

УДК 577.156

АКТИВНОСТЬ АНГИОТЕНЗИНПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ВНУТРИУТРОБНОЙ ГИПОКСИИ ПЛОДА

Вишнякова Ж.С., Петрушова О.П., Купрюшин А.С.

Пензенский государственный университет, Пенза, e-mail: zhanna_2000@mail.ru

Изучены активность ангиотензинпревращающего фермента и содержание оксида азота (II) в сыворотке крови новорожденных детей с диагнозом хроническая внутриутробная гипоксия плода и в сыворотке крови детей, рожденных от женщин с физиологическим течением беременности и родов. Обнаружено повышение активности ангиотензинпревращающего фермента и содержания оксида азота (II) в сыворотке крови новорожденных детей при хронической внутриутробной гипоксии плода по сравнению с нормой. Высказывается предположение, что ангиотензинпревращающий фермент участвует в патогенезе нарушений кровообращения, а NO – в развитии компенсаторной реакции у детей, развивавшихся в условиях дефицита кислорода. Увеличение активности фермента способствует снижению пониженного кровотока, а выделение NO является компенсаторной реакцией в ответ на вазоконстрикцию при хронической внутриутробной гипоксии плода.

Ключевые слова: ангиотензинпревращающий фермент (АПФ), оксид азота (II), хроническая внутриутробная гипоксия плода, сыворотка крови, новорожденные дети

ACTIVITY OF ANGIOTENSIN-CONVERTING ENZYME IN SERUM NEWBORNS WITH CHRONIC INTRAUTERINE FETAL HYPOXIA

Vishnyakova Z.S., Petrushova O.P., Kupryushin A.S.

Penza State University, Penza, e-mail: zhanna_2000@mail.ru

The article deals with the problem of angiotensin-converting enzyme and nitric oxide (II) in the serum of newborns diagnosed with chronic intrauterine fetal hypoxia and serum of children born to women with physiological pregnancy and childbirth. Found increased activity of angiotensin-converting enzyme and nitric oxide (II) in the serum of newborn infants with chronic intrauterine hypoxia compared with the norm. It is suggested that angiotensin-converting enzyme is involved in the pathogenesis of circulatory disorders, and NO – in the development of a compensatory reaction in children, developed in conditions of oxygen deficiency. Increase in enzyme activity helps reduce low blood flow and NO release is a compensatory reaction in response to vasoconstriction in chronic intrauterine hypoxia.

Keywords: angiotensin-converting enzyme, nitric oxide (II), chronic intrauterine fetal hypoxia, serum, newborns

Беременность – это сложный физиологический процесс, ход которого зависит от экологических, социальных, психологических и других факторов. Во время беременности обеспечиваются оптимальные условия для развития плода и течения родового акта, которые могут нарушаться в результате воздействия ряда неблагоприятных факторов.

В таких случаях одним из наиболее частых диагнозов, которые в последние годы ставят акушеры-гинекологи, является «фето-плацентарная недостаточность» (ФПН) [6].

ФПН рассматривают как клинический синдром, обусловленный морфофункциональными изменениями в плаценте и нарушениями компенсаторно-приспособительных механизмов, обеспечивающих функциональную полноценность органа. Синдром представляет собой результат сложной реакции плаценты на различные патологические состояния материнского организма и проявляется в комплексе нарушений транспортной, трофической, эндокринной и метаболической функций плаценты, лежащих в основе патологии плода и новорожденного [6].

Основными клиническими проявлениями хронической ФПН являются хро-

ническая внутриутробная гипоксия плода (ХВГП) и его гипотрофия, или синдром задержки роста [8, 9]. Внутриутробная гипоксия плода оказывает негативное влияние на протекание периода новорожденности и на дальнейшее развитие ребенка. Она приводит к снижению адаптационных возможностей новорожденного и последующему замедлению темпов развития и поражению центральной нервной системы (возможна задержка развития речи, сложности в поведении, расторможенность, повышенная возбудимость, неусидчивость, плохая концентрация внимания) [9].

Известно, что в условиях кислородной недостаточности у плода наблюдается повышенный тонус периферических сосудов и активация вазоактивных факторов [6, 7]. В регуляции сосудистого тонуса и кровяного давления участвуют ангиотензин II, брадикинин и другие вещества. Изменение уровня биологически активных веществ определяется ферментами их обмена. Так, в образовании ангиотензина II и деградации брадикинина участвует ангиотензинпревращающий фермент (АПФ), который является компонентом ренин-ангиотензиновой системы (РАС). Вероятно, при различных

осложнениях беременности и родов компоненты РАС участвуют в регуляции кровотока в системе мать-плацента-плод [3, 9].

Коррекция этих нарушений осуществляется с помощью компенсаторно-приспособительных реакций, к числу которых относится регуляция сосудистого тонуса и обеспечение нормального кровотока с участием оксида азота (II).

Поэтому целью настоящего исследования стало изучение роли изменения активности АПФ и содержания оксида азота (II) в сыворотке крови новорожденных при хронической внутриутробной гипоксии плода.

Материалы и методы исследования

Активность АПФ, количество оксида азота (II) определяли в сыворотке крови новорожденных, взятой из вены пуповины.

Образцы сыворотки крови исследовались у двух групп новорожденных: первая группа – дети, рожденные от женщин с физиологическим течением беременности и родов, вторая группа – дети с диагнозом ХВГП.

Активность АПФ определяли по образованию гли-арг из кбз-гли-гли-арг при pH 7,6 как активность, ингибируемую каптоприлом [1]. Препарат фермента (40 мкл) смешивали с 20 мкл 35 мкМ каптоприла в 100 мМ Трис-НСI буфере, pH 7,6, преинкубировали 8 мин при 37°C. Реакцию начинали прибавлением 10 мкл раствора кбз-гли-гли-арг в вышеуказанном буфере (конечная концентрация в пробе 5 мМ). Через 60 мин реакцию останавливали прибавлением 30 мкл 10% трихлоруксусной кислоты. Пробы центрифугировали 30 мин при 4000 об/мин. Отбирали 50 мкл надосадочной жидкости и определяли количество образовавшегося гли-арг нингидриновым методом [2]. Пробы колориметрировали на КФК-2 при $\lambda = 590$ нм. Активность ангиотензинпревращающего фермента определяли как разность в оптической плотности проб, не содержащих и содержащих каптоприл. Активность фермента выражали в нмоль гли-арг, образовавшегося за 1 мин инкубации в пересчете на 1 мг белка. Белок определяли методом Лоури [4].

Содержание NO оценивали по количеству конечного стабильного метаболита оксида азота (II) – нитрит-иона. Суммарную концентрацию нитрит-иона определяли колориметрически по развитию окраски в реакции диазотирования нитритом сульфаниламида, входящего в состав реактива Грисса. 0,5 мл сыворотки крови смешивали с 1 мл 0,5 н раствора NaOH и 1 мл 10% раствора ZnSO₄. Пробы центрифугировали 30 мин при 5000 об/мин. Затем 1 мл надосадочной жидкости инкубировали с 1 мл 1% реактива Грисса в течение 20 мин при температуре 28°C. Пробы колориметрировали на КФК-2 при $\lambda = 540$ нм. По калибровочному графику определяли концентрацию нитрит-аниона. Количество нитрит-иона выражали в мкг/мл.

Экспериментальные данные обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

Корреляционный анализ проводили с помощью программы Статистика (версия 6.0).

Результаты исследования и их обсуждение

Согласно результатам исследования в сыворотке крови новорожденных детей

с диагнозом хроническая внутриутробная гипоксия плода было отмечено достоверное увеличение активности АПФ в 2,3 раза по сравнению с детьми, рожденными от женщин с физиологическим течением беременности и родов (рис. 1).

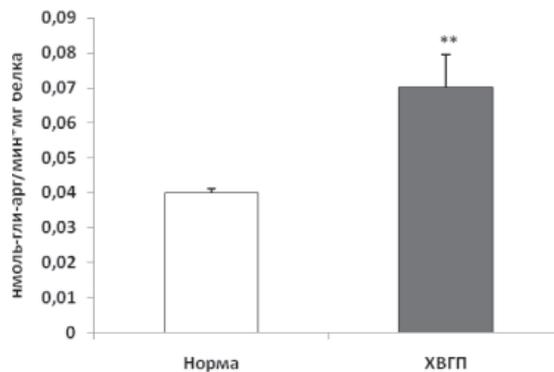


Рис. 1. Активность АПФ в сыворотке крови новорожденных детей в норме и при ХВГП (нмоль продукта, образовавшегося за 1 мин инкубации на 1 мг белка; ** – $p < 0,01$ относительно нормы)

При хронической внутриутробной гипоксии плода также было отмечено достоверное увеличение содержания NO в сыворотке крови новорожденных детей в 1,17 раза по отношению к норме (рис. 2).

ХВГП является следствием длительного пониженного маточно-плодово-плацентарного кровотока [9], регулируемого вазоактивными пептидами – ангиотензином II и брадикинином, содержание которых определяется активностью АПФ. Увеличение активности АПФ в 2,3 раза по сравнению с нормой может свидетельствовать об участии этого фермента в регуляции кровотока.

В условиях ХВГП у плода наблюдается повышенный тонус периферических сосудов, ухудшается кровообращение некоторых жизненно важных органов. В условиях пониженного кровотока происходит активация РАС, усиливается секреция ренина, который катализирует образование ангиотензина I. Увеличение количества ангиотензина I приводит к повышению активности АПФ и соответственно к увеличению количества ангиотензина II, обладающего вазоконстрикторным действием, что еще больше уменьшает пониженный кровоток и способствует усугублению патологического процесса. Это указывает на участие ангиотензинпревращающего фермента в патогенезе нарушений кровообращения.

При ХВГП в сыворотке крови новорожденных отмечено повышение содержания NO в 1,17 раза. Имеется тесная функциональная взаимосвязь между ангиотензином II и NO – фактором, расслабляющим

сосуды. Известно, что ангиотензин II усиливает экспрессию NO-синтазы [5], что в свою очередь приводит к увеличению содержания NO, который обладает вазоди-

латирующим действием. NO поддерживает активную вазодилатацию, регулирует кровотоки и тем самым контролирует базальное артериальное давление.

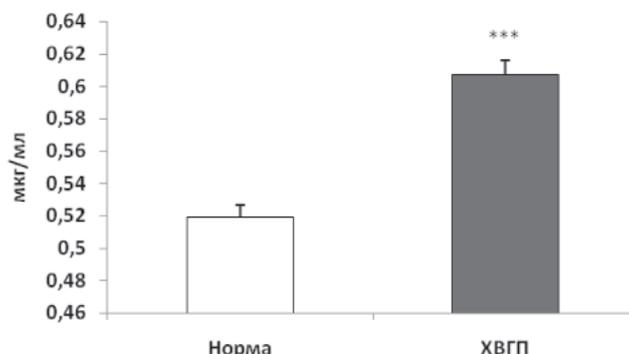


Рис. 2. Количество нитрит-аниона в сыворотке крови новорожденных в норме и при ХВГП (мкг/мл; *** – $p < 0,001$ относительно нормы)

Оксид азота (II) также синтезируется в ответ на механическое воздействие, оказываемое кровотоком на эндотелиальные клетки выстилки кровеносных сосудов, приводя к расширению сосудов [5].

Кроме того, обнаружена положительная корреляционная взаимосвязь между активностью АПФ и содержанием NO ($КК = 0,71^{**}$), которая может свидетельствовать об участии последнего в компенсации пониженного кровотока у новорожденных в условиях гипоксии.

Таким образом, в патогенезе нарушений кровообращения при внутриутробной гипоксии важная роль принадлежит АПФ и оксиду азота (II), который участвует в компенсации пониженного кровотока. Возможно, полученные результаты могут быть использованы для коррекции нарушений кровотока, оказывающих негативное влияние на развитие новорожденного ребенка.

Список литературы

1. Андреева А.А. Продукция окиси азота и состояние центральной гемодинамики у новорожденных, здоровых и перенесших гипоксию // Педиатрия. – 2004. – № 1. – С. 3–4.
2. Бабак О.Я., Кравченко Н.А. Роль ренин-ангиотензиновой системы в ремоделировании сердца и сосудов // Украинский терапевтический журнал. – 2005. – № 2. – С. 26–28.
3. Бардинова Ж.С., Сметанин В.А., Петрушова О.П. Активность ангиотензинпревращающего фермента в сыворотке крови новорожденных при гестозах беременных // Естественное и гуманизм. – 2010. – № 2. – С. 33–34.
4. Баркаган З.С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: Изд-во «Ньюдиамед», 2001. – 298 с.
5. Голиков П.П., Голиков А.П. Роль оксида азота в патологии // ТОП-медицина. – 1999. – № 5. – С. 35–41.
6. Голиков П.П., Николаева Н.Ю. Экспресс-метод определения активности ангиотензинпревращающего фермента в сыворотке крови // Клинич. лаб. диагностика. – 1998. – № 1. – С. 11–14.

7. Ломакин М.С., Арцимович Н.Г. Биологически активные вещества, ассоциированные с плацентой // Акушерство и гинекология. – 1991. – № 9. – С. 6–10.
8. Преображенский Д.В., Сидоренко Б.А., Соколова Ю.В., Носова И.К. Физиология и фармакология ренин-ангиотензиновой системы // Кардиология. – 2007. – № 11. – С. 91–95.
9. Студеникин М.Я. Халлман Н. Гипоксия плода и новорожденного. – М.: Медицина, 2004 – 240 с.

References

1. Andreeva A.A. Produkcija oksisi azota i sostojanie central'noj gemodinamiki u novorozhdenyh, zdorovyh i pere-neshih gipoksiju // Pediatrija. 2004. no. 1. pp. 3–4.
2. Babak O.Ja., Kravchenko N.A. Rol' renin-angiotenzin-novoj sistemy v remodelirovanii serdca i sosudov // Ukrain-skij terapevticheskij zhurnal. 2005. no. 2. pp. 26–28.
3. Bardinova Zh.S., Smetanin V.A., Petrushova O.P. Aktivnost' angiotenzinprevrashhajushhego fermenta v syvorotke krovi novorozhdenyh pri gestozah beremennyh // Estestvo-znanie i gumanizm. 2010. no. 2. pp. 33–34.
4. Barkagan Z.S. Diagnostika i kontroliruemaja terapija narushenij gemostaza. M.: Izdatel'stvo «N'judiamed», 2001. 298 p.
5. Golikov P.P., Golikov A.P. Rol' oksida azota v patologii // TOP-medicina. 1999. no. 5. pp. 35–41.
6. Golikov P.P., Nikolaeva N.Ju. Jekspress-metod oprede-lenija aktivnosti angiotenzinprevrashhajushhego fermenta v syvorotke krovi // Klinich. lab. diagnostika. 1998. no. 1. pp. 11–14.
7. Lomakin M.S., Arcimovich N.G. Biologicheski aktivnye veshhestva, associirovannye s placentoj // Akusherstvo i gine-kologija. 1991. no. 9. pp. 6–10.
8. Preobrazhenskij D.V., Sidorenko B.A., Sokolova Ju.V., Nosova I.K. Fiziologija i farmakologija renin-angiotenzin-ovoj sistemy. // Kardiologija. 2007. no. 11. pp. 91–95.
9. Studenikin M.Ja. Hallman N. Gipoksija ploda i novo-rozhdennoho. M.: Medicina, 2004 240 p.

Рецензенты:

Микуляк Н.И., д.м.н., профессор, зав. кафедрой «Физиология человека» Медицинского института ПГУ, г. Пенза;
 Моисеева И.Я., д.м.н., профессор, зав. кафедрой «Общая и клиническая фармакология» Медицинского института ПГУ, г. Пенза.
 Работа поступила в редакцию 21.03.2014.