

Kostyantyn Tarasenko

Higher State Educational Institution of Ukraine

«Ukrainian Medical Stomatological Academy», Poltava

Associate Professor, PhD

Department of Obstetrics and Gynecology №1

Endothelial dysfunction of the fetoplacental complex in women with obesity

Abstract: Activities of endothelial and inducible isoforms of nitric oxide synthase (eNOS and iNOS) in blood vessel walls of placental tissues in women with class II obesity and women with physiologic body mass were studied histochemically using an indirect immunoperoxidase reaction with monoclonal antibodies. We found a decrease of eNOS activity, an increase of iNOS activity and an increase of iNOS / eNOS ratio in pregnant women with obesity compared to pregnant women with physiologic body mass.

Keywords: Obesity, placenta, endothelial dysfunction, isoforms of nitric oxide synthase.

Тарасенко Костянтин,

Вищий державний навчальний заклад України

«Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава,

доцент, кандидат медичних наук,

кафедра акушерства та гінекології №1

Ендотеліальна дисфункція фетоплацентарного комплексу

у жінок з ожирінням

Анотація: Гістохімічним методом з використанням непрямой імунопероксидазної реакції з моноклональними антитілами досліджена активність ендотеліальної та індукцйбельної ізоформ синтази оксида азоту (eNOS та iNOS) в стінці судин тканин плаценти жінок з фізіологічною масою тіла та з ожирінням II ступеня. В групі вагітних з ожирінням про розвиток ендотеліальної дисфункції плацент свідчить зменшення активності eNOS,

збільшення активності iNOS, а також зростання в 5,8 раз співвідношення iNOS / eNOS порівняно з показником у вагітних з фізіологічною масою тіла.

Ключові слова: Ожиріння, плацента, ендотеліальна дисфункція, ендотеліальна та індукційна ізоформи синтази оксида азоту.

Ожиріння і метаболічний синдром є найбільш значимою медико-соціальною проблемою як серед дорослих, так і серед дітей, так як є основним фактором ризику найбільш розповсюджених захворювань (серцево-судинні захворювання, цукровий діабет) та ускладнення вагітності і пологів [1, 2, 3, 4]. Нормальний перебіг вагітності характеризується прогресуючим збільшенням маси тіла, особливо в першій половині вагітності, [5] та розвитком фізіологічної інсулінорезистентності [6]. У вагітних жінок з ожирінням прогресування інсулінорезистентності асоціюється з розвитком системного запалення. При цьому компенсаторна гіперінсулінемія позитивно корелює зі ступенем ожиріння [7].

Цитокіни стимулюють генерацію оксида азоту індукційною ізоформою синтази оксида азота (iNOS). Збільшення концентрації цитокінів в крові є маркером ендотеліальної дисфункції, що характеризується дисбалансом вазоактивних речовин і може призводити до порушення судинного тонусу [8]. Дисфункція ендотелію проявляється переважанням вазоконстрикторного ефекту над вазодилататорним.

Оксид азоту (NO) є одним із найбільш важливих вторинних месенджерів у регуляції метаболізму, що реалізує вазодилататорний ефект шляхом впливу на тонус гладких м'язів. NO утворюється в реакції окиснення L-аргініну, яку каталізують NO-синтази (NOS): NOS-1 нейрональна (nNOS), NOS-2 індуквана або макрофагальна (iNOS) та NOS-3 ендотеліальна (eNOS). Синтез iNOS активують цитокіни у відповідь на імунологічний стимул. Активність даної ізоформи NOS найбільша порівняно з іншими [9, 10].

Суттєвий вклад у регуляцію метаболізму у вагітних вносить фетоплацентарний комплекс [11]. Експериментальними дослідженнями доведено вплив різної інтенсивності експресії eNOS на ангиогенез. Ендотеліальна NOS експресується в цитоплазмі синцитію ворсинок і ендотелію фетальних капілярів, судин децидуальної оболонки, які забезпечують обмін речовин між матір'ю і плодом [12]. Питання про зміни активності NO-синтази в судинній стінці тканин плаценти у жінок з ожирінням потребує подальших досліджень.

Мета даної роботи – оцінити особливості функціонального стану ендотелію у вагітних з нормальною масою тіла та за наявності ожиріння шляхом вивчення активності eNOS та iNOS, а також їх співвідношення в судинній стінці тканин плаценти.

Матеріали і методи

Обстежено 20 вагітних жінок, яких було розподілено на дві групи: перша – практично здорові вагітні з нормальною масою тіла, друга – вагітні з ожирінням II ступеня. Групи вагітних рандомізовані за віком (18-35 років) та терміном вагітності (III триместр). У відібраних осіб виключені захворювання серцево-судинної, дихальної, ендокринної та видільної систем. Всі вагітні дали інформовану згоду на участь у дослідженні.

Для гістологічного та гістохімічного дослідження відібрано по 10 тканин плацент від двох груп обстежених жінок. Взятий для імуногістохімічного дослідження матеріал фіксували в нейтральному 10% формаліні. Ущільнення тканин фіксованих у формаліні досягалося проводкою через спирти зростаючої концентрації, целоїдин, хлороформ і заливкою в парафін. Для подальшого фарбування готувалися зрізи товщиною 5×10^{-6} м. Імуногістохімічне дослідження проводили постановкою непрямой імунопероксидазної реакції з моноклональними антитілами до ендотеліальної та індукбельної ізоформ синтази оксида азоту (eNOS та iNOS) фірми Thermo scientific. Реакція візуалізувалася за допомогою набору UltraVision LP Detection System HRP Polymer & DAB Plus Chromogen (Thermo scientific).

Мікропрепарати вивчали на мікроскопі "Olympus BX-41" з наступною обробкою програмою "Olympus DP-soft version 3.1", з допомогою якої, крім визначення інтенсивності гістохімічних реакцій, проводили і морфометричне дослідження. Відносна щільність тих чи інших структурних компонентів визначалася додатковим накладанням на виведене на монітор комп'ютера зображення сіточок і подальшого підрахунку за допомогою програми "Olympus DP-soft version 3.2". У кожному спостереженні вивчалася 30 випадково вибраних полів зору.

Обробку матеріалів досліджень проводили з використанням комп'ютерної програми Statistica 6,0 (StatSoft, США) та методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Ст'юдента. Достовірними вважали розбіжності при $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

Імуногістохімічне дослідження при постановці пероксидазної реакції з моноклональними антитілами до eNOS показало, що в групі вагітних з ожирінням активність eNOS в судинній стінці тканини плаценти достовірно знижена в 2,2 рази порівняно з контрольною групою (таблиця). Одночасно спостерігалось дифузне забарвлення периваскулярних ділянок, хоча достовірних відмінностей активності eNOS в обстежених групах вагітних не відмічалось. Активність iNOS в судинній стінці в тканинах плаценти вагітних з ожирінням зросла в 2,6 рази порівняно з контролем (таблиця). Отже, у вагітних з ожирінням спостерігалось гальмування синтезу eNOS та підвищення продукції iNOS ендотелієм судин плаценти. Оксид азоту із клітин ендотелію є не тільки вазодилататором, який протистоїть дії ендотеліну та реалізує вплив ацетилхоліну і брадикініну, але й проявляє протизапальний ефект [13].

Таблиця

Активність NO-синтази в судинній стінці і периваскулярному просторі
плаценти у жінок з ожирінням ($M \pm m$)

Групи досліджень	Ендотеліальна NO-синтаза в стінці судин (ум.од.)	Ендотеліальна NO-синтаза в периваскулярному просторі (ум.од.)	Індуцибельна NO-синтаза в стінці судин (ум.од.)
Плаценти жінок з нормальною масою тіла (I група)	0,82±0,11	0,51±0,07	0,22±0,06
Плаценти жінок з ожирінням (II група)	0,37±0,14*	0,69±0,09	0,58±0,15*

Примітка: * - достовірні відмінності між I та II групами (p<0,05)

В останні роки для оцінки пошкодження ендотелію використовують непрямі показники, зокрема, вміст vCРБ та співвідношення iNOS до eNOS [14, 15]. Згідно нашим дослідженням, в групі вагітних з ожирінням в стінці судин плацентарної тканини співвідношення iNOS до eNOS в 5,8 раз вище у порівнянні з таким у контрольній групі, що є переконливим доказом розвитку ендотеліальної дисфункції плацент у жінок з ожирінням. Високий рівень індуктибельної NO-синтази, експресію якої стимулюють цитокіни, обумовлює цитотоксичний ефект оксида азоту [16].

Ушкодження ендотелію судин плаценти та гальмування активності eNOS можуть бути пов'язано, по-перше, з підвищеною проникністю ендотелію продуктами гідролізу триацилгліцеролів [14], по-друге, з надмірною продукцією прозапальних цитокінів внаслідок макрофагальної інфільтрації тканини. Індукована (макрофагальна) NOS опосередковано відображає реалізацію даного механізму з участю ушкодження ендотеліоцитів у вагітних з ожирінням.

Інформативним маркером системного запалення є рівень прозапальних цитокінів (TNF- α , IL-1 β , IL-6). Раніше нами доведено, що у вагітних з ожирінням спостерігаються зміни цитокінового профілю з підвищенням

продукції прозапальних цитокінів, які залежать від ступеня ожиріння [17]. Так, рівень ІЛ-6 у вагітних з ожирінням II ступеня майже в 2 рази перевищував відповідний показник групи вагітних з фізіологічною масою тіла ($18,49 \pm 2,26$ пг/мл та $9,57 \pm 1,59$ пг/мл; $p < 0,05$). Прозапальні цитокіни реалізують захисні реакції організму шляхом активації білків гострої фази – вторинних медіаторів системного запалення. Згідно нашим даним [17], вміст вчСРБ в групі вагітних з ожирінням був вищий в 1,8 рази порівняно з контрольною групою жінок ($14,00 \pm 0,96$ мг/л та $7,78 \pm 0,92$ мг/л; $p < 0,05$). Фундаментальну роль в механізмі розвитку системного запалення у осіб з надмірною масою тіла відіграє також лептин, який відзначається структурною гомологією з ІЛ-6 [18].

Отже, у вагітних з ожирінням фетоплацентарна система функціонує в несприятливих умовах, так як розвиток системного запалення порушує функцію ендотелію судин та його регуляторну роль у формуванні плаценти.

Отримані нами результати досліджень активності NOS в судинах плаценти узгоджуються з висновками інших авторів, згідно яким дисфункція плаценти характеризується достовірним зниженням продукції оксида азоту плацентарними макрофагами [19].

Таким чином, в сферу системного запалення у вагітних з ожирінням включаються судини фетоплацентарного комплексу, патогенним наслідком якого є розвиток ендотеліальної дисфункції, порушення продукції вазодилататора оксида азоту внаслідок гальмування синтезу eNOS з переважним утворенням макрофагальної iNOS, ініційованої плацентарними макрофагами.

Список літератури:

1. Нетребенко А.А. Ожирение у детей: истоки проблемы и поиски решений / Педиатрия. – 2011. – Т. 90, № 6. – С. 104-113.
2. Тутельян В.А. Распространенность ожирения и избыточной массы тела среди детского населения РФ: мультицентровое исследование /

- В.А. Тутельян, А.К. Батурич, И.Я. Конь [и др.] // Педиатрия. – 2014. – № 5. – С. 28-31.
3. Коваленко В.М. Метаболічний синдром: механізми розвитку, значення як фактора серцево-судинного ризику, принципи діагностики та лікування / В.М. Коваленко, Т.В. Талаєва, А.С. Козлюк // Український кардіологічний журнал. – 2013. – № 5. – С. 80-87.
 4. Шелестова Л.П. Вагітність і пологи у жінок з аліментарно-конституційним ожирінням (патогенез, профілактика та лікування акушерських і перинатальних ускладнень). Автореф. дис. д-ра мед. наук. Нац. мед. акад. післядиплом. освіти ім. П.Л. Шупика: Київ; 2012: 40.
 5. Покусаева В.Н. Углеводный и жировой обмен при различном гестационном увеличении массы тела. / В.Н. Покусаева, Н.К. Никифоровский, К.Б. Покусаева [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 2014. – Т. 60, № 4. – С. 60-64.
 6. Гордюнина С.В. Инсулинорезистентность при беременности (обзор литературы) / С.В. Гордюнина // Проблемы эндокринологии. – 2013. – № 5. – С. 61-66.
 7. Тарасенко К.В. Патогенетичне значення прозапальних цитокінів у розвитку ускладнень вагітності у жінок з ожирінням / К.В. Тарасенко, А.М. Громова // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2012. – № 2. – С. 52-55.
 8. Гавриленко Т.І. Цитокінпродукуюча властивість моноклеарних клітин та рівень ендотеліну в плазмі крові у хворих на стабільну стенокардію напруження / Т.І. Гавриленко, В.А. Слободський, О.М. Корніліна, О.М. Ломаковський // Український медичний часопис. – 2012. – № 2(88), III-IV. – С. 134-136.

9. Скляр О.Я. Біохімія ензимів. Ензимодіагностика. Ензимопатологія / О.Я. Скляр, Я. Сольські, М.М. Великий [та ін.] – Київ: Медицина, 2007. – 318 с.
10. Johnson M.L. Roles of nitric oxide in surgical infection and sepsis / M.L. Johnson, T.R. Billiar // World J. Surg. – 1998. – V. 2. – P. 187-196.
11. Белоцерковцева Л.Д., Коваленко Л.В., Ерченко Е.Н. Дисметаболический синдром и гормональный статус фетоплацентарной системы у беременных с ожирением / Белоцерковцева Л.Д., Коваленко Л.В., Ерченко Е.Н. // Материалы VII Междунар. науч.-практ. конф. «Здоровье и образование в XXI веке». – Москва, 2006 – С. 65-66.
12. Анчева І.А. Вивчення рівня експресії гена eNOS у плацентарній тканині при залізодефіцитній анемії / І.А. Анчева, Т.Д. Задорожна // Журнал клінічних та експериментальних клінічних досліджень. – 2014. – № 2(1). – С. 13-19.
13. Титов В.И. Диагностическое значение эндотелийзависимой вазодилатации. Функциональное единение эндотелина, оксида азота и становление функции в филогенезе / В.И. Титов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2009. – № 2. – С. 3-16.
14. Eiselein L. Lipolysis products from triglyceride-rich lipoproteins increase endothelial permeability, perturb zonula occludens-1 and F-actin, and induce apoptosis / L. Eiselein, D.W. Wilson, M.W. Lamé, J.C. Rutledge // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2007. – V. 292(6): H2745-53.
15. Коркушко О.В. Вплив інсулінорезистентності на функціональний стан ендотелію у людей середнього та літнього віку / О.В. Коркушко, В.Б. Шатило, О.В. Бондаренко [та ін.] // Кровообіг та гемостаз. – 2013. – № 3-4. – С. 78-86.
16. Абакумов М.М. Генерация оксида азота тромбоцитами периферической крови человека в норме и при ранениях груди и

живота / М.М. Абакумов, П.П. Голиков, Н.Ю. Николаева [и др.] // Вопросы мед. химии. – 2002. – Т. 48(3). – С. 286-292.

17. Тарасенко К.В. Цитокиновый профиль у беременных женщин при ожирении разной степени / К.В. Тарасенко // Репродуктивное здоровье. Восточная Европа. – 2014. – № 4(34). – С. 59-63.
18. Castro-Rodríguez J.A. Increased incidence of asthmalike symptoms in girls who become overweight or obese during the school years / J.A. Castro-Rodríguez, C.J. Holberg, W.J. Morgan [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2001. – V. 163(6) – P. 1344-9.
19. Шестопалов А.В. Продукция оксида азота плацентарными макрофагами на протяжении физиологически протекающей беременности / А.В. Шестопалов, З.И. Микашинович, О.В. Борисенко [и др.] // Известия ВУЗов Северо-Кавказский регион. Естественные науки. – 2004. – №1. – С.68-71.