

На правах рукописи



АЛИМХАДЖИЕВА
Милана Абдуллаевна

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИЗОСОРБИДА-5-МОНОНИТРАТА
В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ НАРУШЕНИЯ ПЛОДОВО-
ПЛАЦЕНТАРНОГО КРОВОТОКА У БЕРЕМЕННЫХ С ГЕСТОЗОМ**

14.01.01 – акушерство и гинекология
14.03.03 – патологическая физиология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2011

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации

Научные руководители:

академик РАМН,
заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук, профессор **Айламазин Эдуард Карпович**

заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук, профессор **Петрищев Николай Николаевич**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор **Павлова Наталья Григорьевна**

доктор медицинских наук, профессор **Митрейкин Владимир Филиппович**

Ведущая организация: ГОУ ДПО «Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Защита диссертации состоится «16» сентября 2011 г. в 13⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 001.021.01 при Научно-исследовательском институте акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта СЗО РАМН (199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта СЗО РАМН

Автореферат разослан « _____ » _____ 2011 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук

Кузьминых Татьяна Ульяновна

20-11А
17160

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. До настоящего времени гестоз остается одним из самых частых осложнений беременности и достигает 16-25% (Айламазян Э.К. и соавт., 2008; Релина М.А., 2000; Сидорова И.С., 2003). По мнению большинства исследователей, гестоз является мультифакторным заболеванием, в патогенезе которого ведущую роль играет дисфункция эндотелия, являющаяся причиной нарушения таких эндотелийзависимых механизмов, как регуляция тонуса сосудов, обеспечение баланса между тромбогенностью и тромборезистентностью сосудистой стенки, адгезии лейкоцитов и регуляции процессов ангиогенеза (Айламазян Э.К. и соавт., 1998; Зайнулина М.С., 2005; Макацария А.Д. и соавт., 2007; Мозговая Е.В. и соавт., 2003; Сидельникова В.М. и соавт., 2004; Супряга О.М., 1995; Arbogast B.W. et al., 1994; Roberts J.M. et al., 1999). Изменение функционального состояния эндотелия сосудов ведет к каскаду патологических реакций, проявляющихся в виде клинической картины гестоза: артериальной гипертензии, отеков и протеинурии, а также многоуровневых нарушений гемодинамики и микроциркуляции как в системном кровообращении, так и в пределах системы «мать-плацента-плод».

Нарушение функции плаценты при гестозах наблюдается в 32-60% и является одной из основных причин, приводящих к внутриутробной гипоксии, задержке роста и развития, повреждению ЦНС плода, увеличивает частоту соматической и инфекционной заболеваемости, снижает адаптацию новорожденных в раннем неонатальном периоде, а также приводит к нарушению психомоторного и интеллектуального развития детей (Аржанова О.Н. и соавт., 2004; Барашнев Ю.И., 2001; Владимирова Н.Ю. и соавт., 1999; Евсюкова И.И., 2004; Новикова С.В. и соавт., 2008; Павлова Н.Г. и соавт., 2007; Федорова М.В., 1997).

Важная роль в обеспечении нормального функционирования обменных процессов в плаценте и потребностей плода принадлежит плодово-плацентарному кровообращению, поэтому изучение механизмов его регуляции



требует большого внимания (Милованов А.П., 2006; Панина О.Б. и соавт., 2003).

Патогенетические механизмы развития плацентарной недостаточности и нарушения плодово-плацентарного кровотока при гестозах крайне сложны и до конца не изучены. По современным представлениям, эта саморегулирующаяся система с низким сопротивлением току крови не реагирует на обычные нейрогуморальные стимулы. Отсутствие иннервации сосудов плаценты является свидетельством влияния местных гуморальных факторов, вырабатывающихся в плаценте и в организме плода, контролирующими проницаемость и тонус сосудов (Милованов А.П., 1999; Панина О.Б. и соавт., 2003; Федорова М.В. и соавт., 1986).

В литературе обсуждается роль дефицита оксида азота в патогенезе гестоза и плацентарной недостаточности (Габелова К.А. и соавт., 2000; Choi J.W. et al., 2002; Sladek S.M. et al., 1997; Vanderlicic J.J. et al., 2006) и, следовательно, в патогенезе нарушения плодово-плацентарного кровотока, что приводит к хронической гипоксии и к задержке внутриутробного развития плода. Являясь мощным эндогенным вазодилататором, оксид азота принимает участие в регуляции системного и органного сосудистого сопротивления, ингибирует агрегацию тромбоцитов, предотвращает адгезию нейтрофилов и тромбоцитов на эндотелии сосудов, подавляет пролиферацию и миграцию гладкомышечных клеток сосудов, регулирует апоптоз клеток и поддерживает функцию эндотелиального клеточного барьера (Петрищев Н.Н., 2003; Rosselini M. et al., 1998). Существуют исследования, доказывающие, что оксид азота оказывает релаксирующий эффект на гладкую мускулатуру матки, участвует в становлении и регуляции адекватного потребностям плода маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровотока, действует в качестве иммуносупрессора и вовлечен в процесс регуляции родов (Purcell T.L. et al., 1997; Thomson A.J. et al., 1997).

Важным маркером дисфункции эндотелия является также тромбомодулин, представляющий собой трансмембранный гликопротеин, который в норме связывается с тромбином, обеспечивает тромборезистентность сосудистой

стенки и высвобождается с поверхности клеток эндотелия при их разрушении (Макацария А.Д. и соавт., 2007; Петрищев Н.Н. и соавт., 1999; Hayashi M. et al., 2002).

Исходя из имеющихся в литературе данных о роли дефицита оксида азота в патогенезе гестоза, сопровождающегося нарушением материнского и плодово-плацентарного кровотока и синдрома внутриутробной задержки развития плода, возникает необходимость поисков новых фармакологических подходов к лечению данной патологии.

Основными требованиями, предъявляемыми к фармакологическим препаратам, является возможность купирования генерализованного вазоспазма, улучшения микроциркуляции и устранения гемодинамических нарушений как в общем кровообращении, так и в системе «мать-плацента-плод».

Необходимость поиска новых препаратов для решения данной проблемы привела к обсуждению возможности применения в комплексной терапии нарушения плодово-плацентарного кровотока у беременных с гестозом донаторов оксида азота – экзогенных нитровазодилататоров. Одним из наиболее мощных органических вазодилататоров, обладающих свойствами донатора оксида азота, является изосорбида-5-мононитрат. Представляется актуальным изучение его действия в терапии нарушения плодово-плацентарного кровотока при гестозе.

Цель исследования. Изучить эффективность применения изосорбида-5-мононитрата в комплексной терапии нарушения плодово-плацентарного кровотока у беременных с гестозом.

Задачи исследования:

1. На основании данных доплерометрии определить характер изменений показателей гемодинамики в системе «мать-плацента-плод» при использовании изосорбида-5-мононитрата в комплексной терапии беременных с нарушением плодово-плацентарного кровотока на фоне гестоза.
2. На основании определения уровня продуктов метаболизма оксида азота (нитритов) и тромбомодулина в материнской крови оценить функциональное состояние эндотелия у беременных с гестозом и нарушением плодово-

плацентарного кровотока до и после комплексной терапии с включением изосорбида-5-моонитрата.

3. Оценить особенности функционального состояния эндотелия в сосудах плодово-плацентарного кровообращения на основании определения тромбомодулина и продуктов метаболизма оксида азота в плодово-плацентарной циркуляции.

4. Определить особенности синтеза оксида азота и тромбомодулина в плодово-плацентарной системе при физиологическом и осложненном гестозом течении беременности на основании иммуногистохимического исследования экспрессии eNOS и тромбомодулина в тканях последа (плаценте и сосудах пуповины).

5. Оценить клинико-лабораторную эффективность применения изосорбида-5-моонитрата у беременных с гестозом и нарушением плодово-плацентарного кровотока.

6. Провести анализ исходов беременности и родов у женщин с нарушением плодово-плацентарного кровотока на фоне гестоза после применения изосорбида-5-моонитрата.

Научная новизна и теоретическая значимость работы. Доказано патогенетическое действие экзогенных донаторов оксида азота, проявляющееся в виде вазодилатирующего действия как в отношении сосудов плода, так и в отношении сосудов матери, на основании исследования параметров гемодинамики в системе «мать-плацента-плод».

Впервые на основании определения маркеров дисфункции эндотелия (тромбомодулина и продуктов метаболизма оксида азота) проведена оценка функционального состояния эндотелия в материнском организме и в плодово-плацентарном комплексе у беременных с различными степенями гестоза и нарушением гемодинамики в функциональной системе «мать-плацента-плод», а также эндотелиопротекторного действия изосорбида-5-моонитрата на сосуды матери и плода.

На основании определения метаболитов оксида азота (нитритов) в крови выявлено снижение базальной продукции оксида азота при гестозе по сравнению с продукцией NO при физиологически протекающей беременности. Отмечено компенсаторное повышение содержания нитритов в материнской циркуляции после проведенного лечения изосорбида-5-монопнитратом. Выявлено снижение уровня нитритов в артерии пуповины, а также снижение отношения концентрации NO в артерии пуповины и в вене матери перед родами.

На основании иммуногистохимического исследования экспрессии эндотелиальной NO-синтазы выявлено снижение базальной продукции оксида азота в синцитиотрофобласте и эндотелии сосудов пуповины (как вены, так и артерии) при гестозе легкой и средней степени тяжести, причем при гестозе средней степени его образование было наиболее редуцировано. При лечении донатора оксида азота не отмечалось угнетения экспрессии eNOS в плодово-плацентарном комплексе.

Установлено, что уровень тромбомодулина в пуповинной крови превышает таковой в организме матери. Выявлена прямая взаимосвязь между уровнем тромбомодулина в материнской циркуляции и степенью тяжести гестоза. Также со степенью тяжести гестоза и синдрома внутриутробной задержки развития плода увеличивалась экспрессия тромбомодулина в синцитиотрофобласте и сосудах пуповины.

На основании проведенного клинико-лабораторного исследования установлена эффективность изосорбида-5-монопнитрата в составе комплексной терапии гестоза у беременных с нарушением плодово-плацентарного кровотока.

Практическая значимость работы. Проведенное исследование позволило определить эффективность донатора оксида азота (изосорбида-5-монопнитрата) при проведении комплексной терапии нарушения плодово-плацентарного кровотока у беременных с гестозом. Рекомендовано включение изосорбида-5-монопнитрата в спектр общепринятых средств для лечения гестоза с сопутствующей плацентарной недостаточностью, проявляющейся внутрит-

робной задержкой развития плода и нарушением маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровотока.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту

1. Нарушение плодово-плацентарного кровотока на фоне гестоза связано с развитием эндотелиальной дисфункции, одним из основных проявлений которой является дефицит оксида азота.

2. Изосорбида-5-мононитрат оказывает вазодилатирующее действие и приводит к снижению проявлений нарушения плодово-плацентарного кровотока, улучшая гемодинамику плода.

3. Повышенный уровень метаболитов оксида азота (нитритов) в артерии пуповины является необходимым условием для поддержания адекватного кровотока плода в течение беременности и родов.

4. Повышенный уровень тромбомодулина в крови сосудов пуповины является необходимым условием для нормального роста и развития плода, а также поддержания гипокоагуляционного гемостаза плода.

5. Включение изосорбида-5-мононитрата в комплексную терапию гестоза с нарушением плодово-плацентарного кровотока снижает частоту преждевременных родов и оперативного родоразрешения, а также частоты гипоксически-ишемических поражений ЦНС у новорожденных.

Апробация и внедрение результатов исследования в практику. Материалы диссертации изложены на 8-м Всероссийском научном форуме «Мать и дитя», Москва, 2006; на 3-м Международном научном конгрессе «Новые технологии в акушерстве и гинекологии», посвященном 210-летию НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН, Санкт-Петербург, 2007; на XIV Межгородской конференции молодых ученых «Актуальные проблемы патофизиологии», Санкт-Петербург, 2008; на научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Актуальные вопросы клинической и экспериментальной медицины-2008», Санкт-Петербург, 2008; на X Юбилейной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Актуальные вопросы клинической и экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, 2010;

на Международной междисциплинарной конференции «Преждевременные роды», Санкт-Петербург, 2010; на XVII Межгородской конференции молодых ученых «Актуальные проблемы патофизиологии», Санкт-Петербург, 2011.

Результаты исследования внедрены в практическую работу клиники акушерства и гинекологии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, родильного дома № 6 им. профессора В.Ф. Снегирева г. Санкт-Петербурга, используются в учебном процессе кафедры акушерства и гинекологии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова.

По теме диссертации опубликовано 10 научных работ, в том числе 2 статьи в рецензируемых научных журналах и изданиях.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения результатов исследования, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Диссертация изложена на 186 страницах машинописного текста, содержит 32 таблицы и 13 рисунков. Список литературы содержит 315 наименований (122 отечественных и 193 зарубежных источника).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Для решения поставленных задач было обследовано 107 беременных женщин, у 77 из которых беременность осложнилась нарушением плодово-плацентарного кровотока I или II степени на фоне гестоза легкой или средней степени тяжести. Все беременные были разделены на 3 группы: основную (40 беременных), группу сравнения (37 беременных) и контрольную (30 беременных с физиологическим течением). Пациентки с гестозом получали традиционную терапию гестоза и терапию, направленную на улучшение плодово-плацентарного кровотока. Пациенткам основной группы к традиционной терапии был добавлен донатор оксида азота – изосорбида-5-мононитрат, по 20 мг 2 раза в сутки, в течение 4-29 дней, в зависимости от степени тяжести нарушения плодово-плацентарного кровотока и прогнозируемых сроков родоразрешения.

Возраст пациенток в исследуемых группах был сопоставим и составил $28,2 \pm 0,9$ года в основной группе, $27,0 \pm 1,0$ года в группе сравнения и $25,8 \pm 0,9$ года в группе контроля. Обследование беременных проводилось при сроках 28-40 недель и включало в себя: клинические, биохимические и инструментальные методы исследования (ультразвуковое и доплерометрическое). У беременных с гестозом и нарушением плодово-плацентарного кровотока до и после проведенного лечения проводили анализ изменений клинических проявлений гестоза, а также оценку гемодинамических изменений в системе «мать-плацента-плод» и массы плода.

Оценку влияния исследуемого препарата на функциональное состояние эндотелия проводили с помощью определения содержания маркеров дисфункции эндотелия (метаболитов оксида азота и тромбомодулина). Взятие крови осуществляли из локтевой вены матери до начала лечения, после лечения и непосредственно перед родоразрешением. Также брали кровь из сосудов пуповины (из артерии и вены пуповины) во время кесарева сечения или третьего периода родов до отделения плаценты.

Концентрацию оксида азота в сыворотке венозной материнской крови, крови артерии и вены пуповины оценивали по содержанию нитритов спектрофотометрическим методом с использованием реактива Грисса. Для количественного определения уровня растворимого тромбомодулина CD141 в плазме крови использовали метод твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем «CD141 ELISA» фирмы «Diacclone» (Франция), содержащих моноклональные антитела к исследуемым антигенам.

Для определения срока беременности, оценки структуры плаценты, количества околоплодных вод и исключения врожденных пороков развития плода проводили эхографическое исследование.

Допплерометрическое исследование маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровотока проводили на ультразвуковом диагностическом приборе Siemens S60, работающем в импульсном режиме и оснащенном доплеровским блоком, позволяющим осуществлять триплексное сканирование: ульт-

раззвукос сканирование в В-режиге, цветное доплеровское картирование кровотока в исследуемом сосуде и одновремснную регистрацию доплерограмм. Исследование кровотока в сосудах плодов проводили только в период их двигательного покоя и «апноэ». Исследование кривых скоростей кровотока проводили в артерии пуповины плода, в средней мозговой артерии плода и в маточных артериях (правой и левой). Кровоток в артериях оценивали при помощи следующих относительных уголнезависимых коэффициентов: систолодиастолического отношения (СДО) и индекса резистентности (ИР). Для оценки индексов сосудистого сопротивления у плода использовали цереброплацентарное отношение (ЦПО), представляющее собой отношение индексов резистентности в средней мозговой артерии и артерии пуповины.

Материалом для морфологического исследования служила ткань плодовой части плаценты и пуповины объемом 1 см³, фиксированная в 10% растворе нейтрального формалина в течение 2 недель. Оценку экспрессии эндотелиальной синтазы оксида азота и тромбомодулина проводили с помощью иммуногистохимического исследования. В качестве первичных антител использовали моноклональные мышиные антитела к эндотелиальной NO-синтазе (NCL-NOS-3; «Novocastra», 1:60) и тромбомодулину (1:50, фирмы «DacoCytomation» (Дания) и системы визуализации EnVision Systems той же фирмы).

Статистическую обработку результатов проводили на персональном компьютере с использованием стандартного пакета программ прикладного статистического анализа (Statistica for Windows v. 6.0). Использовались методы параметрической и непараметрической статистики. Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы принимали равным 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Оценка гемодинамических показателей в динамике у беременных представлена в таблице 1. У беременных с нарушением плодово-плацентарного кровотока I степени в основной группе и группе сравнения отмечалось достоверное снижение значений СДО и ИР в артерии пуповины, однако более зна-

чимым оно было в группе беременных, получавших изосорбида-5-монопитрат ($p < 0,001$ и $p < 0,05$ соответственно).

Таблица 1

Динамика гемодинамических показателей в системе «мать-плацента-плод» у обследованных беременных до и после проведенного лечения

Исследуемый сосуд		Основная группа		Группа сравнения	
		Нарушение ППК I степени	Нарушение ППК II степени	Нарушение ППК I степени	Нарушение ППК II степени
Артерия пуповины	СДО до лечения	3,64±0,09 (n=31)	4,40±0,16 (n=9)	3,77±0,12 (n=28)	4,68±0,25 (n=9)
	СДО после	2,90±0,13 (n=30) ***	3,26±0,14 (n=9) ***	3,34±0,12 (n=26) *	4,63±0,72 (n=7)
	НР до лечения	0,718±0,007 (n=31)	0,769±0,008 (n=9)	0,726±0,008 (n=28)	0,78±0,01 (n=9)
	НР после лечения	0,64±0,01 (n=30) ***	0,69±0,01 (n=9) ***	0,69±0,01 (n=26) *	0,75±0,03 (n=7)
Средняя мозговая артерия	СДО до лечения	5,16±0,24 (n=31)	3,58±0,16 (n=9)	5,20±0,19 (n=28)	3,89±0,26 (n=9)
	СДО после	5,18±0,18 (n=30)	4,23±0,32 (n=9) *	4,62±0,23 (n=26)**	3,48±0,22 (n=7) *
	НР до лечения	0,794±0,008 (n=31)	0,72±0,01 (n=9)	0,800±0,007 (n=28)	0,73±0,02 (n=9)
	НР после лечения	0,798±0,007 (n=30)	0,75±0,01 (n=9) *	0,77±0,01 (n=26) **	0,70±0,02 (n=7) *
ШЮ	До лечения	1,11±0,01 (n=31)	0,93±0,02 (n=9)	1,11±0,01 (n=28)	0,94±0,03 (n=9)
	После лечения	1,25±0,02 (n=30) ***	1,10±0,03 (n=9) ***	1,12±0,03 (n=26)	0,95±0,07 (n=7)
Правая маточная артерия	СДО до лечения	1,80±0,05 (n=31)	2,51±0,25 (n=9)	1,93±0,14 (n=28)	2,42±0,37 (n=9)
	СДО после	1,77±0,06 (n=31)	1,78±0,05 (n=9) *	2,0±0,1 (n=28)	2,37±0,36 (n=9)
	НР до лечения	0,43±0,01 (n=31)	0,56±0,05 (n=9)	0,45±0,02 (n=28)	0,52±0,06 (n=9)
	НР после лечения	0,42±0,02 (n=31)	0,43±0,02 (n=9) *	0,48±0,02 (n=28)	0,52±0,05 (n=9)
Левая маточная артерия	СДО до лечения	1,82±0,12 (n=31)	2,58±0,44 (n=9)	2,32±0,39 (n=28)	2,57±0,48 (n=9)
	СДО после	1,70±0,04 (n=31)	1,92±0,05 (n=9)	2,23±0,26 (n=28)	2,45±0,44 (n=9)
	НР до лечения	0,41±0,02 (n=31)	0,55±0,04 (n=9)	0,46±0,03 (n=28)	0,52±0,06 (n=9)
	НР после лечения	0,40±0,01 (n=31)	0,47±0,02 (n=9) *	0,48±0,02 (n=28)	0,52±0,05 (n=9)

Примечание: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ – по сравнению с показателями до лечения (при использовании t-d-критерия).

В средней мозговой артерии значения СДО и ИР в группе женщин, получавших изосорбида-5-мононитрат, до и после лечения не имели достоверных различий ($p > 0,1$), тогда как в группе с традиционным лечением отмечалось достоверное снижение этих показателей ($p = 0,08$ и $p = 0,005$). Отмечалось достоверное повышение показателя ЦПО на фоне проводимой терапии в группе пациенток, получавших изосорбида-5-мононитрат ($p < 0,001$), тогда как при традиционном лечении достоверных изменений этого показателя не выявлено ($p > 0,1$).

При нарушении ППК II степени (централизация плодового кровотока) у пациенток, получавших изосорбида-5-мононитрат, обнаружено достоверное снижение значений СДО и ИР в артерии пуловины ($p < 0,001$), тогда как в группе с традиционным лечением достоверного снижения этих показателей не отмечалось ($p > 0,1$). В средней мозговой артерии значения СДО и ИР у пациенток, получавших изосорбида-5-мононитрат, статистически достоверно повышались после лечения ($p < 0,05$), тогда как в группе с традиционным лечением аналогичные показатели достоверно снижались ($p < 0,05$). Выявлено достоверное повышение ЦПО на фоне проводимой терапии ($p < 0,001$) у беременных, получавших изосорбида-5-мононитрат, тогда как при традиционном лечении изменений данного показателя не было ($p > 0,1$). Показатели СДО и ИР правой маточной артерии после лечения имели достоверно более низкие значения в основной группе ($p < 0,05$), тогда как в группе сравнения достоверно не различались ($p > 0,1$). Показатели СДО левой маточной артерии не имели достоверных различий до и после лечения в обеих группах ($p > 0,1$), тогда как ИР был достоверно ниже после лечения изосорбида-5-мононитратом ($p = 0,032$ и $p > 0,1$ соответственно) (табл. 1).

Анализ данных полученных в результате исследования маркеров дисфункции эндотелия выявил повышение уровня оксида азота в сыворотке крови с прогрессированием беременности, а также его дефицит у беременных с гестозом по сравнению с физиологически протекавшей беременностью ($6,07 \pm 0,12$ и $8,65 \pm 0,97$ нмоль/л соответственно ($t = 4,09$; $p < 0,001$)). На фоне проводимой терапии отмечалось повышение уровня нитритов в крови беременных обеих групп,

однако более высокий уровень выявлен у пациенток, получавших изосорбида-5-мононитрат. Возможно, это свидетельствует о компенсаторном повышении уровня нитритов в материнской циркуляции, мобилизации резервных возможностей, направленных на улучшение кровотока в функциональной системе «мать-плацента-плод», а также связано с поступлением экзогенного оксида азота в виде изосорбида-5-моно-нитрата. Перед родами уровень нитритов как при физиологическом течении беременности ($t_d=3,56$; $p<0,001$), так и при осложненной гестозом беременности достоверно снижался ($t_d=2,82$; $p<0,01$), что, видимо, связано с увеличением уровня эстрогенов, подавляющего синтез оксида азота и цГМФ и устраняющего их ингибирующее влияние на сократимость матки, инициируя родовую деятельность (Абрамченко В.В. и соавт., 1997).

Данные уровня нитритов в материнской циркуляции представлены на рисунке 1.



Примечание: * – $p<0,05$, ** – $p<0,01$, *** – $p<0,001$ по сравнению с показателями группы контроля (t-критерий); # – $p<0,05$ – по сравнению с показателями группы сравнения (t-критерий).

Рис. 1. Динамика содержания нитритов (нмоль/л) в крови беременных в зависимости от метода лечения

Уровень нитритов в артерии пуповины достоверно превышал таковой в крови матери и крови вены пуповины и при физиологически протекавшей беременности и при гестозе с нарушением плодово-плацентарного кровотока ($p<0,05$), что указывает на интенсивную продукцию оксида азота в организме плода (рис. 2).



Рис. 2. Содержание нитритов в материнской и плодово-плацентарной циркуляции в различных группах

Уровень NO у плода, превышающий материнский, вероятно, обеспечивает более низкий уровень сосудистого сопротивления в организме растущего плода и может быть обусловлен высокой плотностью сосудистого русла в плодово-плацентарной системе, а также значительной эндотелиальной активностью во внутриутробном периоде.

При физиологически протекавшей беременности уровень нитритов в крови артерии пуповины в 2 раза превышал уровень нитритов в крови матери ($9,58 \pm 0,27$ нмоль/л против $4,93 \pm 0,23$ нмоль/л, соотношение составило $2,02 \pm 0,07$), тогда как при нарушении плодово-плацентарного кровотока на фоне гестоза отмечалось достоверное снижение данного соотношения: $1,66 \pm 0,07$ – в основной группе и $1,53 \pm 0,05$ – в группе сравнения, что может быть обусловлено дисфункцией эндотелия в плодово-плацентарном комплексе. При сравнении отношения содержания NO в артерии пуповины к содержанию NO в крови матери у беременных с гестозом выявлено, что при легком гестозе достоверных различий между группами не отмечалось, тогда как при гестозе средней степени тяжести оно было более высоким в группе беременных, получавших изосорбида-5-монопнитрат, и составило $1,63 \pm 0,10$ и $1,31 \pm 0,05$ соответственно ($t=3,52$; $p=0,024$), что свидетельствует о снижении эндотелиальной дисфункции в плодово-плацентарном комплексе. Наличие отрицательной корреля-

ционной зависимости между гипотрофией плода и уровнем NO в артерии пуповины ($r = -0,28$; $p = 0,043$) может свидетельствовать о дефиците оксида азота в плодовой циркуляции, которое ведет к ухудшению его гемодинамики и СВЗРП. Наличие отрицательной корреляционной зависимости между выраженностью маловодия и уровнем NO в артерии пуповины ($r = -0,32$; $p = 0,018$) также наводит на мысль о дефиците оксида азота в плодовой циркуляции, снижении гемодинамики почек плода и, как следствие этого, маловодии.

Содержание растворимого тромбомодулина в материнской и плодово-плацентарной циркуляции не превышало допустимых нормальных значений. Однако уровень тромбомодулина в материнской циркуляции при гестозе средней степени тяжести был достоверно выше, чем при легком течении гестоза, и составил $4,35 \pm 0,66$ и $2,24 \pm 0,25$ нг/мл соответственно ($t = 3,59$; $p < 0,002$). Наличие положительной корреляционной зависимости между уровнем тромбомодулина в материнской циркуляции, с одной стороны, и степенью гестоза ($r = 0,61$; $p = 0,002$), протенурией ($r = 0,50$; $p = 0,01$), САД ($r = 0,47$; $p = 0,02$) – с другой, свидетельствует о наличии связи изменений уровня тромбомодулина в материнской циркуляции с клиническими проявлениями гестоза. Уровень тромбомодулина в крови беременных с нарушением ППК I степени статистически значимо снижался в группе пациенток, принимавших изосорбида-5-мононитрат ($p < 0,05$), тогда как при традиционном лечении достоверных изменений не отмечалось, что может свидетельствовать в пользу некоторой стабилизации функции эндотелия. У беременных с нарушением ППК II степени статистически значимых изменений уровня тромбомодулина не было отмечено ни в одной группе.

Содержание тромбомодулина в крови вены пуповины достоверно превышало его уровень в крови матери как в основной группе, так и в группе сравнения (в $3,53 \pm 0,43$ раза ($p < 0,001$) и в $2,69 \pm 0,52$ раза ($p < 0,01$) соответственно). Не было выявлено достоверных различий в уровне тромбомодулина в плодово-плацентарной циркуляции между группами (рис. 3).



Рис. 3. Содержание тромбомодулина в материнской и плодово-плацентарной циркуляции

Более высокий уровень ТМ в плодово-плацентарной циркуляции по сравнению с материнским, по-видимому, связан с онтогенетическим эффектом и с повышенным поступлением его из межворсинчатого пространства. Учитывая, что ТМ известен как фактор ангиогенеза, а низкая тромбомодулиновая активность коррелирует с нарушением ангиогенеза (Wienhard J., 2002), можно полагать, что повышение уровня тромбомодулина в плодово-плацентарной циркуляции оправдано и необходимо для нормального развития растущего плода.

Иммуногистохимическое исследование экспрессии eNOS в тканях последа выявило, что при легком течении гестоза экспрессия eNOS в эндотелии артерии пуповины была достоверно ниже ($0,46 \pm 0,12\%$), чем при физиологическом течении беременности ($0,83 \pm 0,08\%$) ($p < 0,05$). При гестозе средней степени тяжести экспрессия eNOS была достоверно ниже и в синцитиотрофобласте, и в сосудах пуповины (в вене и артерии пуповины), по сравнению с экспрессией eNOS при физиологическом течении беременности ($p < 0,05$). Снижение активности eNOS может служить индикатором эндотелиальной дисфункции при гестозе и СВЗРП (Rutherford R.A. et al., 1995).

В группе беременных, получавших изосорбида-5-мононитрат, площадь экспрессии eNOS в синцитиотрофобласте, в эндотелии вены и артерии пуповины не имела достоверных различий по сравнению с данными группы контроля ($p > 0,1$), тогда как в группе беременных, получавших традиционное лечение, площадь экспрессии eNOS была достоверно ниже и в вене пуповины ($t = 2,37$;

$p=0,027$), и в артерии пуповины ($t=4,45$; $p<0,001$). При нарушении ППК I степени у пациенток в основной группе экспрессия eNOS в синцитиотрофобласте была достоверно выше, чем у пациенток в группе сравнения, и составила $11,64\pm 3,17$ и $3,38\pm 1,41\%$ ($t=2,38$; $p=0,04$). Показатели площади экспрессии eNOS в сосудах пуповины достоверно не различались ($p>0,1$). При нарушении ППК II степени экспрессия eNOS в синцитиотрофобласте в группах достоверно не различалась ($t=0,01$; $p>0,1$). Экспрессия eNOS в эндотелии вены пуповины была достоверно выше в основной группе, чем у пациенток в группе сравнения, и составила $2,89\pm 0,02$ и $0,37\pm 0,37\%$ соответственно ($p=0,014$), тогда как экспрессия eNOS в эндотелии артерии пуповины достоверных различий не имела ($p>0,05$).

Подтверждая патогенетическую связь нарушения синтеза оксида азота в пределах плодово-плацентарного комплекса, гемодинамики плода, гипоксии и гипотрофии, нами выявлена положительная корреляционная зависимость с показателями экспрессии eNOS синцитиотрофобластом, с одной стороны, и ЦПО ($r=0,54$; $p=0,017$), с оценкой по шкале Апгар на 1-й минуте ($r=0,46$; $p=0,042$) и на 5-й минуте ($r=0,46$; $p=0,042$), массой ($r=0,46$; $p=0,044$) и длиной тела новорожденного ($r=0,46$; $p=0,044$) – с другой. Кроме того, выявлена положительная корреляционная зависимость между экспрессией eNOS в эндотелии вены пуповины с показателями ЦПО ($r=0,54$; $p=0,040$), указывающая на важную роль eNOS в эндотелии сосудов пуповины в регулировании кровотока в плодово-плацентарном комплексе. Отрицательная корреляционная взаимосвязь выявлена между экспрессией eNOS в эндотелии вены пуповины и нарушенном плодово-плацентарном кровотоке ($r=-0,57$; $p=0,028$) и ИР в артерии пуповины ($r=-0,52$; $p=0,049$).

При исследовании экспрессии тромбомодулина в тканях последа установлено, что при физиологически протекавшей беременности площадь экспрессии ТМ в синцитиотрофобласте была достоверно меньше, чем при гестозе легкой и средней степени тяжести ($t=2,30$; $p=0,028$ и $t=3,71$; $p=0,001$). Увеличение площади экспрессии тромбомодулина в синцитиотрофобласте и сосудах

пуловины при гестозе может свидетельствовать о компенсаторном повышении, направленном на улучшение материнского гемостаза в межворсинчатом пространстве (Fazel A. et al., 1998).

Выявлена положительная корреляционная зависимость между экспрессией ТМ в синцитиотрофобласте, с одной стороны, и отеками беременных ($r=0,46$; $p=0,027$), уровнем ТМ в материнской циркуляции ($r=0,74$; $p=0,001$), агрегацией тромбоцитов ($r=0,49$; $p=0,017$), наличием инфарктов плаценты (при ультразвуковом исследовании) ($r=0,42$; $p=0,044$) – с другой. Полученные данные свидетельствуют о несомненной патогенетической взаимосвязи экспрессии тромбомодулина в синцитиотрофобласте и эндотелии сосудов пуловины с гестозом как результатом плацентарной ишемии, а также с состоянием новорожденного.

В группе беременных, получавших традиционное лечение, показатели площади экспрессии ТМ в синцитиотрофобласте достоверно превышали таковые и в группе контроля, и в группе получавших изосорбида-5-мононитрат, тогда как в группе беременных, получавших изосорбида-5-мононитрат, достоверных различий с показателями в контрольной группе не отмечалось. Полученные данные могут свидетельствовать о более выраженной гипоксии и СВЗРП плода в группе с традиционным лечением. В подтверждение этому надо отметить, что в группе беременных, получавших изосорбида-5-мононитрат из 10 новорожденных 3 (30,0%) родилось с весом до 2500 г, тогда как в группе с традиционным лечением из 14 новорожденных – 7 (50,0%), в том числе с весом до 1500 г – 1, с весом до 2000 г – 3 и весом до 2500 г – 3 новорожденных.

Оценка динамики клинико-лабораторных показателей до и после лечения изосорбида-5-мононитратом выявила, что при гестозе легкой степени отмечалось достоверное снижение САД (с $120,0 \pm 1,55$ до $112,43 \pm 2,2$ мм рт. ст. ($td=3,97$; $p<0,001$), ДАД (с $76,49 \pm 1,19$ до $71,62 \pm 1,71$ мм рт. ст. ($td=3,57$; $p<0,001$)) и отеков, тогда как в группе с традиционным лечением отмечалось снижение лишь ДАД (с $76,25 \pm 2,23$ до $71,25 \pm 1,94$ мм рт. ст. ($td=2,43$; $p=0,021$)) и отеков. При гестозе средней степени тяжести отмечалось достоверное снижение САД (с

153,33±3,33 до 131,67±1,67 мм рт. ст. ($td=13,0$; $p=0,006$) и протениурии (с $1,09±0,10$ до $0,08±0,04$ ($td=12,41$; $p=0,006$)) у беременных основной группы, тогда как в группе сравнения достоверных изменений показателей АД и протениурии отмечено не было.

Оценка исхода беременности и особенностей течения родов прослежены у 33 (82,5%) пациенток основной группы, у 31 (83,8%) пациентки группы сравнения и у 30 пациенток группы контроля (100,0%). Через естественные родовые пути родоразрешилось 20 (60,6%) пациенток основной группы, 9 (29,0%) пациенток группы сравнения и 28 (93,3%) пациенток группы контроля. Анализ полученных данных выявил: частота родоразрешения через естественные родовые пути достоверно выше в основной группе, по сравнению с таковой в группе сравнения ($\chi^2=5,22$; $p=0,022$; ТМФ: $p=0,014$), частота оперативного родоразрешения достоверно ниже в группе принимавших изосорбида-5-мононитрат ($\chi^2=5,22$; $p=0,022$; ТМФ: $p=0,014$), частота срочных родов выше, а преждевременных родов – ниже в группе беременных, получавших изосорбида-5-мононитрат ($\chi^2=3,42$; $p=0,061$; $rs=-0,27$; $p=0,031$; ТМФ: $p=0,048$), по сравнению с группой, получавшей традиционное лечение. При этом родоразрешение путем операции кесарева сечения в связи с ухудшением гемодинамики плода проводилось в 7,7% случаев в основной группе, тогда как в группе сравнения – в 27,3% случаев.

Масса новорожденных, матери которых получали во время беременности изосорбида-5-мононитрат в комплексной терапии гестоза и нарушений плодово-плацентарного кровотока, в среднем составила $2893,8±122,4$ г, что было достоверно выше, чем масса новорожденных в группе с традиционным лечением – $2488,7±112,1$ г ($p=0,018$). Длина новорожденных составила $48,8±0,7$ см и $47,3±0,7$ см соответственно и имела тенденцию к превышению в группе матерей, получавших изосорбида-5-мононитрат. Отмечена достоверная разница оценки по шкале Апгар как на 1-й минуте ($7,6±0,1$ – в основной группе и $7,1±0,1$ балла – в группе сравнения ($p=0,005$)), так и на 5-й минуте ($8,0±0,1$ и $7,6±0,1$ балла соответственно ($p=0,021$)). Состояние ЦНС оценивалось как

удовлетворительное у 23 (69,7%) новорожденных в основной группе и у 11 (35,5%) в группе сравнения, а гипоксически-ишемическое поражение ЦНС наблюдалось в 30,3% и в 64,5% случаев соответственно ($\chi^2=7,51$; $p=0,006$).

Таким образом, было установлено, что изосорбида-5-монопнитрат является средством патогенетической терапии нарушения плодово-плацентарного кровотока у беременных, страдающих гестозом.

ВЫВОДЫ

1. Включение в комплекс лечебных мероприятий изосорбида-5-монопнитрата беременным с нарушением плодово-плацентарного кровотока, обусловленным гестозом, приводило к значимому снижению резистентности кровотоку в сосудах как плодово-плацентарного, так и маточно-плацентарного комплекса. При этом было отмечено более значимое снижение СДО ($td=5,13$; $p<0,001$) и ИР ($td=6,22$; $p<0,001$) в артерии пуповины, по сравнению с СДО и ИР при традиционном лечении ($td=2,38$; $p=0,025$ и $td=2,44$; $p=0,022$), а также достоверное повышение показателя ЦПО ($td=6,13$; $p<0,001$) при нарушении ППК I степени. При нарушении ППК II степени достоверное снижение значений СДО и ИР в артерии пуповины ($td=10,79$; $p<0,001$ и $td=8,82$; $p<0,001$) и повышение ЦПО ($td=6,87$; $p<0,001$) отмечалось лишь в группе с использованием изосорбида-5-монопнитрата. Нормализация плодово-плацентарного кровотока была отмечена в 52,5% в основной группе и в 21,6% случаев в группе сравнения ($p=0,011$).

2. Уровень нитритов (оксида азота) в материнской крови повышался с прогрессированием беременности, снижаясь перед родами как при физиологической, так и осложненной гестозом беременности. При осложненном течении беременности отмечался дефицит оксида азота и его компенсаторное повышение на фоне проводимой комплексной терапии, включающей изосорбида-5-монопнитрат.

3. При физиологически протекающей и осложненной гестозом с нарушением гемодинамики плода беременности концентрация нитритов в артерии пуповины превышала концентрацию в материнской циркуляции (в

2,02±0,07 раза в группе с физиологическим течением беременности, в 1,66±0,07 – при использовании изосорбида-5-мононитрата и в 1,53±0,05 – в группе с традиционным лечением). Нарушение гемодинамики плода, снижение содержания метаболитов оксида азота в крови артерии пуповины, очевидно, приводит к снижению почечного кровотока плода и маловодию, о чем свидетельствует корреляционная зависимость между выраженностью маловодия и уровнем нитритов в артерии пуповины ($r = -0,32$; $p = 0,018$). Уровень тромбомодулина в пуповинной крови (преимущественно в вене пуповины) превышал таковой в материнской циркуляции в 3,53±0,43 раза в основной группе и в 2,69±0,52 раза в группе сравнения, не превышая общезвестные нормативные значения.

4. При гестозе средней степени тяжести с нарушением плодово-плацентарного кровотока выявлено снижение экспрессии eNOS и повышение экспрессии тромбомодулина в синцитиотрофобласте и эндотелии сосудов пуповины. Включение в комплексную терапию гестоза донатора оксида азота приводило к снижению тромбомодулина в синцитиотрофобласте до уровня физиологических показателей.

5. Включение изосорбида-5-мононитрата в комплексную терапию гестоза приводило к более эффективному снижению его клинических проявлений. Отмечено достоверное уменьшение САД ($td = 3,97$; $p < 0,001$), ДАД ($td = 3,57$; $p < 0,001$) и отеков ($td = 9,77$; $p < 0,001$) при легком течении гестоза, тогда как в группе с традиционным лечением отмечалось снижение лишь ДАД ($td = 2,43$; $p = 0,021$) и отеков ($td = 7,11$; $p < 0,001$). При гестозе средней степени тяжести в группе, получавшей изосорбида-5-мононитрат, отмечалось достоверное снижение САД ($td = 13,0$; $p = 0,006$) и протеинурии ($td = 12,41$; $p = 0,006$), тогда как в группе с традиционным лечением достоверных изменений показателей АД и протеинурии не отмечалось.

6. Применение изосорбида-5-мононитрата приводило к снижению частоты преждевременных родов на 23,5% и оперативного родоразрешения на 31,6%, а также к улучшению массо-ростовых показателей и функциональной оценки по-

ворожденных, в том числе к снижению гипоксически-ишемического поражения ЦНС на 34,2%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Результаты проведенных исследований служат основанием для применения изосорбида-5-мононитрата в комплексной терапии нарушения плодово-плацентарного кровотока у беременных, страдающих гестозом.

2. С целью лечения нарушений плодово-плацентарного кровотока у беременных, страдающих гестозом, следует назначать изосорбида-5-мононитрат в таблетированной форме, по 20 мг 2 раза в сутки, в течение 2-3 недель под контролем гемодинамических показателей.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Влияние донаторов оксида азота на гемодинамику в системе мать-плацента-плод и исход беременности у женщин с гестозом и нарушением плодово-плацентарного кровотока / М.А. Алимхаджиева // Журнал акушерства и женских болезней. – 2009. – Т. LVIII, вып. 5. – С. 7-13.

2. Выявление эндотелиальной NO-синтазы в плаценте и оксида азота в сыворотке крови беременных женщин в комплексной оценке эффективности лечения гестоза / Э.К. Айламазян, М.А. Алимхаджиева, И.Н. Костючек, И.С. Линькова, А.В. Костылев, И.А. Пальченко, И.М. Кветной // Архив патологии. – 2010. – № 1. – С. 26-29.

3. Применение изосорбида мононитрата в комплексной терапии гестоза у беременных с нарушением плодово-плацентарного кровотока / М.А. Алимхаджиева // Журнал акушерства и женских болезней. – 2007. – Т. LVII, спецвып. 3-й Международный Научный Конгресс «Новые технологии в акушерстве и гинекологии», посв. 210-летию НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН – С. 11-12.

4. Состояние экспрессии тромбомодулина клетками плаценты и сосудов пуповины при гестозе / А.В. Колобов, М.А. Алимхаджиева // Верхневолжский медицинский журнал. – 2006. – спецвып. – С. 34-35.

5. Содержание нитритов в материнской и плодово-плацентарной циркуляции при нормально развивающейся и осложненной беременности / М.А. Алимхаджиева, М.С. Зайнулина, Т.И. Опарина // Материалы 8-го Всероссийского на-

учного форума «Мать и дитя». – М., 2006. – С. 17.

6. Клинико-патогенетическое обоснование применения доноров оксида азота в комплексном лечении гестоза / М.А. Алимхаджиева // *Материалы XIV Межгородской конференции молодых ученых «Актуальные проблемы патофизиологии».* – СПб., 2008. – С. 3-4.

7. Оценка эффективности медикаментозной коррекции нарушения гемодинамики в плодово-плацентарном комплексе у беременных с гестозом / М.А. Алимхаджиева // *Материалы Научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Актуальные вопросы клинической и экспериментальной медицины».* – СПб., 2008. – С. 231-232.

8. Применение доноров оксида азота в профилактике преждевременных родов / М.А. Алимхаджиева // *Материалы Международной междисциплинарной конференции «Преждевременные роды».* – СПб., 2010. – CD.

9. Анализ исходов беременности и родов на фоне применения органических нитровазодилататоров в комплексной терапии гестоза и нарушения гемодинамики плода / М.А. Алимхаджиева // *Материалы X Юбилейной Научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Актуальные вопросы клинической и экспериментальной медицины».* – СПб., 2010. – С. 289-290.

10. Содержание маркеров дисфункции эндотелия в материнской и плодово-плацентарной циркуляции у беременных с гестозом / М.А. Алимхаджиева // *Материалы XVII Межгородской конференции молодых ученых «Актуальные проблемы патофизиологии».* – СПб., 2011. – С. 12-13.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АД – артериальное давление
 ДАД – диастолическое артериальное давление
 ИР – индекс резистентности
 ППК – плодово-плацентарный кровоток
 САД – систолическое артериальное давление
 СВЗРП – синдром внутриутробной задержки развития плода
 СДО – систоло-диастолическое отношение
 ТМ – тромбомодулин
 ТМФ – точный метод Фишера
 цГМФ – циклический гуанозинмонофосфат
 ЦНС – центральная нервная система
 ЦПО – церебро-плацентарное отношение
 eNOS – эндотелиальная изоформа синтазы оксида азота
 NO – оксид азота

Из фондов Российской национальной библиотеки

Подписано в печать 15.09.2011г.
Формат 60x84 1/16. Бумага офсетная. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 1,4. Тираж 100 экз.
Заказ № 2227.

Отпечатано в ООО «Издательство "ЛЕМА"»
199004, Россия, Санкт-Петербург, В.О., Средний пр., д. 24
тел.: 323-30-50, тел./факс: 323-67-74
e-mail: izd_lemma@mail.ru
<http://www.lemaprint.ru>

Из фондов Российской национальной библиотеки

Из фондов Российской национальной библиотеки

2011A
17160

11-17160

Из фондов Российской национальной библиотеки