

А.Ю. Марьянн¹, Н.В. Протопопова², И.М. Михалевич², М.Ю. Бутинкова³, М.А. Гайдукова³,
Т.А. Побойкина⁴

СИСТЕМА ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У БЕРЕМЕННЫХ, УПОТРЕБЛЯВШИХ СЛАБОАЛКОГОЛЬНЫЕ НАПИТКИ В МАЛЫХ И УМЕРЕННЫХ ДОЗАХ

¹ ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», Иркутск, Россия

² ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования»
Минздрава России, Иркутск, Россия

³ ОГБУЗ «Иркутская детская городская поликлиника № 3», Иркутск, Россия

⁴ ГБУЗ Иркутская областного «Знак Почёта» областная клиническая больница, Иркутск, Россия

Изучено состояние системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты как чувствительного маркера интегральных расстройств организма женщин, употреблявших слабоалкогольные напитки в пренатальном периоде. На фоне активации перекисного окисления липидов у женщин отмечается статистически значимое снижение общей антиокислительной активности, что свидетельствует о недостаточном функционировании системы перекисного окисления липидов и развитии окислительного стресса независимо от дозы слабоалкогольных напитков.

Ключевые слова: беременность, плод, алкоголь, малые и умеренные дозы, система перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты

LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT PROTECTION SYSTEMS IN PREGNANT WOMEN CONSUMING ALCOHOL IN SMALL AND MODERATE DOSES

A.Y. Maryanyan¹, N.V. Protopopova², I.M. Mikhalevich², M.Y. Butinkova³, M.A. Gaydukova³,
T.A. Poboykina⁴

¹ Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russia

² Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Irkutsk, Russia

³ Irkutsk Municipal Children's Polyclinic № 3, Irkutsk, Russia

⁴ Irkutsk Regional Clinical Hospital, Irkutsk, Russia

The analysis of scientific researches shows that the problem of alcohol consumption (beer, dry wine, champagne), in small doses during pregnancy has been actually disregarded for many years. So the problem has become quite urgent, especially in Russia. In order to determine the effect of alcohol on pregnancy and childbirth, women and babies were divided into three groups. Group 1 (n = 101) (control group) included women who did not use alcohol during pregnancy. Group 2 (n = 75) included drinking women whose alcohol consumption during pregnancy was less than 2 doses or 750 ml. Group 3 (n = 33) included moderately drinking women whose alcohol consumption during pregnancy ranged from 3 to 11 doses (from 750 ml to 3850 ml). The study of the lipid peroxidation-antioxidant protection system as a sensitive marker of integrated health disorders in women, consuming alcoholic beverages in a prenatal period, was conducted. It was indicated that a statistically significant decrease in overall antioxidant activity was found in the context of lipid peroxidation activation in women consuming low-alcohol drinks, which demonstrates a lack of functioning of lipid peroxidation system and oxidative stress regardless of the dose of low-alcohol drinks.

Key words: pregnancy, fetus, alcohol, low and moderate doses, lipid peroxidation-antioxidant protection system

Вопрос употребления алкоголя женщинами в пренатальном периоде представляет особую важность для общественного здравоохранения, поскольку от этого зависит здоровье будущих поколений [1, 10]. Как известно, этиловый спирт является наиболее частым токсикантом, который сознательно употребляют некоторые женщины во время беременности, считая, что его небольшие количества индифферентны или даже полезны для развивающегося плода [1, 11]. Процессы перекисного окисления липидов – антиоксидантной защиты (ПОЛ – АОЗ) играют важную роль в патогенезе осложнений беременности [2, 3, 4, 5, 7, 8]. В последние несколько десятилетий внимание специалистов в области теоретической медицины и практических врачей сфокусировано на исследовании роли системы ПОЛ – АОЗ, с которой тесно связаны не только представления о нарушении редокс-статуса целостного организма, но и генерация многочислен-

ных биологически активных соединений, играющих эссенциальную роль в метаболизме [2, 3, 4, 7].

Целью настоящей работы явилось изучение состояния системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты как чувствительного маркера интегральных расстройств организма женщин, употреблявших слабоалкогольные напитки (пиво, сухие вина, шампанское) в пренатальном периоде.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для изучения влияния слабоалкогольных напитков на организм женщин, употреблявших слабоалкогольные напитки (пиво, сухие вина, шампанское) в пренатальном периоде, проведено обследование 201 беременной женщины: 1-я группа (n = 93) – женщины, которые ни разу в течение всей беременности не употребляли спиртные напитки (контрольная группа); 2-я группа (n = 75) – женщины, у которых за

время беременности употребление алкоголя составило ≤ 2 доз, или ≤ 750 мл (малопьющие); 3-я группа ($n = 33$) – женщины, у которых за время беременности употребление алкоголя составило от 2 до 11 доз (от 750 до 3850 мл) (умеренно пьющие). Средний возраст беременных женщин 1-й группы составил $29,71 \pm 0,6$ лет, 2-й группы – $28,29 \pm 0,71$ лет, 3-й группы – $28,96 \pm 0,95$ лет ($p > 0,05$).

Для выявления факта употребления алкоголя беременными применяли опросники (инструменты скрининга) ТОСО (T-ACE), ТОПАС (TWEAK), АУДИТ (AUDIT) [12, 15]. Беременные женщины контрольной и основной групп не отличались по составу и частоте выявления соматической патологии. Проведение данного исследования одобрено этическими комитетами ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России и ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека».

Определение содержания субстратов ПОЛ – изолированных двойных связей (Дв. св.) проводили по методу И.А. Волчегорского и др. (1989). Содержание диеновых конъюгатов (ДК) и кетодиенов и сопряженных триенов (КД-СТ) определяли тем же методом, основанном на интенсивном поглощении конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов в области 220 (Дв. св.), 232 (ДК) и 278 (КД-СТ) нм на спектрофотометре СФ-56.

Содержание малонового диальдегида (МДА) определяли по методу В.Б. Гаврилова и др. (1987). Метод основан на том, что при нагревании в кислой среде часть продуктов ПОЛ, относящихся к классу эндоперекисей, разлагается с образованием МДА, связывание молекулы которого с двумя молекулами тиобарбитуровой кислоты (ТБК) приводит к формированию окрашенного комплекса ТБК-активных продуктов (ТБК-АП).

Активность супероксиддисмутазы (СОД) (Misra H.P., Fridovich I., 1972) измеряли на спектрофлуорофотометре Shimadzu RF-1501 (Япония) при $\lambda = 320$ нм. Метод основан на способности СОД тормозить реакцию аутоокисления адреналина при pH = 10,2.

Оценку общей антиоксидантной активности (АОА) крови проводили по методу Г.И. Клебанова с соавт. (1988) на спектрофотометре СФ-56 (Россия). Для оценки использовали модельную систему, представляющую собой суспензию липопропротеидов желтка куриных яиц, позволяющую оценить способность сыворотки крови тормозить накопление ТБК-активных продуктов в суспензии. ПОЛ индуцировали добавлением $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, причем контрольная проба не содержала плазму крови. Общую АОА выражали в усл. ед. оптической плотности.

Определение α -токоферола (витамин Е) и ретинола (витамин А) проводили флуориметрическим методом (Черныускене Р.Ч. с соавт., 1984) на спектрофлуорофотометре Shimadzu RF-1501 (Япония).

Измерения содержания восстановленного (GSH) и окисленного (GSSG) глутатиона проводили флуориметрическим методом по Р.У. Ниссин и Р. Хилф (1976). Суть метода заключается в способности GSH специфично реагировать с ортофталевым альдегидом при pH = 8,0 и образованием флуоресцентного продукта, который

может быть активирован при 350 нм с пиком эмиссии при 420 нм. Определение GSSG проводили аналогично с ортофталевым альдегидом флуориметрическим методом, но в более щелочной среде (pH = 12). Кроме того, для предотвращения окисления GSH в GSSG в пробы добавлен N-этилмаленин. Концентрацию GSH и GSSG выражали в мкмоль/л.

Статистическую обработку результатов исследования проводили по методам Стьюдента и Манна – Уитни с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.1 (StatSoft Inc., USA) (правообладатель лицензии – ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»), причем различия показателей считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$ [6, 9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам исследования установлено, что в процессе ПОЛ параметр, отражающий появление сопряженных двойных связей (диеновые конъюгаты, ДК), статистически значимо снижался у малопьющих женщин, по сравнению с женщинами контрольной группы ($p_{1-2} = 0,03$) (рис. 1).

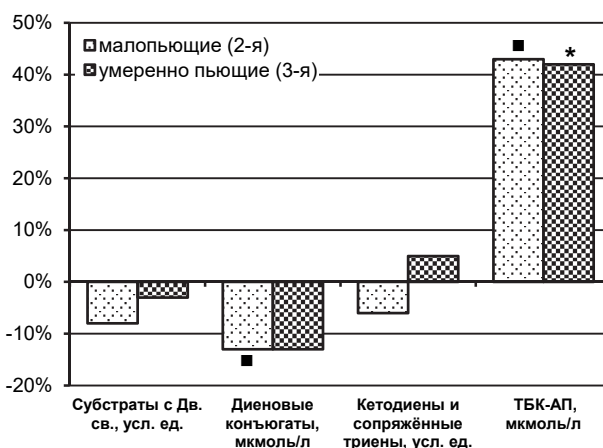


Рис. 1. Изменение уровня субстратов и продуктов ПОЛ в сыворотке крови беременных, употреблявших алкогольные напитки во время беременности в малых и умеренных дозах (% по отношению к контрольным значениям): * – статистически значимые различия показателей умеренно пьющих женщин с показателями женщин контрольной группы; ■ – статистически значимые различия показателей малопьющих женщин с показателями женщин контрольной группы; 0 % – уровень показателей контрольной группы (принят за 100 %).

При рассмотрении содержания ТБК-АП было выявлено, что концентрация этого соединения в плазме крови у беременных, употреблявших спиртные напитки в малых и умеренных дозах, на 60,4 % выше аналогичной величины для непьющих женщин ($p_{1-3} = 0,00003$; $p_{1-2} = 0,0003$) (рис. 2).

Поскольку ТБК-АП обладают многосторонним повреждающим эффектом на многие биополимеры и клеточные структуры, можно заключить, что у женщин отмечается повышение активности процессов липопероксидации.

На фоне активации ПОЛ у пьющих женщин (особенно у умеренно пьющих) отмечается статистически

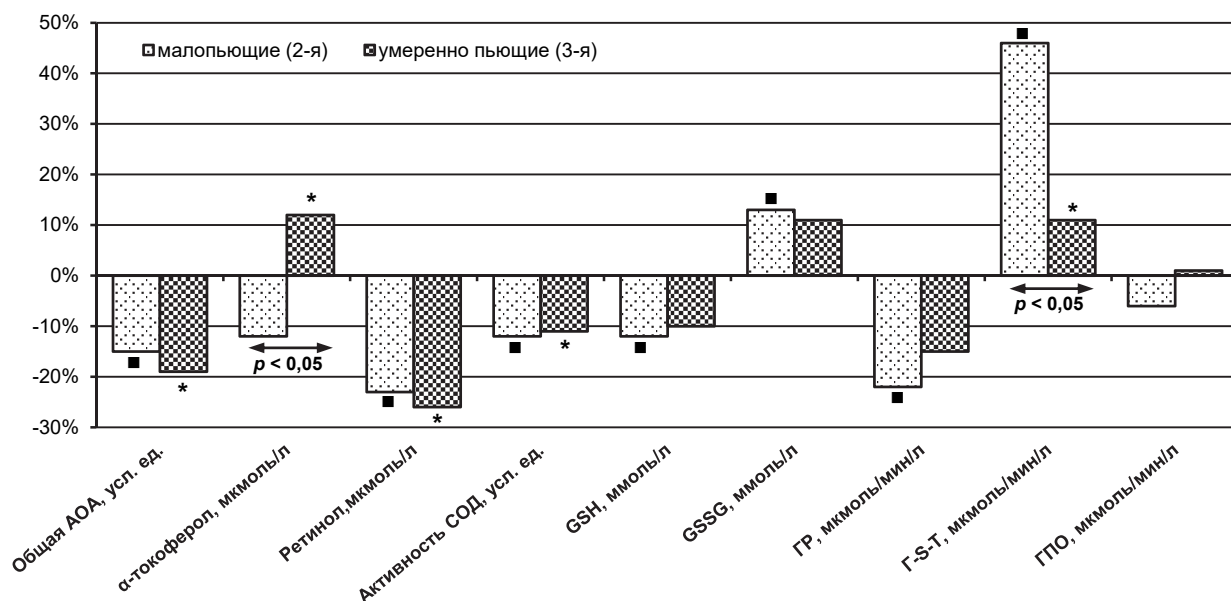


Рис. 2. Изменение уровня компонентов АОЗ и системы глутатиона в сыворотке крови беременных, употреблявших алкогольные напитки во время беременности в малых и умеренных дозах (% по отношению к контрольным значениям): * – статистически значимые различия показателей умеренно пьющих женщин с показателями женщин контрольной группы; ■ – статистически значимые различия показателей малоупьющих женщин с показателями женщин контрольной группы; $p < 0,05$ – статистически значимые различия между показателями мало- и умеренно пьющих женщин; 0 % – уровень показателей контрольной группы (принят за 100 %).

значимое снижение уровня общей АОА на 26,7 %, в сравнении с контролем, что свидетельствует о снижении активности АОЗ со сдвигом метаболической реакции в сторону окислительного стресса ($p_{1-3} = 0,005$; $p_{1-3} = 0,007$).

Отмечено, что значение α-токоферола примерно одинаково у женщин контрольной группы и группы малоупьющих женщин, но несколько выше у умеренно пьющих, хотя значение этого показателя в исследуемых группах не выходило за пределы нормы ($p_{1-3} = 0,02$). Показано, что в группе малоупьющих женщин концентрация α-токоферола статистически значимо ниже, чем в группе умеренно пьющих ($p_{2-3} = 0,0006$).

При таком состоянии системы ПОЛ-АОЗ в исследуемых группах женщин, употреблявших слабоалкогольные напитки в период гестации, негативное действие может оказать и снижение на 28,2 % концентрации ретинола. Получены статистически значимые различия при сравнении показателей контрольной группы с показателями мало- и умеренно пьющих женщин (ретиноевая кислота оказывает морфогенетическое действие, а ее дефицит может приводить к порокам развития плода) ($p_{1-2} = 0,0007$; $p_{1-3} = 0,00002$).

При анализе редокс-статуса настораживает хоть и незначительное, но статистически значимое снижение у пьющих беременных активности одного из важнейших ферментов окислительно-восстановительного метаболизма – СОД ($p_{1-2} = 0,025$; $p_{1-3} = 0,033$).

Важно отметить, что в группе малоупьющих беременных отмечается статистически значимое снижение на 6,2 %, по сравнению с контролем, концентрации важнейшего клеточного метаболита – восстановленного глутатиона (GSH). С учетом того, что

восстановленная форма глутатиона участвует в нейтрализации оксидантов и в процессах транспорта веществ через мембраны, оказывает антиоксидантный эффект и др. [2, 3, 13, 14], снижение его концентрации у женщин, употреблявших слабоалкогольные напитки, без сомнения, является негативным фактором. Также отмечено, что статистически значимо выше у малоупьющих женщин становится концентрация окисленного глутатиона, по сравнению с таковой у женщин группы контроля ($p_{1-2} = 0,02$). По результатам исследования выявлено, что значение глутатионредуктазы (ГР) статистически значимо снижалось в группе пьющих женщин, по сравнению с группой контроля ($p_{1-2} = 0,0007$).

Таким образом, исследование состояния системы ПОЛ – АОЗ у беременных, употреблявших слабоалкогольные напитки во время беременности, свидетельствует о развитии окислительного стресса независимо от дозы. Концентрация ТБК-АП в плазме крови у беременных, употреблявших слабоалкогольные напитки в малых и умеренных дозах, на 60,4 % выше аналогичной величины для непьющих женщин. На фоне активации ПОЛ у пьющих женщин (особенно у умеренно пьющих) отмечается статистически значимое снижение общей АОА – на 26,7 % от контроля, что свидетельствует о недостаточном функционировании системы ПОЛ.

ЛИТЕРАТУРА

REFERENCES

1. Балашова Т.Н., Волкова Е.Н., Инсурина Г.Л., Пальчик А.Б., Цветкова Л.А., Шапкайтц В.А. Фетальный алкогольный синдром. – СПб.: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2012. – С. 3–51.

Balashova TN, Volkova EN, Insurina GL, Palchik AB, Tsvetkova LA, Shapkaits VA (2012). Fetal alcohol syndrome [Fetal'nyy alkohol'nyy sindrom], 3-51.

2. Колесникова Л.И., Гребёнкина Л.А., Даренская М.А., Власов Б.Я. Окислительный стресс как неспецифическое патогенетическое звено репродуктивных нарушений (обзор) // Бюллетень СО РАМН. – 2012. – Т. 32, № 1. – С. 58–66.

Kolesnikova LI, Grebyonkina LA, Darenskaya MA, Vlasov BY (2012). Oxidative stress as nonspecific pathogenetic link of reproductive disorders (review) [Oksislitel'nyy stress kak nespetsificheskoe patogeneticheskoe zveno reproduktivnykh narusheniy (obzor)]. *Byulleten' SO RAMN*, 32 (1), 58-66.

3. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Долгих В.В., Шенин В.А., Осипова Е.В., Гребёнкина Л.А., Долгих М.И., Мандзяк Т.В. Особенности процессов перекисного окисления липидов - антиоксидантной защиты в различных этнических группах Восточной Сибири // Экология человека. – 2010. – № 2. – С. 26–29.

Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Dolgikh VV, Shenin VA, Osipova EV, Grebyonkina LA, Dolgikh MI, Mandzyak TV (2010). Specific features of the processes of lipid peroxidation – antioxidant protection in various ethnic groups of Eastern Siberia [Osobennosti protsessov perekisnogo okisleniya lipidov – antioksidantnoy zashchity v razlichnykh etnicheskikh gruppakh Vostochnoy Sibiri]. *Ekologiya cheloveka*, (2), 26-29.

4. Колесникова Л.И., Долгих В.В., Дзятковская Е.Н., Поляков В.М. Особенности психосоматического статуса у детей дошкольного и школьного возраста // Бюллетень СО РАМН. – 2003. – Т. 23, № 2. – С. 17-23.

Kolesnikova LI, Dolgikh VV, Dzyatkovskaya EN, Polyakov VM. (2003). The peculiarities of psychosomatic status of children of preschool and school age [Osobennosti psikhosomaticheskogo statusa u detey doskol'nogo i shkol'nogo vozrasta]. *Byulleten' SO RAMN*, 23 (2), 17-23.

5. Колесникова Л.И., Сутурина Л.В., Лабыгина А.В., Лещенко О.Я., Фёдоров Б.А., Шолохов Л.Ф., Сафроненко А.В., Лебедева Л.Н., Кузьменко Е.Т., Лазарева Л.М., Надеяева Я.Г. Нарушения репродуктивного здоровья и репродуктивного потенциала в современных условиях Восточной Сибири // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2007. – № 2. – С. 41-43.

Kolesnikova LI, Suturina LV, Labygina AB, Leshchenko OY, Fyodorov BA, Sholokhov LF, Safronenko AB, Lebedeva LN, Kuzmenko ET, Lazareva LM, Nadelyaeva YG (2007). Abnormalities of reproductive health and reproductive potential in present-day conditions of Eastern Siberia [Narusheniya reproduktivnogo zdorov'ya i reproduktivnogo potentsiala v sovremennykh usloviyakh Vostochnoy Sibiri]. *Bulleten' Vostocno-Sibirskogo nauchnogo centra*, (2), 41-43.

6. Михалевич И.М. Сокращение размерности многомерными статистическими методами при анализе медико-биологических данных: метод. рекомендации. – Иркутск: РИО ГБОУ ДПО ИГМАПО, 2014. – 32 с.

Mikhalevich IM (2014). Dimension reduction by multivariate statistical methods in the analysis of medical and

biological data. Guidelines [Sokrashchenie razmernosti mnogomernymi statisticheskimi metodami pri analize mediko-biologicheskikh dannykh: metodicheskie rekomendatsii], 32.

7. Смолянинова Ю.В., Колесникова Л.И., Мадаева И.М., Петрова В.А., Даренская М.А. Закономерности свободнорадикального окисления липидов в развитии адаптационной и дизадаптационной реакций у пациентов с синдромом обструктивного апноэ сна // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2007. – № 1. – С. 239–240.

Smolyaninova YV, Kolesnikova LI, Madaeva IM, Petrova VA, Darenskaya MA (2007) Regularities of free radical lipid peroxidation in development of adaptation and disadaptation of patients with obstructive sleep apnea syndrome [Zakonomernosti svobodnoradikal'nogo okisleniya lipidov v razvitii adaptatsionnoy i dizadaptatsionnoy reaktsiy u patsientov s sindromom obstruktivnogo apnoe sna]. *Bulleten' Vostocno-Sibirskogo nauchnogo centra*, (1), 239-240.

8. Флоренсов В.В., Протопопова Н.В., Колесникова Л.И. Состояние перекисного окисления липидов и антиокислительной системы у беременных с неосложненным течением беременности и плацентарной недостаточностью // Журнал акушерства и женских болезней. – 2005. – Т. LIV, № 2. – С. 44–49.

Florensov VV, Protopopova NV, Kolesnikova LI (2005). Lipoperoxidation and antioxidantizing system at the pregnant women at uncomplicated pregnancy and placental insufficiency [Sostoyanie perekisnogo okisleniya lipidov i antiokislitel'noy sistemy u beremennykh s neoslozhnennym techeniem beremennosti i platsentarnoy nedostatochnost'yu]. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney*, LIV (2), 44-49.

9. Юнкеров В.И., Григорьев С.Г., Резванцев М.В. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований; 3-е изд., доп. – СПб.: ВМЕА, 2011. – 318 с.

Yunkero V, Grigoryev SG, Rezvantsev MV (2011). Mathematical and statistical processing of medical research data [Matematiko-statisticheskaya obrabotka dannykh meditsinskikh issledovaniy], 318.

10. Ялтонская А.В., Ялтонский В.М., Колпаков Я.В., Абросимов И.Н., Таннер В., Перваков К., Рам Ю., Попова С. Потребление алкоголя во время беременности и фетальный алкогольный спектр нарушений в России: систематический обзор литературы // Наркология. – 2014. – № 6. – С. 81–90.

Yaltonskaya AV, Yaltonskiy VM, Kolpakov YV, Abrosimov IN, Tanner W, Pervakov K, Ram Y, Popova S (2014). Alcohol consumption during pregnancy and fetal alcohol spectrum disorders in Russia: a systematic literature review [Potreblenie alkogolya vo vremya beremennosti i fetal'nyy alkohol'nyy spektr narusheniy v Rossii: sistematicheskii obzor literatury]. *Narkologiya*, (6), 81-90.

11. Balachova TN, Bonner BL, Isurina GL, Tsvetkova LA (2009). The experience of implementation of focus groups method for developing of FAS prevention model. *Clinical Psychology Journal*.

12. Chang G (2001). Alcohol-screening instruments for pregnant women. *Alcohol Research and Health*, 25 (3), 204-209.

13. Niki E (2009). Lipid peroxidation: Physiological levels and dual biological effects. *Free Radical Biology and Medicine*, (47), 469-484.

14. Oakley A (2011). Glutathione transferases: a structural perspective. *Drug Metabolism Reviews*, (43), 138-151.

15. Sampson PD, Streissguth AP, Bookstein FL, Little RE, Clarren SK, Dehaene P, Hanson JW, Graham JM Jr. (1997). Incidence of fetal alcohol syndrome and prevalence of alcohol-related neurodevelopmental disorder. *Teratology*, 56 (5), 317-326.

Сведения об авторах

Information about the authors

Марьяня Анаит Юрьевна – докторант ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

Maryanyan Anait Yuryevna – Doctoral Candidate of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (664003, Irkutsk, Timiryazev str., 16; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

Протопопова Наталья Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой перинатальной и репродуктивной медицины ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования» Минздрава России (664079, г. Иркутск, мкр. Юбилейный, 100; e-mail: ebdru@mail.ru)

Protopopova Natalya Vladimirovna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Perinatal and Reproductive Medicine of Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education (664079, Irkutsk, Yubileyniy, 100; e-mail: ebdru@mail.ru)

Михалевич Исай Моисеевич – кандидат медицинских наук, кандидат геологических наук, доцент, заведующий кафедрой информатики и компьютерных технологий ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования» Минздрава России (e-mail: mim977@list.ru)

Mikhalevich Isai Moiseevich – Candidate of Medical Sciences, Candidate of Geological Sciences, Docent, Head of the Department of Computer Science and Computer Technology (e-mail: mim977@list.ru)

Бутинкова Марина Юрьевна – врач-педиатр ОГБУЗ «Иркутская детская городская поликлиника № 3» (664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 9; e-mail: miss-murple@mail.ru)

Butinkova Marina Yuryevna – Pediatrician of Irkutsk Municipal Children's Polyclinic № 3 (664003, Irkutsk, Karl Marx str., 9; e-mail: miss-murple@mail.ru)

Гайдукова Марина Анатольевна – врач-невролог ОГБУЗ «Иркутская детская городская поликлиника № 3»

Gaydukova Marina Anatolyevna – Neurologist of Irkutsk Municipal Children's Polyclinic № 3

Побойкина Татьяна Андреевна – врач акушер-гинеколог ГБУЗ Иркутская ордена «Знак Почёта» областная клиническая больница (e-mail: tata0617H@yandex.ru)

Poboykina Tatyana Andreevna – Obstetrician-Gynecologist of Irkutsk Regional Clinical Hospital (e-mail: tata0617H@yandex.ru)