением опухоли [10]. Антитела к Ki-67 применяют для оценки пролиферативной активности многих новообразований: злокачественных лимфом, опухолей молочной, предстательной, поджелудочной желез, легких, гипофиза, толстой кишки [13, 14, 19, 28, 31, 49, 56]. Обнаружена связь между значениями индекса Ki-67 и степенью гистологической дифференцировки опухоли, и клиническим прогнозом при опухолях нервной системы.

Однако необходимо отметить, что данные литературы о возможности прогнозирования отдаленного послеоперационного результата с помощью определения Ki-67 противоречивы. Так, по мнению некоторых авторов, прогноз у отдельных пациентов по этим показателям может быть ошибочным [45, 60, 61]. В то же время М. Buchfelder наряду с другими исследователями указывает на то, что имеется явное различие в пролиферативном потенциале инвазивных и неинвазивных аденом с помощью иммуногистохимического определения Ki-67 [7, 39, 53, 58, 72]. Рядом авторов выявлена прямая достоверная корреляция между индексом Ki-67 и величиной опухоли, степенью ее дифференцировки, дефектом полей зрения и возникновением рецидивов [39, 43, 51, 57].

Присутствие Ki-67 на всех активных фазах митотического цикла, исчезновение при переходе в период покоя и отсутствие во время репарации ДНК позволяет рекомендовать данный белок в качестве универсального маркера пролиферации для оценки активности роста злокачественных новообразований [44, 73]. Темп роста опухолевой

массы представляет очень важную информацию для определения ее агрессивности.

Индекс пролиферативной активности рассчитывается по отношению числа опухолевых Ki-67-позитивных клеток к общему их количеству [37]. В мировой литературе имеются указания на достаточно высокую прогностическую ценность показателя пролиферативной активности опухоли с индексом мечения Ki-67 > 3% для определения вероятности рецидива опухолевой системы [1, 35, 54]. Индекс Ki-67 у пациентов с пролактиномами либо соматотропиномами, пролеченных в предоперационном периоде соответственно аналогами соматостатина или агонистами дофамина был ниже по сравнению с пациентами не получавшими лечение [57, 69, 70]. Наиболее часто гистологические признаки злокачественности (ядерный атипизм, высокий митотический индекс) при повторной операции встречались при пролактиномах, реже при соматотропиномах и неактивных аденомах [20].

Представляется важным расширение исследований различных молекулярно-биологических маркеров по прогнозированию лечебного результата. Анализ современных данных литературы позволяет сделать заключение о том, что для изучения морфо-функциональных особенностей и послеоперационного прогноза рецидива гормонально-активных АГ возможно оценивать экспрессию маркера опухолевой прогрессии (Ki-67) в АГ. Представляется актуальным изучение прогностической ценности клинкоморфологических особенностей пролактином и соматотропином и маркеров пролиферации в ткани опухоли с точки зрения восстановления репродуктивной функции в послеоперационном периоде.

Таким образом проведение дальнейших исследований в этом направлении является актуальным, так как знание поведения опухоли является необходимым для своевременного назначения лечения, направленного на предупреждение развития рецидива заболевания.

Литература

1. Аденомы гипофиза: клиника, диагностика, лечение / Кадашева. Б. А. [и др.]; ред. Б. А. Кадашев. — М., 2007. — 368 с.
2. Гилязутдинов И. А., Хасанов Р. Ш. Опухоли гормонально-зависимых и гормонопродуцирующих органов. — М.: МЕДпресс-информ, 2004. — 464 с.
3. Гинекология от пубертата до постменопаузы: практическое руководство для врачей / Айламазян Э. К. [и др.]. — М.: МЕДпресс-информ, 2004. — 448 с.
4. Горбань Н. А., Тен В. П., Панкратов В. А. Экспрессия антигена Ki-67 и белка p53 как показателей агрессивности

- течения плоскоклеточного рака гортани // Вопросы онкологии. — 2007. — Т. 53, № 6. — С. 668–673.
5. Гормональные и морфологические особенности аденом гипофиза при акромегалии / Грачева И. А. [и др.] // Проблемы эндокринологии. — 2002. — Т. 48, № 5. — С. 7–10.
 6. *Гофман В. Р.* О тактике хирургии опухолей турецкого седла. — СПб., 1995. — 168с.
 7. *Грачева И. А., Юшков П. В., Марова Е. И.* Клинико-морфологические характеристики гормонально-активных аденом гипофиза // Проблемы эндокринологии. — 2002. — Т. 48, № 5. — С. 50–55.
 8. *Григорьева Н. Н., Серова Н. К.* Динамика зрительных функций у больных с аденомой гипофиза: результаты трансназально-транссфеноидального удаления опухоли // Вестник офтальмологии. — 2006. — Т. 122, № 3. — С. 19–22.
 9. *Кадашев Б. А.* Показания к различным методам лечения аденом гипофиза: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1992.
 10. *Кадашев Б. А.* Эндокринные нарушения до и после пересечения стебля гипофиза у больных с опухолями хиазмально-селлярной области // Актуальные проблемы нейроэндокринологии: материалы науч. конф. — М., 2003. — С. 272–273.
 11. *Касумова С. Ю., Барабанов В. М., Снигирева Р. Я.* Иммуно-морфологическая и ультраструктурная характеристика аденом гипофиза у больных с пролактинемией // Проблемы эндокринологии. — 1982. — Т. 28, № 2. — С. 28–32.
 12. *Касумова С. Ю.* Функциональная морфология аденом гипофиза: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1985.
 13. *Коган Е. А., Узрюмов Д. А.* Соотношение процессов пролиферации и клеточной гибели в немелкоклеточном раке легкого с железистой дифференцировкой на разных стадиях опухолевой прогрессии // Архив патологии. — 2002. — № 1. — С. 33–37.
 14. *Коршунов А. Г., Шишкина Л. В., Голанов А. В.* Проллиферативные маркеры в менингиомах: иммуногистохимическое исследование и анализ прогностической значимости // Архив патологии. — 2002. — № 1. — С. 29–33.
 15. *Молитвословова Н. Н.* Акромегалия: патология, клиника, диагностика, дифференциальная диагностика и лечение. — М., 1998.
 16. *Молитвословова Н. Н.* Роль аналогов соматостатина в лечении акромегалии // Русский медицинский журнал. — 2005. — № 6. — С. 316–320.
 17. Офтальмологические симптомы у больных с гигантскими аденомами гипофиза / Улитин А. Ю. [и др.] // Вестник офтальмологии. — 2007. — № 3. — С. 36–42.
 18. *Пацко Я. В., Шемаев М. И., Рашиева Н. Г.* Аденомы гипофиза с инвазивным ростом // Журн. вопр. нейрохирургии им. Бурденко. — 1989. — № 5. — С. 16–18.
 19. *Пожарисский К. М., Леенман Е. Е.* Значение иммуногистохимических методик для определения характера лечения и прогноза опухолевых заболеваний // Архив патологии. — 2000. — № 5. — С. 3–11.
 20. Рецидивирующие аденомы гипофиза / Георгиев Ч. Н. [и др.] // Проблемы эндокринологии. — 1987. — № 6. — С. 28–32.
 21. Руководство по клинической эндокринологии / Старкова Н. Т. [и др.]. — СПб., 2002. — С. 88–101.
 22. *Самотокин Б. А., Хилько В. А.* Опухоли гипофиза и хиазмально-селлярной области. — Л.: Медицина, 1985. — 304 с.
 23. *Серпуховитин С. Ю.* Гормонально-активные микроаденомы гипофиза (патогенез, клиника, диагностика, лечение): автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1995.
 24. *Тапар К., Ковач К., Хорват Е.* Классификация, патология и функциональная морфология аденом гипофиза // Архив патологии. — 1997. — Т. 59, № 3. — С. 7–17.
 25. Трансназосфеноидальная микрохирургия аденом гипофиза / Трунин Ю. К. [и др.] // Вопр. нейрохирургии. — 1989. — № 5. — С. 18–21.
 26. *Трон Е. Ж.* Глаз и нейрохирургическая патология. — Л., 1996.
 27. *Улитин А. Ю.* Эпидемиология опухолей головного мозга в Санкт-Петербурге: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — СПб., 1997.
 28. *Упоров А. В., Семглазов В. Ф., Пожарисский К. М.* Иммуногистохимическое изучение клеток рака молочной железы использованием разных маркеров пролиферации // Архив патологии. — 2000. — № 2. — С. 26–30.
 29. *Щербук Ю. А.* Внутрочерепная видеоэндоскопия в хирургии опухолей головного мозга // Актуальные проблемы видеоэндоскопической нейрохирургии: сборник. — СПб., ВМедА, 2000. — С. 175.
 30. *Abe T., Tara L. A., Ludecke D. K.* Growth hormone-secreting pituitary adenomas in childhood and adolescence: features and results of transnasal surgery // Neurosurgery. — 1999. — Vol. 45, N 1. — P. 1–10.
 31. A comparison of proliferation markers and their prognostic value for women with endometrial carcinoma / Nordstrom B. [et al.] // Cancer. — 1996. — Vol. 77. — P. 1942–1951.
 32. *Alleyne C. J., Barrow D. L., Oyesiku N. M.* Combined transsphenoidal and pterional craniotomy approach to giant pituitary tumors // Surg. Neurol. — 2002. — Vol. 57, N 6. — P. 380–390.
 33. *Auer L. M., Clarici G.* The first 100 transsphenoidally operated pituitary adenomas in nonspecialised centre: surgical results and tumour-recurrence // Neurol. Res. — 1985. — Vol. 7, N 3. — P. 153–160.
 34. *Beenken S. W., Bland K. I.* Biomarkers for breast cancer // Minerva Chir. — 2002. — Vol. 57, № 4. — P. 437–448.
 35. Beta human chorionic gonadotropin (beta-hCG) expression in pituitary adenomas: relationship to endocrine function and tumour recurrence / Doyle P. M. [et al.] // Pituitary. 2009. — Vol. 12, N 3. — P. 190–195.
 36. *Bochicchio D., Losa M., Buchfelder M.* Factors influencing the immediate and late outcome of Cushing's disease treated by transsphenoidal surgery: a retrospective study by the European Cushing's Disease Survey Group // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1995. — Vol. 80, N 11. — P. 3114–3120.

37. *Burger P. C., Shibata T., Kleihues P.* The use of the monoclonal antibody Ki-67 in the identification of proliferating cells: application to surgical neuropathology // *Am. J. Surg. Pathol.* — 1986. — Vol. 10, N 9. — P. 611–617.
38. *Ciric I., Rosenblatt S., Zhao J. C.* Transsphenoidal microsurgery // *Neurosurgery.* — 2002. — Vol. 51, N 1. — P. 161–169.
39. Clinical and histological correlations in prolactinomas with special reference to bromocriptine resistance / *Delgrange E.* [et al.] // *Acta Neurochir.* — 2005. — Vol. 147, N 7. — P. 571–757.
40. *Day J. D., Giannotta S. L., Fukushima T.* Extradural temporopolar approach to lesions of the upper basilar artery and infrahiasmatic region // *J. Neurosurg.* — 1994. — Vol. 81, N 2. — P. 230–235.
41. *Ferrara N.* The role of vascular endothelial growth factor in pathological angiogenesis // *Breast Cancer Res. Treat.* — 1995. — Vol. 36, № 2. — P. 127–137.
42. *Guk A. N.* Diagnosis and surgical treatment of pituitary tumor recurrences // 9-th Europ. Congr. Veurosurg; book of abstracts. — M., 1991. — P. 138.
43. Histochemical study of pituitary adenomas with Ki-67 and anti-DNA polymerase alpha monoclonal antibodies bromodeoxyuridine labeling, and nucleolar organizer region counts / *Shibay M.* [et al.] // *Acta Neuropathol.* — 1992. — Vol. 84, N 2. — P. 178–183.
44. Immunocytochemical evaluation of proliferative activity in human brain tumours / *Girino M.* [et al.] // *Anal. Cell Pathol.* — 1990. — Vol. 2, N 5. — P. 269–275.
45. *Lath R., Chacko G., Chandy M. J.* Determination of Ki-67 labeling index in pituitary adenomas using MIB-1 monoclonal antibody // *Neurol. India.* — 2001. — Vol. 49, N 2. — P. 144–147.
46. *Lee A. G., Van Gilder J. C., White M. L.* Progressive visual loss because of a suprasellar pneumatocele after transsphenoidal resection of a pituitary adenoma // *J. Neuroophthalmol.* — 2003. — Vol. 23, N 2. — P. 142–144.
47. Macroprolactinemia in the differential diagnosis of hyperprolactinemia // *Toldy E.* [et al.] // *Ovr. Hetil.* — 2003. — Vol. 144. — P. 2121–2127.
48. Magnetic resonance imaging after transsphenoidal surgery of clinically non-functional pituitary macroadenomas and its impact on detecting residual adenoma / *Kremer P.* [et al.] // *Acta Neurochir.* — 2002. — Vol. 144, N 5. — P. 433–443.
49. MIB-1 labelling index is an independent prognostic marker in primary breast cancer / *Jansen R. L.* [et al.] // *Brit. J. Cancer.* — 1998. — Vol. 78. — P. 460–465.
50. *Molitch M. E.* Disorders of prolactin secretion // *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* — 2001. — Vol. 30. — P. 585–610.
51. *Paek K. I., Kim S. H., Song S. H.* Clinical significance of Ki-67 labeling index in pituitary macroadenoma // *J. Korean Med Sci.* — 2005. — Vol. 20, N 3. — P. 489–494.
52. Pituitary adenomas. Correlation of the cytologic appearance with biologic behavior / *Pegolo G.* [et al.] // *Acta Cytol.* — 1995. — Vol. 39, N 5. — P. 887–892.
53. Pituitary adenomas with invasion of the cavernous sinus space: a magnetic resonance imaging classification compared with surgical findings / *Knosp E.* [et al.] // *Neurosurgery.* — 1993. — Vol. 33, N 4. — P. 610–517.
54. Pituitary tumour transforming gene (PTTG) expression correlates with the proliferative activity and recurrence status of pituitary adenomas: a clinical and immunohistochemical study / *Filippella M.* [et al.] // *Clin. Endocrinol.* — 2006. — Vol. 65, N 4. — P. 536–543.
55. Prolactin cell in the human pituitary. A quantitative immunocytochemical analysis / *Asa S. L.* [et al.] // *Archives of pathology and laboratory medicine.* — 1982. — Vol. 106. — P. 360–363.
56. Prognostic markers in clinically localized prostate cancer / *Bai X. Z.* [et al.] // *Int. J. Oncol.* — 1999. — Vol. 14. — P. 785–791.
57. Prognostic significance of the Ki-67 labeling index in growth hormone-secreting pituitary adenomas / *Fusco A.* [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2008. — Vol. 93, N 7. — P. 2746–2750.
58. Proliferation parameters for pituitary adenomas / *Buchfelder M.* [et al.] // *Acta Neurochir.* — 1996. — Vol. 65, suppl. — P. 18–21.
59. Psychological distress in patients with hyperprolactinemia / *Reavley A.* [et al.] // *Clin. Endocrinol. Oxf.* — 1997. — Vol. 47, N 3. — P. 343–348.
60. Recurrence in pituitary adenomas in childhood and adolescence / *Espay A. L.* [et al.] // *J. Child Neurol.* — 2001. — Vol. 16, N 5. — P. 364–367.
61. Relevance of Ki-67 and prognostic factors for recurrence / progression of gonadotropic adenomas after first surgery / *Dubois S.* [et al.] // *Eur. J. Endocrinol.* — 2007. — Vol. 157. — P. 141–147.
62. Results of surgical treatment for growth hormone-secreting pituitary adenomas / *Davis D. H.* [et al.] // *J. Neurosurg.* — 1993. — Vol. 79, N 1. — P. 70–75.
63. *Rjosk H. K., Fahbusch R., von Werder K.* Hyperprolactinemia as a frequent cause of amenorrhea and galactorrhea // *Med. Clin.* — 1980. — Vol. 15, № 17. — P. 609–612.
64. *Rose D. S., Vaddox P. H., Brown D. S.* Which proliferation markers for routine immunohistology? A comparison of five antibodies // *J. Clin. Path.* — 1994. — Vol. 47. — P. 1010–1014.
65. Surgical complications associated with the endoscopic endonasal transsphenoidal approach for pituitary adenomas / *Cappabianca P.* [et al.] // *J. Neurosurg.* — 2002. — Vol. 97, N 2. — P. 293–298.
66. Surgical outcome and pathological effects of bromocriptine preoperative treatment in prolactinomas / *Perrin G.* [et al.] // *Pathol. Res. Pract.* — 1991. — Vol. 187, N 5 — P. 587–592.
67. *Symon L., Logue V., Mohanty S.* Recurrence of pituitary adenomas after transcranial operation // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* — 1992. — Vol. 45, N 9. — P. 780–785.
68. The effect of treatment variables on mood and social adjustment in adult patients with pituitary diseases / *Pease K.* [et al.] // *Clinical Endocrinology.* — 1997. — Vol. 46. — P. 445–450.

69. The influence of treatment with somatostatin analogues on morphology, proliferative and apoptotic activity in GH-secreting pituitary adenomas / Cap J. [et al.] // *J. Clin. Neurosci.* — 2003. — Vol. 10, N 4. — P. 444–448.
70. The role of apoptosis in pituitary adenomas in the field of conventionally used therapeutic approaches / Cerman J. [et al.] // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* — 2003. — Vol. 1010. — P. 520–524.
71. Thomson J. A., Gray C. E., Teasdale G. M. Relapse of hyperprolactinemia after transsphenoidal surgery for microprolactinoma: lessons from long-term follow-up // *Neurosurgery.* — 2002. — Vol. 50, N. 1. — P. 36–39.
72. What are the markers of aggressiveness in prolactinomas? Changes in cell biology, extracellular matrix components, angiogenesis and genetics / Gurlek A. [et al.] // *Eur. J. Endocrinol.* — 2007. — Vol. 156, N 2. — P. 143–153.
73. Zhao D., Tomono Y., Nose T. Expression of p27kip1 and Ki-67 in pituitary adenomas: investigation of marker of adenoma invasiveness // *Acta Neurochir.* — 1999. — Vol. 141, N 2. — P. 187–192.

Статья представлена Э. К. Айламазяном,
ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта,
Санкт-Петербург

ESTIMATION OF MARKERS OF CELL PROLIFERATION IN PITUITARY ADENOMAS OF WOMEN WITH REPRODUCTIVE ABNORMALITIES

Rebekevsha V. G.

■ **Summary:** This paper is a review of literature on the clinico-morphological features and effectiveness of surgical treatment of pituitary adenomas (prolactinomas and somatotropinomas). Studies of the morphological characteristics of adenomas can be helpful in prognosis of surgical treatment including the incidence of postoperative tumour regrowth.

■ **Key words:** prolactinoma; somatotropinoma; cell proliferation; reproductive abnormalities.

■ Адреса авторов для переписки

Ребекевша Вера Геннадьевна — аспирант.
Санкт-Петербургский государственный университет, Медицинский факультет, Кафедра акушерства, гинекологии и репродуктологии.
199034, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7–9.
E-mail: rebver@mail.ru.

Rebekevsha Vera Gennadevna — the post-graduate student.
St. Petersburg State University, Medical faculty.
7-9, Universitetskaya nab.,
St. Petersburg, 199034, Russia
E-mail: rebver@mail.ru.



© А. А. Шмидт, В. Г. Абашин,
Ю. В. Цвелев

Военно-медицинская академия,
кафедра акушерства и гинекологии
им. А. Я. Красковского, Санкт-Петербург

К 200-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ Н. И. ПИРОГОВА ЖЕНСКИЙ ТРУД НА ВОЙНЕ (СООБЩЕНИЕ III) УЧАСТИЕ СЛУШАТЕЛЬНИЦ ЖЕНСКИХ ВРАЧЕБНЫХ КУРСОВ В ВОЕННЫХ ДЕЙСТВИЯХ. СОФЬЯ ИВАНОВНА БОЛЬБОТ

УДК: 613.67:614.252:92

Появление частной помощи в виде женщин-врачей и хирургов на театре войны еще слишком ново, чтобы судить о нем. Слышанное мною о деятельности этой категории женской помощи свидетельствует только, что отдельные личности оказываются, и тут, вполне достойными своего призвания.

Н. И. Пирогов (1879)



Рис. 1. Софья Ивановна Больбот

■ В статье представлены данные о первых отечественных женщинах-врачах и хирургах-слушательницах Женских врачебных курсов — принимавших непосредственное участие в оказании медицинской помощи раненым и больным в русско-турецкой войне 1877–1878 гг.

■ **Ключевые слова:** история медицины; Н. И. Пирогов; русско-турецкая война 1877–1878 гг.; женщины-врачи; Софья Больбот.

В 60-е годы XIX столетия в связи с изменившимися социально-экономическими условиями и оживлением общественной жизни среди русских женщин усилилась тяга к самостоятельному труду и получению высшего образования. В этом справедливом стремлении к равноправию женщины встречали поддержку лучших людей эпохи, в том числе и Н. И. Пирогова. Заслуга в том, что женщинам России были предоставлены в медицине равные права с мужчинами раньше, чем в Европе, принадлежит прежде всего Пирогову [1]. Он всегда считал, что «...женщины должны занять место в обществе, более отвечающее их человеческому достоинству и их умственным способностям» [4]. Первый же его реальный шаг к решению женского вопроса — привлечение сестер милосердия на фронт — дал блестящий результат, неоспоримый для всех здравомыслящих людей. В 1861 г. в статье «Университетский вопрос» Н. И. Пирогов сетовал на то, что двери университетов закрыты перед женщинами. У него не было никаких сомнений в том, что женщинам надо открыть доступ в высшие учебные заведения. Эту мысль, высказанную им в 1856 г. в труде «Вопросы жизни», Н. И. Пирогов последовательно развивал. В противовес ретроградом от науки он утверждал, что женщины не только обладают одинаковыми с мужчинами способностями к знанию, но наделены, кроме того, «высшей способностью к чувству», а впоследствии этого «...им (т. е. женщинам. — авт.) следовало бы стоять ступенью выше, чем мужчины». После долгих хлопот в 1872 г. при Петербургской медико-хирургической академии были открыты Женские врачебные курсы «для подготовки ученых акушеров», фактически превратившиеся в первый женский медицинский факультет, просуществовавший 15 лет и давший за десять выпусков около 600 женщин-врачей. Именно из числа слушательниц первого выпуска этих курсов вышли первые женщины — военно-полевые хирурги [1].

Во второй половине XIX столетия усилилась борьба славянских народов на Балканах (болгар, сербов, и др.) за свое освобождение от турецкого владычества. Особенно борьба обо-

стрилась в 70-е годы XIX века и приняла характер подлинных военных действий. Освободительная война славянских народов вызывала патриотическое сочувствие русской общественности, вылившееся в активную помощь военному ведомству и русскому обществу попечения о больных и раненых воинах, в медицинской обеспеченности вооруженных сил России и стран, борющихся за свою независимость.

Память о подвигах сестер милосердия, участниц Крымской войны, не потеряла еще своей остроты и свежести, когда в апреле 1877 г. Россия вступила в очередную войну с Турцией и передовые русские полки в июне начали переправляться через Дунай. Пример предшественниц горячо обсуждался слушательницами Женских врачебных курсов, которым в то время предстояло держать первые выпускные экзамены. Пятый год их обучения отводился практическому акушерству, занятиям в клиниках женских, детских, глазных и ушных болезней, изучению нервных и психических заболеваний, освоению методов ларингоскопии, электротерапии, а также упражнению в оперативной практике в госпиталях и хирургических клиниках [7].

Общество попечения о раненых и больных воинах, получившее вскоре название Российского Общества Красного Креста (РОКК), приступило к организации и формированию полевых лечебных учреждений и санитарных отрядов, предназначенных к отправке на театр военных действий. Многие врачи и студенты-медики заявили о своем желании поступить на службу в Общество и отправиться в Дунайскую армию. Такое же стремление проявили и слушательницы Женских врачебных курсов. В мае 1877 г. разрешение принимать слушательниц на службу было получено лишь для выпускного курса. Право отбора выпускниц для направления в отряды и госпитали, формируемые РОКК, было предоставлено почетной инспектрисе М. Г. Ермоловой. Каждая из них подала личное прошение на имя главного военно-медицинского инспектора. При этом подчеркивалось, что слушательницы не считаются мобилизованными, а отправляются в качестве добровольцев, получая отпуск до выпускных экзаменов, которые должны были начаться во второй половине октября.

Патриотический порыв слушательниц был поддержан полевым военно-медицинским инспектором В. И. Приселковым и одним из организаторов курсов главным военно-медицинским инспектором Н. И. Козловым. Инициатива привлечь выпускниц к работе в качестве ординаторов полевых госпиталей принадлежала В. И. Приселкову. Он обратился с таким предложением к главноуполномоченному РОКК князю В. А. Черкасскому,

но получил отказ, объясненный якобы отсутствием денежных средств у Общества. В действительности же князь В. А. Черкасский не скрывал своего мнения о том, что присутствие женщин неизбежно отрицательно скажется на работе в лечебных учреждениях, приведет к нарушению порядка и дисциплины среди медицинских работников. Не удовлетворенный ответом В. А. Черкасского и не разделявший его предубеждений, В. И. Приселков обратился к начальнику полевого штаба Дунайской армии генерал-адъютанту А. А. Непокойчицкому, после вмешательства которого В. А. Черкасский разрешил допустить слушательниц к уходу за ранеными в госпиталях системы РОКК [6].

В конце мая 1877 г. в Дунайскую армию была направлена первая группа слушательниц выпускного V курса: Анна Новоспасская, Павла Быстроумова, Глафира Моравская, Евгения Маркова и Юлия Курвуазье. В связи с этим главный военно-медицинский инспектор Н. И. Козлов обратился к полковому инспектору В. И. Приселкову с письмом, в котором просил оказать внимание слушательницам, в первый раз выступающим на таком ответственном общественном поприще. Он просил покровительствовать их стремлению посвятить свои труды рациональному уходу за ранеными и больными. Всего в армию было командировано 40 слушательниц V курса в качестве врачей и 12 — с IV курса в качестве фельдшеров. Вместе с тем было дано распоряжение распределить их по госпиталям, где работали высококвалифицированные хирурги Н. В. Склифосовский, И. О. Корженевский, И. И. Насилов и С. М. Янович-Чаинский. Эти-то хирурги и принимали непосредственное участие в руководстве молодыми врачами и в обучении их [1]. К этому же времени относится телеграмма профессора Н. В. Склифосовского главному военно-медицинскому инспектору Н. И. Козлову с просьбой командировать в военно-временный госпиталь № 51, находившийся в Галаце, пять слушательниц Женских врачебных курсов. Н. И. Козлов удовлетворил его просьбу и в начале августа группа слушательниц выехала на театр военных действий [6].

Слушательницы Женских врачебных курсов своим самоотверженным, героическим трудом заслужили самые восторженные отзывы медицинского начальства, профессоров и врачей, под руководством которых им пришлось работать, — В. И. Приселкова, П. А. Рихтера, Н. С. Абазы, Н. В. Склифосовского, Э. Бергмана, И. О. Корженевского, Э. А. Юнге, И. И. Насилова и др. Не имея официально утвержденного круга обязанностей, они не отказывались ни от какой работы: помогали в перевязках и операциях, выполняли функции ординаторов, фельдшеров, сестер милосердия, а порой и санитаров, ухаживали

за ранеными и больными, несли дежурства, следили за порядком, занимались хозяйственными делами, работали в аптеках, порой полностью заменяли врачей [6].

Не сразу, конечно, женщины-врачи завоевали доверие солдат. Вначале они принимали их за «барышень» или сестер милосердия, так как видели в военных госпиталях только женщин-сестер. Но очень скоро солдаты убедились в том, что это не «барышни», а врачи, причем врачи заботливые и внимательные, и с тех пор авторитет молодых врачей-женщин был признан. «Докториссы скоро освоились с делом и скоро же сделались самыми ревностными, исполнительными и полезными ординаторами, как пришлось выслушать не один раз и не от одного главного госпитального врача. Основательность диагностических приемов, осмысленность в показаниях, в назначении средств — все это утверждено свидетельствами врачей, работавших вместе и главных врачей, под наблюдением коих вообще шли госпитальные занятия. Общий голос за то, что женщины, получившие специальное образование, опытно вместе с тем показали и свои способности и умения приложить к делу приобретенные ими познания и что не может быть уже речи о невозможности для них медицинского образования и врачебной практики» [2].

Иногда врачи-мужчины опасались поручать женщинам самостоятельное исполнение обязанностей хирургов-ординаторов, однако и эти опасения, как правило, оказывались напрасными. Одна из слушательниц, София Бестужева, в своем отчете пишет, что врачи относились по-товарищески, сестры милосердия становились добрыми друзьями и хорошими помощниками, а больные полностью ей доверяли. В военновременном госпитале № 47 работали Надежда Бентле, Елена Соловьева, Вера Матвеева и Надежда Остроградская, в период боев они выезжали из госпиталей на перевязочные пункты дивизий, оказывая помощь под огнем. Все окружающие единодушно отмечали их исключительную добросовестность, душевное отношение к раненым и личную скромность [1]. «Указывалось некоторыми противниками женского медицинского образования на то, что барышни едва ли способны к хирургической врачебной практике благодаря нервозности, слабости и пр. Но опыт и в этом отношении стал на стороне женщин. Хирургия им также была доступна и операции серьезные производились в хирургии... ими с таким же хладнокровием, умением и успехом, как и мужчинами». Из многих свидетельств приведем одно из практики 47 военновременного госпиталя: «Состоявшими при нем женщинами-врачами было произведено много операций, как то: г-жа

Бантле произвела ампутацию бедра и экзартикуляцию всех пальцев. Соловьева ампутацию бедра в верхней трети, Матвеева резекцию локтя, ампутацию голени, плеча, операцию Лисфранка, Остроградская — ампутацию голени». В других госпиталях, где находились на службе женщины-врачи, и на перевязочных пунктах они оказали достаточные познания в хирургии... Все то, что отличало русскую женщину в прошлую войну, — ее сердечность в отношении к несчастным, ее гуманность, ее забвение себя ради других, при самой высокой скромности, — все это отличало женщину-врача, нередко ставившуюся и сестрой милосердия и фельдшерницей, т. е. и лицом предписывающим и вместе исполнителем предписаний. Все те прекрасные отзывы, которые даны о сестрах, столько же относятся и к женщинам-врачам. К ним должны быть еще присоединены мнения, основанные на их специальном деле, в качестве госпитальных ординаторов» [2].

Под руководством профессора Н. В. Склифосовского работали в качестве ординаторов студентки Е. С. Васильева и Н. П. Яновская. По отзыву профессора, они выполняли все его поручения лучше, чем находившиеся при нем врачи-мужчины. Студентки принимали больных и раненых, осуществляли их сортировку, устанавливали диагноз, выписывали назначения, организовывали уход и надзор за лечением. Студентка С. И. Бестужева работала в госпиталях в Зимнице, а затем в Тырнове, где обслуживала 18 юрт по 12 больных в каждой. Позже ее перевели в Систово для ухода за терапевтическими больными, а затем направили в эвакуационную команду для перевозки больных и раненых по водным путям. На каждом участке работы она полностью оправдывала оказанное ей доверие, несмотря на физическую усталость и многие другие неудобства. «Недостаток медицинских сил, — пишет участница войны Н. В. Драгневич, — вынуждал работать с невероятным напряжением по пятнадцать-восемнадцать часов в сутки». Бывали периоды, когда приходилось работать чуть ли не круглые сутки. Студентка Н. Н. Остроградская в письме от 11 сентября 1877 г. сообщила: «Поезда ежедневно (по три поезда) увозят у нас каждым по 500–600 больных и раненых, и все-таки у нас не только палатки полны, но и все пространство между палатками — везде лежат, сидят, стоят...» [6].

Выпускница курсов Варвара Степановна Некрасова стала жертвой врачебного долга. Работая в госпитале инфекционных больных, она не только лечила и ухаживала за больными, но и вела научную работу, непосредственно обследуя больного и изучая секционный материал, являясь одновременно корреспондентом журнала «Русские ведомости». В своем дневнике она

очень наглядно отразила условия, в которых находились раненые: «Многие раненые лежали не в палатках, а просто под навесом. Чтобы попасть туда (под навес), нужно изогнуться в три дуги и там уже ползать на коленях от одного раненого к другому, осматривая и перевязывая их раны. За сутки приходится осмотреть от 30 до 50 раненых, к тому же выползаешь из-под навеса вся обсыпана насекомыми». При уходе за больными она заразилась сыпным тифом и умерла 27/ХІІ.1877 г. Хоронили ее со всеми воинскими почестями. На ее могиле в Систове поставлен памятник с надписью на болгарском и русских языках: «Больше сия любви никто же не имеет, да кто душу свою положит за други своя»; («Никто не достоин большей любви, чем отдавший жизнь за своих ближних») [5].

Среди слушательниц Женских врачебных курсов, отмеченных медалями, находилась и Бронислава Пашкевич, единственная женщина-врач, служившая на Кавказском фронте и рекомендованная С. П. Боткиным. С большой стойкостью переносила она исключительно трудные условия походной жизни при передвижении Эриванского отряда к крепости Эрзерум. Во время боев она исполняла обязанности врача, фельдшера и санитаря. Отправив однажды раненых в Гасан-Кале, она сумела приехать туда еще до прибытия транспорта и заранее приготовить раненым помещение, питание и чай. При уходе за ранеными Б. Пашкевич проявляла особую душевную теплоту, отличалась искусством наложения повязок. Солдаты неоднократно выражали сожаление, что в Кавказской армии находится лишь одна женщина-врач.

Яркую память о себе оставила выпускница Софья Ивановна Больбот, которую можно считать одной из первых в России женщин-полевых хирургов [1, 5]. Она родилась в 1850 г. в Вытегре. Ей удалось выполнить свою заветную мечту — поступить на только что открытые в 1872 г. Женские врачебные курсы. В 1876 г. она добровольно уезжает на фронт сербско-турецкой войны, после чего едет учиться в Венский университет. Оттуда на имя главного военно-медицинского инспектора она направляет заявление следующего содержания. «Имевши возможность пополнить знания, приобретенные на медицинских курсах усиленными занятиями по хирургии, клинической и оперативной, в Венском университете и приобрета некоторую опытность в уходе и лечении раненых 4-месячным пребыванием в Сербии, честь имею покорнейше просить оказать Ваше содействие в назначении меня членом санитарного отряда профессора Бергмана или в какой-либо другой отряд по благоусмотрению вашего Превосходительства.

Слушательница женских врачебных курсов 5-го года Софья Больбот. 1877 г. 2 (14) июня» [6].

Получив разрешение, она 1/VIII 1877 г. выезжает из Петербурга в армию в распоряжение главноуполномоченного Красного креста П. А. Рихтера и по прибытии в Бухарест назначается в военновременный госпиталь № 57 в местечке Зимница, где руководящим хирургом был профессор Э. Бергман. Молодому врачу сразу же была поручена большая хирургическая палата, в которой находилось 28 тяжелораненых, преимущественно с повреждениями суставов и бедер. Ей пришлось произвести незамедлительно самостоятельно три больших операции по жизненным показаниям. В течение 1½ месяцев напряженной работы в этом госпитале С. И. Больбот приходилось выезжать в составе передовой группы в деревню Тученицы, чтобы помочь перевязочному пункту 16-й пехотной дивизии. Там за четверо суток непрерывной работы С. И. Больбот выполнила несколько крупных ампутаций, резекций и других хирургических вмешательств и наложений гипсовых повязок, а также перевязок большому числу раненых. «Я слышал, — писал Н. И. Пирогов, — что под руководством проф. Бергмана одна женщина-хирург производила с большой ловкостью и знанием дела ампутации на перевязочном пункте. Сам же я имел случай, при посещении военновременного госпиталя в Зимнице № 57, видеть, при перевязке раненых одну женщину-хирурга; она сама следила за лечением порученных ее уходу раненых и сообщила мне весьма дельно и отчетливо свои замечания о ходе ран и лечения, не оставив желать ничего лучшего» [3]. Когда начинают разворачиваться боевые операции под крепостью Плевна, С. И. Больбот отправляется 6/X 1877 г. на позиции Плевненского отряда осадной артиллерии и исполняет тяжелые обязанности младшего врача. После падения Плевны ей поручают оказывать помощь в госпитале, где было сконцентрировано до 5000 агрессивно настроенных пленных турок. С. И. Больбот и другие врачи относились к военнопленным в высшей степени внимательно и гуманно, и перед выпиской турки выразили врачам благодарность в своем адресе. Через трое суток, в течение которых, не считаясь с усталостью, С. И. Больбот производит обработку большого количества раненых, ее назначают ассистентом заведующего операционным отделением плевненских госпиталей — доктора Ф. Б. Гейденрейха. Она вновь приступает к большим операциям и ведет три хирургические палаты. Так она работает до 9/I 1878 г., после чего находящиеся на ее попечении раненые были переданы румынским врачам, а Софью Ивановну прикомандировали к военновременному госпита-

лю № 69 в Адрианополе. Оттуда в марте ее отзывают в Петербург.

Самоотверженная деятельность женщин военно-полевых хирургов получает положительную оценку военно-медицинского руководства. Полевой инспектор В. И. Приселков 6/XII 1877 г. в официальном докладе петербургскому начальству высоко оценивает работу слушательниц Женских врачебных курсов на перевязочных пунктах, в санитарных поездах и военновременных госпиталях действующей армии. В отношении же двух врачей — С. И. Больбот и В. П. Матвеевой — в именном списке, приложенном В. И. Приселковым к донесению, стоит оценка — «с особенным отличием» («cum eximia laude»). Такой отзыв инспектора весьма показателен, потому что далеко не все медицинское начальство поддерживало получение женщинами врачебного образования и тем более было сторонником использования женщин-врачей на фронте. Однако должным образом подвиг женщин-хирургов оценен не был. Хотя они и были представлены к награждению орденами, но правительство их удостоило лишь медалями. Так, С. И. Больбот, представленная к двум орденам за боевые заслуги («с мечами»), получила золотую медаль «За усердие» на Георгиевской ленте и бронзовую медаль на Анненской ленте.

О последующей деятельности С. И. Больбот имеются лишь такие отрывочные сведения. Вскоре после окончания войны и получения временного свидетельства о сдаче экзаменов (врачебные дипломы окончившим курсы стали выдаваться много позже) она уехала в Сибирь и поселилась в Томске. Там она продолжала врачебную практику, пользуясь всеобщим уважением. С. И. Больбот стала первой женщиной-врачом и первой женщиной-хирургом в Сибири. К этому периоду относится ее печатная работа, опубликованная в «Военно-медицинском журнале» под заглавием «Случай замечательной аневризмы подключичной артерии. Опыт применения электричества» (Военно-медицинский журнал, 1881. ч. 142. № 3. — С. 67–76). После работы в Томске С. И. Больбот, по семейным обстоятельствам, с перерывами служила земским врачом в разных губерниях России, занимаясь одновременно и хирургической практикой. О сделанных ею операциях появлялись заметки в газетах. Она продолжала интересоваться вопросами высшего женского образования, участвовала в сборе средств для Женского медицинского института, посещала пироговские съезды врачей. Скончалась Софья Ивановна Больбот в 1918 г. [5].

Высокие отзывы, по сообщению участника войны доктора П. А. Илинского [2], давали мно-

гие главные врачи военновременных госпиталей и председатели эвакуационных комиссий, в которых работали женщины-врачи. «Я каюсь, говорил мне один из уполномоченных "Красного Креста", я был до этой войны заклятым врагом всех этих женских курсов, всех женских университетов; мне казалось, что все это стремление к высшему образованию прикрывает собой только стремление к синим очкам да к стриженным волосам, и что все подобные учреждения являются только рассадником распущенности нравов. Но теперь, когда я увидел на деле этих молодых девушек, этих студенток, я совершенно изменил свой взгляд и отношусь к ним с полным уважением. Я знаю теперь, что они горячо любят Россию, потому что, не любя, они не могли бы работать так, как они работают [2]. Это не мешало, однако, высшему военному начальству еще долгое время отрицательно относиться к привлечению женщин-врачей к работе в военных учреждениях.

Докладывая 18 февраля 1878 г. начальнику штаба действующей армии о результатах деятельности слушательниц Женских врачебных курсов Н. И. Козлов подчеркивал: «С самого начала кампании при неимоверном рвении и сознательном понимании дела, они выказали себя с самой лучшей стороны и доставленной ими хирургической и терапевтической помощью в госпиталях вполне оправдали в этом первом опыте ожидания медицинского начальства... Самоотверженная работа женских ординаторов среди опасностей и лишений, среди тифозной болезненности, жертвою которой была не одна из них, обратила на себя общее внимание, и как первый пример применения женского труда в военном деле заслуживает отличия и поощрения».

Таким образом, первый опыт приложения врачебных знаний женщинами, получившими образование в России на женских курсах, был приобретен в русско-турецкую войну. «Благодаря горячему участию и вниманию лиц, на глазах которых шло женское медицинское образование, слушательницы, окончившие курс медицинских наук, получили возможность трудиться и работать на войне в военновременных госпиталях и даже на перевязочных пунктах. Опыт этот тем более должен иметь значение, что им решительно поколеблены, по мнению компетентных лиц, некоторые отжившие воззрения на высшее общее и специальное образование женщин — на этот серьезный и самый общественный вопрос. Некоторые, правда, допускали возможность образования, но не видели практического приложения специальных познаний, утверждая, что опыт укажет несостоятельность теоретических воззрений на труд женщины как врача, и заранее как бы предвидели,

что сама жизнь разрушит иллюзии, как обзывались мероприятия по женскому высшему и специальному образованию... Что же сказал опыт?... Какие результаты его и к каким заключениям можно прийти из этого опыта?..» — спрашивает П. А. Илинский. И дает следующий ответ, которым характеризует женщин-врачей как прекрасных и скромных тружениц, работавших наравне с мужчинами сообразно степени их познания и образования. «Здесь уже не один уход за ранеными, который был в руках сестры милосердия, но и специальная врачебная и хирургическая помощь. Здесь уже, кроме тех действий, которые неразрывно связаны с обязанностями сестры, вступают иные, принадлежащие только врачам и хирургам. Женщина становится ординатором госпитальных палат наравне с прочими врачами мужчинами, становится самостоятельным деятелем на этом поле. Она так же оперирует, диагностирует и лечит. Следовательно все отзывы, без исключения самые благоприятные о самоотверженной и полезнейшей деятельности врачей в прошлую войну, относятся также и к женщинам-врачам, составлявшим часть всего врачебного персонала» [2].

Литература

1. *Геселевич А. М.* Первые русские женщины военно-полевые хирурги // Сов. здравоохран. — 1954. — № 2. — С. 44–50.
2. *Илинский П. А.* Русские женщины в войну 1877–1878 гг. — СПб., 1879. — 177 с.
3. *Пирогов Н. И.* Военно-врачебное дело и частная помощь на театре войны в Болгарии в тылу действующей

щей армии в 1877–1878 гг. — СПб., 1879. — Ч. 1. — С. 38–39.

4. *Пирогов Н. И.* Письмо к Э. Ф. Раден от 27/II.1876 г. // Сочинения. Т. 1. — Киев, 1910. — С. 705.
5. *Чернова Н. Е.* Исторические вехи формирования и развития родовспоможения в Кыргызстане. — Бишкек, 2008. — С. 34–39.
6. *Шабунин А. В.* Женские врачебные курсы при Медико-хирургической академии и Николаевском военном госпитале. — СПб., 1997. — 68 с.
7. *Шибков А. А.* Женщины России в медицинской школе и на войне. — Л., 1957.

Статья представлена Э. К. Айламазяном,
ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта,
Санкт-Петербург

WOMAN'S WORK IN THE WAR (THE 3RD MESSAGE)
PARTICIPATION OF FEMALE-LISTENERS OF MEDICAL
COURSES IN MILITARY OPERATIONS.
SOFJA IVANOVNA BOLBOT

A.A. Shmidt, V.G. Abashin, Y. V. Tzvelev

■ **Summary:** The article contains the facts of the first domestic women-doctors and surgeons- listeners of female medical courses — taking direct part in rendering of medical aid by the wounded man and patients in Russian-Turkish war 1877–1878.

■ **Key words:** history of medicine; N. I. Pirogov; the Russian-Turkish war 1877–1878 yy; female-doctors; Sofja Bolbot.

■ Адреса авторов для переписки

Шмидт Андрей Александрович — к.м.н., преподаватель.
Кафедра акушерства и гинекологии Военно-медицинской академии
им. С. М. Кирова.
194044, Россия, Санкт-Петербург, ул. Клиническая, 4.
E-mail: rdwma@deti-spb.ru

Абашин Виктор Григорьевич — д. м. н., профессор, начальник кафедры акушерства и гинекологии Военно-медицинской академии
им. С. М. Кирова.
194044, Россия, Санкт-Петербург, ул. Клиническая, 4.
E-mail: rdwma@deti-spb.ru

Цвелев Юрий Владимирович — академик Российской академии естественных наук, д. м. н., профессор.
Кафедра акушерства и гинекологии Военно-медицинской академии
им. С. М. Кирова.
194044, Россия, Санкт-Петербург, ул. Клиническая, 4.
E-mail: rdwma@deti-spb.ru

Shmidt Andrey Alexandrovich — the candidate of medical sciences,
the assistant.
Obstetrics and Gynecology department of Medical-Military Academy
named after S. M. Kirov.
194044 Russia, St. Petersburg, Klinicheskaya st., 4.
E-mail: rdwma@deti-spb.ru

Abashin Viktor Grigorjevich — MD, professor, chief of department of
obstetrics and gynecology of medical-military academy named after
S. M. Kirov.
194044 Russia, St. Petersburg, Klinicheskaya st., 4.
E-mail: rdwma@deti-spb.ru

Tsvelyov Yuriy Vladimirovich — member of RANS, MD, PhD, professor.
Obstetrics and Gynecology department of Medical-Military Academy
named after S. M. Kirov.
194044 Russia, St. Petersburg, Klinicheskaya st., 4.
E-mail: rdwma@deti-spb.ru



САНКТ-ПЕТЕРБУРГ, 1–3 ИЮНЯ 2011 ГОДА НАЦИОНАЛЬНЫЙ КОНГРЕСС «ДИСКУССИОННЫЕ ВОПРОСЫ СОВРЕМЕННОГО АКУШЕРСТВА»

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ РФ
РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК
СЕВЕРО-ЗАПАДНОЕ ОТДЕЛЕНИЕ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК
РОССИЙСКОЕ ОБЩЕСТВО АКУШЕРОВ-ГИНЕКОЛОГОВ
ОБЩЕСТВО АКУШЕРОВ-ГИНЕКОЛОГОВ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА И СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО РЕГИОНА РОССИИ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ АКУШЕРСТВА И ГИНЕКОЛОГИИ им. Д. О. ОТТА СЗО РАМН
КОМИТЕТ ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ ПРАВИТЕЛЬСТВА САНКТ-ПЕТЕРБУРГА
«ЖУРНАЛ АКУШЕРСТВА И ЖЕНСКИХ БОЛЕЗНЕЙ»

Президент Конгресса, Председатель научного комитета Конгресса: директор НИИ акушерства и гинекологии имени Д. О. Отта СЗО РАМН, академик РАМН, заслуженный деятель науки России, профессор Айламазян Эдуард Карпович

Основные направления программы Конгресса:

- Демографическая политика: надежды на будущее
- Акушерские кровотечения
- Медикаментозная коррекция сократительной деятельности матки: пути оптимизации
- Репродуктивно значимые инфекции у беременных: перспективы диагностики и терапии
- Акушерский взгляд на вспомогательные репродуктивные технологии
- Спорные вопросы профилактики акушерских осложнений
- Тромбофилические риски при беременности: когда угроза реальна
- Нерешенные вопросы интенсивной терапии в акушерстве
- Кесарево сечение: взгляд в будущее
- Хирургия внутриутробного плода: достижения, перспективы
- Пренатальная и семейная психология: новые грани и возможности
- Информационные технологии: простые алгоритмы решения сложных задач
- Антигестагены в акушерстве и гинекологии
- Микронутриентная недостаточность у беременных
- Акушерка перинатального центра: новый взгляд на организацию лечебного процесса

В рамках Конгресса будет проведен акушерский семинар, лекционный курс, а также мастер-классы для анестезиологов:

- Нейромышечный мониторинг в акушерстве и гинекологии
- Региональные методики обезболивания родов и раннего послеродового периода
- Место современных ингаляционных анестетиков (севофлуран) при анестезиологическом обеспечении родов

Планируется культурная программа: посещение Фестиваля «Звезды белых ночей» в Мариинском театре, Эрмитажа и Русского музея, катание на корабликах по Неве, гала-ужин в интерьерах белых ночей Петербурга.

Место проведения: НИИ акушерства и гинекологии имени Д. О. Отта СЗО РАМН
199034 Санкт-Петербург, Менделеевская линия Васильевского острова, д.3, тел. (факс) (812) 328236, www.ott.ru

Руководитель оргкомитета Конгресса:

д. м. н. Зайнулина Марина Сабировна,
e-mail: zainulina@yandex.ru Тел. (812) 328-13-02

По организационным вопросам:

Михайлин Евгений Сергеевич
mihailin@mail.ru Тел. 8-911-289-20-36

По вопросам научной программы:

Бикмуллина Дина Рустемовна
Dina-bikmullina@yandex.ru Тел. 8-909-588-01-21

По вопросом регистрации: Виноградова Оксана Анатольевна
ksu-mail@mail.ru Тел. 8-921-978-37-94

	Регистрация до 1 марта 2011 г.	Регистрация после 1 марта 2011 г.	Регистрация на Конгрессе
Члены Российского Общества акушеров-гинекологов*	2000 руб	2500 руб	3000 руб
Члены Общества акушеров-гинекологов Санкт-Петербурга и СЗР России*	2000 руб	2500 руб	3000 руб
Прочие врачи	2500 руб	3000 руб	3500 руб
Гала-ужин (02 июля)**	2000 руб	2500 руб	3000 руб
Акушерский семинар	1000 руб	1500 руб	2000 руб

Регистрация обеспечивает: свободный доступ на все научные мероприятия Конгресса, телесты, получение бейджа и портфеля участника Конгресса с материалами докладов, печатной и CD продукцией, участие в торжественной церемонии открытия, посещение кофе-брейков.

Возможна оплата как за наличный расчет, так и по перечислению для организации получателя ИНН 7801020890 (ОФК 02 КПП 780101001 НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН, л/с 03721156650) сч. 40503810600001000001

БИК 044030001

Банк плательщика: ГРКЦ ГУ Банка России по г. Санкт-Петербургу, г. Санкт-Петербург (за участие в Конгрессе)

Регистрационная форма и ксерокопия платежного документа высылаются на ksu-mail@mail.ru до 1 марта 2011 года.

Заявки на доклады (устные и постерные) принимаются до **1 марта 2011 года.**

Все материалы, принятые в качестве докладов, будут опубликованы в отдельном номере «Журнала акушерства и женских болезней» в виде полнотекстовых статей (Правила оформления статей на jowd.ru).

Сборник тезисов будет выпущен отдельно. Полнотекстовые статьи (только для отобранных докладов) и тезисы принимаются только в электронном виде на e-mail: Dina-bikmullina@yandex.ru до **1 марта 2011 года.**

Объем тезисов — не более 2 стр., Times New Roman 12, 1,5 инт. ФИО авторов, учреждение, название, актуальность, материал и методы, результаты, выводы.

ТЕХНОЛОГИИ GENETIX В ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ И ОЦЕНКЕ ТКАНЕВЫХ БИОМАРКЕРОВ

«CytoVision GSL-120 (Genetix, Великобритания) значительно облегчает анализ. Можно анализировать образцы без предварительного ручного сканирования слайдов, а если бэндинг не так хорош, вы можете сделать его лучше, вместо того, чтобы тратить часы на бэндинг дополнительных слайдов».

Технолог из лаборатории цитогенетики, Yorkhill Hospital, Глазго

Молекулярно-цитогенетическая диагностика является современным направлением в клинической цитогенетике, цель которой — разработка и применение новых высокоэффективных методов анализа хромосоматий. Достижения молекулярной цитогенетики связаны с разработкой и внедрением в клиническую цитогенетику комплекса новых технологий ДНК-диагностики и компьютерных систем для анализа хромосом. В совокупности с высококачественной светлопольной и флуоресцентной микроскопией сегодня широко используют компьютерные системы для анализа хромосом, включающие в себя специальные цифровые камеры для выявления сверхслабых сигналов, полученных, например, при проведении флуоресцентной *in situ* гибридизации (интерфазный и метафазный FISH, CGH), а также компьютерные программы, позволяющие проводить автоматический анализ хромосом и высокоэффективную многоцветную детекцию ДНК-зондов для диагностики хромосомных и генных нарушений на микроскопическом уровне.

Современная сканирующая аналитическая платформа **CytoVision** для цитогенетического анализа, созданная в результате интеграции технологий, разработанных компаниями **Applied Imaging** (США) и **Genetix** (Великобритания), позволяет проводить эффективный анализ в самых трудных с диагностической точки зре-

ния случаях. **CytoVision** является мощным высокопроизводительным инструментом для выполнения и оптимизации, как рутинных процедур кариотипирования (для пренатального и постнатального скрининга), так и тонкого анализа с использованием методов FISH, Rх-FISH, M-FISH и HR-CGH (рис. 1).

На основе интерфазного FISH-анализа происходит интеграция молекулярной цитогенетики с другими методами диагностики. В качестве исходного материала для этого исследования можно использовать не только цитогенетические препараты, но и стандартно окрашенные мазки крови, костного мозга или отпечатки лимфоузлов, а также архивный гистологический материал, хранящийся в виде парафиновых блоков. Комбинация FISH с морфологическими методами исследования позволяет напрямую сравнивать цитогенетические и морфологические особенности клеток. Данный метод исследования легко доступен с использованием высокоточной платформы **Ariol** (**Genetix**, Великобритания), созданной для количественного анализа тканевых и клеточных биомаркеров при анализе препаратов, окрашенных классическими методами (кислотно-основное окрашивание), иммуногистохимическими и флуоресцентными методами (рис. 2).

Только благодаря появлению метода FISH-анализа стало возможным проведение предимплантационной генетической диагностики (ПГД) в процедурах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), позволяющей выполнить генетическое тестирование эмбриона еще до переноса его в полость матки и наступления беременности. Платформа **CytoVision** предоставляет собой уникальную возможность воссоздания трехмерной модели клетки, взятой при биопсии эмбриона на стадии 6–8 бластомеров, и быстрого анализа хромосомных перестроек с возможностью создания программируемого отчета, включающего в себя всю необходимую информацию о родителях, эмбрионе, а также цветные иллюстрации к результатам FISH-анализа. Благодаря технологии Z-стэкинга сигнал каждого гибридизованного зонда будет четко различим с указанием точных координат.

Автоматизация обработки образцов крови в постнатальном скрининге приводит к значительному со-



Рис. 1. Внешний вид системы CytoVision GSL-120 (Genetix, Великобритания).

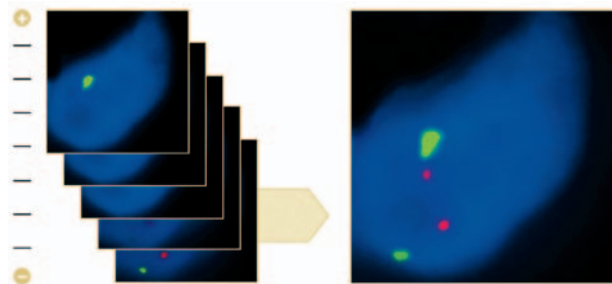


Рис. 2. Многослойные оптические Z-срезы на разной глубине фокусировки при проведении анализа M-FISH

Схема работы CytoVision GSL-120

Исполнитель	Процедура
Пользователь	Загрузка слайдов в GSL-120
CytoVision	Позиционирование слайда на предметном столике
CytoVision	Автоматическое создание фокусной карты поверхности препарата
CytoVision	Предварительное сканирование, 10x
Пользователь	Указание параметров сортировки клеток
CytoVision	Автоматическое сравнение объектов на скане с сортировщиком, отбор метафазных клеток по критериям качества метафазных пластинок (плотность, контраст, окружность)
CytoVision	Автоматическое добавление иммерсионного масла встроенным дозатором
CytoVision	Захват изображений заданного количества метафазных пластинок, 100x
CytoVision	Анализ изображений, автоматизированное кариотипирование (с возможностью ручной корректировки)
Пользователь	Получение отчета в соответствии с заданными параметрами

Производительность системы при обработке препаратов (Yorkhill Hospital, Глазго)

Параметр	Значение
Необходимое количество обнаруженных хороших метафаз/препарат	300
Количество фотографируемых метафазных пластинок/препарат	50
Вместимость CytoVision GSL-120	120 слайдов
Время фокусировки и сканирования одного препарата	7 минут
Съемка 50 клеток	15–20 минут
Общее время обработки 120 слайдов	48 часов

крашению времени подготовки отчета, повышению качества и успешности обработки. Эффективность использования платформы **CytoVision** показана на примере Западно-Шотландской региональной цитогенетической службы. Эта организация обслуживает около 3 миллионов человек и обрабатывает по 6500 анализов в год, из них 2800 — постнатальные.

В ходе модернизации были приобретены автоматизированные технологии для подготовки препаратов и для сканирования, съемки и исследования бэндинга. Система **CytoVision GSL-120 (Genetix, Великобритания)** в приобретенной комплектации имеет 5 основных функций:

- автоматическая подача слайдов из бокса на предметный столик и позиционирование слайда;
- поиск метафазных пластинок;
- ранжирование метафазных пластинок;
- съемка метафазных пластинок;
- кариотипирование и анализ хромосом с использованием программного обеспечения CytoVision.

Программное обеспечение CytoVision позволяет пользователям кариотипировать клетки, разделять и выпрямлять хромосомы, проверять пары хромосом,

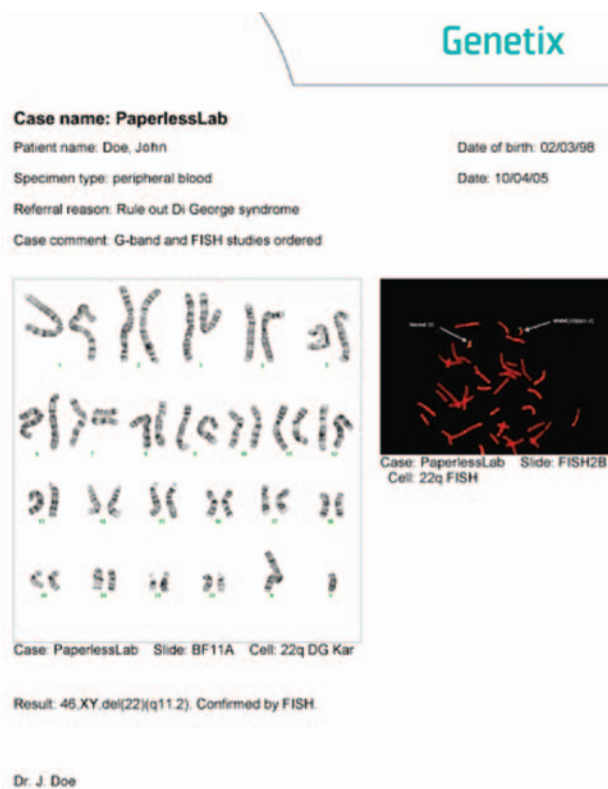


Рис. 3. Пример пользовательского отчета о результатах проведенного анализа

работать с размерами хромосом и увеличивать контраст бэндинга (рис. 3).

С этими параметрами 40 препаратов могут сканироваться и сниматься в течение ночи, что позволяет проводить дальнейший анализ следующим утром.

После введения автоматизации было обнаружено статистически значимое увеличение в качестве как срочных, так и обычных образцов. Время подготовки отчета снизилось на 44% с одновременным повышением количества успешно проанализированных образцов до 98%. До автоматизации из каждой культуры клеток крови обрабатывались 4 препарата, после — количество препаратов снизилось до 2 на культуру. Сканируется только один препарат на каждую культуру, второй доступен при необходимости.

Это снижает работу технического персонала по приговлению препаратов и окраске на 50%.

Таким образом, введение автоматизации с использованием платформы CytoVision GSL-120 приводит к значительному сокращению времени анализа и создания отчета, повышению качества и успешности обработки «срочных» и «обычных» образцов крови.

Модификации CytoVision

Автоматические платформы GSL-120 (вместимостью 120 препаратов), GSL-10 (вместимостью 10 препаратов), 8-bay Chromoscan (с предметным столиком на 8 слайдов) комплектуются микроскопами Olympus BX61.

Полуавтоматические системы с автофокусировкой комплектуются микроскопами Olympus BX51 или BX61.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Утв. приказом Генерального директора
ООО «Издательство Н-Л» от 01.03.05

НАСТОЯЩИЕ ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ ЯВЛЯЮТСЯ ИЗДАТЕЛЬСКИМ ДОГОВОРОМ

Условия настоящего Договора (далее «Договор») являются публичной офертой в соответствии с п. 2 ст. 437 Гражданского кодекса Российской Федерации. Данный Договор определяет взаимоотношения между редакцией журнала «Журнал акушерства и женских болезней», зарегистрированного Государственным комитетом Российской Федерации по печати (свидетельство о регистрации номер № 016387 от 21 июля 1997 года), именуемой в дальнейшем «Редакция» и являющейся структурным подразделением ООО «Издательство Н-Л», и автором и/или авторским коллективом (или иным правообладателем), именуемым в дальнейшем «Автор», принявшим публичное предложение (оферту) о заключении Договора.

Автор передает Редакции для издания авторский оригинал или рукопись. Указанный авторский оригинал должен соответствовать требованиям, указанным в разделах «Представление рукописи в журнал», «Формат и структура статей».

При рассмотрении полученных авторских материалов Журнал руководствуется «Едиными требованиями к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы» (Intern. committee of medical journal editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals // Ann. Intern. Med. 1997; 126: 36–47).

В Журнале печатаются ранее не опубликованные работы по профилю Журнала. Множественные и дублирующие публикации — это публикации статьи, материалы которой во многом совпадают с уже однажды опубликованными. Журнал не рассматривает работы, результаты которых по большей части уже были опубликованы или описаны в статьях, представленных или принятых для публикации в другие печатные или электронные средства массовой информации. Представляя статью, автор всегда должен ставить редакцию в известность обо всех направлениях этой статьи в печать и о предыдущих публикациях, которые могут рассматриваться как множественные или дублирующие публикации той же самой или очень близкой работы. Автор должен уведомить редакцию о том, содержит ли статья уже опубликованные материалы. В таком случае в новой статье должны быть ссылки на предыдущую. Копии таких материалов должны прилагаться к представляемой статье, чтобы дать редакции возможность принять решение, как поступить в данной ситуации.

Не принимаются к печати статьи, представляющие собой отдельные этапы незавершенных исследований, а также статьи с нарушением Правил и норм гуманного обращения с биобъектами исследований.

Размещение публикаций возможно только после получения положительной рецензии.

Все статьи, в том числе статьи аспирантов и докторантов, публикуются бесплатно.

ПРЕДСТАВЛЕНИЕ РУКОПИСИ В ЖУРНАЛ

Автор передает, а Редакция принимает авторский оригинал. Подписанная Автором рукопись должна быть отправлена в адрес редакции (см. ниже) заказным почтовым отправлением с уведомлением о вручении и/или зарегистрирована в Журнале регистрации входящих авторских оригиналов в НИИ АиГ им. Д. О. Отта. Авторский оригинал представляется в двух экземплярах (коллективная рукопись подписывается всеми соавторами) в конверте из плотной бумаги. Фотографии, слайды, негативы и рисунки, выполненные на прозрачной пленке, следует поместить в отдельный конверт из плотной бумаги. Вместе с авторским оригиналом на бумаге необходимо представить электронный вариант на электронном носителе. Автор должен записать на носитель конечную версию рукописи и дать файлу название, состоящее из фамилии первого автора и первых 2–3 сокращенных слов из названия статьи.

СОПРОВОДИТЕЛЬНЫЕ ДОКУМЕНТЫ

К авторскому оригиналу необходимо приложить: *сопроводительное письмо* (направление от учреждения, в котором выполнялась работа, подписанное всеми авторами); *экспертное заключение о возможности опубликования в открытой печати*. Бланки сопроводительных документов можно получить по запросу на адрес nl@n-l.ru.

Сопроводительное письмо должно содержать:

- 1) название статьи, которое должно быть кратким, но информативным;
- 2) сведения об авторах (публикуются): фамилия, имя и отчество каждого автора с указанием высшей из имеющихся у него ученых степеней (званий) и членства в различных обществах, e-mail всех авторов для публикации в журнале;
- 3) название отдела (отделения) и учреждения, в котором выполнялась данная работа с указанием почтового адреса;
- 4) отказы от каких-либо прав, если таковые имеются;
- 5) информацию о предшествовавших или повторных публикациях или о представлении в другой журнал любой части этой работы;
- 6) заявление о финансовых или других взаимоотношениях, которые могут привести к «конфликту интересов» (см. ниже);
- 7) заявление о том, что статья прочитана и одобрена всеми авторами, что все требования к авторству соблюдены (см. «Единые требования...») и что все авторы уверены, что рукопись отражает действительно проделанную работу;

8) имя, адрес, телефонный номер и e-mail автора, ответственного за корреспонденцию и за связь с другими авторами по вопросам, касающимся переработки, исправления и окончательного одобрения пробного оттиска;

9) в письме должна быть представлена любая другая информация, которая может быть полезна редакции, например, к какому типу публикуемых в данном журнале статей относится представляемая рукопись (см. рубрикатор Журнала), согласен ли автор(ы) оплатить стоимость воспроизведения цветных иллюстраций;

10) к рукописи необходимо прилагать все разрешения на воспроизведение уже опубликованного материала, использование иллюстраций или информацию, по которой можно установить личность людей, представленных на фотографиях, а также на указание фамилий лиц, внесших вклад в данную работу.

Рукопись считается поступившей в Редакцию, если она представлена комплектно и оформлена в соответствии с описанными требованиями. Предварительное рассмотрение рукописи, не заказанной Редакцией, не является фактом заключения между сторонами издательского Договора.

АВТОРСКОЕ ПРАВО

Редакция отбирает, готовит к публикации и публикует переданные Авторами материалы.

Авторское право на конкретную статью принадлежит авторам статьи. Авторский гонорар за публикации статей в Журнале не выплачивается. Автор передает, а Редакция принимает авторские материалы на следующих условиях:

1) Редакции передается право на оформление, издание, передачу Журнала с опубликованным материалом Автора для целей реферирования статей из него в Реферативном журнале ВИНТИ, РНИЦ и Базах данных, распространение Журнала/авторских материалов в печатных и электронных изданиях, включая размещение на выбранных либо созданных Редакцией сайтах в сети Интернет в целях доступа к публикации в интерактивном режиме любого заинтересованного лица из любого места и в любое время, а также на распространение Журнала с опубликованным материалом Автора по подписке;

2) территория, на которой разрешается использовать авторский материал, — Российская Федерация и сеть Интернет;

3) срок действия Договора — 5 лет. По истечении указанного срока Редакция оставляет за собой, а Автор подтверждает бессрочное право Редакции на продолжение размещения авторского материала в сети Интернет;

4) Редакция вправе по своему усмотрению без каких-либо согласований с Автором заключать договоры и соглашения с третьими лицами, направленные на дополнительные меры по защите авторских и издательских прав;

5) Автор гарантирует, что использование Редакцией предоставленного им по настоящему Договору авторского материала не нарушит прав третьих лиц;

6) Автор оставляет за собой право использовать предоставленный по настоящему Договору авторский материал само-

стоятельно, передавать права на него по договору третьим лицам, если это не противоречит настоящему Договору;

7) Редакция предоставляет Автору возможность безвозмездного получения одного авторского экземпляра из вышедшего тиража печатного издания с публикацией материалов Автора или получения справки с электронными адресами его официальной публикации в сети Интернет;

8) при перепечатке статьи или ее части ссылка на первую публикацию в Журнале обязательна;

9) Редакция вправе издавать Журнал любым тиражом.

ПОРЯДОК ЗАКЛЮЧЕНИЯ ДОГОВОРА И ИЗМЕНЕНИЯ ЕГО УСЛОВИЙ

Заключением Договора со стороны Редакции является опубликование рукописи данного Автора в журнале «Журнал акушерства и женских болезней», а также/или размещение его текста в сети Интернет.

Заключением Договора со стороны Автора, т. е. полным и безоговорочным принятием Автором условий Договора, является выполнение Автором нижеследующих действий:

1) осуществление Автором передачи авторского материала и сопроводительных документов Редакции лично или по каналам почтовой связи;

2) доработка Автором материала по предложению Редакции и/или рецензента и передача Редакции доработанного материала;

3) визирование Автором материала/пробного оттиска после завершения редакционно-издательской подготовки с учетом графика подготовки. Задержка Автором пробного оттиска дает Редакции право выпустить произведение в свет без авторской корректуры или отсрочить опубликование рукописи.

Редакция вправе в одностороннем порядке изменять условия Договора и корректировать его положения, публикуя уведомления об изменениях в Журнале (в Правилах для авторов Журнала), а также на сайте Издательства.

ФОРМАТ И СТРУКТУРА СТАТЕЙ

Статья должна иметь (на русском и английском языках):

1. Заглавие (title) должно быть кратким (не более 120 знаков), точно отражающим содержание статьи. Под заглавием помещаются инициалы и фамилии авторов, затем указываются полное название учреждения, город.

2. Резюме (summary) (до 400 знаков) помещают перед текстом статьи. Резюме не требуется при публикации рецензий, отчетов о конференциях, информационных писем.

3. Ключевые слова (key words) от 3 до 10 ключевых слов или словосочетаний, которые будут способствовать правильному перекрестному индексированию статьи, помещаются под резюме с подзаголовком «ключевые слова». Используйте термины из списка медицинских предметных заголовков (Medical Subject Headings), приведенного в Index Medicus (если в этом списке еще отсутствуют подходящие обозначения для недавно введенных терминов, подберите наиболее близкие из имеющихся).

Остальные материалы предоставляются на русском языке.

Введение, изложение основного материала, заключение, литература. Для оригинальных исследований — введение, методика, результаты исследования, обсуждение результатов, литература. На отдельных страницах представляются таблицы, рисунки и подписи к рисункам.

В разделе «методика» обязательно указываются сведения о статистической обработке экспериментального или клинического материала. Не допускаются сокращения слов, кроме принятых комитетом стандартов. Единицы измерения даются в соответствии с Международной системой единиц — СИ. Фамилии иностранных авторов, цитируемые в тексте рукописи, приводятся в оригинальной транскрипции. На поля следует выносить номера рисунков, таблиц, особые знаки.

Объем рукописей. Объем рукописи обзора не должен превышать 25 стр. машинописного текста через два интервала, 12 кеглем (включая таблицы, список литературы, подписи к рисункам и резюме на английском языке), поля не менее 25 мм. Нумеруйте страницы последовательно, начиная с титульной. Объем рукописи статьи экспериментального характера не должен превышать 15 стр. машинописного текста; кратких сообщений (писем в редакцию) — 7 стр.; отчетов о конференциях — 3 стр.; рецензий на книги — 3 стр. Используйте колонтитул — сокращенный заголовок и нумерация страниц, — содержащий не более 40 знаков (считая буквы и проемы), для помещения сверху или внизу всех страниц статьи в журнале.

Иллюстрации и таблицы. Число рисунков не должно превышать 5. Фотоснимки должны быть отпечатаны на белой глянцева бумаге, присылаются в двух экземплярах, один из них без надписей и цифр. На обороте рисунков необходимо указать карандашом фамилии авторов и название статьи. В подписях под рисунками должны быть сделаны объяснения значений всех кривых, букв, цифр и прочих условных обозначений на русском языке. Все графы в таблицах должны иметь заголовки. Сокращения слов в таблицах не допускаются. Повторять одни и те же данные в тексте, на рисунках и в таблицах не следует. **Рисунки, схемы, фотографии должны быть представлены в расчете на печать в черно-белом виде или уровнями серого в точечных форматах tif (300–600 dpi), bmp, или в векторных форматах Adobe Illustrator (ai, eps), Corel Draw (cdr).** При оформлении графических материалов учитывайте размеры печатного поля Журнала. Масштаб 1:1.

Литература. Список литературы должен представлять полное библиографическое описание цитируемых работ в соответствии с ГОСТ 7.0.5-2008. Фамилии и инициалы авторов в при-статейном списке приводятся в алфавитном порядке, сначала русского, затем латинского алфавита. Сокращения для обозначения тома — Т., для номера — №, для страниц — С. В англоязычном варианте: том — Vol., номер — N, страницы — P.

Для монографий: если авторов не более 3-х печатаются все авторы, затем название, затем область выходных данных (место издания, издательство, год), затем объем документа. Все области описания отделяются друг от друга предписанным знаком точка тире, например: *Айламазян Э. К., Мозговая Е. В. Гестоз: теория и практика.* — М.: Медпресс-информ, 2008. — 272 с.

Если число авторов превышает 4, то печатается название книги, затем косая черта первый автор, затем [и др.], далее выходные данные, отделяемые предписанным знаком точка тире, например: *Гинекология от пубертата до постменопаузы: практическое руководство для врачей / Айламазян Э. К. [и др.]; ред. Э. К. Айламазян.* — М.: МЕДпресс-информ, 2004. — 448 с.

Для статей из журналов и сборников работ: если авторов не более 3-х, печатаются все авторы, затем полное название статьи (главы) затем знак // стандартное сокращенное или полное название журнала (или название книги, или сборника). — год. — том, номер. — страницы от и до. Например: *Кирющенков А. П., Совчи М. Г. Поликистозные яичники // Акуш. и гин.* — 1994. — N 1. — С. 11–14.

Если число авторов более 4-х, то печатается полное название статьи (или главы), далее знак/первый автор [и др.], затем знак// стандартное сокращенное или полное название журнала. — год. — том, номер. — страницы от и до, например: *Гигантская миома матки, осложненная илеофеморальным тромбозом и тромбозом легочной артерии / Тихомирова Н. И. [и др.] // Акуш. и гин.* — 2006. — N 3. — С. 53–55.

Для интернет-документов: *Медведев Б. Н., Прокитец А. Т. Применение этилендиаминтетрауксусной кислоты в лечении лентовидной кератопатии // Офтальмология сегодня.* 2008. URL: <http://www.oftalm.ru/lentovid.html> (дата обращения: 17.09.08).

РЕЦЕНЗИРОВАНИЕ

Статьи, поступившие в редакцию, обязательно рецензируются. Если у рецензента возникают вопросы, то статья с комментариями рецензента возвращается Автору. Датой поступления статьи считается дата получения Редакцией окончательного варианта статьи. Редакция оставляет за собой право внесения редакторских изменений в текст, не искажающих смысла статьи (литературная и технологическая правка). При представлении рукописи в Журнал Авторы несут ответственность за раскрытие своих финансовых и других конфликтных интересов, способных оказать влияние на их работу. В рукописи должны быть упомянуты все лица и организации, оказавшие финансовую поддержку (в виде грантов, оборудования, лекарств или всего этого вместе), а также другое финансовое или личное участие.

АВТОРСКИЕ ОРИГИНАЛЫ ЖУРНАЛА

Редакция обязуется выдать Автору 1 экз. Журнала с опубликованной рукописью. Авторы, проживающие в Санкт-Петербурге, получают авторский оригинал Журнала непосредственно в Редакции. Иногородним Авторам авторский оригинал Журнала высылается на адрес автора, ответственного за получение пробных оттисков и авторского оригинала Журнала.

АДРЕС РЕДАКЦИИ

Автовская ул., 17, офис 5А, Санкт-Петербург, 198152.
Тел.: (812) 784-97-50, факс: (812) 784-97-51;
E-mail: nl@n-l.ru

ПОЛИТИКА журнала «ЖУРНАЛЬ АКУШЕРСТВА и ЖЕНСКИХ БОЛЕЗНЕЙ» в отношении формирования портфеля издания и размещения информационных материалов

Дата введения в действие: 1 февраля 2002 года

Срок действия: постоянно

УТВЕРЖДАЮ

Главный редактор, академик РАМН

 Э. К. Айламазян

Генеральный директор ООО «Издательство Н-Л»

 И. Г. Родин

Настоящая политика определяет правила формирования портфеля «Журнала акушерства и женских болезней». Правила формирования портфеля «Журнала акушерства и женских болезней» должны обеспечивать равноправное отношение ко всем, кого они затрагивают: авторам журнальных публикаций, редакционной коллегии, рецензентам, рекламодателям, сотрудникам редакции.

Данная политика принимается в целях обеспечения устойчивого финансового состояния издания, строгого соблюдения ценовой политики в отношении материалов рекламного характера.

Материалом рекламного характера признается распространяемая в любой форме, с помощью любых средств информация о физическом или юридическом лице, товарах, идеях и начинаниях (рекламная информация), пред-

назначенная для неопределенного круга лиц, формирующая или поддерживающая интерес к этому физическому, юридическому лицу, товарам, идеям и начинаниям и способствующая реализации товаров, идей и начинаний.

Глава 1. Ст. 2 Федерального закона «О рекламе» от 14.06.1995

Материалы рекламного характера могут быть размещены на страницах издания только на платной основе в соответствии с действующим на данный момент прайс-листом.

«Журнал акушерства и женских болезней» гарантирует равные условия всем фирмам-производителям лекарственных препаратов, медицинского оборудования и изделий медицинского назначения в отношении размещения информационных материалов на своих страницах.

КВИТАНЦИЯ СБЕРБАНКА ДЛЯ ОПЛАТЫ ЛИТЕРАТУРЫ И ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ

Извещение	ИНН 7806118561 ООО «Издательство Н-Л»	
	Красносельское ОСБ № 1892 Северо-Западного Банка	
	Сбербанка РФ в Санкт-Петербурге	
	Р/с 40702810855240160863	
	К/с 30101810500000000653	
	БИК 044030653	КПП 780601001
	Плательщик	
	Адрес с индексом и телефоном	
	Назначение платежа	Сумма
	Кассир	Ф. И. О.
	Подпись плательщика	
Квитанция	ИНН 7806118561 ООО «Издательство Н-Л»	
	Красносельское ОСБ № 1892 Северо-Западного Банка	
	Сбербанка РФ в Санкт-Петербурге	
	Р/с 40702810855240160863	
	К/с 30101810500000000653	
	БИК 044030653	КПП 780601001
	Плательщик	
	Адрес с индексом и телефоном	
	Назначение платежа	Сумма
	Кассир	Ф. И. О.
	Подпись плательщика	

Правила заполнения квитанции

1. В графе **Адрес с индексом и телефоном** указываются *Почтовый индекс, адрес по которому Вы хотите получить издания и контактный телефон.*
2. В графе **Назначение платежа** указывается: в случае подписки на журнал — *Подписка на «Журнал акушерства и женских болезней» 2-е полугодие 2010 года (3 номера — 900руб.),* в случае подписки на книги и методические пособия — *Подписка на книги и (или) методические пособия,* если Вы хотите одной квитанцией оплатить и подписку на журнал и приобретение литературы (цены смотрите в списке) — *Подписка на «Журнал акушерства и женских болезней» 2-е полугодие 2010 года и на литературу.*
3. В графе **Сумма** указывается *стоимость книг и (или) подписки.*
4. В графе **Ф. И. О.** указываются *Ваша Фамилия, Имя и Отчество*
5. В графе **Подпись** — *Ваша подпись.*

Список литературы можно запросить в издательстве.

Если у Вас возникли какие-либо вопросы, мы будем рады ответить на них по телефону: (812) 784-97-51(50); e-mail: nl@n-l.ru; по почте: 198152, Санкт-Петербург, ул. Автовская, д. 17, 1-й этаж, ООО «Издательство Н-Л»



Организаторы:

- Министерство здравоохранения и социального развития РФ
- ФГУ «Научный центр акушерства гинекологии и перинатологии им. В.И.Кулакова» Минздравсоцразвития
- Российская ассоциация специалистов перинатальной медицины
- Федерация анестезиологов-реаниматологов России

Москва, ул. Академика
Опарина, 4,
ФГУ «Научный центр акушерства,
гинекологии и перинатологии
им. В.И. Кулакова»

**III Всероссийский
образовательный конгресс**

**Анестезия и реанимация в
акушерстве и неонатологии**

В дни проведения конгресса будет организована уникальная выставочная экспозиция ведущих отечественных и зарубежных фармацевтических компаний и производителей медицинской техники.

23–26 ноября
2010 года



**25 – 29
октября
2010 года**

Москва, ул. Академика Опарина, 4,
ФГУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И.Кулакова»

Всероссийский научно-образовательный семинар

**Современные возможности использо-
вания эхографии в акушерско-гинеко-
логической практике и перинатологии**

Организаторы:

- ФГУ «Научный центр акушерства гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» Минздравсоцразвития РФ
- Российское общество акушеров-гинекологов
- Конгресс-оператор «МЕДИ Ивент»



МЕДИ Экспо

Тел./факс: +7 (495) 721-88-66

E-mail: expo@mediexpo.ru

www.mediexpo.ru

www.ncagip.ru