



Новицкая Т.В. ✉, Егорова Т.Ю., Вакульчик В.Г.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Влияние оксида азота, сывороточного и внутриклеточного магния на исход беременности у пациенток с недифференцированной дисплазией соединительной ткани

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования, редактирование – Т.Ю. Егорова; концепция и дизайн исследования, сбор материала, обработка, написание текста – Т.В. Новицкая; концепция и обработка материала – В.Г. Вакульчик.

Подана: 21.12.2022

Принята: 30.01.2023

Контакты: novitskaya77@mail.ru

Резюме

Соматические заболевания пациенток репродуктивного возраста определяют такие базовые изменения в организме, которые способствуют возникновению осложненной беременности и родов и обусловлены повышенными требованиями к функционированию большинства органов и систем при беременности. В основе большого числа соматических нарушений зачастую лежит дисплазия соединительной ткани – генетически детерминированное состояние, характеризующееся дефектами волокнистых структур и основного вещества соединительной ткани. Дефицит магния является одним из возможных патогенетических механизмов развития дисплазии соединительной ткани, т. к. в условиях дефицита магния фибробласты вырабатывают неполноценный коллаген, нарушая таким образом метаболизм соединительной ткани. Одним из звеньев патогенеза, сопровождающих дефицит магния, является дисфункция эндотелия и, как следствие, нарушение баланса оксида азота.

Цель. Определить концентрации оксида азота, сывороточного и внутриклеточного магния и их влияние на исходы беременности у пациенток с недифференцированной дисплазией соединительной ткани.

Материалы и методы. Обследованы 262 пациентки. Критерии включения в исследование: наличие малых аномалий сердца и не менее 4 признаков недифференцированной дисплазии соединительной ткани. Контрольная группа (группа I) – 103 пациентки без признаков НДСТ. Основная группа (группа II) – 159 женщин. Для дальнейшего анализа основная группа была разделена на две подгруппы. Подгруппа IIA – 125 беременных с общепринятым объемом прегравидарной подготовки. В подгруппу IIB вошли 34 пациентки, у которых в составе прегравидарной подготовки использованы препараты магния в дозе 300 мг/сут. Определяли уровень оксида азота в плазме крови, концентрацию магния внутриклеточного (в эритроцитах) и в сыворотке крови.

Результаты. У пациенток с синдромом недифференцированной дисплазии соединительной ткани концентрация оксида азота и внутриклеточного магния в сроке беременности 7–10 недель достоверно ниже, чем в контрольной группе, при этом

концентрация сывороточного магния достоверно не отличается. Снижение уровня оксида азота и внутриклеточного магния на фоне НДСТ повышает вероятность преждевременных родов.

Ключевые слова: недифференцированная дисплазия соединительной ткани, беременность, малые аномалии сердца, преждевременные роды, магний, оксид азота

Novitskaya T. ✉, Yahorova T., Vakulchik V.
Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

The Effect of Nitric Oxide, Serum and Intracellular Magnesium on the Outcome of Pregnancy in Patients with Undifferentiated Connective Tissue Dysplasia

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: concept and design of the study, editing – Yahorova T.; the concept and design of the study, the collection of material, processing, writing – Novitskaya T.; concept and processing of the material – Vakulchik V.

Submitted: 21.12.2022

Accepted: 30.01.2023

Contacts: novitskaya77@mail.ru

Abstract

Somatic diseases of patients of reproductive age determine such basic changes in the body that contribute to the occurrence of complications of pregnancy and childbirth and are caused by increased requirements for the functioning of most organs and systems during pregnancy. A large number of somatic disorders are often based on connective tissue dysplasia, a genetically determined condition characterized by defects in fibrous structures and the basic substance of connective tissue. Magnesium deficiency is one of the possible pathogenetic mechanisms for the development of connective tissue dysplasia, because in conditions of magnesium deficiency, fibroblasts produce defective collagen, thus disrupting the metabolism of connective tissue. One of the links in the pathogenesis accompanying magnesium deficiency is endothelial dysfunction and, as a consequence, a violation of the balance of nitric oxide.

Purpose. Determine the concentrations of nitric oxide, serum and intracellular magnesium and their effect on pregnancy outcomes in patients with undifferentiated connective tissue dysplasia.

Materials and methods. 262 patients were examined. Criteria for inclusion in the study: the presence of minor heart abnormalities and at least 4 signs of undifferentiated connective tissue dysplasia. The control group (group I) consisted of 103 patients without signs of UCTD. The main group (group II) – 159 women. For further analysis, the main group was divided into two subgroups. Subgroup IIA – 125 pregnant women with a generally accepted volume of preconception preparation. Subgroup IIB included 34 patients who used magnesium preparations at a dose of 300 mg/day as part of the preconception preparation. The level of nitric oxide in blood plasma, the concentration of intracellular magnesium (in erythrocytes) and in blood serum were determined.

Results. In patients with UCTD, the concentration of nitric oxide and intracellular magnesium during pregnancy at 7–10 weeks is significantly lower than in the control group, while the concentration of serum magnesium does not significantly differ. A decrease in the level of nitric oxide and intracellular magnesium against the background of UCTD increases the likelihood of preterm labour.

Keywords: undifferentiated connective tissue dysplasia, pregnancy, minor heart abnormalities, preterm labour, magnesium, nitric oxide

■ ВВЕДЕНИЕ

Дисплазия соединительной ткани – генетически детерминированное состояние, характеризующееся дефектами волокнистых структур и основного вещества соединительной ткани, приводящее к нарушению формообразования органов и систем [1–4]. Среди возможных патогенетических механизмов развития НДСТ многие исследователи выделяют дефицит магния [5]. В условиях дефицита магния фибробласты вырабатывают неполноценный коллаген, нарушая таким образом метаболизм соединительной ткани и обуславливая развитие НДСТ [5]. Для поддержания концентрации магния в плазме существуют специальные механизмы регуляции, которые работают за счет магния в тканях-депо, которые могут быть значительно истощены на фоне «нормальных» уровней магния в плазме крови [5]. Дефицит магния нарушает способность клеток формировать ответ на внешние стимулы, поэтому естественным последствием дефицита магния является развитие дисфункции эндотелия [6–8]. Возможно, это связано с нарушением баланса оксида азота (NO), в образовании которого задействована NO-синтаза [6–8]. Изменения эндогенной продукции оксида азота, универсального трансммиттера, оказывают выраженное влияние на тонус и реактивность сосудов, уровень артериального давления, системную и регионарную гемодинамику, деятельность сердца [8]. Оксид азота вырабатывается различными клетками организма: эндотелиоцитами, эпителиоцитами, фибробластами, миоцитами, лимфоцитами и др. и контролирует в них многие функции и биохимические процессы [8]. Furchgott в 1987 г. впервые описал оксид азота как эндотелий-зависимый вазодилататор. Доказано его участие в процессах расслабления гладких мышц сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта, бронхиального дерева, миометрии. Исследователями установлена физиологическая роль оксида азота, которая заключается в его ингибирующем влиянии на сократительную активность миометрии, что может быть использовано в терапии преждевременных родов [9, 10]. Однако на сегодняшний день известно ограниченное число исследований эффективности донаторов оксида азота при угрожающих преждевременных родах [9]. В связи с этим особый интерес вызывают биохимические нарушения у пациенток с недифференцированной дисплазией соединительной ткани и их связь с осложнениями беременности. По данным литературы, течение беременности у пациенток с НДСТ зачастую осложняется угрозой прерывания и преждевременными родами [10–12]. Однако до настоящего времени многие вопросы прегравидарной подготовки и тактики ведения беременных с НДСТ остаются недостаточно изученными, что и явилось основанием для проведения исследования.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить концентрации оксида азота (NO), сывороточного и внутриклеточного магния и их влияние на исходы беременности у пациенток с недифференцированной дисплазией соединительной ткани.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн: проспективное, контролируемое, рандомизированное исследование. Критерии включения в исследование: наличие малых аномалий сердца и не менее 4 признаков недифференцированной дисплазии соединительной ткани. Критерии невключения: отказ от проведения дополнительных методов обследования, выбытие из исследования по различным обстоятельствам. Всего обследованы 262 пациентки. Контрольную группу (группа I) составили 103 пациентки без признаков НДСТ. Согласно критериям включения и невключения в основную группу (группа II) вошли 159 женщин. Для дальнейшего анализа основная группа была разделена на две подгруппы. Подгруппа IIA – 125 беременных с общепринятым объемом прегравидарной подготовки. В подгруппу IIB вошли 34 пациентки, у которых в составе прегравидарной подготовки использованы препараты магния в дозе 300 мг/сут. Проведен анализ данных первичной медицинской документации (амбулаторно-поликлинической, индивидуальных карт беременной, историй родов). Обследованные группы были сопоставимы по возрасту и социально-демографическому статусу. Обследование пациенток включало стандартное клинико-лабораторное обследование. Дополнительно определяли уровень оксида азота в плазме крови, концентрацию магния внутриклеточного (в эритроцитах) и в сыворотке крови. Забор крови для исследования производился из локтевой вены утром натощак в сроке беременности 7–10 недель. Содержание NO в плазме крови определяли спектрофотометрическим методом по суммарному уровню нитратов/нитритов ($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^- = \text{NOx}$) с реактивом Грисса. Интенсивность окраски определяли на спектрофотометре PV1251C (СОЛАР, Беларусь) при длине волны 540 нм против контрольной пробы. Суммарную концентрацию общих нитритов (NOx) рассчитывали по калибровочному графику, построенному с известными количествами NaNO_2 . Результаты выражали в мкмоль/л. Определение уровня магния в сыворотке крови и в эритроцитах проводилось спектрофотометрическим методом с титановым желтым. Пациентки подгруппы IIA обследованы в сроке беременности 7–10 недель, у пациенток подгруппы IIB исследование крови проводилось до начала прегравидарной подготовки и в сроке беременности 7–10 недель. Полученные данные обработаны с использованием программ Statistica 10.0 для Windows серийный № AXAR207F394425FA-Q (StatSoft, Inc., США). Использовались методы непараметрической статистики: расчет медианы (Me), 25 процентиля (25%), 75 процентиля (75%), сравнение групп осуществлялось с использованием критерия Mann – Whitney. Сравнение долей осуществлялось угловым преобразованием Фишера (двусторонний критерий). Доверительный интервал рассчитывался для 95%-й вероятности. Оценка диагностической значимости проводилась согласно критериям доказательной медицины: рассчитывались чувствительность (Se), специфичность (Sp), прогностическая ценность положительного (+Pv) и отрицательного (–Pv) результатов, отношения правдоподобия положительного и отрицательного результатов и т. д. Выполнен анализ ROC-кривых. Для расчета достоверности различий ROC-кривых использован критерий DeLong. Точка деления рассчитывалась

по J-критерию Youden. Так как анализируемые данные являются несбалансированными, проведен анализ кривых precision recall. Точка разделения определялась по критерию F1. Расчет вероятности преждевременных родов проводился согласно полной теореме Байеса.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для определения влияния НДСТ на вероятность развития преждевременных родов проведен анализ исходов беременности по Гродненской области за 2019 год с применением полной теоремы Байеса. Всего в области зарегистрировано 9264 родоразрешения, из них 263 преждевременных. В обследуемой подгруппе IIA из 125 пациенток преждевременные роды отмечены в 8 случаях. Таким образом, априорная частота преждевременных родов в популяции составила 2,84%, у обследованных пациентов подгруппы IIA вероятность преждевременных родов составила 6,40%. Следовательно, у пациенток с НДСТ вероятность преждевременных родов, рассчитанная по полной теореме Байеса, превышает общепопуляционную в 15,2 раза.

В табл. 1 представлен уровень оксида азота, сывороточного и внутриклеточного магния у беременных обследованных групп.

Из данных табл. 1 следует, что в сроке беременности 7–10 недель уровень магния в сыворотке крови у пациенток I группы и подгруппы IIA достоверно не отличался. В группе пациенток с НДСТ концентрация магния в эритроцитах и уровень оксида азота были достоверно ниже. Таким образом, уровень магния сыворотки крови, вероятно, поддерживается за счет снижения депо внутриклеточного магния.

Данные табл. 2 показывают, что исходная концентрация оксида азота, сывороточного и тканевого магния у пациенток подгруппы IIB была достоверно ниже до проведения прегравидарной подготовки. Следовательно, у пациенток подгруппы IIB, получивших персонализированный объем прегравидарной подготовки, установлен достоверно более высокий уровень оксида азота, сывороточного и тканевого магния в сроке беременности 7–10 недель, чем у пациенток подгруппы IIA.

При сравнении показателей оксида азота, сывороточного и тканевого магния у пациенток подгруппы IIA в зависимости от исхода беременности (срочные или преждевременные роды) выявлено, что концентрация магния в сыворотке крови

Таблица 1
Уровень оксида азота, сывороточного и внутриклеточного магния у беременных обследованных групп
Table 1
The level of nitric oxide, serum and intracellular magnesium in pregnant women of the examined groups

Показатель	Группа I, n=103			Подгруппа IIA, n=125			p
	Me	25%	75%	Me	25%	75%	
Магний сыворотки (ммоль/л)	1,042	0,782	1,248	0,985	0,701	1,22	0,271
Магний эритроцитов (ммоль/л)	1,950	1,662	2,216	1,461	1,169	1,953	0,001*
NO (мкмоль/л)	15,24	12,58	20,64	8,89	4,58	12,70	0,0001*

Примечание: * разница статистически достоверна, p<0,05.



Таблица 2

Концентрация NO, сывороточного и внутриклеточного магния у пациенток с НДСТ

Table 2

The level of nitric oxide, serum and intracellular magnesium in pregnant women with UCTD

Показатель	Подгруппа IIA, n=125			Подгруппа IIB, исходный, n=34			Подгруппа IIB, после ПГП, n=34		
	Me	25%	75%	Me	25%	75%	Me	25%	75%
Магний сыворотки (ммоль/л)	0,985	0,701	1,22	1,004	0,902	1,103	1,083* ¹	1,007	1,254
Магний эритроцитов (ммоль/л)	1,461	1,169	1,953	1,225	1,084	1,545	2,055* ¹	1,895	2,235
NO (мкмоль/л)	8,89	4,58	12,70	9,39	4,22	11,43	18,02* ¹	15,08	20,48

Примечания: * разница статистически достоверна в подгруппе IIB до и после ПГП, $p < 0,05$; ¹ разница статистически достоверна между подгруппой IIA и подгруппой IIB после ПГП, $p < 0,05$.

Таблица 3

Концентрация NO, сывороточного и внутриклеточного магния у пациенток подгруппы IIA при срочных и преждевременных родах

Table 3

Concentration of NO, serum and intracellular magnesium in patients of subgroup IIA in delivery in term and preterm labour

Показатель	Срочные роды			Преждевременные роды			p
	Me	25%	75%	Me	25%	75%	
Магний сыворотки (ммоль/л)	0,942	0,701	1,222	1,083	0,862	1,209	0,484
Магний эритроцитов (ммоль/л)	1,464	1,178	1,982	0,899	0,767	1,166	0,0002
NO (мкмоль/л)	10,160	4,592	12,889	4,358	3,932	6,106	0,004

достоверно не отличалась, тогда как уровень тканевого магния и оксида азота был достоверно ниже у женщин, беременность у которых закончилась преждевременными родами (табл. 3).

Для оценки влияния концентрации сывороточного и внутриклеточного магния, оксида азота у пациенток с НДСТ проведен анализ ROC-кривых в зависимости от исхода родов (преждевременные, срочные). Полученные данные представлены на рис. 1.

Как следует из рис. 1 и данных табл. 4, концентрация сывороточного магния существенно не влияет на исход родов, тогда как концентрация внутриклеточного магния и оксида азота в сыворотке крови имеет существенное диагностическое значение в прогнозировании исхода родов.

При анализе ROC-кривой уровня внутриклеточного магния по J-критерию Youden определена точка разделения равная 1,0 ммоль/л. Концентрация магния ниже точки разделения определена в 19 (15,2% ДИ 8,9–21,5) случаях. Преждевременные роды зарегистрированы у 6 пациенток. Таким образом, байесовская вероятность ПР у пациенток с НДСТ и установленным снижением уровня внутриклеточного магния менее 1,0 ммоль/л составляет 31,6%. Следовательно, дефицит внутриклеточно магния на фоне НДСТ повышает вероятность преждевременных родов в 2,4 раза. При анализе ROC-кривой концентрации оксида азота по J-критерию Youden определена

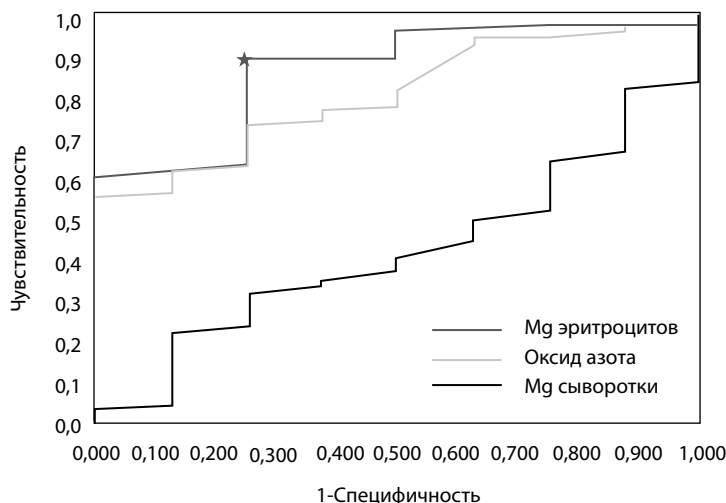


Рис. 1. ROC-кривые тестов Mg сыворотки, Mg эритроцитов, NO
Fig. 1. ROC-test curves of serum Mg, erythrocyte Mg, NO

точка разделения равная 8,9 мкмоль/л. Уровень оксида азота ниже точки разделения диагностирован у 61 (48,8% ДИ 40,0–57,6) пациентки. Следовательно, у пациенток с НДСТ при снижении концентрации оксида азота ниже 8,9 мкмоль/л риск преждевременных родов составляет 13,1%. Таким образом, снижение уровня оксида азота на фоне НДСТ повышает вероятность преждевременных родов в 5,2 раза.

Оценено взаимоотношение уровня внутриклеточного магния и концентрации оксида азота с учетом точек разделения. Установлено, что сочетанное снижение внутриклеточного магния и оксида азота наблюдалось у 14 пациенток IIA подгруппы (11,2% ДИ 5,7–16,7). При этом вероятность преждевременных родов составляет 42,8%. Таким образом, снижение уровня оксида азота и внутриклеточного магния на фоне НДСТ повышает вероятность преждевременных родов в 26,1 раза.

На основании значений концентрации сывороточного и внутриклеточного магния, оксида азота была построена модель Precision recall прогнозирования преждевременных родов у пациенток с недифференцированной дисплазией соединительной ткани. Точность модели по Mg сыворотки составила 25,0%, по Mg

Таблица 4
Сравнение площади под ROC-кривыми
Table 4
Comparison of the area under the ROC curves

Показатель	Площадь ROC-кривой	Стандартная ошибка	95% доверительный интервал
Mg сыворотки	0,423*	0,088	0,251–0,594
Mg эритроцитов	0,868**	0,056	0,758–0,978
Оксид азота	0,793	0,059	0,677–0,908

Примечания: * разница достоверна по сравнению с Mg эритроцитов ($p<0,0001$) и оксидом азота ($P=0,0005$); ** разница между Mg эритроцитов и оксидом азота недостоверна ($p=0,356$).

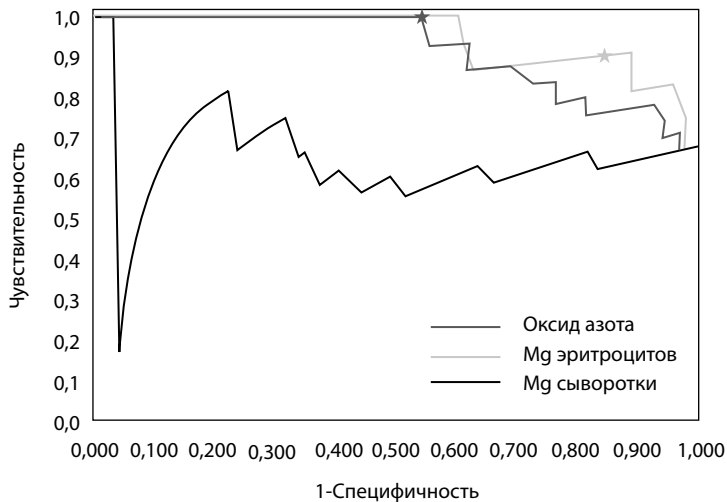


Рис. 2. Кривые тестов Precision recall
Fig. 2. Precision recall test curves

эритроцитов – 76,0%, по оксиду азота – 68,0% соответственно. При анализе концентрации Mg в эритроцитах выделена точка разделения 1,4 ммоль/л. Диапазон 1,0–1,39 ммоль/л зарегистрирован у 38 (30,4% ДИ 22,3–38,5) пациенток. Преждевременные роды были у 2 (5,3% ДИ 0,0–12,4) пациенток. Вероятность преждевременных родов составила 5,3%, что выше в 2 раза, чем общепопуляционная. Значения $\geq 1,4$ наблюдались у 68 (54,4% ДИ 45,7–63,1) беременных. Преждевременных родов у этих пациенток зарегистрировано не было. Чувствительность теста 0,981, прогностическая ценность 0,855. Расчет уровня оксида азота показал точку разделения 9,0 мкмоль/л. При $NO \geq 9,0$ преждевременных родов не было. Чувствительность теста – 1,0, прогностическая ценность – 0,547.

Полученные результаты исследования роли внутриклеточного и сывороточного магния, а также оксида азота у пациенток с НДСТ указывают на необходимость проведения исследования и коррекции выявленных отклонений на прегравидарном этапе с целью снижения частоты неблагоприятных исходов беременности.

■ ВЫВОДЫ

1. Концентрация оксида азота и внутриклеточного магния у пациенток с НДСТ в сроке беременности 7–10 недель достоверно ниже, чем в контрольной группе, при этом концентрация сывороточного магния достоверно не отличается.
2. Снижение уровня оксида азота на фоне НДСТ повышает вероятность преждевременных родов в 5,2 раза.
3. Дефицит внутриклеточного магния на фоне НДСТ повышает вероятность преждевременных родов в 2,4 раза.
4. Сочетанное уменьшение уровня оксида азота и внутриклеточного магния на фоне НДСТ повышает вероятность преждевременных родов в 26,1 раза.
5. Уровень магния в сыворотке крови не имеет существенного диагностического значения в прогнозировании риска преждевременных родов.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Diagnostics and treatment of hereditary and multifactorial connective tissue disorders. National clinical guidelines.* Minsk, 2014. (In Russian)
2. Kadurina T.I., Gorbunova V.N. (2008) *Connective tissue dysplasia.* St. Petersburg, 701 p. (In Russian)
3. Nechaeva G.I. (2017) *Connective tissue dysplasia: cardiovascular changes, modern approaches to diagnosis and treatment.* M.: Medical Information Agency, 400 p. (In Russian)
4. Il'ina I.Yu. (2020) Connective tissue dysplasia and its impact on women. *Opinion Leader*, no 2, pp. 76–79. (In Russian)
5. Gromova O.A. (2008) Connective tissue dysplasia, biology and molecular sensors of magnesium exposure. *RMZh*, vol. 1, no 16, pp. 1–10. (In Russian)
6. Spasov A.A., Zheltova A.A., Haritonova M.V. (2012) Magnesium and oxidative stress. *Russian Journal of Physiology*, vol. 98, no 7, pp. 915–923. (In Russian)
7. Garaliene V. (2008) Endothelium and nitric oxide. *Medicina*, vol. 44, pp. 564–569.
8. Haritonova M.V. et al. (2011) Effect of magnesium salts on endothelial NO synthase accumulation under conditions of alimentary magnesium deficiency. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta*, no 15, pp. 156–157. (In Russian)
9. Duckitt K., Thornton S., O'Donovan O.P., Dowswell T. (2014) Nitric oxide donors for treating preterm labour. *Cochrane Database Syst Rev*, no 5, p. CD002860. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD002860.pub2>.
10. Nazarova A.O. et al. (2004) *Nitric oxide production in women with natural pregnancy and the threat of dangerous diseases. Mother and Child: Proceedings of the VI Russian Forum.* M., 143 p. (In Russian)
11. Ignatko I.V. et al. (2016) The role of undifferentiated connective tissue dysplasia in the development of obstetric complications. *Voprosy Ginekologii, Akusherstva i Perinatologii*, no 5, pp. 44–52. (In Russian)
12. Badrieva Yu.N. (2015) Features of the course of gestation in women with mitral valve prolapse on the background of undifferentiated connective tissue dysplasia. *Modern problems of science and education*, no 4. Available at: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=20495>. (In Russian)
13. Tyshkevich O.S., Kravchenko E.N. (2014) Connective tissue dysplasia as an acute problem of modern obstetrics. Review of the literature. *Mother and Baby in Kuzbass*, no 3, pp. 4–8. (In Russian)