

УДК 618.3-008.9:616.1:612.273.2

## **БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПОВРЕЖДАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ**

© 2009 г. *Е.В. Олемпиева*

*Ростовский государственный медицинский университет,  
Нахичеванский пер., 29, г. Ростов н/Д, 344022,  
okt@rostgmu.ru*

*Rostov State Medical University,  
Nakhichevanskiy Lane, 29, Rostov-on-Don, 344022,  
okt@rostgmu.ru*

*Проведено клинико-биохимическое исследование женщин репродуктивного возраста для установления роли различных активных форм кислорода в процессах формирования окислительного стресса при беременности. Установлено, что физиологическое течение беременности сопровождается развитием выраженного окислительного стресса вследствие избыточной продукции супероксидного анион-радикала, перекиси водорода на фоне усиленной продукции гипохлоридов и пероксинитрита, а также накопления органических пероксидов. Ведущая роль в защите организма беременной женщины от активных форм кислорода принадлежит 2-й линии антиоксидантной защиты, прежде всего глутатионпероксидазе и миелопероксидазе, что рассматривается как компенсаторно-приспособительный механизм.*

**Ключевые слова:** беременность, гипертоническая болезнь, антиоксидантная защита.

*These clinical biochemical investigation decoted to estimation of antioxidant status of pregnant and nonpregnant women at reproductive uge for establishing the role of different active oxygen species on process of oxidative stress formation at pregnancy. It was established that physiological course of pregnancy associated with developing of oxidative stress due to hyperproduction of superoxide anion radical, hydrogen peroxide in couple with hyperproduction of hypohaloides and peroxinitrites, and also with accumulation of organic peroxides. Leading role in the body of pregnant woman defence adainst active oxygen species belongs to second line of antioxidant defense, especially to glutathione peroxidase and myeloperoxides, that is on our opinion, a compensator-adaptive mechanisms.*

**Keywords:** pregnancy, hypertension, antioxidant defense.

Последние годы ознаменовались созданием свободнорадикальной медицины. Ведущая концепция современной патологии исходит из признания важнейшей роли структурно-функциональной дестабилизации клеточных мембран вследствие дисбаланса процессов липидной пероксидации (ПОЛ) и уровне антиоксидантной защиты (АОЗ). Активацию процессов ПОЛ связывают с усилением образования свободных радикалов и активных форм кислорода (АФК).

Свободными радикалами называют молекулы или структурные фрагменты молекул, имеющие на внешней орбитали неспаренный электрон. Появление такого свободного электрона означает наличие у молекулы дополнительной валентности, что обуславливает высокую реакционную способность свободных радикалов. К АФК относят кислородсодержащие радикалы – супероксидный анион-радикал, гидропероксидный радикал, гидроксил-радикал, а также пероксид водорода, гипохлорную кислоту и др. [1]. Высокая реакционная способность АФК делает их чрезвычайно токсичными для биологических систем от молекулярно-клеточного до организменного уровня.

Синглетный кислород  $^1\text{O}_2$  представляет собой бирадикал с двумя неспаренными электронами, хотя и не несёт заряда [2, 3]. Бирадикальная форма  $^1\text{O}_2$  обуславливает его высокую реакционную способность и позволяет запускать ПОЛ в 1500 раз быстрее, чем  $\text{O}_2$ . Специализированных систем генерации  $^1\text{O}_2$  не выявлено, он нарабатывается в небольших количествах во многих реакциях АФК в виде сопутствующего продукта (при спонтанной дисмутации супероксидных радикалов; при разложении перекиси водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ); в реакциях с участием миелопероксидазы (МПО) и простагландинсинтазы). Эффективными ингибиторами синглетного кислорода являются фенольные антиоксиданты и каротиноиды [4].

Супероксидный анион-радикал ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) представляет собой продукт одноэлектронного восстановления молекулярного кислорода. Супероксид – весьма реакционно-способное соединение, время его жизни порядка  $10^{-6}$  с и радиус диффузии 0,3 мкм [2]. Он является окислителем средней силы, эффективно окисляет аскорбат,  $\alpha$ -токоферол, водные растворы  $\text{Cu}^+$  и  $\text{Fe}^{+2}$ ; легко окисляется люминолом,  $\text{Cu}^{+2}$ ,  $\text{Fe}^{+3}$  и цитохромом С. При протонировании супероксида образуется пергидроксильный радикал  $\text{HO}_2^{\bullet}$ , который является более стабильной молекулой (время жизни  $10^{-3}$  с, радиус миграции 10 мкм) и более сильным окислителем, за счет отсутствия заряда способен сравнительно легко мигрировать через мембраны. Он может индуцировать ПОЛ, способен переходить в другие формы АФК, обладающие цитотоксическим действием [5, 6].

Гидроксильный радикал  $\text{OH}^{\bullet}$  является наиболее реакционным и вредным из активных кислородных метаболитов (АКМ). Он может разрывать любую С-Н- или С-С-связь. Время жизни гидроксильного радикала в биологических субстратах составляет  $10^{-9}$  с. Образование  $\text{OH}^{\bullet}$ -радикала показано в реакциях окисления арахидоновой кислоты, микросомальном окислении, реакциях с флавиновыми ферментами, убихиноном и пероксинитритом [2, 7].

Перекись водорода  $\text{H}_2\text{O}_2$  представляет собой продукт двухэлектронного восстановления молекулярного кислорода, который стабилизируется протонированием. В отличие от остальных АКМ  $\text{H}_2\text{O}_2$  не является радикалом, однако её относят к группе АКМ. Она достаточно стабильна и может легко проникать через мембраны и мигрировать из одних клеток и тканей в другие [7].

Общая особенность свободных радикалов делает их эффективным инструментом локального действия от «привязанного к месту» ( $\bullet\text{OH}$ ) и внутриклеточного ( $^1\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) до межклеточного ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{RO}^{\bullet}$ ,  $\text{RO}_2^{\bullet}$ ) и межтканевого ( $\text{NO}^{\bullet}$ ,  $\text{CO}^{\bullet}$ ) уровней. Действие внешних прооксидантов и активация эндогенных механизмов генерации АКМ приводит к напряжению механизмов АОЗ и развитию окислительного стресса. Можно утверждать, что АКМ занимают ведущее место в патогенезе радиационного поражения, деструкции тканей, вызванной развитием воспалительной реакции, постишемических, реперфузионных и гипероксических повреждений, а также целого ряда бронхо-лёгочных, сердечно-сосудистых и генетически обусловленных заболеваний [4]. Необходимо сказать, что некоторые авторы предполагают наличие окислительного стресса даже при физиологическом течении беременности [8, 9].

Считается, что антиоксидантные системы препятствуют дестабилизации структурно-функционального состояния мембран клеток и обеспечивают протекание свободнорадикальных процессов на стационарном уровне. При анализе процессов ПОЛ и эффективности механизмов АОЗ имеют значение не столько абсолютные величины показателей, сколько соотношение между ними [9].

В процессе эволюции в клетках для защиты от АКМ выработались специализированные системы ферментативных антиоксидантов, к которым относятся супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, МПО, глутатионпероксидаза (ГПО), глутатионредуктаза (ГР), целулоплазмин, глутатион и др. Ферментативные антиоксиданты характеризуются высокой специфичностью действия, направленного против определённых форм АКМ; специфичностью клеточной и органной локализации, а также использованием металлов в ка-

честве катализаторов. При этом уровень внутриклеточных ферментативных антиоксидантов находится под строгим генетическим контролем [10].

Для установления биохимических механизмов повреждающего действия различных АФК проведена оценка антиоксидантного статуса крови беременных и небеременных женщин.

### Материалы и методы исследования

На основании данных осмотра, анамнеза жизни, ультразвукового и электрофизиологического исследования выделены 2 основные группы женщин. Контрольная представлена 30 практически здоровыми небеременными женщинами репродуктивного возраста (22,3±1,2 г.). В клинику вошли 45 практически здоровых беременных женщин в сроке гестации 38–42 недели, средний возраст пациенток составил 25,4±2,6 г.

Материалом для исследования выбраны эритроциты и плазма венозной крови, взятая натощак из кубитальной вены. В эритроцитах определяли активность СОД по Н.Р. Misra [11], каталазы по реакции с перекисью водорода и молибдатом аммония (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> методом Н.А. Королук [12], ГПО – по скорости окисления восстановленного глутатиона в присутствии гидроперекиси третичного бутила по методу В.М. Моина [13], ГР – спектрофотометрически по скорости окисления НАДФ методом Л.Б. Юсуповой [14], а также концентрацию восстановленного глутатиона методом G.L. Ellman по реакции с 5,5-дителиобис(2-нитробензойной) кислотой [15]. В плазме крови определяли активность МПО по методу Klebanoff, описанному М.Г. Шафран и С.Н. Лызловой [16]. Для оценки кислородтранспортной функции крови в эритроцитах определяли концентрацию 2,3-дифосфоглицерата (2,3-ДФГ) неэнзиматическим методом в модификации И.С. Лугановой [17], а в плазме крови – активность цитохромоксидазы (ЦХО) по Р.С. Кривченковой в реакции с диметил-п-фенилендиамином [18].

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили согласно общепринятым методам с определением средней арифметической ошибки с использованием программы STADIA версия 6.0 [19]. О достоверности отличий учитываемых показателей контрольной и опытной групп судили по величине t-критерия Стьюдента после проверки распределения на нормальность. Статистически достоверными считали отличия, соответствующие оценке ошибки вероятности  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Известно, что около 90 % потребляемого человеком молекулярного кислорода вовлекаются в процессы биологического окисления. В этой связи особый интерес представляет оценка кислородной емкости крови и интенсивность тканевого дыхания у женщин при физиологическом течении беременности. Нами установлено, что физиологическое течение беременности сопровождается значительным статистически достоверным ростом концентрации аллостерического модулятора сродства гемоглобина к кислороду 2,3-ДФГ на 283,8 % ( $p < 0,05$ ) относительно контрольной группы. Такие изменения концентрации 2,3-ДФГ свидетельствуют о формировании модуляционного типа

адаптации, направленного на оптимизацию процессов оксигенации органов и тканей беременных женщин (табл. 1). Однако улучшение доставки кислорода к тканям способствует лишь увеличению кислородной емкости крови и не отражает степени утилизации молекулярного кислорода в процессах тканевого дыхания.

Таблица 1

#### Показатели кислородтранспортной функции крови у беременных и небеременных женщин репродуктивного возраста (x±M)

Параметр	Группа	
	контрольная, n=30	клиническая, n=45
2,3-ДФГ, моль/л	4,44±0,347	12,6±0,359 $p < 0,05$
ЦХО, нм/мг белка	23,5±1,41	25,78±1,28 0,1 < $p < 0,05$

**Примечание.** p – степень достоверности относительно контрольной группы.

Косвенным показателем утилизации молекулярного кислорода при внутриклеточном метаболизме является активность ЦХО плазмы. Установлено, что ЦХО плазмы при физиологическом течении беременности имеет тенденцию к росту на 9,7 % (0,1 >  $p > 0,05$ ) относительно контрольной группы. Такие изменения активности ЦХО возможно свидетельствуют о тенденции к активации тканевого дыхания в ответ на избыточное поступление молекулярного кислорода.

Усиление кислородного гомеостаза является стимулом для активации свободнорадикальных процессов. В ходе исследования нами выявлено неоднозначное повышение активности ферментов 1-й и 2-й линии АОЗ (табл. 2).

Таблица 2

#### Показатели АОЗ крови у беременных и небеременных женщин репродуктивного возраста (x±M)

Параметр	Группа	
	контрольная, n=30	клиническая, n=45
СОД, усл. ед./г Hb	4,68±0,23	12,8±3,72 $p < 0,05$
Каталаза, мкат/г Hb	2,43±0,097	3,44±0,101 $p < 0,05$
Коэффициент СОД/каталаза, усл. ед.	1,93±0,16	3,72±0,26 $p < 0,05$
Коэффициент СОД/ГПО, усл. ед.	2,32±0,225	0,780±0,052 $p < 0,05$
ГПО, усл. ед./г Hb	2,02±0,081	16,5±0,29 $p < 0,001$
ГР, мкмоль/г Hb	12,77±1,07	33,4±0,366 $p < 0,05$
Восстановленный глутатион, мкмоль/г Hb	5,82±0,349	13,2±0,309 $p < 0,05$
МПО, мкмоль/мг белка	11,63±0,461	82,8±4,04 $p < 0,001$

**Примечание.** p – степень достоверности относительно контрольной группы.

Зарегистрировано значительное статистически достоверное увеличение активности СОД у женщин с физиологическим течением беременности на 173,5 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой. Рост

активности СОД рассматривается нами как косвенное свидетельство избыточной продукции супероксидного анион-радикала, что инициирует развитие свободнорадикальных процессов. Кроме того, данные изменения в активности СОД свидетельствуют о повышении продукции и перекиси водорода, обладающей неоднозначными биологическими эффектами. Однако изолированная оценка активности СОД не дает полноценной картины о развитии ПОЛ. Совместно с ней «на страже» работает и другой фермент – каталаза. В ходе исследования было отмечено менее выраженное увеличение активности каталазы у женщин с физиологическим течением беременности на 41,6 % ( $p < 0,05$ ) относительно контрольной группы.

Для более детальной характеристики состояния системы 1-й линии АОЗ и уровня продукции  $H_2O_2$  целесообразно рассчитать коэффициент СОД/каталаза. Оказалось, что этот параметр статистически достоверно превышает значения контроля на 92,8 % ( $p < 0,05$ ), что свидетельствует о выраженной продукции  $H_2O_2$ . Возможно, увеличение количества  $H_2O_2$  при физиологическом течении беременности способствует развитию компенсаторно-приспособительных реакций, обеспечивающих формирование эндотелий-независимой вазодилатации, и направлено на улучшение процессов циркуляции в маточно-плодовом круге кровообращения, так как перекись водорода является фактором гиперполяризации эндотелиоцитов.

При оценке направленности изменений активности ферментов 2-й линии АОЗ было установлено, что активность ГПО у беременных женщин при физиологическом течении беременности с большой долей достоверности увеличивается на 716,8 % ( $p < 0,001$ ) по сравнению с контролем. Такие изменения на фоне менее выраженного роста каталазы можно считать формированием компенсаторно-приспособительной реакции в ответ на избыточную продукцию АФК, с одной стороны, а с другой – учитывая различия в сродстве ферментов к субстрату, свидетельствуют о накоплении органических пероксидов.

Активность ГР, обеспечивающей процесс восстановления окисленного глутатиона, при физиологическом течении беременности также увеличивается на 161,6 % ( $p < 0,05$ ). Такие изменения в работе ферментов 2-й линии АОЗ позволяют считать, что ведущая роль в защите организма беременной женщины от оксидантного стресса принадлежит именно этой группе ферментов. При этом отмечается увеличение количества восстановленного глутатиона на 126,8 % ( $p < 0,05$ ) относительно той же группы. Увеличение концентрации восстановленного глутатиона при высокой активности ГПО и менее выраженной активности ГР является результатом усиления его синтеза за счёт активации работы  $\gamma$ -глутамилцистеинсинтетазы и глутатионсинтетазы.

Некоторые исследователи [2, 10] предлагают в качестве показателя защитной эффективности антиоксидантных ферментов определять соотношение СОД/ГПО. Рассчитав данный показатель, мы обнаружили, что у женщин с физиологическим течением беременности он оказался ниже значений контрольной группы на 66,4 % ( $p < 0,05$ ), что свидетельствует о значительном вкладе в АОЗ 2-й линии.

Интересной находкой оказалось выраженное статистически значимое увеличение МПО активности плазмы на 436,9 % ( $p < 0,001$ ) относительно контрольной группы. Такие изменения в активности МПО свидетельствуют об усиленной продукции гипогалоидов, а также могут способствовать избыточной продукции пероксинитрита, что обеспечивает участие данного фермента как энзима 2-й линии АОЗ. С другой стороны, такая значительная активность МПО плазмы свидетельствует о дегрануляции нейтрофильных лейкоцитов и, возможно, является результатом либо повышения микробиоцидного потенциала полиморфноядерных лейкоцитов, либо свидетельствует о выраженных деструктивных изменениях клеточных мембран лейкоцитов.

Полученный фактический материал свидетельствует о том, что при физиологическом течении беременности увеличивается кислородная ёмкость крови, усиливаются процессы диссоциации оксигемоглобина. Необходимо подчеркнуть, что ведущая роль принадлежит модуляционному механизму адаптации. Такой характер обменных процессов в красных клетках крови у данной группы пациенток, по-видимому, является одним из механизмов формирования компенсаторных реакций, предназначенных как для обеспечения адекватной работы основных энергопродуцирующих циклов, так и для кислородного обеспечения плода. Очевидно, такая направленность обменных процессов эритроцитов является физиологически обоснованной, поскольку для родоразрешения требуются значительные энергетические ресурсы для непосредственного изгнания плода и адекватного функционирования всех жизненно важных органов беременной женщины. Выявленные изменения со стороны антиоксидантного статуса свидетельствуют о том, что физиологическое течение беременности сопровождается развитием выраженного оксидантного стресса вследствие избыточной продукции супероксидного анион-радикала,  $H_2O_2$  на фоне усиленной продукции гипогалоидов и пероксинитрита, а также накопления органических пероксидов. Ведущая роль в защите организма беременной женщины от АФК принадлежит 2-й линии АОЗ, прежде всего ГПО и МПО, что можно считать компенсаторно-приспособительным механизмом, позволяющим иметь доношенную беременность и срочное родоразрешение.

#### Литература

1. Ланкин В.З., Тухадзе А.К., Беленков Ю.Н. Свободно-радикальные процессы при заболеваниях сердечно-сосудистой системы // Кардиология. 2000. Т. 40, № 7. С. 48–58.
2. Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. М., 2006. 556 с.
3. Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И. Свободные радикалы в живых системах // Итоги науки и техники ВИНТИ АН СССР. 1991. Т. 29. С. 252.
4. Фенольные биоантиоксиданты / Н.К. Зенков [и др.]. Новосибирск, 2003. 328 с.
5. Роль оксида азота и кислородных свободных радикалов в патогенезе артериальной гипертензии / Е.Б. Манухина [и др.] // Кардиология. 2002. Т. 42, № 11. С. 73–81.
6. Марков Х.М. Молекулярные механизмы дисфункции эндотелия // Кардиология. 2005. № 12. С. 62–72.

7. Дубинина Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса. // Вопросы мед. химии. 2001. Т. 47, № 6. С. 561–581.
8. Показатели оксидантного и антиоксидантного статуса у беременных с гестозом / А.В. Аккер [и др.] // Акушерство и гинекология. 2000. № 4. С. 17–20.
9. Абрамченко В.В. Антиоксиданты и антигипоксанты в акушерстве. СПб., 2001. 400 с.
10. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс. Биохимический и патофизиологический аспекты. М., 2001. 340 с.
11. Misra H.P., Fridovich J. Superoxide radicals as precursors of mitochondrial hydrogen peroxide // The J. Biol. Chem. 1972. Vol. 247, № 1. P. 188–192.
12. Метод определения активности каталазы / Н.А. Королук [и др.] // Лаб. дело. 1988. № 1. С. 16–19.
13. Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. дело. 1986. № 12. С. 724–727.
14. Юсупова Л.Б. О повышении точности определения активности глутатионредуктазы эритроцитов // Лаб. дело. 1989. № 4. С. 19–21.
15. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups // Arch. Biochem. Biophys. 1959. Vol. 82. P. 70–77.
16. Шафран М.Г., Лызлова С.Н. Очистка и некоторые свойства миелопероксидазы лейкоцитов белых мышей // Вопросы мед. химии. 1975. № 6. С. 629–633.
17. Луганова И.С., Блинов М.Н. Определение 2,3-ДФГ неэнзиматическим методом и АТФ в эритроцитах больных хроническим лимфолейкозом // Лаб. дело. 1975. № 7. С. 652–654.
18. Кривченко Р.С. Современные методы в биохимии. М., 1977. С. 47–49.
19. Кулайчев А.П. Методы и средства анализа данных в среде Windows Stadia 6.0. М., 1996. 257 с.

## ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС КАК НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЕ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗВЕНО РЕПРОДУКТИВНЫХ НАРУШЕНИЙ (ОБЗОР)

**Любовь Ильинична КОЛЕСНИКОВА, Людмила Анатольевна ГРЕБЕНКИНА,  
Марина Александровна ДАРЕНСКАЯ, Борис Яковлевич ВЛАСОВ**

*ФГБУ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН  
664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16*

Анализ отечественной и зарубежной литературы последних лет, а также результаты, полученные в Научном центре проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН, свидетельствуют о том, что окислительный стресс сопровождает и/или является одним из ключевых патогенетических звеньев в развитии многих видов репродуктивной патологии. Исходя из этого представляется целесообразным не только исследование системы «перекисное окисления липидов – антиоксидантная защита», но и применение комплекса антиоксидантов, подобранных строго индивидуально, с учетом характера обнаруженного дисбаланса в прооксидантно-антиоксидантной системе.

**Ключевые слова:** репродуктивные нарушения, окислительный стресс, перекисацация липидов, антиоксидантная защита.

Конец XX – первое десятилетие XXI века сопровождается беспрецедентным явлением, характеризующим нашу страну как вступившую в длительный процесс депопуляции (по статистике, население страны ежегодно сокращается на 900 тыс. человек), основным фактором которой является низкая рождаемость. Причины низкой рождаемости различны – это, прежде всего, последствия социальных потрясений, значительные потери от сверхсмертности мужчин, особенно от несчастных случаев, отравлений и травм, но одной из основных причин является ухудшение состояния репродуктивного здоровья и репродуктивного потенциала женщин и мужчин [1–3].

Так, среди девушек и женщин репродуктивного возраста частота эндометриоза увеличилась на 36,2 %, нарушений менструального цикла – на 27 %, воспалительных заболеваний придатков матки – на 8,6 %, женского бесплодия – на 43 % [4]. По данным ВОЗ, при частоте бесплодия 15 % и выше влияние его на демографические показатели значительно превышает

суммарное влияние невынашивания и перинатальных потерь [5]. Согласно данным, полученным нашим Центром, в Иркутской области частота бесплодия в браке составляет  $18,9 \pm 1,3$  % в городской и  $21,3 \pm 0,4$  % в сельской местности, что превышает соответствующие средние показатели по РФ [6].

В патогенезе и развитии многочисленных нозологических форм заболеваний органов репродуктивной системы существенное значение имеют неспецифические биохимические процессы, протекающие в различных компартментах клетки и определяющие реактивность организма, его адаптивный потенциал при действии эндогенных и экзогенных факторов [7, 8]. Одним из таких регуляторных метаболических механизмов являются процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной защиты (АОЗ), представляющие собой единую систему и обеспечивающие окислительно-восстановительный гомеостаз на оптимальном для целостного организма уровне [9–11].

---

*Колесникова Л.И. – д.м.н., проф., член-корр. РАМН, директор, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru*

*Гребенкина Л.А. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии репродукции, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru*

*Даренская М.А. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии репродукции, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru*

*Власов Б.Я. – д.м.н., проф., старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии репродукции, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru*

Для исследования развития многих патологических состояний большое значение приобретает изучение роли ПОЛ в механизмах окислительного повреждения клеток. Так, интенсификация ПОЛ наблюдается при развитии общего адаптационного синдрома (стресса), т. е. при большинстве острых заболеваний и состояний, обострении хронических процессов, интоксикациях, ожогах, травмах, оперативных вмешательствах и т. п. [12–15].

Повреждающему эффекту ПОЛ противостоит тонкокоординированная система белковых и неферментативных антиоксидантов организма, способных тормозить, уменьшать интенсивность спонтанного окисления липидов, нейтрализовывать активные частицы с неспаренным электроном путем их восстановления. Адекватная защита клетки обеспечивается не только согласованностью действия антирадикальных факторов, но и функционированием многоступенчатой антикислородной и антиперекисной системы [9, 16]. Важную роль при этом играют антиоксидантные ферменты (супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза и другие), которые способны инактивировать активные формы кислорода (АФК) и токсичные продукты перекисного окисления липидов. Не менее важное значение имеют низкомолекулярные соединения, такие как витамины ( $\alpha$ -токоферол, аскорбат, ретинол), белки (трансферрин, церулоплазмин и др.), которые инактивируют АФК и образующиеся при их участии вторичные радикалы. Особо выделяется низкомолекулярная небелковая тиолдисульфидная система, представленная легкоокисляющимися глутатионом, цистеином и липоевой кислотой.

При дискоординации процессов образования прооксидантов радикальной и нерадикальной природы и формирования системы АОЗ нарушение редокс-баланса тканей приводит к формированию окислительного стресса (ОС), сопровождающего или являющегося причиной многих видов патологических состояний и заболеваний, которых, по данным современных исследований, насчитывается более двухсот [12]. Теоретически возможны и практически наблюдаются следующие варианты ОС: 1) повышение концентраций прооксидантов на фоне постоянного уровня антиоксидантных факторов; 2) повышение концентраций прооксидантов на фоне снижения генерации антиоксидантных агентов; 3) постоянная концентрация прооксидантов при одновременном снижении уровня антиоксидантов; 4) нарушение компартиментализации

при взаимодействии антиоксидантов и прооксидантов.

Представленные выше литературные данные свидетельствуют о том, что современные подходы к диагностике и лечению репродуктивных нарушений, определенные в соответствующих руководствах ВОЗ, нуждаются в разработке дополнительных диагностических и прогностических критериев, позволяющих создавать алгоритмы обследования и лечения с учетом индивидуальных, экологических и популяционных, в том числе этнических, особенностей. Таким дополнением к алгоритмам обследования и лечения пациентов с различными формами нарушений репродуктивной функции, по мнению отечественных и зарубежных авторов, может явиться комплексное исследование системы «ПОЛ – АОЗ» [17–21]. Согласно результатам исследований, полученных Центром репродуктивных исследований (Кливленд, США), роль окислительного стресса должна учитываться при патогенезе таких заболеваний, как синдром поликистоза яичников (СПКЯ), эндометриоз, привычные выкидыши, преэклампсия, пузырный занос, эмбриопатии, преждевременные роды и задержка внутриутробного развития плода [22]. Исследованиями нашего Научного центра по изучению системы «ПОЛ – АОЗ» и применению антиоксидантов в терапии при различных видах репродуктивной патологии показано, что изменения в исследуемой метаболической системе теснейшим образом связаны с течением гестационного процесса и его нарушениями, некоторыми заболеваниями нейроэндокринной системы, а также с различными видами infertility у женщин и мужчин [23–26].

По мнению исследователей Научного центра акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН (Москва), оценка уровня генерации свободных радикалов кислорода в эякуляте выступает одним из важных методов, позволяющих дать характеристику фертильности спермы в условиях нормо- и патозооспермии, а также при инфекциях половых органов [27]. Полученные данные нашли подтверждение и дальнейшее развитие в наших исследованиях по изучению содержания продуктов ПОЛ, ферментативных (СОД) и неферментативных ( $\alpha$ -токоферол, ретинол) факторов АОЗ при различных видах патозооспермии (олиго-, астено-, тератозооспермии) [28]. Эта проблема становится еще более актуальной в России в связи с растущей частотой бесплодных браков, при этом одной из причин бесплодия в 36–60 % случаев является нарушение репродуктивной функции мужчин.

Весьма важным представляется вопрос о взаимодействии факторов нейроэндокринной регуляции репродуктивной функции женщин и системы «ПОЛ – АОЗ», которое, по мнению многих исследователей, носит опосредованный характер [7]. Вместе с тем вероятным представляется и прямое взаимодействие гормонов, так или иначе отвечающих за репродуктивный потенциал, с радикальными частицами липидного или иного происхождения. Так, согласно предполагаемому нами сценарию, активация ПОЛ и других свободнорадикальных процессов может сопровождаться использованием фенольных групп тиреоидных гормонов и гидроксиллов ароматического кольца А эстрогенов в качестве донаторов атомов водорода в антиоксидантной защите. В этом случае радикалы указанных гормонов могут подвергаться рекомбинации или другим превращениям, что в итоге приведет к нарушению их регуляторных функций, в том числе и воздействия на органы репродуктивной системы. Тем не менее проблема эффективности гормонов в качестве антиоксидантов остается открытой, по крайней мере, вследствие двух причин: 1) концентрация гормонов слишком мала, чтобы существенно влиять на антиоксидантный статус организма, и 2) слишком высокую цену необходимо платить за поддержание редокс-гомеостаза путем использования «высокозатратных» биологически активных молекул. В связи с этим можно полагать, что в некоторых ситуациях гормоны могут использоваться как прямые антиоксиданты, но это касается, вероятно, тех случаев, когда их защитная функция окажется более важной, чем регуляторная.

Значительное количество современных публикаций посвящено исследованию системы «ПОЛ – АОЗ» у пациенток с нейроэндокринными заболеваниями, приводящими к нарушению репродуктивной функции. Одним из таких заболеваний является гипоталамический синдром (ГС), характеризующийся нарушением гормональной функции надпочечников и яичников. Нарушения гормональной регуляции при ГС чаще проявляются гиперпролактинемией, гиперкортизолемией, гиперлептинемией, увеличением соотношения концентраций лютеинизирующего (ЛГ) и фолликулостимулирующего гормонов и содержания тестостерона [18, 29, 30].

Особенности процессов ПОЛ и АОЗ у пациенток при наличии ГС рассматриваются в отечественной и зарубежной литературе с различных позиций с учетом возраста, индекса массы тела, характера гормональных нарушений, нарушений овариальной функции. Показано, что ГС пубертатного периода с преобладани-

ем репродуктивных нарушений характеризуется активацией процессов липопероксидации в виде накопления одного из конечных продуктов ПОЛ – малонового диальдегида (МДА) на фоне снижения концентрации  $\alpha$ -токоферола и компенсаторного накопления ретинола [31]. В работе И.Н. Данусевич [32] приводятся результаты исследования процессов ПОЛ у девушек с ГС пубертатного периода при различных вариантах нарушений овариальной функции – гипофункции яичников, поликистозе яичников (ПКЯ) и дисфункции яичников. Выявлено, что у пациенток с гипофункцией яичников повышается уровень МДА и  $\alpha$ -токоферола. У больных с дисфункцией яичников отмечены менее выраженные изменения активности процессов ПОЛ при гиперпролактинемии со снижением концентраций их первичных продуктов – диеновых конъюгатов. Предполагается, что у больных с тяжелыми овариальными нарушениями пролактин выполняет роль антиоксиданта. У больных с дисфункцией и гипофункцией яичников гипотиреоз активизирует процессы липопероксидации с увеличением уровня МДА. Автором отмечена обратная корреляция между уровнем ЛГ и содержанием в сыворотке крови у больных с дисфункцией яичников  $\alpha$ -токоферола и прямая – в группе больных с ПКЯ. При этом предполагается, что развитию вторичного ПКЯ способствует снижение защитного действия витамина Е [32].

У женщин репродуктивного возраста с ГС отмечается активация процессов липопероксидации на фоне снижения резервов ферментативного и, отчасти, ферментативного звеньев антиоксидантной системы [33]. При этом определена зависимость процессов ПОЛ от характера гормональных нарушений. Так, у больных с ГС с гипофункцией щитовидной железы в отличие от женщин с эутиреозом более выражена интенсификация процессов липопероксидации при снижении уровня общей антиокислительной активности крови за счет дефицита  $\alpha$ -токоферола. У пациенток с ГС и гиперкортизолемией активность процессов ПОЛ существенно ниже, чем при нормальных концентрациях кортизола. Принимая во внимание, что гиперкортизолемия характеризует более раннюю фазу гипоталамического ожирения, а нормальная продукция глюкокортикоидов характерна для фазы стабилизации, повышение функциональной активности надпочечников на фоне антиоксидантной недостаточности рассматривается как один из факторов, значимых в развитии синдрома гиперпероксидации. Авторами отмечена тесная взаимосвязь между нарушениями гонадотропной регуляции и увеличением активности про-

цессов ПОЛ с повышением концентраций конечных продуктов липопероксидации [34, 35].

Одним из нейроэндокринных заболеваний, которое может приводить к нарушению репродуктивной функции, является сахарный диабет типа 1 (СД1). Одна из гипотез, объясняющая патогенетические механизмы аменореи при СД1, состоит в том, что при декомпенсации происходит истощение «энергетической сети» организма в результате калорийного голодания, вызванного массивными потерями глюкозы с мочой, которое препятствует ее утилизации в качестве энергоносителя [36]. Как следствие – потеря массы тела, воспринимаемая организмом как стресс. При хроническом стрессе, возникающем на фоне длительной декомпенсации СД1, наблюдается стойкое повышение тонической секреции ЛГ, что может способствовать развитию поликистозных изменений в яичниках, приводя к хронической ановуляции [37]. В настоящее время в патогенезе СД1 немаловажную роль отводят свободнорадикальному окислению. В работе М.А. Даренской [38] выявлено, что у женщин репродуктивного возраста с СД1 нарушения менструальной функции имеют место при недостатке  $\alpha$ -токоферола, восстановленного глутатиона, низкой активности СОД, повышении концентрации окисленного глутатиона и нормальном уровне ретинола. При этом отмечено увеличение диапазона изменений содержания первичных и конечных продуктов липопероксидации.

Значительное место в нарушениях репродуктивной функции у женщин занимает эндометриоз, патогенез которого связан с развитием ОС, причем согласно гипотезе американского исследователя А.А. Murphy [39], усиление роста гетеротопического эндометрия при этой патологии обусловлено увеличением интенсивности пероксидации липидов в перитонеальной жидкости и индуцированными тем самым повышением количества лейкоцитов, макрофагальной активацией и секрецией моноцито-макрофагальных дериватов цитокинов. С одной из ключевых ролей ОС в развитии эндометриоза согласны А. Augoulea et al. [40], которые считают, что введение в схему лечения антиоксидантов, иммуномодуляторов и селективных модуляторов прогестероновых рецепторов с антиоксидантным эффектом может быть успешно использовано для лечения эндометриоза. В исследовании, проведенном в нашем Центре на большой группе больных с эндометриозом (155 человек), также было установлено, что при этом заболевании повышается интенсивность пероксидации липидов с истощением факторов анти-

оксидантной защиты, что требует применения в схеме лечения комплекса редокс-витаминов ( $\alpha$ -токоферол, аскорбат) и глутоксима [41].

Показательные данные получены А.В. Лабыгиной [42] при исследовании женщин с различными формами эндокринного бесплодия. Так, было установлено, что как у женщин с гиперпролактинемией, так и у пациенток с СПКЯ повышается содержание субстратов ПОЛ, диеновых конъюгатов, кетодиенов и сопряженных триенов. У женщин с надпочечниковой гиперандрогенией увеличивается содержание субстратов при неизменном уровне первичных и вторичных продуктов ПОЛ. Общим у пациенток с различными формами эндокринного бесплодия является снижение концентрации в сыворотке крови малонового диальдегида. Нами получены приоритетные данные, что у всех пациенток наблюдается напряжение в системе АОЗ, о чем свидетельствует высокий уровень общей антиокислительной активности сыворотки крови на фоне увеличения содержания окисленного глутатиона и снижении концентраций  $\alpha$ -токоферола, ретинола. У бесплодных женщин с СПКЯ, надпочечниковой гиперандрогенией, гиперпролактинемией, кроме того, отмечается и снижение уровня аскорбата [43].

Значительный интерес представляют исследования Л.И. Колесниковой [44] особенностей системы «ПОЛ – АОЗ» у женщин в динамике неосложненной беременности и беременности, осложненной угрозой прерывания. Показано, что у пациенток наиболее значимым критерием является повышение уровней гидроперекисей липидов на ранних сроках беременности. В первом триместре неосложненной беременности в крови у женщин концентрация продуктов ПОЛ уменьшается с последующим повышением к родам. В группе женщин, у которых произошли преждевременные роды, содержание  $\alpha$ -токоферола снижено, а концентрации гидроперекисей липидов и МДА резко возрастают, особенно в третьем триместре. При неосложненной беременности уровень восстановленного глутатиона возрастает по мере протекания беременности, а при угрозе прерывания и при беременности, закончившейся преждевременными родами, содержание глутатиона ниже, чем при физиологической беременности. Показательно, что в плаценте и амниотической жидкости изменение содержания продуктов ПОЛ имеет ту же тенденцию, что и в крови, к родам оно увеличивается в 4 раза по сравнению с первым триместром. Содержание глутатиона в плаценте в период от 12 до 40 недели беременности повышается более чем наполовину, а в амниотической жид-

кости концентрация антиоксиданта возрастает в 2 раза [44].

Установленные взаимосвязи между гиперактивацией процессов ПОЛ и структурно-функциональными нарушениями в системе «мать – внезародышевые органы – плод», а также основанный на этой взаимосвязи протективный эффект антиоксидантов открывают новые перспективы в области профилактики и лечения осложнений беременности и предупреждения патологии плода и новорожденного [23].

В патогенезе возникновения гормонозависимых заболеваний органов репродуктивной системы, к которым относятся дисгормональные заболевания молочных желез, сопровождающиеся увеличением уровня эстрогенов, пролактина и дефицитом прогестерона, особая роль принадлежит также неспецифическим биохимическим процессам липопероксидации. Согласно исследованиям Е.В. Гальченко, Л.А. Гребенкиной [45, 46], у женщин с дисфункцией яичников и диффузной дисгормональной мастопатией выявлено накопление первичных и промежуточных продуктов липопероксидации на фоне снижения уровней ретинола, активности СОД и дисбаланса в системе глутатиона, что сопровождается компенсаторным повышением общей антиоксидантной активности сыворотки крови. Выявленные изменения в системе «ПОЛ – АОЗ» могут указывать на формирование такого патологического состояния, как окислительный стресс. Это не противоречит исследованиям З.А. Абу-суевой и др. [47], которые показали увеличение концентрации МДА в плазме крови женщин при заболеваниях молочной железы. Высокий уровень МДА является признаком клеточных повреждений и развития пролиферативных процессов в молочных железах. На основании проведенных исследований авторы полагают, что высокая концентрация МДА свидетельствует об интенсивности ПОЛ у женщин, страдающих диффузной мастопатией, которые представляют группу высокого онкологического риска по заболеванию молочных желез.

В условиях многонациональных регионов Российской Федерации изучение этнических особенностей течения процессов «ПОЛ – АОЗ» приобретает особую актуальность в плане установления патогенеза различных заболеваний, в том числе репродуктивных нарушений. Анализ проведенных в нашем Научном центре комплексных клинико-лабораторных исследований позволил выявить определенные метаболические особенности течения ряда репродуктивных нарушений у представительниц бурятской популяции в сравнении с русскими [48, 49]. Так,

при угрозе прерывания беременности у буряток установлена более высокая концентрация железа, что ассоциируется с увеличенной генерацией промежуточных и конечных продуктов ПОЛ. Кроме того, получены данные относительно состояния системы «ПОЛ – АОЗ» в динамике беременности высокой степени риска (1–3 триместры беременности) у женщин различных этнических групп: у пациенток бурятской популяции активация процессов ПОЛ сопровождается возрастанием общей антиоксидантной активности сыворотки крови, в отличие от пациенток русской национальности, у которых на фоне повышенного уровня продуктов ПОЛ происходит незначительное снижение содержания различных компонентов АОЗ.

Согласно последним исследованиям Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (г. Иркутск) установлено, что у бесплодных пациенток с гиперпролактинемией в русской и бурятской популяциях, проживающих на территории Бурятии, происходит увеличение содержания конечных ТБК-реактивных продуктов в сочетании с недостаточностью АОЗ. При этом у буряток отмечается снижение общей антиоксидантной защиты, активности супероксиддисмутазы, уровня  $\alpha$ -токоферола в отличие от пациенток русской популяции, у которых отмечается дисбаланс в системе глутатиона [50].

Таким образом, анализ отечественной и зарубежной литературы, а также наш собственный опыт в исследовании системы «ПОЛ – АОЗ», со всей очевидностью свидетельствуют, что окислительный стресс сопровождает и/или является одним из ключевых патогенетических звеньев в развитии многих видов репродуктивной патологии. Это приводит к твердому убеждению о необходимости исследования активности свободнорадикальных процессов, в частности ПОЛ, и механизмов антиоксидантной защиты при нарушении репродуктивного здоровья у женщин и мужчин. При выявленных нарушениях требуется применение антиоксидантов, комплекс которых должен подбираться строго индивидуально с учетом характера обнаруженного дисбаланса в прооксидантно-антиоксидантной системе.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кулаков В.И., Лопатина Т.В. Репродуктивное здоровье населения России // Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению / Ред. В.И. Кулаков. М., 2006. 10–19.  
*Kulakov V.I., Lopatina T.V. Reproductive health of the population of Russia // Infertile marriages.*

Current approaches to diagnosis and treatment / Ed. V.I. Kulakov. M., 2006. 10–19.

2. Колесникова Л.И., Сутурина Л.В., Лабьгина А.В. и др. Нарушение репродуктивного здоровья и репродуктивного потенциала в современных условиях Восточной Сибири // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. 2007. (2). 41–44.

*Kolesnikova L.I., Suturina L.V., Labygina A.V. et al.* Violations of reproductive health and reproductive capacity in the present conditions in Eastern Siberia // *Byul. VSNC SO RAMN.* 2007. (2). 41–44.

3. Филиппов О.С. Бесплодный брак в Западной Сибири: автореф. дис. ... докт. мед. наук. М., 1999.

*Filippov O.S.* Infertile marriage in Western Siberia: abstract of thesis ... doctor of medical sciences. M., 1999.

4. Адамян Л.В., Калинина Е.А., Колотовкина А.В. и др. Клинико-эмбриологические аспекты эндометриоз-ассоциированного бесплодия (обзор литературы) // Проблемы репродукции. 2010. 16. (5). 47–51.

*Adamyan L.V., Kalinina E.A., Kolotovkina A.V. et al.* Clinical and embryological aspects of endometriosis-associated infertility (literature review) // *Problemy reproduksii.* 2010. 16. (5). 47–51.

5. Бесплодный брак / Ред. В.И. Кулаков. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. 616 с.

*Infertile marriage / Ed. V.I. Kulakov.* M.: GEOTAR-Media, 2005. 616 p.

6. Кузьменко Е.Т. Клинико-эпидемиологические аспекты женского бесплодия (на примере Иркутской области): автореф. дис. ... канд. мед. наук. Иркутск, 2008.

*Kuzmenko E.T.* Clinical and epidemiological aspects of female infertility (by the example of the Irkutsk region): abstract of thesis ... candidate of medical sciences. Irkutsk, 2008.

7. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс: Биохимический и патофизиологический аспекты. М.: МАИК «Наука/Интерпериодика», 2001. 343 с.

*Zenkov N.K., Lankin V.Z., Menshchikova E.B.* Oxidative stress: Biochemical and pathophysiological aspects. M.: MAIK «Nauka/Interperiodica», 2001. 343 p.

8. Величковский Б.Т. Свободнорадикальное окисление как звено срочной и долговременной адаптации организма к факторам окружающей среды // Вестн. РАМН. 2001. (6). 45–52.

*Velichkovsky B.T.* Free radical oxidation as a link of early and prolonged adaptation to environmental factors // *Byul. RAMN.* 2001. (6). 45–52.

9. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты // Вестн. РАМН. 1998. (7). 43–51.

*Vladimirov Yu.A.* Free radicals and antioxidants // *Byul. RAMN.* 1998. (7). 43–51.

10. Крыжановский Г.Н. Дизрегуляторная патология. М.: Медицина, 2002. 630 с.

*Kryzhanovsky G.N.* Dysregulation pathology. M.: Meditsina, 2002. 630 p.

11. Сазонтова Т.Г., Архипенко Ю.В. Значение баланса прооксидантов и антиоксидантов – равнозначных участников метаболизма // Патологич. физиол. экперим. терапия. 2007. (3). 2–18.

*Sazontova T.G., Archipenko Y.V.* Value of the balance of prooxidants and antioxidants – equivalent participants of metabolism // *Patologich. fiziol. eksperim. terapiya.* 2007. (3). 2–18.

12. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З. и др. Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания. Новосибирск: АРТА, 2008. 284 с.

*Menshchikova E.B., Zenkov N.K., Lankin V.Z. et al.* Oxidative stress: pathological conditions and diseases. Novosibirsk: ARTA, 2008. 284 p.

13. Колесников С.И., Колесникова Л.И., Долгих В.В. и др. Функциональная активность мозга и процессы перекисного окисления липидов у детей при формировании психосоматических расстройств. Новосибирск: Наука, 2008. 200 с.

*Kolesnikov S.I., Kolesnikova L.I., Dolgikh V.V. et al.* Brain functional activity and lipids peroxidation processes in children at psychosomatic pathology formation. Novosibirsk: Nauka, 2008. 200 p.

14. Осипова Е.В., Колесникова Л.И., Малышев В.В. Биоэлементы и межполушарная асимметрия при заболеваниях нервной системы у детей. Новосибирск: Наука, 2006. 188 с.

*Osipova E.V., Kolesnikova L.I., Malyshev V.V.* Bioelements and hemispheric asymmetry at diseases of the nervous system in children. Novosibirsk: Nauka, 2006. 188 p.

15. Рудер Е.Н., Хартман Т.Д., Голдман М.В. Impact of oxidative stress on female fertility // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 2009. 21. (3). 219–222.

16. Зенков Н.К., Кандалинцева Н.В., Ланкин В.З. и др. Фенольные антиоксиданты. Новосибирск, 2003. 328 с.

*Zenkov N.K., Kandalintseva N.V., Lankin V.Z. et al.* Phenolic antioxidants. Novosibirsk, 2003. 328 p.

17. Колесникова Л.И., Осипова Е.В., Гребенкина Л.А. Окислительный стресс при репродуктивных нарушениях эндокринного генеза у женщин. Новосибирск: Наука, 2011. 137 с.

*Kolesnikova L.I., Osipova E.V., Grebenkina L.A.* Oxidative stress in the reproductive endocrine genesis disorders of women. Novosibirsk: Nauka, 2011. 137 p.

18. Сутурина Л.В., Колесникова Л.И. Основные патогенетические механизмы и методы кор-

рекции репродуктивных нарушений у больных с гипоталамическим синдромом. Новосибирск: Наука, 2001. 134 с.

*Suturina L.V., Kolesnikova L.I.* The main pathogenetic mechanisms and methods of correction of reproductive disorders in patients with hypothalamic syndrome. Novosibirsk: Nauka, 2001. 134 p.

19. *Agarwal A., Alamaneni S.* Oxidants and antioxidants in human fertility // Middle East. Fertility J. 2004. 9. 187–197.

20. *Колесникова Л.И., Загарских Е.Ю., Колесников С.И. и др.* Медико-социальные аспекты формирования нарушений репродуктивного потенциала у мальчиков подросткового возраста, проживающих в промышленных центрах. Новосибирск: Наука, 2010. 100 с.

*Kolesnikova L.I., Zagarskih E., Kolesnikov S.I. et al.* Medico-social aspects of the formation of violations of reproductive capacity among adolescent boys, living in industrial centers. Novosibirsk: Nauka, 2010. 100 p.

21. *Makker K., Agarwal A., Sharma R.* Oxidative stress and male infertility // Indian J. Med. Res. 2009. 129. (4). 357–367.

22. *Agarwal A., Gupta S., Sekhon L. et al.* Redox considerations in reproductive function and assisted reproduction: from molecular mechanisms to health implications // Antioxid. Redox Signal. 2008. 10. (8). 1375–1403.

23. *Протопопова Н.В., Колесникова Л.И., Ильин В.П.* Метаболизм и гемодинамика у беременных с артериальной гипертензией. Новосибирск: Наука, 2000. 260 с.

*Protopopova N.V., Kolesnikova L.I., Il'in V.P.* Metabolism and hemodynamics in pregnant women with hypertension. Novosibirsk: Nauka, 2000. 260 p.

24. *Протопопова Н.В., Кравчук Н.В., Колесникова Л.И.* Патогенетические механизмы задержки внутриутробного развития плода. Новосибирск: Наука, 2002. 196 с.

*Protopopova N.V., Kravchuk N.V., Kolesnikova L.I.* Pathogenetic mechanisms of intrauterine growth retardation. Novosibirsk: Nauka, 2002. 196 p.

25. *Скляр Н.В.* Основные закономерности нарушений метаболизма эстрогенов, процессов перекисидации липидов и антиоксидантной защиты у женщин с миомой матки и бесплодием: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Иркутск, 2008.

*Sklyar N.V.* Main mechanisms of estrogen metabolism disorders, lipid peroxidation processes, and antioxidant system in women with uterine myoma and infertility: abstract of thesis ... candidate of medical sciences. Irkutsk, 2008.

26. *Шолохов Л.Ф., Колесникова Л.И., Протопопова Н.В. и др.* Закономерности развития адап-

тивных и дизадаптивных реакций системы нейроэндокринной регуляции организма в динамике беременности у женщин с различной степенью риска развития перинатальной патологии // Здоровье. Медицинская экология. Наука. 2009. 39–40. (4–5). 203–205.

*Sholokhov L.F., Kolesnikova L.I., Protopopova N.V. et al.* Patterns of adaptive and dysadaptive reactions of the neuroendocrine regulation of the organism in the course of pregnancy in women with varying degrees of risk of perinatal pathology // Zdorov'e. Meditsinskaya ekologiya. Nauka. 2009. 39–40. (4–5). 203–205.

27. *Тер-Аванесов Г.В.* Коррекция репродуктивной функции мужчин при эндокринных нарушениях. Практическое руководство. М., 2002. 63 с.

*Ter-Avanesov G.V.* Correction of reproductive function of men with endocrine disorders. Practical guide. M., 2002. 63 p.

28. *Сафроненко А.В.* Основные изменения элементного и гормонально-метаболического статуса у мужчин с патоспермией: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Иркутск, 2008.

*Safronenko A.V.* Main changes of elemental and hormonal-metabolic status in men with pathospermia: abstract of thesis ... candidate of medical sciences. Irkutsk, 2008.

29. *Артымук Н.Е.* Лептин и репродуктивная система женщин с гипоталамическим синдромом // Акушерство и гинекология. 2003. (4). 36–39.

*Artymuk N.E.* Leptin and reproductive system in women with hypothalamic syndrome // Akusherstvo i ginekologiya. 2003. (4). 36–39.

30. *Arroyo A., Laughlin G.A., Morales A.J. et al.* Inappropriate gonadotropin secretion in polycystic ovary syndrome – influence of adiposity // J. Clin. Endocrinol. Metab. 1997. 82. (11). 3728–3733.

31. *Сухинина К.В.* Особенности компонентного состава тела и состояния гормонально-метаболических систем при различных вариантах течения гипоталамического синдрома пубертатного периода у девушек: автореф. дис. ...канд. биол. наук. Иркутск, 2007.

*Sukhinina K.V.* Features of the body component composition and endocrine-metabolic status of systems for different variants of the hypothalamic syndrome course of puberty in girls: abstract of thesis ... candidate of biological sciences. Irkutsk, 2007.

32. *Данусевич И.Н.* Нарушение овариальной функции у девушек с гипоталамическим синдромом (вопросы патогенеза и диагностики): автореф. дис. ... канд. мед. наук. Иркутск, 2000.

*Danusevich I.N.* Violation of ovarian function in women with hypothalamic syndrome (problems

of pathogenesis and diagnosis): abstract of thesis ... candidate of medical sciences. Irkutsk, 2000.

33. Даржаев З.Ю. Вторичный поликистоз яичников при нейроэндокринной форме гипоталамического синдрома (вопросы патогенеза и диагностики): автореф. дис. ... канд. мед. наук. Иркутск, 2000.

Darzhaev Z.Yu. Secondary polycystic ovaries in the form of neuroendocrine hypothalamic syndrome (problems of pathogenesis and diagnosis): abstract of thesis ... candidate of medical sciences. Irkutsk, 2000.

34. Сутурина Л.В. Гипоталамический синдром: основные звенья патогенеза, диагностика, патогенетическая терапия и прогноз: автореф. дис. ... докт. мед. наук. Иркутск, 2002.

Suturina L.V. Hypothalamic syndrome: basic pathogenesis, diagnosis, pathogenetic therapy and prognosis: abstract of thesis ... doctor of medical sciences. Irkutsk, 2002.

35. Курашова Н.А. Изменения нейрогормональной регуляции и свободнорадикального окисления липидов у женщин с гипоталамическим синдромом в различных возрастных периодах: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Иркутск, 2005. 20.

Kurashova N.A. Changes in neurohormonal regulation and free radical oxidation of lipids in women with hypothalamic syndrome in different age periods: abstract of thesis ... candidate of biological sciences. Irkutsk, 2005.

36. Дедов И.И., Кураева Т.Л., Петеркова В.А. и др. Сахарный диабет у детей и подростков. Руководство для врачей. М.: Универсум Паблишинг, 2003. 391 с.

Dedov I.I., Kuraeva T.L., Peterkova V.A. et al. Diabetes mellitus in children and adolescents. A guide for doctors. M.: Universum Publishing, 2003. 391 p.

37. Jovanovic-Peterson L. Hormone replacement therapy and diabetes // Clin. Diabet. 1996. 142. 146–151.

38. Даренская М.А. Закономерности изменений процессов ПОЛ – АОЗ и гормональной регуляции в различные периоды становления репродуктивной системы у больных сахарным диабетом 1 типа: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Иркутск, 2005.

Darenskaya M.A. Regularities of LPO – AOP and hormonal regulation in different periods of formation of the reproductive system in patients with type 1 diabetes mellitus: abstract of thesis ... candidate of biological sciences. Irkutsk, 2005.

39. Murphy A.A. Clinical aspects of endometriosis // Ann. N. Y. Acad. Sci. 2002. 955. 1–10.

40. Augoulea A., Mastorakos G., Lambrinoudaki I. et al. The role of the oxidative stress in the en-

dometriosis-related infertility // Gynecol. Endocrinol. 2009. 25. (2). 75–81.

41. Ермолова Е.В. Диагностическая значимость гормонально-метаболических нарушений при бесплодии, ассоциированном с генитальным эндометриозом: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Иркутск, 2006.

Ermolova E.V. Diagnostic value of hormonal and metabolic abnormalities in infertility associated with endometriosis: abstract of thesis ... candidate of medical sciences. Irkutsk, 2006.

42. Лабыгина А.В. Основные клинико-патогенетические варианты женского эндокринного бесплодия: автореф. дис. ... докт. мед. наук. Иркутск, 2010.

Labygina A.V. The main clinical and pathogenetic variants of female endocrine sterility: abstract of thesis ... doctor of medical sciences. Irkutsk, 2010.

43. Корнакова Н.В. Функциональное состояние системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» у женщин с эндокринным бесплодием: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Иркутск, 2008.

Kornakova N.V. Functional status of the «lipid peroxidation – antioxidant protection» for women with endocrine sterility: abstract of thesis ... candidate of biological sciences. Irkutsk, 2008.

44. Колесникова Л.И. Роль процессов перекисного окисления липидов в патогенезе осложнений беременности: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Иркутск, 1993.

Kolesnikova L.I. Role of lipid peroxidation in the pathogenesis of pregnancy complications: abstract of thesis ... doctor of medical sciences. Irkutsk, 1993.

45. Гальченко Е.В. Применение антиоксидантов в комплексной терапии женщин с овариальной дисфункцией и дисгормональной мастопатией: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Иркутск, 2007.

Galchenko E.V. The use of antioxidants in the treatment of women with ovarian dysfunction and dyshormonal mastopathy: abstract of thesis ... candidate of medical sciences. Irkutsk, 2007.

46. Гребенкина Л.А. Закономерности формирования окислительного стресса у женщин с диффузной мастопатией в динамике менструального цикла: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Иркутск, 2007.

Grebenkina L.A. Regularities in the formation of oxidative stress in women with diffuse mastopathy in the dynamics of the menstrual cycle: abstract of thesis ... candidate of biological sciences. Irkutsk, 2007.

47. Абусуева З.А., Коробейников А.П., Стрижова Н.В. и др. Интенсивность перекисного окисления липидов при заболеваниях молочной железы и их состояние при проведении замести-

тельной гормональной терапии // Акушерство и гинекология. 2006. (1). 48–50.

*Abusueva Z.A., Korobeinikov A.P., Strizhova N.V. et al.* Lipid peroxidation intensity at breast diseases and its status during hormone replacement therapy // *Akusherstvo i ginekologiya*. 2006. (1). 48–50.

48. *Даренская М.А., Старостенко О.В.* Этнические особенности пероксидации липидов и антиоксидантной защиты у беременных при наличии угрозы прерывания беременности // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. 2007. (1). 141–142.

*Darenskaya M.A., Starostenko O.V.* Ethnic peculiarities of lipid peroxidation and antioxidative defense in pregnant women in the presence of threatened abortion // *Byul. VSNC SO RAMN*. 2007. (1). 141–142.

49. *Колесникова Л.И., Даренская М.А., Гребенкина Л.А. и др.* Изучение состояния процесса

липопероксидации у женщин различных этнических групп с угрозой прерывания беременности // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. 2010. (6). 31–33.

*Kolesnikova L.I., Darenskaya M.A., Grebenkina L.A. et al.* The study of the status of lipid peroxidation in women of different ethnic groups with the threat of termination of pregnancy // *Byul. VSNC SO RAMN*. 2010. (6). 31–33.

50. *Лабыгина А.В., Колесникова Л.И., Сутуркина Л.В. и др.* Некоторые клинические и метаболические особенности бесплодия у женщин русской и бурятской национальности // V Международный конгресс по репродуктивной медицине. М., 2010. 105–106.

*Labygina A.V., Kolesnikova L.I., Suturina L.V. et al.* Some clinical and metabolic characteristics of infertility in Russian and Buryat women // V International Congress on Reproductive Medicine. M., 2010. 105–106.

## OXIDATIVE STRESS AS NONSPECIFIC PATHOGENETIC LINK OF REPRODUCTIVE DISORDERS (SYSTEMATIC REVIEW)

**Lyubov Il'ichna KOLESNIKOVA, Lyudmila Anatolevna GREBENKINA, Marina Aleksandrovna DARENSKAYA, Boris Yakovlevich VLASOV**

*Scientific Centre for Problems of Family Health and Human Reproduction SB RAMS  
664003, Irkutsk, Timiryazev str., 16*

The analysis of national and foreign literature for the last few years as well as the results obtained by the Scientific Centre for Problems of Family Health and Human Reproduction SB RAMS clearly indicate that oxidative stress accompanies and / or is a key pathogenetic link in the development of many types of reproductive disorders. On the basis of this fact it seems appropriate that further researches of the roles of the “lipid peroxidation – antioxidant protection” system are essential. Moreover, there is a good reason for antioxidants complex administration with regard to the oxidative imbalance nature.

**Key words:** reproductive disorders, oxidative stress, lipid peroxidation, antioxidant protection.

*Kolesnikova L.I.* – doctor of medical sciences, professor, corresponding member of RAMS, director, e-mail: [iphr@sbamsr.irk.ru](mailto:iphr@sbamsr.irk.ru)

*Grebenkina L.A.* – candidate of biological sciences, senior researcher of the laboratory for reproduction pathophysiology, e-mail: [iphr@sbamsr.irk.ru](mailto:iphr@sbamsr.irk.ru)

*Darenskaya M.A.* – candidate of biological sciences, senior researcher of the laboratory for reproduction pathophysiology, e-mail: [iphr@sbamsr.irk.ru](mailto:iphr@sbamsr.irk.ru)

*Vlasov B.Ya.* – doctor of medical sciences, professor, senior researcher of the laboratory for reproduction pathophysiology, e-mail: [iphr@sbamsr.irk.ru](mailto:iphr@sbamsr.irk.ru)

## ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

УДК 616-092.19+57.017.3

**Активность антиоксидантной системы при беременности  
в норме и при гипоксии****А.В. Граф<sup>1,3</sup> , А.А. Байжуманов<sup>2</sup> , М.В. Маслова<sup>1</sup>, Я.В. Крушинская<sup>1</sup>,  
А.С. Маклакова<sup>1</sup>, Н.А. Соколова<sup>1</sup>, А.А. Каменский<sup>1,\*</sup> **<sup>1</sup>*Кафедры физиологии человека и животных и <sup>2</sup>кафедра биофизики, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;*<sup>3</sup>*Институт нано-, био-, информационных, когнитивных и социогуманитарных наук и технологий, Московский физико-технический институт, Россия, 123098, г. Москва, ул. Максимова, д. 4**\*e-mail: kamensky\_msu@mail.ru*

Беременность у млекопитающих характеризуется увеличением базального потребления кислорода, с ее развитием происходит усиление окислительного стресса (ОС), а при беременности, осложненной гипоксическим стрессом, увеличивается окислительное повреждение. ОС в период внутриутробного развития является одним из ключевых факторов патогенеза большинства нарушений беременности, в том числе преждевременных родов и преэклампсии. Растущая потребность в кислороде, с одной стороны, увеличивает продукцию активных форм кислорода, а с другой – усиливает синтез компонентов антиоксидантной защиты (АОЗ). Для оценки активности системы АОЗ у самок крыс определяли содержание небелковых тиолов в крови и гомогенате печени, каталазную активность в гомогенате печени, супероксиддисмутазную активность в плазме крови и гомогенате печени, общую антиоксидантную активность плазмы крови, а также оценивали интенсивность перекисного окисления липидов в плазме крови и гомогенате печени. По ряду параметров показано снижение активности системы АОЗ в плазме крови и печени самок именно в предродовом периоде нормальной беременности и, в особенности, беременности, осложненной гипоксическим стрессом. Можно предположить, что изменения показателей АОЗ в крови отражают изменения не только в организме матери, но и в плаценте, а значит, могут представлять потенциальную опасность для развивающегося плода.

**Ключевые слова:** прооксидантная система, антиоксидантная система, окислительный стресс, беременность, активные продукты тиобарбитуровой кислоты, супероксиддисмутаза

Беременность характеризуется динамическими изменениями во многих системах организма, что приводит к увеличению базального потребления кислорода: растет уровень обмена веществ, изменяется соотношение энергетических субстратов, используемых различными системами организма, увеличиваются частота сердечных сокращений и минутный объем сердца, усиливаются маточное и почечное кровообращение [1]. Беременность, предъявляя более высокие энергетические требования организму, делает его более уязвимым в ситуациях, требующих мобилизации жизненных сил, в частности – при защите от окислительного стресса (ОС), который вовлечен во многие репродуктивные расстройства и нарушения беременности, от субфертильности до выкидыша, сосудистых заболеваний матери и преждевременных родов [2]. Многие исследования показали, что во время беременности усиливается ОС, а при беременности, осложненной такими состояниями как гипоксический стресс и пре-

эклампсия, увеличивается окислительное повреждение [3]. Причины увеличения риска ОС у матери во время беременности неизвестны; тем не менее, накопленные данные свидетельствуют о том, что важную роль в этом играет плацента и риск увеличивается с течением беременности, так как растущая плацента очень сильно васкуляризована, потребляет много кислорода и содержит множество митохондрий, что способствует росту образования активных форм кислорода (АФК), который пропорционален уровню напряжения кислорода [1, 4–6]. При этом важно учитывать, что окислительные процессы при беременности, особенно на ранних сроках, выполняют фундаментальную регулирующую функцию, так как кислород является одним из регуляторных факторов, влияющих на пролиферацию цитотрофобластов в первый триместр беременности. Так как кровоснабжение плаценты в этот период еще минимально, то формирование плаценты происходит в условиях гипоксии. В клетках млекопитаю-

щих гипоксия стимулирует экспрессию кислород-регулируемых белков стресса, белков теплового шока, цитокинов и факторов роста, включая эритропоэтин, эндотелин, IL-1, IL-8 и т. д. Последующее увеличение потребности в кислороде увеличивает продукцию АФК, а также синтез компонентов антиоксидантной защиты (АОЗ) [7]. Проблемы возникают, когда происходит дисбаланс между прооксидантами и антиоксидантами, либо из-за чрезмерного образования прооксидантов, либо из-за снижения активности антиоксидантной системы, что приводит к недостаточной восстановительной способности антиоксидантов. Обычно это происходит, если концентрация кислорода изменяется слишком быстро, как правило, вследствие различных заболеваний матери, общим компонентом которых является гипоксия, ведущая к нарушению маточно-плацентарного кровообращения и являющаяся основной причиной возникновения гипоксии плода и новорожденных [8].

В настоящее время имеется разрозненная информация относительно исходных уровней ОС и АОЗ у женщин с неосложненной беременностью. Поскольку ОС может играть как физиологическую, так и патологическую роль в развитии и исходе беременности, целью нашего исследования было охарактеризовать профили АОЗ здоровых самок в разные периоды беременности, а также сравнить уровень АОЗ при нормальной беременности и на фоне гипоксического стресса. Изменение активности АОЗ в течение нормальной беременности и беременности, отягощенной гипоксическим стрессом, имеет не только фундаментальное, но и клиническое значение: применение антиоксидантов при ряде нарушений беременности вместо ожидаемого улучшения состояния оказывается в лучшем случае бесполезным, а порой и вредным, повышая риск неблагоприятного исхода беременности [9, 10].

### Материалы и методы

**Эксперименты на животных.** Все эксперименты на животных проводились в соответствии с Руководством по уходу и использованию лабораторных животных, опубликованным Директивами Европейского Союза 86/609 / ЕЕС и 2010/63 / ЕУ. Животных содержали при  $21 \pm 2^\circ\text{C}$  и относительной влажности  $53 \pm 5\%$  с циклом 12/12 ч свет / темнота (свет 9:00 = ZT 0, свет выключен 21:00 = ZT 12).

В эксперименте использовали самок крыс линии Вистар, беременных ( $n = 32$ ) и небеременных ( $n = 22$ ), массой около 250–300 г. Для получения беременных крыс двух самок помещали в клетку с одним самцом. Через 24 ч проводили анализ вагинального мазка. Первые сутки беременности отсчитывали от момента обнаружения в мазке сперматозоидов.

Использовали шесть групп крыс-самок: (1) небеременные контрольные – К(НБ); (2) небеременные, подвергавшиеся воздействию острой гипобарической гипоксии (ОГГ) – ОГГ(НБ); (3) контрольные на 11-е сут беременности – К(Б11); (4) самки на 11-е сут беременности, подвергшиеся воздействию гипоксии накануне – ОГГ(Б11), данный срок беременности у крыс соответствует первому триместру беременности человека, когда происходит органогенез; (5) контрольные на 21-е сут беременности – К(Б21); (6) самки на 21-е сут беременности, подвергшиеся воздействию гипоксии накануне – ОГГ(Б21), данный срок беременности у крыс соответствует третьему триместру беременности человека и относится к предродовому периоду [11–13]. Количество животных в каждой экспериментальной группе указано в подрисуночных подписях.

Анализ полученных результатов проводился по трем направлениям: 1) сравнение контрольных группы между собой – К(НБ), К(Б11), К(Б21) (верхний ряд графиков на рисунках); 2) сравнение контрольных и опытных групп – К(НБ) и ОГГ(НБ), К(Б11) и ОГГ(Б11), К(Б21) и ОГГ(Б21) (верхние и нижние графики); 3) сравнение опытных групп между собой – ОГГ(НБ), ОГГ(Б11), ОГГ(Б21) (нижний ряд графиков на рисунках).

**Моделирование ОГГ.** Самок крыс подвергали ОГГ в декомпрессионной камере объемом 3,3 л путем снижения атмосферного давления с помощью вакуумного насоса «Mez Mohelnice» (Чехия) за 1 мин до 145 мм рт. ст., что соответствует высоте 11500 м ( $5\% \text{O}_2$ ), по стандартной методике [14]. Во время моделирования гипоксии у самок крыс регистрировали время от момента окончания снижения давления до остановки дыхания. Среднее время пребывания крыс в условиях гипоксии составило: для группы ОГГ(НБ) –  $153,4 \pm 42,6$  с, для группы ОГГ(Б11) –  $169,6 \pm 53,8$  с, для группы ОГГ(Б21) –  $148,3 \pm 23,9$  с. Достоверных различий по данному показателю между группами не наблюдалось.

**Оценка состояния системы АОЗ.** Основными антиоксидантными белками в плазме крови, которые участвуют в детоксикации супероксидных анион-радикалов, являются внеклеточная Cu, Zn-супероксиддисмутаза (СОДЗ) и церулоплазмин. Снижение активности СОДЗ и количества церулоплазмينا в плазме крови способствует окислительным процессам в крови, влияя на физико-химические свойства эритроцитов и функциональное состояние гемоглобина, что может привести к гипоксии. Пероксид водорода, образующийся при дисмутации супероксидного анион-радикала, нейтрализуется глутатионпероксидазной и каталазной системами. В этих реакциях участвуют восстановленный глутатион, который составляет основную часть пула небелковых

тиолов, и каталаза. Общая антиоксидантная активность (ОАА) плазмы крови определяется количеством низкомолекулярных антиоксидантов, в основном – уратов. Уровень веществ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), определяется в основном конечными продуктами перекисного окисления липидов и используется в качестве маркера ОС.

Определяли содержание небелковых тиолов в крови и гомогенате печени, каталазную активность в гомогенате печени, СОД3 в плазме крови и общую активность супероксиддисмутазы (СОД) в гомогенате печени, ОАА плазмы крови, а также оценивали интенсивность перекисного окисления липидов в плазме крови и гомогенате печени. Для этого через 24 ч после моделирования гипоксии животных декапитировали, брали кровь (для измерения небелковых тиолов и выделения плазмы) и печень (для получения гомогената).

**Получение крови и плазмы крови.** Забор проб крови проводили во время декапитации животных. Цельную кровь (с добавленным гепарином, 10 ед./мл) центрифугировали 10 мин при 2000 об./мин и 4°C (центрифуга Heraeus Labofuge 400R, Thermo Fisher Scientific, США). Плазму отбирали для измерения активности СОД3, количества церулоплазмينا, ОАА плазмы, общего количества белка, количества ТБК-активных продуктов (ТБК-АП).

**Получение 10%-ного гомогената печени.** Цельный кусок органа (массой до 250 мг) помещали в раствор калий-фосфатного буфера (0,015 М, рН = 7,8) в соотношении 1:9 и гомогенизировали (гомогенизатор SilentCrusherS, Heidolph, Германия) при 4°C. В полученном гомогенате измеряли СОД и каталазную активности, общее количество белка, количество небелковых тиолов и ТБК-АП.

**Определение СОД3 и СОД.** Супероксиддисмутазную активность определяли в плазме крови (СОД3) и в гомогенате печени (СОД). Метод основан на способности биологических образцов подавлять автоокисление адреналина в щелочном буфере, измерение активности проводили при 25°C. Одна единица активности СОД3 и СОД определяется как ингибирование скорости окисления адреналина на 50%. Изменение поглощения измеряли при 485 нм. Активность выражали в усл. ед./мг белка [15].

**Определение каталазной активности в гомогенате печени.** Принцип метода основан на том, что каталаза разрушает  $H_2O_2$ . Измеряют уменьшение оптической плотности образца при 240 нм. Одна единица каталазной активности равна количеству фермента, необходимого для переработки 1 микромоля  $H_2O_2$  в минуту при 37°C. Количество израсходованной  $H_2O_2$ /мин вычисляли с учетом коэффициента экстинкции –  $46,3 M^{-1}cm^{-1}$ . Активность фермента выражали в единицах каталаз-

ной активности на мг общего белка в минуту ( $кU/г$  белка).

**Определение количества церулоплазмينا.** Количество церулоплазмينا определяли по оксидазной активности белка, используя в качестве субстрата окисления ортофенилендиамин (MP Biomedicals, США), окрашенный продукт реакции измеряли при 492 нм. Концентрацию церулоплазмينا, выраженную в мкг/мл, определяли по калибровочной кривой, построенной с использованием стандартных растворов церулоплазмينا.

**Определение количества небелковых тиолов в крови и гомогенате печени.** Метод основан на реакции SH-группировок с реактивом Элмана (5,5'-дитиобис-(2-нитробензойная кислота)) с образованием окрашенного продукта. Определение оптической плотности проводили при длине волны 412 нм, концентрацию рассчитывали с учетом разведения, молярного коэффициента экстинкции  $136000 M^{-1}cm^{-1}$  и пересчитывали на гемоглобин (в крови) или общий белок (в гомогенате печени), выражали в нмоль/мг Гб и нмоль/мг белка соответственно.

**Определение ОАА плазмы крови.** Метод основан на способности антиоксидантов плазмы крови, в основном уратов, участвовать в образовании комплекса восстановленного железа с 2,4,6-трипиридилтриазином с максимумом поглощения при длине волны 593 нм. ОАА определяли по калибровочной прямой с использованием известных концентраций восстановленного железа и выражали в мкмоль  $Fe^{2+}$ /л плазмы [16].

**Определение количества ТБК-АП в плазме крови и гомогенате печени.** ТБК-АП появляются в результате взаимодействия конечных продуктов перекисного окисления липидов с 2-тиобарбитуровой кислотой, что позволяет определять их концентрацию по поглощению при 532 нм. Содержание ТБК-АП в крови определяли с учетом разведений и коэффициента молярной экстинкции комплекса малонового диальдегида с ТБК,  $0,156 мкM^{-1}cm^{-1}$ . Полученные данные выражали в нмоль/мл плазмы или нмоль/мг белка в гомогенате печени [17].

**Определение общего количества белка в плазме крови и гомогенате печени.** Для определения содержания белка в плазме крови и гомогенате печени использовали модифицированный метод Лоури для определения небольших количеств белка в биологическом материале с использованием реактива Фолина-Чокальтеу, оптическую плотность измеряли при 650 нм. Концентрацию белка, выраженную в мг/мл, определяли по калибровочной кривой, построенной с использованием стандартных растворов альбумина [17].

**Определение уровня гемоглобина в гемолизате крови.** При взаимодействии гемоглобина с раствором додецилсульфата натрия происходит его превращение в окисленную низкоспиновую форму –

гемихром, имеющую красноватый цвет, интенсивность которого прямо пропорциональна концентрации гемоглобина в пробе. Оптическую плотность раствора измеряли при 540 нм. Количество гемоглобина рассчитывали с учетом разведения и молярного коэффициента экстинкции гемихрома при 540 нм  $10,16 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$  [16].

**Статистика.** Значения представлены как среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего. Статистический анализ выполняли с использованием GraphPad Prism, версия 7.0 (GraphPad Software Inc., США). Сравнения между несколькими экспериментальными группами проводили с использованием однофакторный дисперсионного анализа (one-way ANOVA) с post-hoc тестом Тьюки. Парное сравнение между соответствующими группами, не подвергавшимися и подвергавшимися воздействию гипоксии, проводили с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни.

### Результаты

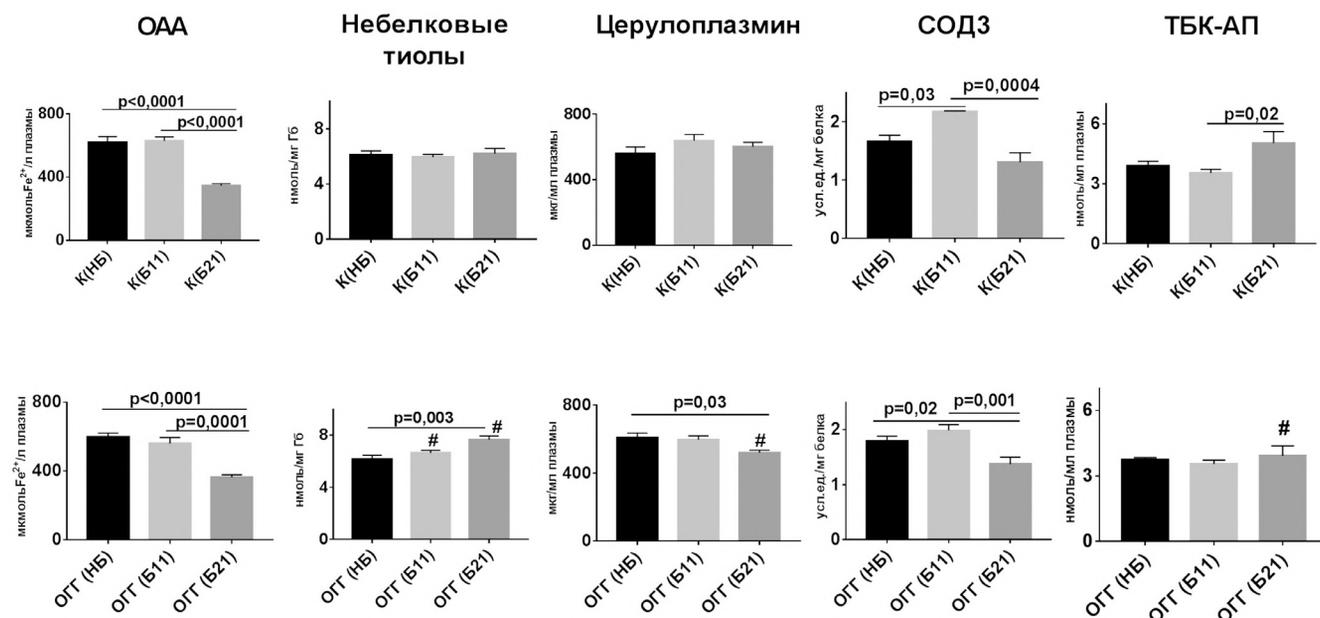
**Анализ состояния системы АОЗ крови у небеременных и беременных крыс на разных сроках беременности в норме и при гипоксическом стрессе.** Как показано на рис. 1, в разные сроки беременности наблюдаются заметные изменения в показателях, характеризующих состояние системы АОЗ. В наибольшей степени изменяется уровень СОД3 в крови беременных: в период органогенеза наблюдается значимое увеличение данного показателя на 30,7% по сравнению с небеременными и, напротив, его снижение в предродовой период на 39,8% относительно раннего срока беременности. Изменения ОАА выражены только в предродовой

период: достоверное снижение относительно небеременных крыс и раннего срока беременности – на 44,1% и 44,9% соответственно. Снижение ОАА и уровня СОД3 в предродовой период происходит на фоне увеличения содержания ТБК-АП (на 42,5% относительно раннего срока беременности), что отражает усиление ОС на фоне снижения активности системы АОЗ.

Через сутки после гипоксического воздействия, на 11-е и на 21-е сут беременности, наблюдали увеличение уровня небелковых тиолов по сравнению с контрольными крысами того же срока беременности на 11,3% и 23,1% соответственно, а на 21-е сут беременности – также снижение активности церулоплазмينا и уровня ТБК-АП на 13,6% и 22,3% соответственно.

При беременности, отягощенной гипоксическим воздействием, к концу беременности изменяется большинство показателей, характеризующих состояние системы АОЗ (рис. 1). Так, в предродовой период у самок крыс ниже уровень СОД3 (на 23,4% относительно небеременных и на 30,9% относительно раннего срока беременности), ОАА (на 39,0% относительно небеременных и на 34,9% относительно раннего срока беременности) и церулоплазмينا (на 14,8% относительно небеременных). При этом уровень небелковых тиолов у них повышен по сравнению с небеременными на 23,7%.

**Анализ состояния системы АОЗ печени у небеременных и беременных самок на разных сроках беременности в норме и при гипоксическом стрессе.** Изменения параметров АОЗ и ОС в печени у самок контрольных групп во время беременности также наиболее выражены в предродовой период: по



**Рис. 1.** Показатели ОС и АОЗ крови у небеременных и беременных самок в норме и при гипоксическом стрессе. Условные обозначения: НБ – небеременные; Б – беременные; К – контроль; ОГГ – острая гипобарическая гипоксия. # – значимые различия между соответствующими группами контрольных животных и животных, подвергавшихся воздействию ОГГ. Размеры выборок: К(НБ) = 8; ОГГ(НБ) = 14; К(Б11) = 8; ОГГ(Б11) = 8; К(Б21) = 8; ОГГ(Б21) = 8.

сравнению с небеременными крысами и самками в период органогенеза у них снижена каталазная активность (на 31,4% и 36,4% соответственно) и активность СОД (на 28,9% и 43,2% соответственно). При этом, в отличие от крови, в печени продукция ТБК-АП понижена (на 36,5% относительно небеременных самок и на 35,1% относительно самок на 11-е сут беременности) (рис. 2).

Через сутки после гипоксического воздействия значимые изменения активности АОЗ печени наблюдали только у самок, находящихся на раннем сроке беременности: снижение активности СОД на 31,4% и уровня небелковых тиолов на 7,0%.

При этом после воздействия гипоксии в предродовом периоде наблюдали выраженные отличия активности АОЗ: снижение каталазной активности по сравнению с каталазной активностью у небеременных самок и самок на 11-е сут беременности на 27,4% и 32,0% соответственно, а также активности СОД на 30,8% по сравнению с этим показателем у небеременных самок. Кроме того, в печени самок крыс и на раннем, и на позднем сроках беременности по сравнению с небеременными значимо снизился уровень ТБК-АП на 11,6% и 38,6% соответственно (рис. 2).

### Обсуждение

ОС во время беременности традиционно рассматривается как один из ключевых факторов патогенеза большинства нарушений беременности, в том числе – преждевременных родов и преэклампсии [18]. В норме выраженность ОС увеличивается к концу первого триместра беременности. Это обусловлено тем, что в ранние сроки

беременности, в начале плацентации, развитие происходит в условиях пониженного парциального давления кислорода. По мере созревания плаценты и роста степени ее васкуляризации растет и потребление кислорода, а ее обильная митохондриальная масса способствует производству АФК [18, 19]. Эти изменения происходят по большей части в период органогенеза, когда эмбрион наиболее подвержен действию тератогенных факторов, в том числе – гипоксическому воздействию [20]. Плацентация у крыс заканчивается примерно на 13-е сут беременности [21], то есть гипоксическое воздействие на 10-е сут внутриутробного развития приходится на период интенсивной плацентации и возрастающего риска ОС, о чем может свидетельствовать наблюдаемое нами изменение уровня небелковых тиолов в крови и печени самок через сутки после моделирования гипоксии. Изменение показателей АОЗ в крови можно интерпретировать как изменения, возникающие не только в организме матери, но и в плаценте, а значит, потенциально влияющие на развивающийся плод [18]. Изменение показателей АОЗ в печени отражает изменения именно в организме матери в ответ на гипоксический стресс. В крови мы наблюдали увеличение уровня небелковых тиолов, в то время как в печени уровень небелковых тиолов, а также активность СОД снижались, что, вероятно, отражает развитие ОС.

Беременность у крыс длится в среднем 21–23 сут, то есть 21-е сут беременности можно считать предродовым периодом. По гистологическим данным, в этот период в плаценте активно развиваются деструктивные изменения, возрастает лизис

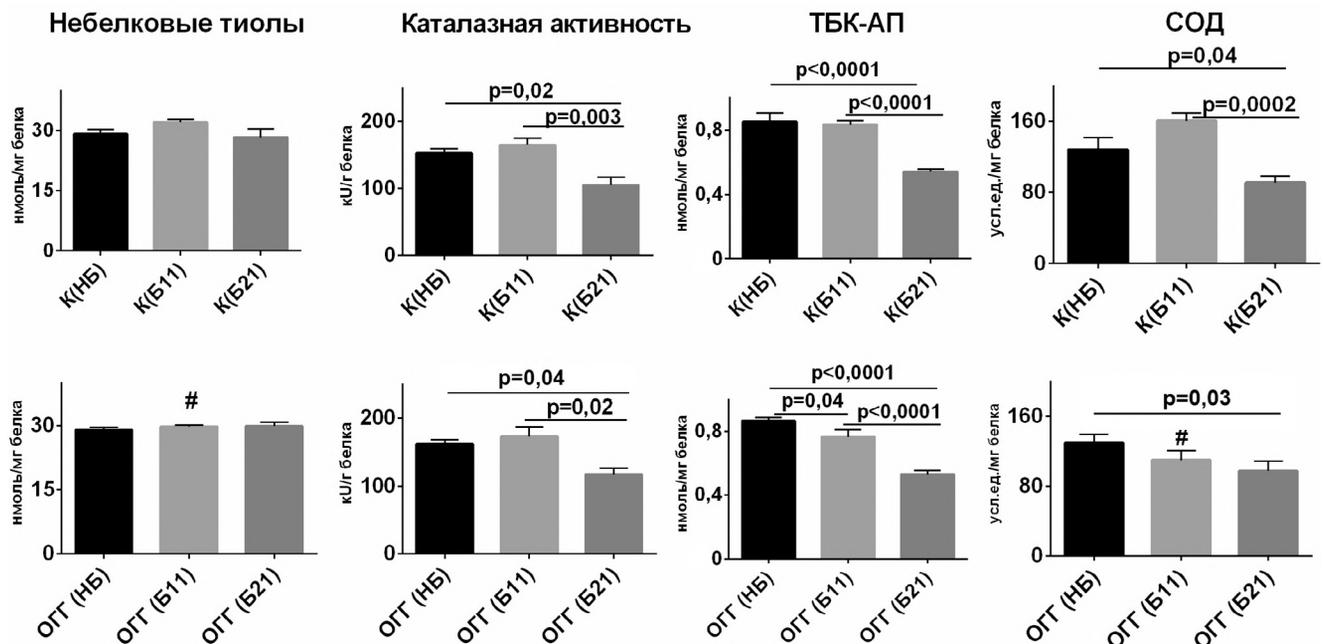


Рис. 2. Сравнение показателей ОС и АОЗ печени у небеременных и беременных самок в норме и при гипоксическом стрессе. Условные обозначения: НБ – небеременные; Б – беременные; ОГГ – острая гипобарическая гипоксия. # – значимые отличия между соответствующими группами контрольных животных и животных, подвергавшихся воздействию ОГГ. Размеры выборок: К(НБ) = 8; ОГГ(НБ) = 14; К(Б11) = 8; ОГГ(Б11) = 10; К(Б21) = 8; ОГГ(Б21) = 8.

клеток вследствие подготовки к родам, в результате чего начинается каскадный синтез простагландинов плодового (ПГЕ<sub>2</sub>) и материнского (ПГФ<sub>2α</sub>) происхождения, что может сопровождаться развитием ОС [22]. Возможно, именно отражением возрастающего перед родами ОС в плаценте и обусловлено возрастание уровня ТБК-АП, поскольку их уровень определяется в том числе количеством включенного в метаболизм ПГЕ<sub>2</sub>, а также снижение ОАА и активности СОД<sub>3</sub> в крови при физиологически развивающейся беременности. При этом в печени и уровень ТБК-АП, и ряд показателей АОЗ снижены, что также отражает развитие ОС перед родами. Снижение концентрации прооксидантов к концу беременности в периферических органах и тканях, особенно подверженных большому окислительному повреждению из-за слабой АОЗ и/или большого количества митохондрий, показано также в исследованиях Иконо и др. [23]. В то же время гипоксический стресс в нашем исследовании в предродовой период привел к значимому снижению как уровня церулоплазмينا, так и ТБК-АП, что также можно трактовать как усиление развития ОС в плаценте, а значит возрастающую опасность для плода.

Беременность характеризуется динамическими изменениями во многих системах организма матери и развивающегося плода, что приводит к увеличению базального потребления кислорода. Многочисленные клинические и экспериментальные данные свидетельствуют о том, что ОС может лежать в основе многих патологий, включая некоторые формы бесплодия, выкидыши, преэклампсию, задержку роста и развития плода, провоци-

руя преждевременные роды. Однако зачастую применение антиоксидантной терапии в клинике вместо ожидаемого улучшения в лучшем случае оказывается бесполезным, а порой еще больше отягощает течение беременности. Однозначных объяснений этому до сих пор нет. Наше исследование показывает, что одной из причин «неудачного опыта превентивного применения антиоксидантов» может быть то, что при этом не учитывается исходный баланс между маркерами ОС и показателями АОЗ. Увеличение продукции первых, как и снижение уровня вторых, – не всегда показатель развивающейся патологии, но может быть одним из вариантов нормы, подготавливающим организм матери и плода к приближающимся родам. Любые нарушения баланса уровня и активности про- и антиоксидантов могут приводить к серьезным последствиям, поэтому крайне важно понимать, как меняются эти показатели в разные периоды онтогенеза и принимать соответствующие меры коррекции строго при необходимости, что является основой для дальнейших исследований.

Работа выполнена в рамках научного проекта государственного задания МГУ № 121032300071-8 и № 121032500076-1, а также при поддержке Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета «Молекулярные технологии живых систем и синтетическая биология». Эксперименты проведены с соблюдением этических норм работы с животными, установленными Комиссией по биоэтике МГУ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Casanueva E., Viteri F.E. Iron and oxidative stress in pregnancy // *J. Nutr.* 2003. Vol. 133. N 5. P. 1700S–1708S.
2. Duhig K., Chappell L.C., Shennan A.H. Oxidative stress in pregnancy and reproduction // *Obstet. Med.* 2016. Vol. 9. N 3. P. 113–116.
3. Hubel C.A. Oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1999. Vol. 222. N 3. P. 222–235.
4. Ademuyiwa O., Odusoga O.L., Adebawo O.O., Ugbaja R.N. Endogenous antioxidant defences in plasma and erythrocytes of pregnant women during different trimesters of pregnancy // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 2007. Vol. 86. N 10. P. 1175–1180.
5. Hung T.-H., Burton G.J. Hypoxia and reoxygenation: a possible mechanism for placental oxidative stress in preeclampsia // *Taiwan. J. Obstet. Gynecol.* 2006. Vol. 45. N 3. P. 189–200.
6. Burton G.J., Jauniaux E. Placental oxidative stress: from miscarriage to preeclampsia // *J. Soc. Gynecol. Investig.* 2004. Vol. 11. N 6. P. 342–352.
7. Biondi C., Pavan B., Lunghi L., Fiorini S., Vesce F. The role and modulation of the oxidative balance in pregnancy // *Curr. Pharm. Des.* 2005. Vol. 11. N 16. P. 2075–2089.
8. Mamet J., Peyronnet J., Roux J.-C., Perrin D., Cottet-Emard J.-M., Pequignot J.-M., Lagercrantz H., Dalmaiz Y. Long-term prenatal hypoxia alters maturation of adrenal medulla in rat // *Pediatr. Res.* 2002. Vol. 51. N 2. P. 207–214.
9. Chappell L.C., Seed P.T., Kelly F.J., Briley A., Hunt B.J., Charnock-Jones D.S., Mallet A., Poston L. Vitamin C and E supplementation in women at risk of preeclampsia is associated with changes in indices of oxidative stress and placental function // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2002. Vol. 187. N 3. P. 777–784.
10. Poston L., Igosheva N., Mistry H.D., Seed P.T., Shennan A.H., Rana S., Karumanchi S.A., Chappell L.C. Role of oxidative stress and antioxidant supplementation in pregnancy disorders // *Am. J. Clin. Nutr.* 2011. Vol. 94. N 6. P. 1980S–1985S.
11. Zhao M., Liu T., Pang G. Intercellular wireless communication network between mother and fetus in rat pregnancy—a study on directed and weighted network // *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2019. Vol. 17. N 1: 40.
12. Patten A.R., Fontaine C.J., Christie B.R. A comparison of the different animal models of fetal alcohol

spectrum disorders and their use in studying complex behaviors // *Front. Pediatr.* 2014. Vol. 2: 93.

13. Clancy B., Finlay B.L., Darlington R.B., Anand K.J.S. Extrapolating brain development from experimental species to humans // *Neurotoxicology.* 2007. Vol. 28. N 5. P. 931–937.

14. Trofimova L., Lovat M., Groznaya E., Efimova E., Dunaeva T., Maslova M., Graf A., Bunik V. Behavioral impact of the regulation of the brain 2-oxoglutarate dehydrogenase complex by synthetic phosphonate analog of 2-oxoglutarate: Implications into the role of the complex in neurodegenerative diseases // *Int. J. Alzheimers. Dis.* 2010. Vol. 2010: 749061.

15. Zhidkova T.V., Proskurnina E.V., Parfenov E.A., Vladimirov Yu.A. Determination of superoxide dismutase and SOD-mimetic activities by a chemical system: Co<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/lucigenin // *Anal. Bioanal. Chem.* 2011. Vol. 401. N 1. P. 381–386.

16. Pankratova M.S., Baizhumanov A.A., Yusipovich A.I., Faassen M., Shiryayeva T.Yu., Peterkova v.A., Kovalenko S.S., Kazakova T.A., Maksimov G.M. Imbalance in the blood antioxidant system in growth hormone-deficient children before and after 1 year of recombinant growth hormone therapy // *PeerJ.* 2015. Vol. 3: e1055.

17. Матюлько И.С., Байжуманов А.А., Хуразова Е.Э., Маслова М.В. Влияние различных режимов питьевой депривации на систему антиоксидантной защиты крови и поведенческую активность крыс // *Журн. мед.-биол. иссл.* 2018. Т. 6. № 3. С. 254–261.

18. Jenkins C., Wilson R., Miller H., McKikop J.H., Walker J.J. Antioxidants: their role in pregnancy and miscarriage // *Antioxid. Redox Signal.* 2000. Vol. 2. N 3. P. 623–628.

19. Myatt L., Cui X. Oxidative stress in the placenta // *Histochem. Cell Biol.* 2004. Vol. 122. N 4. P. 369–382.

20. Джебавва Э.М. Оксидативный стресс, дисфункция эндотелия, дисбаланс цитокинов, гонадотропный синергизм, или все о токофероле в практике врача акушера-гинеколога // *Акуш. гин. репрод.* 2018. Т. 12. № 3. С. 48–53.

21. Soares M.J., Chakraborty D., Karim Rumi M.A., Konno T., Renaud S.J. Rat placentation: an experimental model for investigating the hemochorial maternal-fetal interface // *Placenta.* 2012. Vol. 33. N 4. P. 233–243.

22. Буркутова А.М., Полякова В.О., Болотских В.М., Кветной И.М. Особенности строения плаценты при перенесенной беременности // *Журн. акуш. жен. бол.* 2019. Т. 68. № 6. С. 73–86.

23. Iacono A., Bianco G., Raso G.M., Esposito E., di Villa Bianca R.d'E., Sorrentino R., Cuzzocrea S., Calignano A., Autore G., Meli R. Maternal adaptation in pregnant hypertensive rats: improvement of vascular and inflammatory variables and oxidative damage in the kidney // *Am. J. Hypertens.* 2009. Vol. 22. N 7. P. 777–783.

Поступила в редакцию 22.04.2021 г.

После доработки 06.07.2021 г.

Принята в печать 12.07.2021 г.

## RESEARCH ARTICLE

# The antioxidant system activity during normal pregnancy and pregnancy following by hypoxic stress

A.V. Graf<sup>1,3</sup> , A.A. Baizhumanov<sup>2</sup> , M.V. Maslova<sup>1</sup>, Ya.V. Krushinskaya<sup>1</sup>, A.S. Maklakova<sup>1</sup>, N.A. Sokolova<sup>1</sup>, A.A. Kamensky<sup>1,\*</sup> 

<sup>1</sup>Department of Human and Animal Physiology and <sup>2</sup>Department of Biophysics, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskie gory 1–12, 119234, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>Faculty of Nano-, Bio-, Informational, Cognitive and Socio-humanistic Sciences and Technologies at Moscow Institute of Physics and Technology, Maximova st. 4, 123098, Moscow, Russia

\*e-mail: kamensky\_msu@mail.ru

Pregnancy in mammals is characterized by an increase in basal oxygen consumption, as it develops there is an increase in oxidative stress while in pregnancy complicated by hypoxic stress the oxidative damage enhances. The oxidative stress during prenatal development seems to be one of the key factors in the pathogenesis of most pregnancy disorders, including preterm birth and preeclampsia. The growing demand for oxygen increases either the production of reactive oxygen species or the synthesis of antioxidant defense components. To assess the antioxidant defense activity in rats, the content of non-protein thiols in the blood and liver homogenate, catalase activity in liver homogenate, superoxide dismutase activity in blood plasma and liver homogenate, total antioxidant activity in blood plasma, and the intensity of lipid peroxidation in blood plasma and liver homogenate were determined. According to data obtained a decrease in antioxidant defense activity in blood plasma and liver of females is shown in the prenatal period of normal pregnancy and, particularly, in the same period of pregnancy complicated by hypoxic stress. It can be assumed that changes in blood antioxidant defense parameters reflect changes not only in mother's body, but also in placenta, providing potential danger to the developing fetus.

**Keywords:** *prooxidant system, antioxidant system, oxidative stress, pregnancy, active products of thiobarbituric acid, superoxide dismutase*

**Funding:** This study was performed under the state assignment of Moscow State University, project number № 121032300071-8 и № 121032500076-1, by the Interdisciplinary Scientific and Educational School of Moscow University “Molecular Technologies of the Living Systems and Synthetic Biology”.

**Сведения об авторах**

*Граф Анастасия Викторовна* – канд. биол. наук, доц. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-46-04; e-mail: [nastjushka@gmail.com](mailto:nastjushka@gmail.com); ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3579-8089>

*Байжуманов Адиль Ануарович* – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры биофизики биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-35-03; e-mail: [baizhumanov@yandex.ru](mailto:baizhumanov@yandex.ru); ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9737-4516>

*Маслова Мария Вадимовна* – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-46-04; e-mail: [maslova\\_masha@mail.ru](mailto:maslova_masha@mail.ru)

*Крушинская Янина Валерьевна* – канд. биол. наук, науч. сотр. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-46-04; e-mail: [yanyakr@mail.ru](mailto:yanyakr@mail.ru)

*Маклакова Анастасия Сергеевна* – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-46-04; e-mail: [a\\_maklakova@mail.ru](mailto:a_maklakova@mail.ru)

*Соколова Наталия Александровна* – докт. биол. наук, проф. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-46-04; e-mail: [1945@mail.ru](mailto:1945@mail.ru)

*Каменский Андрей Александрович* – док. биол. наук, проф., зав. кафедрой физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-33-55; e-mail: [kamensky\\_msu@mail.ru](mailto:kamensky_msu@mail.ru); ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6496-0527>

DOI: 10.12731/2658-6649-2019-11-4-107-117

УДК 615.32(582.669.2)

## ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС И ПРЕЭКЛАМПСИЯ

*Афанасьева А.А., Смирнова О.В., Ржевская Н.В.,  
Мартюшова Е.А.*

*Преэклампсия – системное заболевание, связанное с беременностью, характеризующееся артериальной гипертензией, протеинурией, отеками и нарушением функций многих органов. Последнее время патогенез преэклампсии активно изучается. Выявлено, что неотъемлемой частью в развитии преэклампсии является окислительный стресс. Однако до сих пор исследователи не могут прийти к единому мнению о механизмах возникновения данной патологии беременных. Статья посвящена изучению закономерностей пероксидации в условиях преэклампсии в зависимости от механизмов возникновения по данным литературных источников. Статьи взяты из международной базы PubMed. В процессе изучения литературных данных разных авторов было выявлено, что существует 2 уверенных точки зрения на роль оксидативного стресса в патогенезе преэклампсии. Одни авторы считают, что оксидативный стресс, индуцированный в ишемизированной плаценте вызывает выброс цитотоксических факторов в материнское кровообращение, стимулируя воспалительный ответ и активируя материнские эндотелиальные клетки, что в свою очередь может приводить к эндотелиальной дисфункции и, как следствие, к возникновению преэклампсии. Другие же считают, что главным источником активных форм кислорода во время беременности является сама плацента, и их образование увеличивается при преэклампсии.*

**Ключевые слова:** преэклампсия; окислительный (оксидативный) стресс; антиоксидантная система; пероксидация.

## OXIDATIVE STRESS AND PREECLAMPSIA

*Afanasyev A.A., Smirnova O.V., Rzhetskaya N.V.,  
Martyushova E.A.*

*Preeclampsia is a systemic disease associated with pregnancy, characterized by hypertension, proteinuria, edema and dysfunction of many organs. Recently,*

*the pathogenesis of preeclampsia has been actively studied. It is revealed that an integral part in the development of preeclampsia is oxidative stress. However, until now, researchers can not come to a consensus about the mechanisms of this pathology of pregnant women. The article is devoted to the study of the laws of peroxidation in preeclampsia, depending on the mechanisms of occurrence according to the literature. Articles are taken from the international database PubMed.*

*In the process of studying the literature data of different authors, it was revealed that there are 2 confident points of view on the role of oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia. Some authors believe that oxidative stress induced in the ischemic placenta causes a release of cytotoxic factors into the maternal circulation, stimulating the inflammatory response and activating maternal endothelial cells, which in turn can lead to endothelial dysfunction and, as a result, to the occurrence of preeclampsia. Others believe that the main source of reactive oxygen species during pregnancy is the placenta itself, and their formation increases with PE.*

**Keywords:** *preeclampsia; oxidative stress; antioxidant system; peroxidation.*

Преэклампсия (ПЭ) – системное заболевание, связанное с беременностью, характеризующееся артериальной гипертензией, протеинурией, отеками (периферическими, а в некоторых случаях и центральными) и нарушением функций органов, включая тромбоцитопению и нарушение функций печени во второй половине беременности. Международная заболеваемость ПЭ составляет 5–7% от всех беременностей, вызывающих материнскую и/или неонатальную заболеваемость и смертность. К факторам риска заболеваемости ПЭ относятся зрелый возраст, ожирение, сахарный диабет и предшествующая артериальная гипертензия [2].

Патогенез преэклампсии многообразен и не до конца изучен. Основными звеньями патогенеза являются генерализованная вазоконстрикция, гиповолемия, нарушение реологических свойств крови, тромбозендоцелиальная дисфункция, развитие ДВС-синдрома. Важное значение в развитии ПЭ имеет иммуногенетический фактор и иммунологический конфликт между матерью и плодом (гиперреакция организма матери на фетоплацентарный комплекс). В свою очередь иммунные расстройства вызывают нарушение функционального состояния ЦНС, обменных процессов, гормонального статуса [3]. На фоне многих нерешенных вопросов сегодня известны следующие основные положения [2]:

- ПЭ – это острый эндотелиоз, возникающий во второй половине беременности;

- ведущая, инициирующая и поддерживающая роль в развитии ПЭ принадлежит плаценте;
- сосудистые нарушения первоначально возникают в плаценте, а далее происходит генерализация сосудистых повреждений в почках, печени, легких и головном мозге;
- достоверным признаком перенесенной ПЭ патоморфологи считают наличие признаков задержки второй волны сосудистой инвазии цитотрофобласта (16–18 недель гестации).

Существуют работы, посвященные изучению роли оксидативного стресса в патогенезе преэклампсии. Поэтому целью нашего исследования явилось изучение закономерностей перекисидации в условиях преэклампсии в зависимости от механизмов возникновения по данным литературных источников.

Окислительный стресс (ОС) определяется как “дисбаланс между окислителями и антиоксидантами, приводящий к нарушению окислительно-восстановительного баланса и контроля и/или молекулярному повреждению” [7]. В патогенезе окислительного стресса участвуют активные формы кислорода (АФК), наиболее распространенными из которых являются супероксид ( $O_2^{\bullet-}$ ), перекись водорода ( $H_2O_2$ ) и гидроксильный радикал ( $\bullet NO$ ). Параллельный процесс известен как нитрозативный стресс (НС), который определяется как дисбаланс в соотношении нитрозантов и антиоксидантов. Нитрозативный стресс, в основном, включает в себя активные формы азота (АФА) – оксид азота ( $\bullet NO$ ) и пероксинитрит ( $ONOO^-$ ).

Перекисное окисление липидов и окислительный стресс в большинстве исследований рассматриваются как основные факторы, ответственные за генерацию свободных радикалов плохо перфузируемой плацентой, что приводит к адгезии тромбоцитов и лейкоцитов к сосудистому эндотелию, вызывая сужение сосудов и увеличение периферического сосудистого сопротивления [7–8]. Кроме того, вазоконстрикция плаценты приводит к снижению маточно-плацентарного кровообращения, что вызывает дальнейшее высвобождение воспалительных цитокинов и антиангиогенных факторов, участвующих в формировании порочного цикла в усугублении окислительного стресса и развитии сосудистой эндотелиальной дисфункции [6, 9]/

Espinosa-Diez C., Miguel V. и другие выявили, что уровни малонового диальдегида в сыворотке крови, которые отражают процесс перекисного окисления липидов, были увеличены при преэклампсии [11]. Также есть исследование, доказывающее, что окисленные липопротеины участвуют в прогрессировании преэклампсии.

Среди отечественных исследователей Кокоева Ф.Б., Торчинов А.М. и другие уделили наибольшее внимание изучению влияния NO-радикала на развитие преэклампсии. Наличие этого радикала в ишемизированной плаценте приводит к усиленному образованию ОНОО-радикалов, что в свою очередь приводит к эндотелиальной дисфункции, а следовательно, к прогрессированию преэклампсии [5].

Однако есть и другое мнение. Charlton F. и Vobek G. считают, что главным источником активных форм кислорода во время беременности является сама плацента. Во время нормальной беременности плацентарный оксидативный стресс присутствует во всех трех триместрах и необходим для нормального функционирования клеток, включая активацию протеинкиназ [8]. Однако обширный оксидативный стресс может приводить к различным заболеваниям, таким как преэклампсия.

В классической двухэтапной модели ПЭ оксидативный стресс, индуцированный в ишемизированной плаценте вызывает выброс цитотоксических факторов в материнское кровообращение, стимулируя воспалительный ответ и активируя материнские эндотелиальные клетки [17]. В результате происходит образование активных форм кислорода, в том числе радикала оксида азота. АФК могут реагировать с окисью азота, что приводит к снижению биодоступности этого радикала. Сочетание супероксида и NO образует ОНОО– (пероксинитрит), молекулу с клеточным деструктивным действием [11]. Это нарушение эндотелиального гомеостаза может приводить к эндотелиальной дисфункции, состоянию, характеризующееся сосудосуживающим, провоспалительным и протромботическим действием.

В физиологических условиях наиболее распространенным радикалом в организме человека является супероксид анион радикал ( $O_2^{\cdot-}$ ). Концентрация супероксида повышается в условиях гипоксии, когда снижается доступность кислорода в качестве конечного акцептора электронов в дыхательной цепи митохондрий, что приводит к накоплению непарных электронов на кислороде [3.] В результате железо (Fe) играет решающую катализирующую роль в производстве АФК через образование гидроксида ( $OH^{\cdot}$ ) и очень реактивного гидроксильного радикала ( $HO^{\cdot}$ ), основных продуктов реакций Хабера-Вайса и Фентона [13, 16]. Некоторые исследования предполагают, что повышенная концентрация железа и ферритина связана с более высоким риском развития преэклампсии.

Hassan I., Kumar A.M. и соавторы выявили, что системное воспаление увеличивается с наступлением беременности. Во время родов (состояние, связанное с быстрым лейкоцитозом) была обнаружена положительная кор-

реляция между соотношением нейтрофильных лейкоцитов и концентрацией супероксида, что подтверждает теорию о том, что активированные клетки крови и ишемия-реперфузионное повреждение в месте плаценты приводят к более высоким уровням оксидативного стресса [13].

Поскольку плацентарный окислительный стресс вырабатывается в течение всей беременности, вероятно, что антиоксидантная система действует в ответ на изменения ОС для поддержания нормальной межклеточной целостности и функции в процессах, восприимчивых к ОС во время беременности. Если этот баланс нарушается, то возникают осложнения беременности, такие как самопроизвольный выкидыш, неразвивающаяся беременность, задержка внутриутробного развития плода или ПЭ [8, 15].

Окислительный стресс также может быть результатом недостатка антиоксидантов [8]. Существует две категории антиоксидантов: ферментативные и неферментативные. Наиболее распространенные ферментативные антиоксиданты – супероксиддисмутаза (СОД), гемоксигеназа (Хо-1), каталаза (кат), глутатионпероксидазы (GPX), и тиоредоксин (TRX) [11].

Существуют и другие теории. Craige S.M., Kant S., Keaney J.F. предполагают, что окислительный стресс может быть вызван низким парциальным давлением кислорода, гипероксией или чередованием гипоксии и реоксигенации, как это видно из различных высоко васкуляризованных тканей, таких как мозг или глаз [9]. В нормальной плаценте гипоксия является физиологическим состоянием, обнаруживаемым в течение первого триместра, измеряемым методами *in vivo* [6]. Это нормально происходящее явление размывает различие между обычной физиологией и возможными пагубными последствиями гипоксии на определенных стадиях плацентарного развития. Помимо клеток трофобласта, окислительный стресс может возникать в эндотелиальных клетках (ECs), присутствующих в плацентарной ткани, стромальных клетках ворсинок или иммунных клетках (клетках Хофбауэра). Трофобласты как правило подвергаются оксидативному стрессу посредством экспрессии гена. Это достигается за счет плаценты, которая генерирует внеклеточные везикулы, которые высвобождаются в материнское кровообращение и влияют на экспрессию генов как в материнских эндотелиальных, так и иммунных клетках [13]. Эти внеклеточные везикулы экзосомы, размером 30–100 Нм, и микровезикулы, 100–1000 Нм. Плацентой вырабатываются и более крупные клеточные частицы, которые включают ядерные конгломераты и апоптотические тела (20–500 мкм и 1–4 мкм соответственно) [18]. Некоторые исследователи считают, что именно эти реакции вызывают прогрессирование преэклампсии.

В 2018 году были опубликованы результаты исследования окислительного профиля ЛПВП и ЛПНП, выделенных из пуповины от новорожденных (León-Reyes G, Maida-Claros R). Было выявлено, что плацентарный оксидативный стресс напрямую влияет на ребенка. Окислительные модификации, происходящие в ЛПНП и ЛПВП, выделенные из пуповинной крови новорожденных от женщин с преэклампсией, в основном вызваны процессами липопероксидации, связанными с очевидной инактивацией параоксаназы-I [15, 16]. Отсутствие повреждения белка, вероятно, связано с увеличением общей антиоксидантной способности. Таким образом, антиоксидантная поддержка может быть полезной для снижения окислительного стресса в плаценте и в организме новорожденного. Отдаленных результатов окислительного стресса у таких детей пока нет.

Исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод, что существует две уверенных точки зрения на роль оксидативного стресса в патогенезе преэклампсии. Одни авторы считают, что оксидативный стресс, индуцированный в ишемизированной плаценте вызывает выброс цитотоксических факторов в материнское кровообращение, стимулируя воспалительный ответ и активируя материнские эндотелиальные клетки, что в свою очередь может приводить к эндотелиальной дисфункции и, как следствие, к возникновению преэклампсии. Другие же считают, что главным источником активных форм кислорода во время беременности является сама плацента, и их образование увеличивается при ПЭ. Это объясняет возникновение окислительного стресса. Для того, чтобы выяснить достоверную причину преэклампсии, необходимо дальнейшее исследование данной патологии.

### ***Список литературы***

1. Зорина В.Н. Регуляторно-транспортные белки в диагностике и прогнозе преэклампсии / В.Н. Зорина, В.Г. Левченко, Н.А. Зорин // Клиническая лабораторная диагностика. 2016. Т. 61, №8. С. 470–473.
2. Кан Н.Е. Клинико-anamнестические факторы риска развития преэклампсии у беременных / Н.Е. Кан, Л.А. Беднягин, Н.В. Долгушина [и др.] // Акушерство и гинекология. 2016. №6. С. 39–44.
3. Клинические рекомендации. Акушерство и гинекология / Под ред. В.Н. Серова, Г.Т. Сухих. 4-е изд., перераб. и доп. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 1024 с.
4. Клинические рекомендации (протокол лечения). Гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. Преэклампсия. Эклампсия. Москва, 2016. 72 с.

5. Кокоева Ф.Б., Торчинов А.М., Цахилова С.Г. [и др.] / Роль окислительного стресса в патогенезе преэклампсии (обзор литературы) // Проблемы репродукции. 2014. №4. С. 7–10.
6. Холин А.М. Скрининг ранней преэклампсии в I триместре беременности на основе комбинированной оценки материнского сывороточного плацентарного фактора роста и доплерометрии маточных артерий / А.М. Холин, Т.Ю. Иванец, З.С. Ходжаева [и др.] // Акушерство и гинекология. 2015. №5. С. 42–48.
7. Bharadwaj S, Vishnu B, Vickneswaran V, Adhisivam B, Bobby Z, Habeebullah S. Oxidative stress, antioxidant status and neurodevelopmental outcome in neonates born to pre-eclamptic mothers. *Indian J Pediatr.* 2017; 10.
8. Charlton F, Bobek G, Stait-Gardner T, Price W, Mirabito C, Xu B, et al. The protective effect of apolipoprotein in models of trophoblast invasion and preeclampsia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2017;312(1):40–48.
9. Craige S.M., Kant S., Keaney J.F., Jr. Reactive oxygen species in endothelial function-From disease to adaptation. *Circ. J.* 2015;79:1145-1155.
10. Deng Q., Yin N., Chen Y., Shan N., Liu X., Qi H. Downregulated *N*-acetylglucosaminyltransferase iii is involved in attenuating trophoblast migration and invasion under hypoxia-reoxygenation condition. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 2018;21:1-7.
11. Espinosa-Diez C., Miguel V., Mennerich D., Kietzmann T., Sanchez-Perez P., Cadenas S., Lamas S. Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress. *Redox Biol.* 2015; 6:183-197.
12. Goulopoulou S., Davidge S.T. Molecular mechanisms of maternal vascular dysfunction in preeclampsia. *Trends Mol. Med.* 2015;21:88-97.
13. Hassan I., Kumar A.M., Park H.R., Lash L.H., Loch-Carusio R. Reactive oxygen stimulation of interleukin-6 release in the human trophoblast cell line HTR-8/SVneo by the trichlorethylene metabolite *s*-(1,2-dichloro)-l-cysteine. *Biol. Reprod.* 2016;95:66.
14. Hod T., Cerdeira A.S., Karumanchi S.A. Molecular mechanisms of preeclampsia. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2015;5:a023473.
15. León-Reyes G, Maida-Claros R, Urrutia-Medina A, Jorge-Galarza E, Guzmán-Grenfell A, Fuentes-García S, et al. Oxidative profiles of LDL and HDL isolated from women with preeclampsia. *Lipids Health Dis.* 2017;16(1):90.
16. Rao H., Bai Y., Zhang F., Li Q., Zhuang B., Luo X., Qi H. The role of SATB1 in HTR8/SVneo cells and pathological mechanism of preeclampsia. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 2018:1-10.
17. Riwanto M, Landmesser U. High density lipoproteins and endothelial functions: mechanistic insights and alterations in cardiovascular disease. *J Lipid Res.* 2013;54:3227-3243.

18. Tsang J.C.H., Vong J.S.L., Ji L., Poon L.C.Y., Jiang P., Lui K.O., Ni Y.B., To K.F., Cheng Y.K.Y., Chiu R.W.K., et al. Integrative single-cell and cell-free plasma rna transcriptomics elucidates placental cellular dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2017;114:E7786–E7795.
19. Verma S., Pillay P., Naicker T., Moodley J., Mackraj I. Placental hypoxia inducible factor-1alpha & chop immuno-histochemical expression relative to maternal circulatory syncytiotrophoblast micro-vesicles in preeclamptic and normotensive pregnancies. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2018;220:18-24.
20. Zabul P., Wozniak M., Slominski A.T., Preis K., Gorska M., Korozan M., Wieruszewski J., Zmijewski M.A., Zabul E., Tuckey R., et al. A proposed molecular mechanism of high-dose vitamin d3 supplementation in prevention and treatment of preeclampsia. *Int. J. Mol. Sci.* 2015;16:13043-13064.

### *References*

1. Zorina V.N., Levchenko V.G., Zorin N.A. Reguljatorno-transportnye belki v diagnostike i prognoze preeklampsii [Regulatory transport proteins in the diagnosis and prognosis of pre-eclampsia]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* [Clinical Laboratory Diagnostics]. 2016. T. 61. №8, pp. 470–473.
2. Kan N.E., Bednyagin L.A., Dolgushina N.V. Kliniko-anamnesticheskie faktory riska razvitiya preeklampsii u beremennyh [Clinical and anamnestic risk factors for the development of pre-eclampsia in pregnant women]. *Akusherstvo i ginekologiya* [Obstetrics and Gynecology]. 2016. №6, pp. 39–44.
3. *Klinicheskie rekomendacii. Akusherstvo i ginekologiya* [Clinical guidelines. Obstetrics and gynecology]. ed. V.N. Serov, G.T. Suhh. Moskva: GEOTAR-Media. 2014. 1024 s.
4. *Klinicheskie rekomendacii (protokol lecheniya). Gipertenzivnye rasstrojstva vo vremya beremennosti, v rodah i poslerodovom periode. Preeklampsiya. Eklampsiya* [Clinical recommendations (treatment protocol). Hypertensive disorders during pregnancy, during childbirth and the postpartum period. Pre-eclampsia. Eclampsia]. Moskva. 2016. 72 p.
5. Kokoeva F.B., Torchinov A.M., Cahilova S.G. [i dr.]. Rol' oksiditel'nogo stressa v patogeneze preeklampsii (obzor literatury) [The role of oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia (literature review)]. *Problemy reprodukcii* [Reproduction Problems]. 2014. №4, pp. 7–10.
6. Holin A.M., Ivanec T.Yu., Hodzhaeva Z.S. Skrining rannej preeklampsii v I trimestre beremennosti na osnove kombinirovannoj ocenki materinskogo syvorotochnogo placentarnogo faktora rosta i dopplerometrii matochnyh arterij [Screening for early preeclampsia in the first trimester of pregnancy based on a combined as-

- essment of maternal serum placental growth factor and Doppler uterine arteries]. *Akusherstvo i ginekologiya* [Obstetrics and Gynecology]. 2015. №5, pp. 42–48.
7. Bharadwaj S., Vishnu B., Vickneswaran V., Adhisivam B., Bobby Z., Habeebullah S. Oxidative stress, antioxidant status and neurodevelopmental outcome in neonates born to pre-eclamptic mothers. *Indian J Pediatr.* 2017; 10.
  8. Charlton F., Bobek G., Stait-Gardner T., Price W., Mirabito C., Xu B., et al. The protective effect of apolipoprotein in models of trophoblast invasion and pre-eclampsia. *Am J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2017; 312(1):40-48.
  9. Craige S.M., Kant S., Keaney J.F., Jr. Reactive oxygen species in endothelial function-From disease to adaptation. *Circ. J.* 2015; 79:1145-1155.
  10. Deng Q., Yin N., Chen Y., Shan N., Liu X., Qi H. Downregulated N-acetylglucosaminyltransferase iii is involved in attenuating trophoblast migration and invasion under hypoxia-reoxygenation condition. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 2018; 21:1-7.
  11. Espinosa-Diez C., Miguel V., Mennerich D., Kietzmann T., Sanchez-Perez P., Cadenas S., Lamas S. Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress. *Redox Biol.* 2015; 6:183-197.
  12. Goulopoulou S., Davidge S.T. Molecular mechanisms of maternal vascular dysfunction in preeclampsia. *Trends Mol. Med.* 2015; 21:88-97.
  13. Hassan I., Kumar A.M., Park H.R., Lash L.H., Loch-Carusio R. Reactive oxygen stimulation of interleukin-6 release in the human trophoblast cell line HTR-8/SVneo by the trichlorethylene metabolite s-(1,2-dichloro)-l-cysteine. *Biol. Reprod.* 2016;95:66.
  14. Hod T., Cerdeira A.S., Karumanchi S.A. Molecular mechanisms of preeclampsia. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2015;5:a023473.
  15. León-Reyes G, Maida-Claros R, Urrutia-Medina A, Jorge-Galarza E, Guzmán-Grenfell A, Fuentes-García S, et al. Oxidative profiles of LDL and HDL isolated from women with preeclampsia. *Lipids Health Dis.* 2017;16(1):90.
  16. Rao H., Bai Y., Zhang F., Li Q., Zhuang B., Luo X., Qi H. The role of SATB1 in HTR8/SVneo cells and pathological mechanism of preeclampsia. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 2018:1–10.
  17. Riwanto M, Landmesser U. High density lipoproteins and endothelial functions: mechanistic insights and alterations in cardiovascular disease. *J Lipid Res.* 2013;54:3227–3243.
  18. Tsang J.C.H., Vong J.S.L., Ji L., Poon L.C.Y., Jiang P., Lui K.O., Ni Y.B., To K.F., Cheng Y.K.Y., Chiu R.W.K., et al. Integrative single-cell and cell-free plasma rna transcriptomics elucidates placental cellular dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2017;114:E7786–E7795.

19. Verma S., Pillay P., Naicker T., Moodley J., Mackraj I. Placental hypoxia inducible factor-1alpha & chop immuno-histochemical expression relative to maternal circulatory syncytiotrophoblast micro-vesicles in preeclamptic and normotensive pregnancies. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2018;220:18–24.
20. Zabul P., Wozniak M., Slominski A.T., Preis K., Gorska M., Korozan M., Wieruszewski J., Zmijewski M.A., Zabul E., Tuckey R., et al. A proposed molecular mechanism of high-dose vitamin d3 supplementation in prevention and treatment of preeclampsia. *Int. J. Mol. Sci.* 2015;16:13043–13064.

### **ДАННЫЕ ОБ АВТОРАХ**

**Афанасьева Анастасия Андреевна**, аспирант, врач-акушер-гинеколог  
*ХГУ им. Н.Ф. Катанова; ГБУЗ РХ «Республиканский клинический перинатальный центр»*  
ул. Ленина, 90, г. Абакан, Респ. Хакасия, 655000, Российская Федерация; ул. Крылова, 66, г. Абакан, Респ. Хакасия, 655003, Российская Федерация

**Смирнова Ольга Валентиновна**, доктор медицинских наук, ВАК-доцент, профессор кафедры «Фундаментальной медицины и гигиены» медуниверситета ХГУ им. Н.Ф. Катанова, заведующая лабораторией клинической патофизиологии НИИ МПС ФИЦ КНЦ СО РАН, научный руководитель  
*ХГУ им. Н.Ф. Катанова; НИИ МПС ФИЦ КНЦ СО РАН*  
ул. Ленина, 90, г. Абакан, Респ. Хакасия, 655000, Российская Федерация; ул. Партизана Железняка, 3г, г. Красноярск, 660022, Российская Федерация

**Ржевская Наталья Валентиновна**, кандидат медицинских наук, главный врач, врач акушер-гинеколог  
*ГБУЗ РХ «Республиканский клинический перинатальный центр»*  
ул. Крылова, 66, г. Абакан, Респ. Хакасия, 655003, Российская Федерация

**Мартышова Елена Александровна**, врач акушер-гинеколог 1 квалификационной категории, заведующий акушерским отделением патологии беременности №1  
*ГБУЗ РХ «Республиканский клинический перинатальный центр»*  
ул. Крылова, 66, г. Абакан, Респ. Хакасия, 655003, Российская Федерация

### **DATA ABOUT THE AUTHORS**

**Afanasyeva Anastasia Andreevna**, postgraduate student, obstetrician-gynecologist

*Khakass State University; Republican Clinical Perinatal Center  
90, Lenin Str., Abakan, Khakassia, 655000, Russian Federation; 66,  
Krylova Str., Abakan, Khakassia, 655003, Russian Federation*

**Smirnova Olga Valentinovna**, Doctor of Medical Sciences, VAK-Assistant Professor, Professor of the Department of Fundamental Medicine and Hygiene of the Medical-Psychological and Social Institute, Head laboratory of clinical pathophysiology

*Khakass State University; Research Institute for Medical Problems in the North - Division of Federal Research Center "Krasnoyarsk Scientific Center of the Siberian Branch of the RAS"  
90, Lenin Str., Abakan, Khakassia, 655000, Russian Federation; 3g,  
Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation*

**Rzhevskaya Nataliya Valentinovna**, Candidate of Medical Sciences, Chief Doctor, obstetrician-gynecologist

*Republican Clinical Perinatal Center  
66, Krylova Str., Abakan, Khakassia, 655003, Russian Federation*

**Martyushova Elena Alexandrovna**, obstetrician-gynecologist of the 1st qualification category, head of the obstetric department of pregnancy pathology No. 1

*Republican Clinical Perinatal Center  
66, Krylova Str., Abakan, Khakassia, 655003, Russian Federation*