

konferentsii. – Vitebsk, 2000. – S. 148–149.

3. Platsentarnaya nedostatochnost / G. M. Saveleva [i dr.]. – Moskva, 1991. – 276 s.

4. Sidorova, I. S. Etiopatogeneticheskie osnovyi vedeniya beremennyih s fetoplatsentarnoy nedostatochnostyu / I. S. Sidorova, I. O. Makarov // Ginekologiya. – 2006. – T. 8, № 5. – S. 28–33.

5. Sidorova, S. S. Rukovodstvo po akusherstvu: ucheb. posobie / S. S. Sidorova, V. I. Kulakov, I. O. Makarov – M.: Meditsina, 2006. – S. 442–443.

6. Hladovec, J. Circulating endothelial cells as a sign of vessels wall lesions / J. Hladovec // Physiologia bohemoslovaca. – 1978. – Vol. 27. – P. 400.

Поступила 10.05.2019.

УДК 616.15.008.1+616.153

**ИЗУЧЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА ДЕСКВАМИРОВАННЫХ
ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК
В КРОВИ БЕРЕМЕННЫХ ИЗ ГРУППЫ РИСКА
ПО ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ**

Александрович А.С., Пальцева А.И., Соболевский В.А.

Учреждение образования «Гродненский государственный
медицинский университет», г. Гродно, Республика Беларусь

**STUDYING OF QUANTITY OF THE DESKVAMATED
CIRCULATING ENDOTHELIAL CELLS IN BLOOD
OF PREGNANT WOMEN FROM RISK GROUP ON
FETOPLACENTAL INSUFFICIENCY**

Aleksandrovich A. S., Paltseva A. I., Sobolevsky V. A.

Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

Реферат.

Современная эндотелиология отводит монооксиду азота ведущее место в патогенезе эндотелиальной дисфункции.

Цель исследования: изучить патогенетические основы диагностики фетоплацентарной недостаточности у беременных на основе изучения монооксид азота-синтазной недостаточности

эндотелия сосудов по количеству десквамированных циркулирующих эндотелиальных клеток в крови.

Материал и методы исследования. Исследовалась сыворотка крови беременных из группы риска по фетоплацентарной недостаточности, беременных с фетоплацентарной недостаточностью.

Результаты исследования. Уровень циркулирующих эндотелиальных клеток у беременных из группы риска по фетоплацентарной недостаточности в сроке беременности до 12 недель составил $26,4 \pm 4,6 \cdot 10^4$, в группе обследованных беременных в сроке 12–16 недель количество десквамированных циркулирующих эндотелиальных клеток составило $48,2 \pm 5,8 \cdot 10^4$, а в сроке с 16–22 недель – $35,2 \pm 5,1 \cdot 10^4$ на 1 л плазмы.

Выводы. Избыточное количество циркулирующих эндотелиальных клеток является одним из маркеров дисфункции эндотелия у беременных.

Ключевые слова: беременность, фетоплацентарная недостаточность, циркулирующие эндотелиальные клетки.

Abstract.

The modern endoteliology allocates for nitrogen monoxide conducting the place in pathogenesis of endothelial dysfunction.

Objective: to study pathogenetic bases of diagnostics of fetoplacental insufficiency at pregnant women on the basis of studying monoxide of nitrogen-sintaznoy of insufficiency of an endothelium of vessels by quantity of the deskvamated circulating endothelial cells in blood.

Material and methods. Blood serum of pregnant women from risk group on fetoplacental insufficiency, pregnant women with fetoplacental insufficiency was investigated.

Results. Level of the circulating endothelial cells at pregnant women from risk group on fetoplacental insufficiency in duration of gestation up to 12 weeks was $26,4 \pm 4,6 \cdot 10^4$, in group of the examined pregnant women in the term of 12–16 weeks the quantity of the deskvamirovanny circulating endothelial cells was $48,2 \pm 5,8 \cdot 10^4$, and in term from 16–22 weeks – $35,2 \pm 5,1 \cdot 10^4$ on 1 liter of plasma.

Conclusions. The excess quantity of the circulating endothelial cells is one of endothelium dysfunction markers at pregnant women.

Key words: pregnancy, fetoplacental insufficiency, the circulating endothelial cells.

Введение. Патология плода и новорожденного предопределяет как постнатальное развитие ребенка, так и здоровье взрослого человека. В структуре перинатальной заболеваемости и смертности роль акушерской и экстрагенитальной патологии достаточно велика [1]. Очевидно, что снижение заболеваемости и смертности плода и новорожденного является важнейшей медицинской и социальной проблемой.

Фетоплацентарная недостаточность – ведущая причина перинатальной заболеваемости и смертности [6]. Необходимо отметить, что акушерский аспект исследования этой проблемы ограничен изучением особенностей течения беременности, моментом рождения ребенка и, в лучшем случае, весьма краткой характеристикой его состояния при рождении.

Здоровье плода зависит не только от генетической программы его развития, но и от структурной полноценности плаценты и нормального функционирования системы «мать-плацента-плод». Нарушения в этой системе являются основными причинами осложненного течения беременности, родов, перинатальной заболеваемости и смертности вследствие снижения синтеза и дисбаланса гормонов плаценты и их предшественников материнского и плодового происхождения, нарушения процессов созревания плаценты, ограничения газообмена и метаболизма, нарушения маточно-плацентарного и фетоплацентарного кровотока.

Среди парадоксов беременности особенно следует отметить уникальную гемореологическую ситуацию, когда артериальная кровь матери из многочисленных устьев маточно-плацентарных артерий покидает собственную сосудистую систему и омывает чужеродную в антигенном отношении поверхность ворсин плаценты [3, 5].

Эндотелиальный покров сосудов является сложной биологической системой, обладающей генетически детерминированным набором функций: барьерно-транспортной, регуляцией реологических свойств крови, пролиферативных

процессов, поддержания сосудистого тонуса, иммунологических реакций [4, 5].

Современная эндотелиология отводит монооксиду азота ведущее место в патогенезе эндотелиальной дисфункции, нарушению той функции, которую оксид азота выполняет в здоровом эндотелии [7].

Эндотелиальная дисфункция является патологическим состоянием во время беременности и лежит в основе многих осложнений гестационного процесса. Она характеризуется изменением уровня продукции эндотелиальных факторов в фетоплацентарном комплексе в сравнении с физиологически протекающей беременностью. Основными признаками развития эндотелиальной дисфункции в фетоплацентарном комплексе являются: нарушение эндотелийзависимой вазодилатации, повышение чувствительности сосудов к вазоактивным веществам, снижение тромборезистентных свойств сосудов (ДВС-синдром), активация факторов воспаления, повышение сосудистой проницаемости, дизрегуляция факторов роста.

Монооксид азота тормозит адгезию циркулирующих тромбоцитов и лейкоцитов к эндотелиальному покрову, регулируя пристеночный гемостаз; эта функция сопряжена с простагландином, который препятствует агрегации клеток. Брاديкинин – полипептид образующийся в крови под действием калликреина и фактора Хагемана (XII фактор свертывания крови), стимулирует синтез монооксида азота и, соответственно, его антиагрегативную активность.

Исследования дисфункции эндотелия сосудов пуповины новорожденных от матерей с артериальной гипертензией показали, что монооксид азота зависимая дисфункция эндотелия носит генерализованный характер [6, 7]. Эндотелиальная дисфункция является системной патологией, сопряженной с нарушением микроструктуры и секреторной функции эндотелиальных клеток, одной из наиболее значимых тканевых систем сосудистого ложа.

Поиск показателей, которые дадут реальную возможность прогнозировать фетоплацентарную недостаточность на доклиническом этапе и управлять процессами ее упреждения, остается по-прежнему актуальным.

Цель исследования: изучить патогенетические основы диагностики фетоплацентарной недостаточности у беременных на основе изучения монооксид азота-синтазной недостаточности эндотелия сосудов по количеству десквамированных циркулирующих эндотелиальных клеток в крови.

Материал и методы исследования. Объектом исследования были беременные из группы риска по фетоплацентарной недостаточности. Сыворотка крови беременных из группы риска по фетоплацентарной недостаточности, беременных с фетоплацентарной недостаточностью, в которой определяли количество циркулирующих эндотелиальных клеток.

Для достижения цели использовались следующие методы исследования:

1. Клинико-лабораторный метод – изучение уровня циркулирующих в крови эндотелиальных клеток у беременных с фетоплацентарной недостаточностью (раздельно в артерии и в вене пуповины).

2. Статистический метод – вариационная статистика с применением корреляционного анализа.

3. Степень морфологического повреждения эндотелия кровеносных сосудов изучалась по количеству десквамированных циркулирующих эндотелиальных клеток в пересчете на 1 л плазмы крови при норме до 8-10 клеток.

Нарушение барьерной функции эндотелия происходит как за счет сокращения клеток и появления межклеточных щелей, сквозь которые свободно проходят молекулы любого размера, так и в связи с нарушением его регенерации при ускоренном апоптозе клеток, связанном с наличием хронического эндотоксического дистресс-синдрома [3, 9]. В течение прошлого десятилетия наиболее доступным морфологическим маркером повреждения эндотелия стали циркулирующие эндотелиальные клетки, которые использовались как показатель нарушения целостности эндотелия при множестве заболеваний [8].

Определение количества циркулирующих в крови клеток эндотелия может быть использовано с целью комплексной оценки морфофункциональных свойств эндотелиального пласта сосудов при широком круге заболеваний, сопровождающихся развитием сосудистых расстройств и дисфункции эндотелия.

Исследуемую кровь с добавлением 3,2% раствора цитрата натрия (в соотношении 9:1) центрифугировали (1000 об/мин) в течение 10 мин. К 1 мл полученной плазмы для стимуляции агрегации тромбоцитов добавляли 0,1%-ный раствор АДФ (0,4 мл на 1 мл плазмы). Агрегаты тромбоцитов осаждали при повторном 10-минутном центрифугировании плазмы (1000 об/мин). Затем 1 мл надосадочной плазмы переносили в другую пробирку и вновь центрифугировали в течение 20 минут при тех же условиях. После удаления надосадочной плазмы к осадку, содержащему эндотелиоциты, добавляли 0,1 мл 0,85% раствора NaCl, перемешивали стеклянной палочкой и полученную взвесь эндотелиоцитов переносили в камеру Горяева для подсчёта в двух сетках. Пересчёт количества циркулирующих в крови эндотелиоцитов производили на 1 л плазмы с помощью формулы:

$$\text{ЦЭК/л} = \frac{a \cdot 10^6}{1,8 \cdot 12,5}$$

где а – количество эндотелиальных клеток в двух сетках камеры Горяева;

1,8 – объем (мкл) двух сеток камеры Горяева, в которых производился подсчет циркулирующих эндотелиальных клеток;

12,5 – степень сгущения плазмы крови;

10⁶ – количество мкл в 1 л плазмы крови.

После соответствующих сокращений получена следующая формула для расчета:

$$\text{ЦЭК/л} = a \cdot 4,4 \cdot 10^4.$$

При проведении первого этапа исследования проведено обследование 60 беременных из группы риска по формированию фетоплацентарной недостаточности путем исследования в сыворотки крови циркулирующих эндотелиальных клеток: 20 беременных в сроке беременности до 12 недель, 20 беременных в сроке с 12 до 16 недель, 20 беременных в сроке с 16 до 22 недель.

В каждой группе выполнено определение степени морфологического повреждения эндотелия кровеносных сосудов, которое изучалось путем исследования в сыворотки крови циркулирующих эндотелиальных клеток в пересчете на 1 л плазмы крови [2].

При проведении второго этапа исследования проведено исследование уровня циркулирующих эндотелиальных клеток проведено у беременных групп риска по развитию фетоплацентарной недостаточности в комплекс наблюдения которых были включены физические упражнения (группа № 1–15 беременных), прием препарата кокарнит (группа № 2–15 беременных), одновременно – комплекс физических упражнений + кокарнит (группа № 3 – 15 беременных).

Статистический анализ проводился при помощи пакета стандартных статистических программ. Количественные показатели представлены в виде средней арифметической (М), стандартного отклонения (σ), доверительного интервала. В зависимости от нормальности распределения значений исследуемых переменных для сравнения двух независимых выборок использовался t-тест или тест Манна-Уитни. Для определения характера зависимости между данными использовался линейный регрессионный анализ.

Результаты исследования и их обсуждение. Определение количества циркулирующих в крови клеток эндотелия нами использовано с целью комплексной оценки морфофункциональных свойств эндотелиального пласта сосудов.

У 91,7% беременных из группы риска по фетоплацентарной недостаточности имело место статистически достоверное повышение числа циркулирующих эндотелиальных клеток в 1 литре плазмы (от 17,6% до 111,4%), что свидетельствует о морфологическом повреждении эндотелия кровеносных сосудов.

По результатам исследования уровня циркулирующих эндотелиальных клеток на 1 л у беременных из группы риска по фетоплацентарной недостаточности в сроке беременности до 12 недель составило $26,4 \pm 4,6 \cdot 10^4$ на 1 л плазмы.

В группе обследованных беременных в сроке от 12 до 16 недель количество десквамированных циркулирующих эндотелиальных клеток составило $48,2 \pm 5,8 \cdot 10^4$ на 1 л плазмы, а в сроке с 16 до 22 недель – $35,2 \pm 5,1 \cdot 10^4$ на 1 л плазмы.

У беременных каждой из групп количество циркулирующих эндотелиальных клеток было достоверно выше максимальной нормы ($8-10$ клеток $\cdot 10^4$ на 1 л плазмы крови).

Избыточное количество циркулирующих эндотелиальных клеток свидетельствует об ухудшении функционального состояния эндотелия сосудов и является одним из маркеров дисфункции эндотелия у беременных из группы риска по фетоплацентарной недостаточности.

Исследование уровня циркулирующих эндотелиальных клеток проведено у беременных групп риска по развитию фетоплацентарной недостаточности, в комплекс наблюдения которых были включены физические упражнения (группа № 1), прием препарата кокарнит (группа № 2), одновременно – комплекс физических упражнений + кокарнит (группа № 3). Полученные данные представлены в таблице.

Таблица 1 – Показатели циркулирующих эндотелиальных клеток ($\times 10^4$ на 1 л плазмы) на фоне коррегирующей терапии

ЦЭК	Valid N	Median	Lower	Upper
Группа № 1 (физ. упр.)	15	27,80	22,00	72,60
Группа № 2 (кокарнит)	15	34,60	30,80	74,80
Группа № 3 (физ. упр. + кокарнит)	15	25,80*	22,00	52,80
Контроль	15	41,90	29,00	78,40

* – достоверное отличие в сравнении с контрольной группой ($p < 0,05$)

Согласно полученным результатам, количество циркулирующих эндотелиальных клеток превышало норму у беременных всех исследуемых групп, на фоне применения комплекса физических упражнений уровень циркулирующих эндотелиальных клеток снижался до $27,8 \cdot 10^4$ на 1 л плазмы. Однако наибольшее снижение уровня циркулирующих эндотелиальных клеток получено у беременных, которым было назначено комплексное профилактирующее лечение (физические упражнения + кокарнит) – $25,81 \cdot 10^4$ на 1 л плазмы, что свидетельствует о нормализации функции эндотелия у обследуемых женщин.

Выводы. Проведенные исследования показали, что у беременных из групп риска по развитию фетоплацентарной недостаточности имеет место дисфункция эндотелия.

Количество циркулирующих эндотелиальных клеток в крови беременных из группы риска по фетоплацентарной недостаточности у 91,7% было повышено (от 17,6% до 111,4%), что свидетельствует о морфологическом повреждении эндотелия сосудов.

Избыточное количество циркулирующих эндотелиальных клеток свидетельствует об ухудшении функционального состояния эндотелия сосудов и является одним из маркеров дисфункции эндотелия при развитии фетоплацентарной недостаточности.

Литература

1. Айламазян, Э. К. Акушерство: национальное руководство / Э. К. Айламазян [и др.]; редкол.: Э. К. Айламазян [и др.] – М.: Гэотар-медиа, 2009. – С. 264-265.
2. Афанасьев, В. В. Цитофлавин в интенсивной терапии / В. В. Афанасьев. – СПб., 2006. – 36 с.
3. Гомазков, О. А. Молекулярные и физиологические аспекты эндотелиальной дисфункции. Роль эндогенных химических регуляторов / О. А. Гомазков // Успехи физиол. наук. – 2000. – № 4. – С. 48–59.
4. Дисфункция эндотелия: фундаментальные и клинические аспекты: монография / В. В. Зинчук и [др.]; под ред. В. В. Зинчука– Гродно: ГрГМУ, 2006. – 183 с.
5. Зинчук, В. В. Нормальная физиология: системные механизмы транспорта кислорода / В. В. Зинчук, М. В. Борисюк, Н. А. Максимович; под ред. В. В. Зинчука. – Гродно, ГрГМУ, 2002. – 167 с.
6. Экстраэмбриональные и окоплодные структуры при нормальной и осложненной беременности: монография; под ред. проф. В. Е. Радзинского, проф. А. П. Милованова. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 393 с.
7. Эндотелиальная дисфункция и методы ее определения / А. И. Мартынов [и др.] // Росс. кард. журнал. – 2005. – № 4. – С. 94–97.
8. Circulating endothelial cells / A. D. Blann [et al.] // Biomarker of vascular disease. – Thromb Haemost. – 2005. – Vol. 93. – P. 228–235.

9. Maternal genetic polymorphisms in CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 and the risk of hypospadias / N. Kurahashi [et. al.] // Mol. Hum. Reprod. – 2005. – Vol. 11, № 2. – P. 93–98.

References

1. Aylamazyan, E. K. Akusherstvo: natsionalnoe rukovodstvo / E. K. Aylamazyan [i dr.]; redkol.: E. K. Aylamazyan [i dr.] – M.: Geotar-media, 2009. – S. 264-265.

2. Afanasev, V. V. Tsitoflavin v intensivnoy terapii / V. V. Afanasev. – SPb., 2006. – 36 s.

3. Gomazkov, O. A. Molekulyarnye i fiziologicheskie aspektyi endotelialnoy disfunktsii. Rol endogennyih himicheskikh regulyatorov / O. A. Gomazkov // Uspehi fiziol. nauk. – 2000. – № 4. – S. 48.

4. Disfunktsiya endoteliya: fundamentalnyie i klinicheskie aspektyi: monografiya / V. V. Zinchuk i [dr.]; pod red. V. V. Zinchuka– Grodno: GrGMU, 2006. – 183 s.

5. Zinchuk, V. V. Normalnaya fiziologiya: sistemnyie mehanizmyi transporta kisloroda / V. V. Zinchuk, M. V. Borisjuk, N. A. Maksimovich; pod red. V. V. Zinchuka. – Grodno, GrGMU, 2002. – 167 s.

6. Ekstraembrionalnyie i okoplodnyie srukturyi pri normalnoy i oslozhnennoy beremennosti: monografiya; pod red. prof. V. E. Radzinskogo, prof. A. P. Milovanova. – M.: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo, 2004. – 393 s.

7. Endotelialnaya disfunktsiya i metodyi ee opredeleniya / A. I. Martynov [i dr.] // Ross. kard. zhurnal. – 2005. – № 4. – S. 9.

8. Circulating endothelial cells / A. D. Blann [et al.] // Biomarker of vascular disease. – Thromb Haemost. – 2005. – Vol. 93. – P. 228–235.

9. Maternal genetic polymorphisms in CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 and the risk of hypospadias / N. Kurahashi [et. al.] // Mol. Hum. Reprod. – 2005. – Vol. 11, № 2. – P. 93–98.

Поступила 10.05.2019.