



Пискунова А.В., Тумакова В.Р., Тюрина Н.А. ✉, Роганова Н.А., Тултаева М.В.,
Доронина Д.В.

Национальный исследовательский Мордовский государственный университет
имени Н.П. Огарева, Саранск, Россия

Определение степени тяжести преэклампсии путем исследования активности процессов перекисного окисления липидов и противовоспалительных реакций

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования – А.В. Пискунова, В.Р. Тумакова; сбор и обработка материала – Н.А. Тюрина; статистическая обработка данных – Н.А. Роганова; написание текста – М.В. Тултаева; анализ материалов – Д.В. Доронина.

Подана: 30.10.2023

Принята: 29.01.2024

Контакты: natalaturina656@gmail.com

Резюме

Целью данного исследования является изучение процесса перекисного окисления липидов в патогенезе преэклампсии средней и тяжелой степени тяжести, а также анализ уровня цитокинов как биомаркеров преэклампсии.

В исследовании принимали участие 80 беременных женщин со сроком гестации более 25 недель (третий триместр). Первую группу составили пациентки с преэклампсией средней степени тяжести (40 женщин). Во вторую группу вошли 20 беременных женщин с тяжелой степенью преэклампсии. Контрольная группа состояла из 20 женщин с нормальным течением беременности. Интерлейкины (ИЛ) определялись с помощью иммуноферментных тест-систем, малоновый диальдегид – методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, лактоферрин – с помощью иммуноферментного анализа.

Для женщин с преэклампсией характерны высокие концентрации цитокинов ИЛ-1, ИЛ-6 и ИЛ-8, белка лактоферрина, малонового диальдегида на фоне снижения ИЛ-4 и антиоксидантного потенциала. При тяжелой форме преэклампсии нарушения становятся более выраженными.

Показатели уровня цитокинов, лактоферрина и малонового диальдегида, установленные в результате исследования, подтверждают связь воспалительного процесса и окислительного стресса в патогенезе преэклампсии, что может привести к появлению новых комплексных подходов к диагностике данной патологии беременности.

Ключевые слова: преэклампсия, перекисное окисление липидов, цитокины, антиоксиданты, беременность, интерлейкины, малоновый диальдегид

Alina V. Piskunova, Viktoriya R. Tumakova, Natal'ya A. Tyurina ✉, Nataliya A. Roganova,
Mariya V. Tultaeva, Dar'ya V. Doronina
Ogarev National Research Mordovia State University, Saransk, Russia

Assessing the Severity of Preeclampsia Through the Study of Lipid Peroxidation Activity and Anti-Inflammatory Responses

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: concept and design of the study – A. Piskunova, V. Tumakova; collection and processing of material – N. Tyurina; statistical processing of data – N. Roganova; text writing – M. Tultaeva; analysis of materials – D. Doronina.

Submitted: 30.10.2023

Accepted: 29.01.2024

Contacts: natalaturina656@gmail.com

Abstract

The purpose of this study is to investigate the process of lipid peroxidation in the pathogenesis of moderate and severe preeclampsia, as well as to analyze the levels of cytokines as biomarkers of preeclampsia.

The study involved 80 pregnant women with a gestation period of more than 25 weeks (third trimester). The first group consisted of patients with moderate preeclampsia (40 women). The second group included 20 pregnant women with severe preeclampsia. The control group consisted of 20 women with a normal pregnancy course. Interleukins (IL) were determined using enzyme-linked immunosorbent assay kits, malondialdehyde by high-performance liquid chromatography, and lactoferrin by enzyme-linked immunosorbent assay.

Women with preeclampsia are characterized by high concentrations of cytokines IL1, IL6, and IL8, lactoferrin protein, and malondialdehyde against the background of reduced IL4 and antioxidant potential. With severe preeclampsia, these disturbances become more pronounced.

The indicators of cytokine levels, lactoferrin, and malondialdehyde established in the study confirm the connection between the inflammatory process and oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia, which may lead to the emergence of new comprehensive approaches to diagnosing this pregnancy pathology.

Keywords: preeclampsia, lipid peroxidation, cytokines, antioxidants, pregnancy, interleukins, malondialdehyde

■ ВВЕДЕНИЕ

Преэклампсия (ПЭ) является одной из главных причин неонатальной и материнской заболеваемости и смертности, а также может приводить к нарушениям внутриутробного развития плода и снижать качество жизни женщин в будущем. ПЭ представляет собой осложнение, возникающее у беременных после 20-й недели гестации, сопровождающееся артериальной гипертензией, протеинурией и отеками [1].

Причины возникновения ПЭ мало изучены в современном акушерстве. Этиология и патогенез данного осложнения до конца не изучены, что препятствует разработке клинически полезных диагностических биомаркеров, особенно маркеров развивающейся ПЭ, а также усложняет оценку степени тяжести (СТ) состояния пациента, эффективное лечение и профилактику.

На основании последних научных исследований [2], главным механизмом патогенеза является генерализованная эндотелиальная дисфункция из-за плацентарных антиангиогенных факторов, в результате которой нарушается рост, дифференцировка и функционирование сосудов плаценты. Важной составляющей развития ПЭ является недостаточная инвазия трофобласта, далее неполное ремоделирование спиральных артерий, вследствие этих процессов сосудистая сеть с низким сопротивлением не формируется, что приводит к снижению притока крови к плаценте и в итоге к системному оксидативному стрессу (резкое усиление окислительных процессов в организме при недостаточном функционировании антиоксидантной системы) [2, 3].

С ранних сроков беременности плацента находится в состоянии окислительного стресса (ОС), возникающего из-за повышенной активности плацентарных митохондрий и производства активных форм кислорода, в основном супероксид аниона. При ПЭ встречается повышенный уровень ОС [4–6].

Главной особенностью ПЭ является сдвиг в сторону персистирующей воспалительной реакции, сопровождающейся эндотелиальной дисфункцией. Причинами этому служат провоспалительные цитокины и факторы роста, а также сниженная функциональность противовоспалительных эффекторов, таких как регуляторные Т-клетки.

ОС, способствующий развитию воспалительных и аутоиммунных процессов [7, 8], и дисбаланс цитокиновой сети играют важную роль в регуляции процессов гестации при ПЭ.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение процесса перекисного окисления липидов в патогенезе ПЭ средней и тяжелой СТ, анализ уровня цитокинов как биомаркеров ПЭ.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Были собраны и объединены статистические данные, полученные из публично доступных источников [9–15]. Авторами рассматривается возможность определения СТ ПЭ путем исследования активности процессов перекисного окисления липидов и противовоспалительных реакций. Благодаря исследованиям, полученным из публичных данных, мы можем привести статистику по 80 беременным женщинам со сроком гестации более 25 недель, которые добровольно согласились на участие в исследовании. Группу составили женщины с ПЭ среднего и тяжелого течения, а также беременные женщины с физиологически протекающей беременностью без сопутствующих патологий. Обследованные беременные были выбраны по возрасту методом рандомизации, и при анализе разброс по возрасту получился от 26 до 30 лет.

Обследованы 80 беременных женщин, средний возраст которых составил от 26 до 30 лет, со сроком от 26 до 31 недели гестации. Все обследованные были поделены на три различные группы по течению беременности: 40 беременных женщин с ПЭ средней СТ были объединены в первую группу, 20 женщин вошли в группу с



тяжелой степенью ПЭ и 20 женщин составили контрольную группу с физиологически протекающей беременностью.

Диагноз ПЭ был выставлен на основании общепринятой методики обследования, которая заключалась в опросе, сборе анамнеза жизни и заболевания женщин, данных физикального обследования, лабораторных и инструментальных методов исследования.

Малоновый диальдегид (МДА) является ранним биомаркером ОС. Определение уровня α -токоферола, способного поглощать свободные радикалы кислорода, играть антиоксидантную роль и поддерживать баланс ОС в организме [9], происходило с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. Результаты отображаются в нмоль/мл.

Интерлейкины (ИЛ) ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8 в сыворотке крови определялись при помощи иммуноферментных тест-систем. Результаты отображаются в пг/мл.

Лактоферрин является одним из основных функциональных белков, обеспечивающих контроль и регуляцию концентрации свободного железа в биологических жидкостях за счет его способности растворять или связывать ионы трехвалентного железа. Благодаря этой особенности ему присущи антиоксидантные, противомикробные, противовоспалительные и иммуностимулирующие свойства [10]. Для определения уровня этого белка в сыворотке крови использовался иммуноферментный анализ. Результаты отображаются в нг/мл.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования сыворотки крови на уровень МДА, α -токоферола и SH-групп у трех групп пациенток отображены в табл. 1 [11, 12].

В первой группе исследуемых женщин отмечается увеличение уровня МДА в 1,96 раза относительно его уровня в крови женщин из группы контроля.

Во второй группе исследуемых женщин отмечается увеличение уровня МДА в 2,31 раза ($p<0,05$) и 1,2 раза ($p<0,05$) по сравнению с его уровнем в сыворотке крови у женщин группы контроля и первой группы соответственно.

Потенциал МДА как биомаркера ПЭ отражает процесс перекисного окисления липидов в плазматических мембранах синцитиотрофобласта [11, 12]. Экспрессия МДА коррелирует с тяжестью ПЭ, что является маркером перекисного окисления липидов и окислительного повреждения.

В первой группе исследуемых женщин отмечается снижение концентрации α -токоферола в 1,8 раза по сравнению с его концентрацией в крови у женщин группы контроля ($p<0,05$). Во второй группе исследуемых женщин концентрация

Таблица 1
Концентрация МДА, α -токоферола и SH-групп в сыворотке крови у исследуемых групп женщин ($M\pm m$)
Table 1
The concentration of malondialdehyde, α -tocopherol and SH-groups in the serum of the studied groups of women ($M\pm m$)

Показатель	Нормально протекающая беременность	ПЭ средней СТ	ПЭ тяжелой степени
МДА, нмоль/мл	2,98 $\pm$ 0,11	5,81 $\pm$ 0,46	6,91 $\pm$ 0,56
α -токоферол, мг%	1,45 $\pm$ 0,08	0,86 $\pm$ 0,07	0,65 $\pm$ 0,07
SH-группы антиоксидантов, мкмоль/л	3,17 $\pm$ 0,1	2,24 $\pm$ 0,17	1,73 $\pm$ 0,14

α-токоферола снизилась в 2,36 раза ($p<0,05$) и в 1,32 раза ($p<0,05$) по сравнению с его концентрацией у женщин группы контроля и первой группы соответственно.

Для изменения уровней антиоксидантов, имеющих в своем составе SH-группу (глутатион, цистеин), характерна идентичная закономерность. В первой группе исследуемых женщин отмечается снижение концентрации SH-групп антиоксидантов в 1,42 раза по сравнению с их уровнем в сыворотке крови у женщин контрольной группы ($p<0,05$). У беременных второй группы отмечается выраженное снижение концентраций SH-групп антиоксидантов – в 2,36 раза ($p<0,05$) относительно контрольной группы и в 1,29 раза ($p<0,05$) относительно первой группы пациенток.

Цитокины – это сигнальные белки, управляющие биологическими процессами на протяжении всей беременности, от имплантации до родов. Концентрации цитокинов у матери могут быть потенциальными предикторами осложнений беременности [13]. Данные исследования уровня цитокинов при нормально протекающей беременности и при ПЭ обобщены в табл. 2.

Зрелый ИЛ-1β является мощным провоспалительным цитокином, который участвует в индукции плацентарного воспалительного ответа, вызывая развитие осложнений процессов гестации [14].

В первой группе исследуемых женщин отмечается увеличение концентрации ИЛ-1β в 2,5 раза по сравнению с его уровнем в сыворотке крови у женщин группы контроля ($p<0,05$). У беременных второй группы отмечается значительное увеличение концентраций ИЛ-1β – в 8,2 раза ($p<0,05$) относительно контрольной группы и в 3,4 раза ($p<0,05$) относительно первой группы пациенток.

Данные подтверждают, что ИЛ-1β может быть ранним предиктором ПЭ, так как его уровень значительно различается у женщин с ПЭ и у здоровых женщин.

Интерлейкин-6 (ИЛ-6) является плеiotропным цитокином, который вырабатывается в основном макрофагами и моноцитами и другими клетками, в том числе эндотелиальными и Т-клетками. При секреции ИЛ-6 попадает в печень, где оказывает стимулирующее воздействие на выработку белков острой фазы, например, С-реактивного белка (CRP). Фактор некроза опухоли (TNF)-α представляет собой провоспалительный цитокин, который влияет на рецепторы TNF (TNFR1 и TNFR2), экспрессируемые большинством клеток иммунной системы. TNF-α, являющийся регулятором нормальной функции клеток, оказывает влияние на жизненно важные биологические процессы, главным образом апоптоз, клеточную пролиферацию и выработку других цитокинов, таких как ИЛ-6 [15]. При ПЭ материнские иммунные клетки секретируют оба провоспалительных цитокина.

Таблица 2
Содержание ИЛ-1β, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8 и лактоферрина в сыворотке крови у исследуемых групп женщин ($M\pm m$)
Table 2
The content of IL-1β, IL-4, IL-6, IL-8 and lactoferrin in the serum of the studied groups of women ($M\pm m$)

Группа/показатель	ИЛ-1β, пг/мл	ИЛ-4, пг/мл	ИЛ-6, пг/мл	ИЛ-8, пг/мл	Лактоферрин, нг/мл
Нормально протекающая беременность	35,8±5,1	130,1±13,4	26,5±1,64	37,8±7,8	1112±117
ПЭ средней СТ	88,75±12,1	52,1±6,1	91,7±11,8	187,2±19,6	2783±193,4
ПЭ тяжелой СТ	296±37,8	67,5±14,4	85,3±9,7	391,3±41	3849±442

У пациенток первой группы уровень ИЛ-6 в сыворотке крови оказался в 3,5 раза выше, чем в группе сравнения ($p < 0,05$). Во второй группе содержание ИЛ-6 превышено в 3,2 раза ($p < 0,05$) по отношению к группе контроля. Но достоверности различий при исследовании концентраций цитокинов в сыворотке крови пациенток первой и второй групп не было обнаружено.

Интерлейкин-8 (ИЛ-8), воспалительный хемокин, подает сигналы, способствующие привлечению иммунных клеток (нейтрофилов и макрофагов) к очагам воспаления посредством связывания CXCR1 и CXCR2. Вследствие этого происходит развитие местного воспалительного процесса в плаценте у беременных с ПЭ.

В первой исследуемой группе отмечается увеличение уровня ИЛ-8 в сыворотке крови в 5 раз относительно его содержания у женщин контрольной группы. Во второй группе исследуемых женщин отмечается нарастание уровня ИЛ-8 в 10 раз ($p < 0,05$) и 2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с его уровнем в сыворотке крови у женщин группы контроля и первой группы соответственно.

Противовоспалительный цитокин ИЛ-4 играет важную роль при функционировании Т-хелперных клеток 2 (Th2) и регуляторных Т-клеток (Treg) для успешного течения беременности. Любая модуляция их уровня может повлиять на функционирование нескольких иммунологических и апоптотических путей, что приводит к развитию осложнений беременности, как ПЭ.

В первой группе исследуемых женщин отмечается снижение уровня ИЛ-4 в 2,53 раза по сравнению с его уровнем в крови у женщин группы контроля ($p < 0,05$). Во второй группе исследуемых женщин снижение концентрации ИЛ-4 было 1,93 раза ($p < 0,05$) по сравнению с его концентрацией у женщин группы контроля. Достоверности различий не установлено.

Расчет коэффициента соотношения провоспалительного ИЛ-1 β и противовоспалительного ИЛ-4 показал преобладание гиперпродукции провоспалительных цитокинов. Коэффициент соотношения ИЛ-1 β /ИЛ-4 в сыворотке крови во второй группе был достоверно выше – в 2,53 раза и 16,3 раза соответственно в первой и контрольной группах ($4,38 \pm 0,44$, $1,74 \pm 0,21$ и $0,27 \pm 0,04$ усл. ед. соответственно, $p < 0,05$).

В первой группе исследуемых женщин отмечается выраженное увеличение концентрации лактоферрина в 2,5 раза по сравнению с его концентрацией в крови у женщин группы контроля ($p < 0,05$). Во второй группе исследуемых женщин увеличилась концентрация лактоферрина – в 3,4 раза ($p < 0,05$) по сравнению с первой группой.

Таким образом, установлена взаимосвязь между активацией иммунновоспалительных процессов у пациенток с ПЭ и показателями перекисного окисления липидов, то есть прямая связь между степенью выраженности ПЭ и интенсивностью процессов перекисного окисления липидов.

В результате статистической обработки установлены корреляционные взаимосвязи между иммунновоспалительным процессом и ПЭ средней и тяжелой СТ: прямая достоверная корреляция между уровнем ИЛ-1 β в сыворотке крови и концентрацией МДА ($r = +0,53$, $p < 0,05$, и $r = +0,45$, $p < 0,05$, в первой и второй исследуемых группах); достоверная прямая коррелятивная взаимосвязь между содержанием ИЛ-8 и МДА ($r = +0,51$, $p < 0,05$, и $r = +0,6$, $p < 0,05$, в первой и второй исследуемых группах соответственно).

ОС и воспалительная реакция являются важными составляющими патогенеза ПЭ, что подтверждают установленные прямые корреляционные взаимосвязи.

Определена прямая достоверная корреляция между содержанием в сыворотке крови ИЛ-8 и лактоферрина, что позволяет судить о выраженности патологического процесса ($r = +0,42$, $p < 0,05$, и $r = +0,63$, $p < 0,05$, в первой и второй группах исследуемых женщин соответственно).

В ходе исследования установлено, что для женщин с ПЭ характерны высокие концентрации цитокинов ИЛ-1, ИЛ-6 и ИЛ-8, белка лактоферрина, МДА на фоне снижения ИЛ-4 и антиоксидантного потенциала. При ПЭ тяжелой степени отмечается дальнейшее нарастание провоспалительных цитокинов, сочетающееся со снижением противовоспалительных цитокинов с антиоксидантами.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования была подтверждена роль процесса перекисного окисления липидов в патогенезе ПЭ. Провоспалительные и противовоспалительные цитокины играют решающую роль в развитии и функциях плаценты, сбалансированное их соотношение необходимо для регуляции системы воспаления у матери на протяжении всей беременности. Неблагоприятные исходы для матери и плода связаны с высвобождением из плаценты различных провоспалительных медиаторов. Для женщин с ПЭ характерны высокие концентрации цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ИЛ-8, белка лактоферрина, МДА на фоне снижения ИЛ-4 и антиоксидантного потенциала. Выявлена связь между увеличением уровня провоспалительных цитокинов ПЭ и СТ заболевания. Следовательно, изученные показатели могут быть использованы в качестве биомаркеров для прогнозирования развития ПЭ на начальных стадиях.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Abalos E., Cuesta C., Carroli G. et al. Pre-eclampsia, eclampsia and adverse maternal and perinatal outcomes: a secondary analysis of the World Health Organization Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 2014;121(1):14–24. DOI: <https://doi.org/10.1111/1471-0528.12629>
2. Palei A.C., Spradley F.T., Warrington J.P. et al. Pathophysiology of hypertension in pre-eclampsia: a lesson in integrative physiology. *Acta Physiologica (Oxford)*, 2013;208(3):224–233.
3. Strizhakov A.N., Timokhina E.V., Pitskhelauri E.G. Preeclampsia today: pathogenesis and possibilities of prognosis and treatment. *Gynecology, obstetrics and perinatology*. 2016;15(3):24–31. DOI: 10.20953/1726-1678-2016-3-24-31 (In Russian)
4. Redman C.W., Sacks G.P., Sargent I.L. Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 1999;180(2 Pt 1):499–506. DOI: 10.1016/s0002-9378(99)70239-5.
5. Kokoeva F.B., Torchinov A.M., Tsakhilova S.G., et al. The role of oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia (literature review). *Russian Journal of Human Reproduction*. 2014;4:7–10. (In Russian)
6. Mikhaleva L.M., Gracheva N.A., Biryukov A.E. Clinical and anatomical aspects of preeclampsia: modern features of the current. *Archive of Pathology*. 2018;80(2):11–17. (In Russian)
7. Vaka R., Deer E., LaMarca B. Is Mitochondrial Oxidative Stress a Viable Therapeutic Target in Preeclampsia? *Antioxidants (Basel)*, 2022;11(2):210. DOI: 10.3390/antiox11020210.
8. Ambrachenko V.V. *Antioxidants and antihypoxants in obstetrics: Oxidative stress in obstetrics and its therapy with antioxidants and antihypoxants*. St. Petersburg: DEAN; 2001. (In Russian)
9. Taravati A., Tohidi F. Comprehensive analysis of oxidative stress markers and antioxidants status in preeclampsia. *Taiwan J Obstet Gynecol*, 2018;57:779–790.
10. Sabra S., Agwa M.M. Lactoferrin, a unique molecule with diverse therapeutical and nanotechnological applications. *Int J Biol Macromol*, 2020;164:1046–1060. DOI: 10.1016/j.jbiomac.2020.07.167.
11. Rani N., Dhingra R., Arya D.S., et al. Role of oxidative stress markers and antioxidants in the placenta of preeclamptic patients. *J Obstet Gynaecol Res*, 2010;36(6):1189–94.
12. Shaker O., Sadik N. Pathogenesis of preeclampsia. *Hum Exp Toxicol*, 2013;32(11):1170.
13. Spence T., Allsopp P.J., Yeates A.J., et al. Maternal Serum Cytokine Concentrations in Healthy Pregnancy and Preeclampsia. *J Pregnancy*. 2021. DOI: 10.1155/2021/6649608.
14. Aggarwal R., Jain A.K., Mittal P., et al. Association of pro- and anti-inflammatory cytokines in preeclampsia. *J Clin Lab Anal*, 2019;33(4):e22834. DOI: 10.1002/jcla.22834.
15. De Cesaris P., Starace D., Riccioli A., et al. Tumor necrosis factor-alpha induces interleukin-6 production and integrin ligand expression by distinct transduction pathways. *The Journal of Biological Chemistry*, 1998;273:7566–7571.