

Niektóre wykładniki stresu oksydacyjnego w ciąży powikłanej nadciśnieniem tętniczym i cholestazą

Markers of oxidative stress in pregnancies complicated by pregnancy induced hypertension and intrahepatic cholestasis

Biesiada Lidia¹, Pietrzak Zbigniew¹, Brocka Urszula¹, Oszukowski Przemysław², Krasomski Grzegorz¹

¹ Klinika Patologii Ciąży i Ginekologii Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi

² Klinika Perinatologii i Ginekologii Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi

Streszczenie

Cel pracy: Celem pracy była ocena stężeń dysmutazy ponadtlenkowej (CuZnSOD-1), katalazy (CAT), peroksydazy glutationowej (GPx) i dialdehydu malonowego (MDA) u kobiet z ciążą powikłaną nadciśnieniem indukowanym ciążą (PIH), nadciśnieniem tętniczym (HA) lub cholestazą ciążową.

Materiał i metody: Badaniem objęto 34 ciężarne z PIH, 6 z HA i 12 z cholestazą. Grupa porównawcza to 33 pacjentki z ciążą niepowikłaną. We krwi oznaczano stężenia enzymów oraz przedstawiono wyniki położnicze.

Wyniki: Wartości SOD i GPx u kobiet w ciąży powikłanej PIH, HA lub cholestazą nie różniły się w stosunku do kobiet z ciążą niepowikłaną. Zaznaczała się tendencja do niskich wartości CAT w grupie pacjentek z PIH i wyższych MDA u kobiet z HA. Wartości CAT były niższe u pacjentek z PIH i HA rozwiązywanych w trybie pilnym z powodu zagrażającej rzucawki. U kobiet z cholestazą wartości badanych enzymów były podobne jak u kobiet zdrowych. Ciężarne z PIH i HA częściej rozwiązywane były cięciem cesarskim, ale stan noworodków był dobry.

Wnioski: Nie ma przekonujących danych, że aktywność enzymów oksydacyjnych we krwi obwodowej jest miernikiem nasilenia stresu oksydacyjnego u kobiet z PIH, HA lub cholestazą. Chociaż wartości CAT są niższe u pacjentek z PIH i HA rozwiązanych z powodu zagrażającej rzucawki, nie korelują one ze stanem klinicznym pacjentek ani ze stanem urodzeniowym noworodków.

Słowa kluczowe: **stres oksydacyjny / nadciśnienie indukowane ciążą / wolne rodniki tlenowe /**

Adres do korespondencji:

Klinika Patologii Ciąży i Ginekologii Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi
93-338 Łódź, ul. Rzgowska 281/289
Lidia Biesiada
mail: bieslidia@O2.pl

Otrzymano: 30.06.2007

Zaakceptowano do druku: 15.10.2007

Abstract

Objective: The aim of the study was to investigate levels of superoxide dismutase (CuZnSOD-1), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) and malondialdehyde (MDA) in groups of pregnant women with pregnancy induced hypertension (PIH), hypertension recognized before pregnancy (HA) or intrahepatic cholestasis.

Material and methods: 33 women with PIH, 6 with HA and 12 with cholestasis were compared with 33 healthy pregnant women. Levels of enzymes were assessed in blood samples. Methods of delivery and obstetric results were presented.

Results: SOD and GPx levels did not differ significantly in any of the investigated groups. A tendency for lower mean levels of CAT in the group of PIH women, and a higher level of MDA in the group of women with HA has been noted. The mean CAT level was significantly lower in PIH and HA patients delivered instantaneously due to the risk of eclampsia. All mean levels of enzymes in the group of women with cholestasis were similar to the ones in the group of healthy women. Patients with PIH and HA gave birth more often by cesarean section, but the overall condition of the newborns was satisfactory.

Conclusions: There is no substantial evidence that the level of oxidative enzymes in a blood sample can be an indicator of oxidative stress in pregnant women with PIH, HA or cholestasis. Although CAT levels were lower in PIH and HA women who had cesarean section due to the risk of eclampsia, there was no correlation between these enzyme levels and the clinical outcome of patients or the condition of the newborns.

Key words: **oxidative stress / pregnancy induced hypertension / oxygen free radicals /**

Wstęp

Stres oksydacyjny jest rozumiany jako zaburzenie równowagi pomiędzy produkcją reaktywnych form tlenu a wydolnością systemu antyoksydantów, chroniących komórki przed destrukcyjnym działaniem wolnych rodników tlenowych. Wydaje się on odgrywać istotną rolę zarówno w niektórych stanach fizjologicznych (wysiłek fizyczny, ciąża, starzenie się), jak i brać udział w patogenezie wielu chorób. Długotrwałe narażenie na działanie rodników i ich reaktywnych pochodnych wywołuje uszkodzenia białek enzymów komórkowych koordynujących jej funkcjonowanie, błon komórkowych oraz materiału genetycznego, a w efekcie głębokie zaburzenia funkcji komórki [1].

Nawet prawidłowo przebiegająca ciąża jest związana z nasileniem stresu oksydacyjnego, a nadmierna produkcja wolnych rodników lub niewystarczająca ich eliminacja może być powodem patologii dających objawy kliniczne. Zaburzenia te mogą mieć duże znaczenie w patogenezie nadciśnienia indukowanego ciążą, gdzie wtórnie prowadzą one do uszkodzenia śródbłonnków naczyń ciążarnej, wzrostu obwodowego oporu naczyniowego i w konsekwencji do wzrostu ciśnienia tętniczego [2,3].

Również cholestaza ciążowa z przejściowym upośledzeniem funkcji komórki wątrobowej może usposabiać do nasilenia stresu oksydacyjnego.

Wśród licznych systemów ochronnych przed reaktywnymi formami tlenu, enzymy o aktywności przeciwutleniającej zasługują na szczególną uwagę.

Zarówno dysmutaza ponadtlenkowa, (mająca zdolność do eliminowania anionrodników ponadtlenkowych z tworzeniem nadtlenu wodoru), jak katalaza i peroksydaza glutationowa (rozkładające powstały nadtlenek wodoru do tlenu i wody), odgrywają doniosłą rolę w ochronie komórki, a ich niedobór może wskazywać na nasilony stres oksydacyjny [1].

Wolne rodniki tlenowe zapoczątkowują w komórce procesy peroksydacji lipidów, a dialdehyd malonowy (MDA) jest jednym z końcowych produktów tego procesu. Dlatego wydaje się, że podwyższone jego stężenie może być markerem nasilenia stresu oksydacyjnego.

Cel pracy

Celem było zbadanie stężeń dysmutazy ponadtlenkowej zawierającej miedź i cynk (CuZnSOD-1), katalazy (CAT), peroksydazy glutationowej (GPx) oraz dialdehydu malonowego (MDA) we krwi u kobiet z ciążą:

- przebiegającą w sposób niepowikłany,
- powikłaną nadciśnieniem indukowanym ciążą (PIH),
- powikłaną nadciśnieniem tętniczym sprzed okresu ciąży (HA),
- powikłaną cholestazą ciążową.

Porównano również przebieg porodu, sposób rozwiązania i wyniki położnicze u tych kobiet.

Materiał i metody

Badaniem objęto 34 kobiety z ciążą powikłaną PIH (kryteriami rozpoznawania PIH było stwierdzenie RR skurczowego >140mmHg i rozkurczowego >90mmHg u kobiet powyżej 20 tygodnia ciąży oraz ewentualny białkomocz), 6 ciężarnych z HA sprzed ciąży (stwierdzane wg ogólnych kryteriów rozpoznawania nadciśnienia tętniczego) i 12 z cholestazą ciążową (kryteriami rozpoznania było stwierdzenie podwyższonych wartości kwasów żółciowych i enzymów wątrobowych we krwi oraz świąd skóry). Grupę porównawczą stanowiły 33 pacjentki z ciążą niepowikłaną.

Krew do badań enzymatycznych pobierano w okresie okołoporodowym. Badania wykonano z osocza stosując następujące testy:

- Catalase Assay Kit firmy Cayman, metoda ELISA, czytnik ELISA METERTECH 960, długość fali 540nm,

Niektóre wykładniki stresu oksydacyjnego...

- Superoxide Dismutase Assay Kit firmy Cayman, metoda ELISA, czytnik ELISA Pointe Scientific, długość fali 450nm,
- Diałdehyd malonowy BIOXYTECH MDA-586 firmy Oxis Research, metoda spektrofotometryczna, spektrofotometr DU-640 firmy Beckman, długość fali 586nm
- Peroksydaza Glutationu pl-GPx Enzyme Immunoassay firmy Oxis Research, metoda ELISA, czytnik ELISA NETERTECH 960, długość fali 405nm.

Uzyskane wyniki badań laboratoryjnych oraz wyniki porównano stosując testy t-Studenta lub Cochran-Coxa, gdy różnica między wariancjami była istotna statystycznie, oraz test Chi-kwadrat.

Wyniki

Średnia wieku w badanych grupach była zbliżona i nie różniła się statystycznie (PIH – 29,8 lat, HA – 27,3, cholestaza 29,8, ciężarne z ciążą niepowikłaną – 29,4 lat). Również odsetek pierwiastek i wieloródek był podobny. Badane pacjentki różniły się masą ciała wyliczoną poprzez obliczenie BMI (masa ciała w kg/kwadrat wzrostu w metrach) dla każdej z nich. W grupie kobiet z HA i PIH więcej było pacjentek otyłych i średnie BMI w tych grupach było wyższe w stosunku do kobiet z prawidłową ciążą i z cholestazą. (Tabela I).

Wśród badanych pacjentek stwierdzono dwie ciężże obumarłe w grupie kobiet z PIH, oraz 4 ciężże bliźniacze (po dwa przypadki w grupie z PIH i cholestazą).

Średnie wartości dysmutazy ponadtlenkowej i peroksydazy glutationowej były zbliżone i nie różniły się w żadnej z badanych grup.

Tabela I. Średnie wartości enzymów oraz BMI u z badanych grup.

		Grupy badane			Grupa porównawcza
		PE liczba pacjentek -34	HA liczba pacjentek - 6	Cholestaza liczba pacjentek- 12	Ciąża niepowikłana liczba pacjentek - 33
CAT [µM]	liczba badań	28	5	12	24
	średnia	60,2	74,06	121,89	114,18
	odchylenie standardowe	14,62	54,31	60,66	62,27
	p- istotność statystyczna do grupy porównywanej	0,1166	0,2532	0,5396	
Cu/Zn SOD-1 [IU/ml]	liczba badań	34	6	12	28
	średnia	0,32	0,99	0,97	0,74
	odchylenie standardowe	0,34	0,35	0,47	0,4
	p- istotność statystyczna do grupy porównywanej	0,9098	0,3991	0,2101	
MDA- 586 [mM]	liczba badań	34	6	12	32
	średnia	3,35	5,69	3,13	3,54
	odchylenie standardowe	3,01	1,77	1,69	2,39
	p- istotność statystyczna do grupy porównywanej	0,8325	0,4151	0,4215	
GPx [ng/ml]	liczba badań	28	5	10	24
	średnia	161,57	135,02	137,89	149,16
	odchylenie standardowe	32,01	9,7	21,05	34,82
	p- istotność statystyczna do grupy porównywanej	0,7740	0,8552	0,7096	
BMI	liczba badań	34	6	12	33
	średnia	30,42	37,16	25,59	26,93
	odchylenie standardowe	5,08	3,84	2,49	2,74
	p- istotność statystyczna do grupy porównywanej	0,023	0,048	0,739	

Biesiada L, et al.

Średnie wartości katalazy były wyraźnie niższe w grupie pacjentek PIH i HA, ale różnica nie była istotna statystycznie w porównaniu z kobietami z prawidłowym przebiegiem ciąży. Średnie wartości dialdehydu malonowego były najwyższe u pacjentek z HA, ale również różnica nie była istotna statystycznie.

W trybie pilnym rozwiązano 8 pacjentek z grup z PIH i HA z powodu objawów zagrażającej rzucawki. Średnia wartość katalazy u tych kobiet wynosiła 58,2 w porównaniu do 114,8 w grupie z ciążą prawidłową (różnica istotna statystycznie), dialdehydu malonowego 6,12 do 3,54 (brak istotności statystycznej), wartości pozostałych enzymów były zbliżone.

Pacjentki z PIH i HA były znamienne częściej rozwiązywane cięciem cesarskim, ale średnia masa urodzeniowa i stan płodów były podobne jak w grupie kobiet z ciążą niepowikłaną. Natomiast u pacjentek z cholestazą sposób porodu był podobny jak w grupie porównawczej, ale poród występował lub był indukowany wcześniej i średnia masa urodzeniowa noworodków była niższa.

Dyskusja

W ciąży niepowikłanej ilość tlenu dostarczana do tkanek wzrasta, rośnie również wytwarzanie wolnych rodników tlenowych. W początkowych tygodniach płód funkcjonuje w warunkach znacznej hipoksji, dopiero pod koniec I trymestru inwazja trofoblastu w naczynia pozwala na otwieranie się macicznych tętnic spiralnych i zwiększenie podaży tlenu [4, 5, 6].

W związku z tym nasila się peroksydacja lipidów i rośnie stres oksydacyjny [7, 4]. Towarzyszą temu zjawisku zmiany w systemie obrony przeciw reaktywnym formom tlenu i chociaż w miarę wzrostu ciąży obrona ta jest preferowana, to jednak jest ona często niewystarczająca. Rośnie stężenie niskocząsteczkowych antyoksydantów: itamina E, C, ceruloplazmina, grupy tiolowe związane z erytrocytami [7]. Jednocześnie stwierdzano zmniejszenie aktywności enzymów antyoksydacyjnych, SOD i GPx we krwi, choć aktywność CAT i SOD w łożysku rośnie i jest wystarczająca do kontrolowania stopnia peroksydacji lipidów produkowanych w łożysku [7].

Tabela II. Sposób rozwiązania i wyniki położnicze.

		Grupy badane			Grupa porównawcza
		PE liczba pacjentek - 34	HA liczba pacjentek - 6	Cholestaza liczba pacjentek - 12	Ciąża niepowikłana liczba pacjentek - 33
Tydzień zakończenia ciąży	średnia	36,7	36,8	35,2	40,1
	odchylenie standardowe	4,49	5,07	4,09	0,97
	p- istotność statystyczna do grupy porównywanej	0,003	0,246	0,049	
Masa płodu [g]	średnia	2943	3127	2612	3412
	odchylenie standardowe	1100	1146,1	968,2	438,7
	p- istotność statystyczna do grupy porównywanej	0,097	0,3138	0,018	
Apgar w 1 minucie	średnia	8,05	8,5	7,6	9,09
	odchylenie standardowe	2,22	0,83	2,67	0,72
	p- istotność statystyczna do grupy porównywanej	0,1402	0,2778	0,2031	
Sposoby rozwiązania					
poród fizjologiczny	liczba	8	0	5	20
	%	23,5	0	41,6	54,5
	p- istotność statystyczna do grupy porównywanej	0,047		0,5331	
zabieg kleszczo wy	liczba	2	0	0	5
	%	5,8	0	0	15,5
	p- istotność statystyczna do grupy porównywanej	0,4718	0	0	15,5
cięcie cesarskie	liczba	24	6	7	8
	%	70,7	100	58,4	30,3
	p- istotność statystyczna do grupy porównywanej	0,0219	0,044	0,262	

Niektóre wykładniki stresu oksydacyjnego...

We wczesnej ciąży stwierdzano spadek całkowitej pojemności oksydacyjnej, która stopniowo rosła w miarę upływu czasu aż do okresu połogowego [8]. Jednak niektórzy autorzy nie stwierdzali różnic w aktywności GPx w poszczególnych trymestrach ciąży niepowikłanej, a inni opisywali wzrost pojemności oksydacyjnej i aktywności SOD [9, 10].

Również dane z piśmiennictwa dotyczące stresu oksydacyjnego w ciąży powikłanej PIH są rozbieżne. Niektórzy obserwowali, że całkowita pojemność oksydacyjna nie zmienia się, inni że jest niższa, ale nie koreluje to z następstwami klinicznymi [11, 12].

Wydaje się jednak, że stres oksydacyjny ma negatywny wpływ na przepływ krwi w naczyniach macicznych w przebiegu nadciśnienia indukowanego ciążą [3].

Niejasności dotyczą również stężeń i aktywności poszczególnych enzymów. Many i wsp. stwierdzali brak ekspresji SOD w kosmkach trofoblastu i mniejszą ekspresję na cytotrofoblastie w ciążach kobiet z PIH, przy jednocześnie prawidłowej ekspresji CAT w tych samych tkankach [5]. Llubra opisywał zwiększenie aktywności SOD i GPx w erytrocytach, podobne stężenie glutationu i brak podwyższenia stężenia MDA, natomiast inni obniżenie aktywności SOD i obniżenie stężenia MDA [11, 13, 14, 15].

Również podwyższone stężenie glutationu i aktywności GPx w doczesnej i łożysku było przez niektórych opisywane, natomiast według innych danych aktywność selenozależnej GPx w erytrocytach była niższa u pacjentek z PIH w porównaniu z ciążą prawidłową [14, 16]. Jednocześnie aktywność Se-GPx i CAT w krwi pępowinowej była niższa niż we krwi matczynej u kobiet z PIH, co może świadczyć o nasileniu stresu oksydacyjnego u płodów matek z PIH [17].

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych dotyczących stresu oksydacyjnego u ciężarnych z cholestazą. Jedynie u noworodków z niską masą urodzeniową i żółtaczką aktywność GPx była obniżona [18].

Wyniki przeprowadzonych przez nas badań nie są jednoznaczne, podobnie jak dane z piśmiennictwa. U ciężarnych z PIH, HA i cholestazą nie ma różnic w aktywności SOD i GPx w stosunku do kobiet z prawidłową ciążą. Zwraca uwagę, że nawet wieloletnie nadciśnienie tętnicze u kobiet nie wywoływało zmian stresu oksydacyjnego, gdy te pacjentki były w ciąży. Zaznacza się jednak tendencja do obniżonej aktywności CAT i podwyższonego MDA u kobiet z PIH. Jest to szczególnie widoczne u pacjentek z pełnoobjawową zagrażającą rzucawką, zarówno na podłożu PIH jak i HA, gdzie mimo, że wartości CAT były istotnie niższe, to wartości MDA były podwyższone. Może to sugerować, że znaczny i trudny do opanowania wzrost ciśnienia tętniczego generuje stres oksydacyjny i wtórnie nasila procesy usuwania reaktywnych form tlenu powodując wzrost stężenia MDA jako skutek wzmożenia oksydacji lipidów, a katalaza jest tylko jednym z wielu składników układu przeciwutleniaczy.

Jednak u pacjentki z najcięższą postacią PIH – pełnoobjawowym zespołem HELLP, aktywność badanych enzymów nie wykazywała drastycznych różnic w porównaniu do kobiet zdrowych. Również nie znaleziono istotnych różnic w dwóch pacjentek z PIH i z ciążą obumarłą. Być może na wyniki wpływ miały inne czynniki badanej grupy, np. otyłość znacznie częściej występująca u kobiet z PIH i HA.

Średni stan urodzeniowy noworodków nie różnił się w badanych grupach. Odsetek cięć cesarskich u pacjentek z PIH i HA był znacznie wyższy, a wskazaniem najczęściej była zagrażająca zamartwica wewnątrzmaciczna płodu lub trudny do opanowania wzrost ciśnienia tętniczego u matki.

Wnioski

1. Nie ma przekonujących danych na to, aby aktywność enzymów oksydacyjnych we krwi obwodowej była miernikiem nasilenia stresu oksydacyjnego w ciąży powikłanej nadciśnieniem tętniczym lub cholestazą.
2. Chociaż wartości CAT są niższe u pacjentek z PIH i HA rozwiązywanych w trybie pilnym z powodu zagrażającej rzucawki, nie zawsze korelują one ze stanem klinicznym rozwiązywanych pacjentek i ze stanem urodzeniowym noworodków.

Piśmiennictwo

1. Ścibor D, Czeczot H. Katalaza - budowa, właściwości, funkcje. *Postępy Hig Med Dośw.* 2006, 60, 170-180.
2. Kornacki J, Skrzypczak J. Rola hiperlipidemii oraz stresu oksydacyjnego w etiopatogenezie nadciśnienia indukowanego ciążą. *Ginekol Pol.* 2003, 74, 168-176
3. Kornacki J, Koźlik J, Dubiel M, [i wsp.]. Ocena stresu oksydacyjnego i jego korelacji z przepływami krwi w tętnicach macicznych u kobiet ze stanem przedrzucawkowym. *Ginekol Pol.* 2004, 75, 681-691.
4. Myatt L, Cui X. Oxidative stress in the placenta. *Histochem Cell Biol.* 2004, 122, 369-382.
5. Many A, Hubel C, Fisher S, [et al.]. Invasive cytotrophoblasts manifest evidence of oxidative stress in preeclampsia. *Am J Patol.* 2000, 156, 321-331.
6. Hung T, Skepper J, Burton G. In vitro ischemia-reperfusion injury in term human placenta as a model for oxidative stress in pathological pregnancies. *Am J Patol.* 2001, 159, 1031-1036.
7. Gitto E, Reiter R, Karbownik M, [et al.]. Causes of oxidative stress in the pre-and perinatal period. *Biol Neonate.* 2002, 81, 146-157.
8. Toescu V, Nuttall S, Martin U, et al.] Oxidative stress and normal pregnancy. *Clin Endocrinol.* 2002, 57, 609-613.
9. Funai E, Mac Kenzie A, Kadner S, [et al.]. Glutathione peroxidase levels throughout normal pregnancy and in pre-eclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2002, 12, 322-326.
10. Djordjevic A, Spasic S, Jovanovic-Galovic A, [et al.]. Oxidative stress in diabetic pregnancy: SOD, CAT and GSH-Px activity and lipid peroxidation products. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2004, 16, 367-372.
11. Llubra E, Gratacos E, Martin-Gallan P, [et al.]. A comprehensive study of oxidative stress and antioxidative status in preeclampsia and normal pregnancy. *Free Radic Biol Med.* 2004, 37, 557-570.
12. Stepan H, Heihoff-Klose A, Faber R. Reduced antioxidant capacity in second-trimester pregnancies with pathological uterine perfusion. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2004, 23, 579-583.
13. Kumar C, Das U. Oxidant stress in pre-eclampsia and essential hypertension. *J Assoc Physicians India.* 2002, 50, 1372-1375.
14. Madzli R, Benian A, Aydin S, [et al.]. The plasma and placental levels of malondialdehyde, glutathione and superoxide dismutase in pre-eclampsia. *J Obstet Gynaecol.* 2002, 22, 477-480.
15. Ilhan N, Ilhan N, Simsek M. The changes of trace elements, malondialdehyde levels and superoxide dismutase activities in pregnancy or and without preeclampsia. *Clin Biochem.* 2002, 35, 393-397.
16. Knapen M, Peters W, Mulder T. Glutathione and glutathione-related enzymes in decidua and placenta of controls and women with pre-eclampsia. *Placenta.* 1999, 20, 541-546.
17. Orhan H, Onderoglu L, Yucel A. Circulating biomarkers of oxidative stress in complicated pregnancies. *Arch Gynecol Obstet.* 2003, 267, 189-195.
18. Aydin A, Sayal A, Isimer A. Plasma glutathione peroxidase activity and selenium levels of newborns with jaundice. *Biol Trace Elem Res.* 1997, 58, 85-90.