

Л.И. Колесникова¹, Н.В. Протопопова², А.Ю. Марьян³, Б.Я. Власов¹,
Л.А. Гребенкина¹, Н.А. Курашова¹, Л.В. Натяганова¹

СОСТОЯНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ НОВОРОЖДЕННЫХ, МАТЕРИ КОТОРЫХ УПОТРЕБЛЯЛИ АЛКОГОЛЬНЫЕ НАПИТКИ В ТЕЧЕНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ

¹ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»,
²кафедра перинатальной и репродуктивной медицины Иркутской государственной медицинской академии
последипломного образования, ³кафедра акушерства и гинекологии с курсом подростковой гинекологии
Иркутского государственного медицинского университета, г. Иркутск, РФ

L.I. Kolesnikova¹, N.V. Protopopova², A.Y. Maryanyan³, B.J. Vlasov¹,
L.A. Grebyonkina¹, N.A. Kurashova¹, L.V. Natyaganova¹

METABOLIC SYSTEM STATE OF NEWBORNS WHOSE MOTHERS CONSUMED ALCOHOL DURING PREGNANCY

¹Scientific Center of Family Health and Human Reproduction Problems; ²Perinatal and Reproductive Medicine
Department, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education; ³Obstetrics and Gynecology Department
with Adolescent Gynecology course, Irkutsk State Medical University, Russia

Этиловый спирт является наиболее частым токсикантом, который сознательно употребляют некоторые женщины во время беременности и считают, что небольшие количества не окажут влияния на плод. Целью исследования явилось изучение состояния системы липопероксидации–антиоксидантной защиты (АОЗ) как чувствительного маркера интегральных расстройств организма у новорожденных, матери которых умеренно употребляли слабые алкогольные напитки в течение всей беременности. В исследовании участвовали 111 беременных женщин. Для оценки количества и качества потребляемых 51 женщиной спиртных напитков (основная группа) с их информированного согласия проводили анонимное анкетирование. 60 женщин, не употреблявших алкоголь во время беременности, составили контрольную группу. Из пуповинной крови, взятой со стабилизатором сразу после перерезки пуповины, стандартными методами получали плазму и отмытые эритроциты, в которых определяли показатели системы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной активности (АОА). Ненасыщенность липидов крови, определяемых по концентрации показателя двойные связи (Дв. св.) в обеих группах, статистически различалась, и уже на первом этапе липопероксидации показатель диеновых конъюгатов (ДК) у детей основной группы ($2,65 \pm 0,86$ усл. ед.) на 24,4% превышал аналогичный показатель контроля ($2,54 \pm 0,76$ усл. ед., $p \leq 0,05$); отмечались также статистически значимые различия в группах и по критерию Фишера, которые характерны для параметров кетодиенов и сопряженных триенов (КД-СТ) и соединений, реагирующих с комплексом тиобарбитуровой кислоты – активных продуктов (ТБК-АП): КД-СТ в контрольной группе $0,76 \pm 0,43$ усл. ед., в основной – $0,75 \pm 0,27$ усл. ед. ($p \leq 0,05$), ТБК-АП – $1,33 \pm 0,35$ и $1,31 \pm 0,48$ мкмоль/л соответственно ($p \leq 0,05$). На фоне активации липопероксидации жирных кислот плазмы крови новорожденных основной группы отмечалось снижение активности подсистемы АОЗ по сравнению с контролем, о чем свидетельствует снижение концентрации таких ключевых параметров АОЗ плазмы, как АОА и витамин Е: АОА в контрольной группе $9,35 \pm 2,92$ усл. ед., в основной – $8,24 \pm 2,51$ усл. ед. ($p \leq 0,05$), витамин Е – $7,16 \pm 1,90$ и $6,24 \pm 1,62$ мкмоль/л соответственно ($p \leq 0,05$). В эритроцитах отмечались

Контактная информация:

Колесникова Любовь Ильинична – член-корр.
РАН, д.м.н., проф. ФГБНУ «НЦ ПЗСРЧ»
Адрес: Россия, 664003, г. Иркутск,
ул. Тимирязева, 16
Тел.: (3952) 40-79-10, E-mail: iphr@sbamsr.irk.ru
Статья поступила 6.11.14,
принята к печати 23.09.15.

Contact Information:

Kolesnikova Lyubov Ilinichna – Corresponding
Member of Russian Academy of Sciences, Ph.D., Prof.
of Scientific Center of Family Health and Human
Reproduction Problems
Address: Russia, 664003, Irkutsk, Timiryazeva str., 16
Tel.: (3952) 40-79-10, E-mail: iphr@sbamsr.irk.ru
Received on Nov. 6, 2014,
submitted for publication on Sep. 23, 2015.

ингибирование активности супероксиддисмутазы (СОД) и падение содержания восстановленного глутатиона (GSH): СОД в контрольной группе $1,74 \pm 1,09$ усл. ед., в основной – $1,66 \pm 0,14$ усл. ед. ($p < 0,05$), GSH – $2,26 \pm 0,42$ и $2,08 \pm 0,31$ ммоль/л соответственно ($p < 0,05$). Установлено, что употребление даже небольшого количества спиртных напитков (около 3 доз) в течение всей беременности вызывает серьезные метаболические сдвиги у новорожденных, выражаемые нарушением дисбаланса системы липопероксидации–АОЗ со снижением концентрации витамина Е, являющегося поливалентным регулятором метаболизма и разнообразных физиологических функций.

Ключевые слова: система перекисного окисления липидов–антиоксидантной защиты, плод, новорожденный, алкоголь.

Ethanol is the most common toxicant, consciously consumed by some women during pregnancy. They believe that a small amount of it won't affect the fetus. Objective of this research – to examine the state of lipid peroxidation–antioxidant protection (AOP) as a sensitive marker of integral organism disorders in newborns whose mothers consumed low alcohol drinks during pregnancy. The study involved 111 pregnant women. To assess the quantity and quality of consumed alcoholic drinks, consumed by 51 women (study group), anonymous survey with their informed consent was conducted. Control group consisted of 60 women who did not drink alcohol during pregnancy. Plasma and washed red blood cells were obtained from umbilical cord blood, taken with the stabilizer immediately after umbilical cord sectioning. Then lipid peroxidation (LPO) indicators and antioxidant activity (AOA) were measured. Unsaturated blood lipids, measured by double bonds indicator concentration statistically varied in two groups. In the first step of lipid peroxidation diene conjugates (DC) index in children of the main group ($2,65 \pm 0,86$ cu), was on 24,4% higher than in controls ($2,54 \pm 0,76$ cu, $p < 0,05$). Statistically significant difference in two groups were observed in Fisher criterion, that characterize ketodienes and conjugated trienes (KD-CT) parameters and compounds that react with thiobarbituric acid – active complex products (TBA-AP): KD-CT in control group $0,76 \pm 0,43$ cu, in main group $0,75 \pm 0,27$ cu ($p < 0,05$), TBA-AP – $1,33 \pm 0,35$ and $1,31 \pm 0,48$ mmol/L, respectively ($p < 0,05$). With lipid peroxidation activation of blood plasma fatty acids, activity of AOP subsystem in infants of study group reduced compared to the control, as evidenced by the reduction of such plasma AOP parameters as AOA and vitamin E. AOA in control group $9,35 \pm 2,92$ cu, in main group $8,24 \pm 2,51$ cu ($p < 0,05$), vitamin E – $7,16 \pm 1,90$ and $6,24 \pm 1,62$ mmol/L, respectively ($p < 0,05$). Superoxide dismutase (SOD) activity in erythrocytes inhibited and reduced glutathione (GSH) content reduced: SOD in control group $1,74 \pm 1,09$ cu, in main group – $1,66 \pm 0,14$ cu ($p < 0,05$), GSH – $2,26 \pm 0,42$ and $2,08 \pm 0,31$ mmol/L, respectively ($p < 0,05$). The study found that even a small amount of alcoholic drinks (about 3 doses) during pregnancy causes serious metabolic changes in infants. It lead to imbalance of lipid peroxidation–AOP with concentration reduction of vitamin E, which is a polyvalent regulator of metabolism and different physiological functions.

Keywords: lipid peroxidation–antioxidant protection, fetus, newborn, alcohol.

Этиловый спирт является наиболее частым токсикантом, который сознательно потребляют некоторые женщины во время беременности, считая, что его небольшие количества индифферентны или даже полезны для развивающегося плода [1, 2].

Вместе с тем, как показали многочисленные исследования, этиловый спирт и его метаболиты (особенно ацетальдегид) даже в небольших дозах прямо или опосредованно через нарушение биохимических механизмов матери приводят к порокам развития будущего ребенка, вплоть до формирования в будущем фетального алкогольного синдрома (ФАС) [3–5]. В связи с этим закономерно возникает вопрос о метаболическом статусе такого новорожденного, который клинически может не проявиться в первые дни жизни, но от его состояния может зависеть реализация программы формирования органов и тканей, целостного организма.

В последние годы значительно возрос интерес к роли системы перекисного окисления липидов–

антиоксидантной защиты (ПОЛ–АОЗ), поскольку дисбаланс этой системы приводит к развитию оксидативного стресса (ОС), который сопровождается снижением резистентности организма к воздействию на него неблагоприятных факторов внешней и внутренней среды, что является одним из важнейших триггеров так называемой свободнорадикальной патологии [6–8].

Учитывая высокую метаболическую активность этилового спирта и его негативный эффект на живые системы, целью настоящей работы явилось изучение состояния системы ПОЛ–АОЗ как чувствительного маркера интегральных расстройств организма у новорожденных, матери которых умеренно потребляли слабые алкогольные напитки в течение всей беременности.

Материалы и методы исследования

В исследовании участвовали 111 беременных женщин среднего возраста $25 \pm 5,6$ лет, которые наблюдались на базе областного перинатального центра г. Иркутска.

Для оценки количества и качества потребляемых 51 женщиной спиртных напитков (основная группа) с их информированного согласия проводили анонимное анкетирование. Анкетирование показало, что средний уровень потребления спиртных напитков за время беременности не превышал 3 доз в виде пива, сухих вин и шампанского (около 1050 мл). Контрольная группа была сформирована из 60 женщин, которые ни разу в течение всей беременности не употребляли спиртные напитки. Проведение данного исследования одобрено этическими комитетами Иркутского государственного медицинского университета и ФГБНУ Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (НЦ ПЗС и РЧ).

Для исследования использовали пуповинную кровь, взятую со стабилизатором сразу после перерезки пуповины. Из крови стандартными методами получали плазму и отмытые эритроциты, в которых определяли показатели системы ПОЛ–АОЗ по технологии, успешно используемой в ФГБНУ НЦ ПЗС и РЧ [9].

Определение содержания субстратов ПОЛ – изолированных двойных связей (Дв. св.) проводили по методу И.А. Волчегорского и др. (1989). Содержание диеновых конъюгатов (ДК) и кетодиенов и сопряженных триенов (КД-СТ) определяли тем же методом, основанном на интенсивном поглощении конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов в области 220 (Дв. св.), 232 (ДК) и 278 (КД-СТ) нм на спектрофотометре СФ-56.

Содержание малонового диальдегида (МДА) определяли по методу В.Б. Гаврилова и др. (1987). Метод основан на том, что при нагревании в кислой среде часть продуктов ПОЛ, относящихся к классу эндоперекисей, разлагается с образованием МДА, связывание молекулы которого с двумя молекулами тиобарбитуровой кислоты (ТБК) приводит к формированию окрашенного комплекса ТБК-активных продуктов (ТБК-АП).

Активность супероксиддисмутазы (СОД) (Н.Р. Misra, I. Fridovich, 1972) измеряли на спектрофлюорофотометре Shimadzu RF=RF=1501 (Япония) при $\lambda=320$ нм. Метод основан на способности СОД тормозить реакцию аутоокисления адреналина при $\text{pH}=10,2$.

Оценку общей антиоксидантной активности (АОА) крови проводили по методу Г.И. Клебанова и др. (1988) на спектрофотометре СФ-56 (Россия). Для оценки использовали модельную систему, представляющую собой суспензию липопroteидов желтка куриных яиц, позволяющую оценить способность сыворотки крови тормозить накопление ТБК-активных продуктов в суспензии. ПОЛ индуцировали добавлением $\text{FeSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, причем контрольная проба не содержала плазмы крови. Общую АОА выражали в усл. ед. оптической плотности.

Определение α -токоферола (витамин Е) и ретинола (витамин А) проводили флуориметрическим методом (Р.Ч. Черняускене и др., 1984) на спектрофлюорофотометре Shimadzu RF=1501 (Япония).

Измерения содержания восстановленного (GSH)

и окисленного (GSSG) глутатиона проводили флуориметрическим методом Р.У. Hissin и R. Hilf (1976). Суть метода заключается в способности GSH специфично реагировать с ортофталевым альдегидом при $\text{pH}=8,0$ и образованием флуоресцентного продукта, который может быть активирован при 350 нм с пиком эмиссии при 420 нм. Определение GSSG проводили аналогично с ортофталевым альдегидом флуориметрическим методом, но в более щелочной среде ($\text{pH}=12$). Кроме того, для предотвращения окисления GSH в GSSG в пробы добавлен N-этилмалеинит. Концентрацию GSH и GSSG выражали в мкмоль/л.

Беременные женщины контрольной и основной групп не отличались по составу и частоте выявления соматической патологии. В группе женщин, которые употребляли алкогольные напитки во время беременности, в анамнезе достоверно чаще встречались медицинские аборт, что составило 48,94% в отличии от группы контроля (26,82%) ($\text{p}\leq 0,05$).

У женщин основной группы течение беременности также достоверно чаще осложнилось анемией беременных (48,24 и 40,23% соответственно), врожденными пороками развития (ВПР) плодов, формированием врожденных пороков сердца (ВПС) (9,96 и 1,41%) и преждевременными родами в сроке 33–37 недель гестации (26,85 и 11,8%) ($\text{p}\leq 0,05$).

В родах у женщин основной группы чаще диагностировали аномалии родовой деятельности (6,34 и 3,07% соответственно) ($\text{p}\leq 0,05$), интранатальную гипоксию плода (14,81 и 9,99%, $\text{p}> 0,05$), у их новорожденных – асфиксию умеренной и тяжелой степени (8,48 и 0,8%, $\text{p}\leq 0,05$).

Недоношенными к гестационному возрасту в контрольной группе родились 8,33% детей и в основной группе – 29,41% ($\text{p}\leq 0,05$).

При анализе показателей длины и массы тела плода при рождении отмечено, что у детей основной группы эти параметры были меньше ($49,17\pm 3,28$ см и $3020,4\pm 717,24$ г) по сравнению с контролем ($50,9\pm 2,87$ см и $3263,5\pm 643,36$ г) ($\text{p}\leq 0,05$).

Выявлено, что средние значения окружности головы (ОГ) у новорожденных контрольной группы составили $33,9\pm 1,5$ см, окружности грудной клетки (ОГК) – $32,7\pm 2,64$ см, в основной группе – $32,1\pm 1,54$ и $31,65\pm 3,59$ см соответственно, что свидетельствует об уменьшении значений данных показателей у новорожденных, которые подвергались пренатальному воздействию алкоголя.

Число детей в контрольной группе с оценкой 8–10 баллов по шкале Апгар на 1-й минуте составило 99%, на 5-й минуте – 100%. С такой же оценкой по шкале Апгар в основной группе новорожденных на 1-й минуте родились 94,7% детей, на 5-й минуте – 97,3% ($\text{p}\leq 0,05$). В основной группе беременных с оценкой по шкале Апгар 3–5 баллов на 1-й и 5-й минутах родились 5,3% новорожденных, что указывает на имеющиеся признаки внутриутробной гипоксии

**Концентрация компонентов ПОЛ в пуповинной крови
наблюдаемых новорожденных**

Показатели	Контрольная группа (n=60)	Основная группа (n=51)	p<0,05
Дв. св., усл. ед.	2,54±0,76	2,65±0,86	P (F)
ДК, мкмоль/л	1,39±0,41	1,73±0,78	P (T), P (F)
КД и СТ, усл. ед.	0,76±0,43	0,75±0,27	P (F)
ТБК-АП, мкмоль/л	1,33±0,35	1,31±0,48	P (F)

Здесь и в табл. 2: P (T), P (F) – отличия соответственно по Стьюденту и Фишеру.

Таблица 2

**Концентрация компонентов АОЗ в пуповинной крови
наблюдаемых новорожденных**

Показатели	Контрольная группа (n=60)	Основная группа (n=51)	p<0,05
АОА, усл. ед.	9,35±2,92	8,24±2,51	P (T)
Витамин Е, мкмоль/л	7,16±1,90	6,24±1,62	P (T)
Витамин А, мкмоль/л	0,41±0,10	0,43±0,12	–
СОД, усл. ед.	1,74±0,09	1,66±0,14	P (T), P (F)
GSH, ммоль/л	2,26±0,42	2,08±0,31	P (T), P (F)
GSSG, ммоль/л	2,00±0,41	1,96±0,40	–

плода, которая в последующем привела к асфиксии новорожденных. В группе контроля в одном случае было зарегистрировано рождение ребенка с оценкой по шкале Апгар 6–7 баллов на 1-й и 5-й минутах.

В постнатальном периоде основным патологическим состоянием было гипоксически-ишемическое поражение ЦНС (церебральная ишемия, синдром угнетения, судорожный синдром, синдром вегетативной дисфункции, синдром гипервозбудимости) – 8% в основной группе и 1,98% в контрольной группе (p<0,05).

Статистическую обработку результатов исследования проводили по методам Стьюдента и Манна–Уитни с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 6.1 Stat-SoftInc., USA (правообладатель лицензии – ФГБНУ НЦ ПЗ и РЧ), причем различия показателей считали статистически значимыми при p<0,05.

Результаты и их обсуждение

Как можно видеть из результатов, представленных в табл. 1, ненасыщенность липидов крови, определяемая по концентрации показателя двойные связи (Дв. св.) [10], в обеих группах новорожденных статистически различалась, и уже на первом этапе липопероксидации показатель диеновые конъюгаты (ДК) в основной группе на 24,4% превышал аналогичный показатель контроля; отмечают также статистически значимые различия в сравниваемых группах и по критерию Фишера, которые характерны для параметров КД, СТ и ТБК-АП.

Таким образом, данные, отражающие характер липопероксидации в плазме пуповинной крови новорожденных, матери которых употреби-

ли алкоголь в процессе гестации, свидетельствуют об активации подсистемы ПОЛ.

На фоне активации липопероксидации жирных кислот плазмы крови новорожденных основной группы по сравнению с контролем отмечалось и снижение активности подсистемы АОЗ (табл. 2), о чем свидетельствует снижение концентрации таких ключевых параметров АОЗ, как общая АОА и уровень витамина Е, а в эритроцитах – ингибирование активности СОД и падение содержания восстановленного глутатиона.

Анализируя соотношение величин показателей липопероксидации и факторов АОЗ у новорожденных основной группы, следует заключить, что значение этого соотношения свидетельствует о наличии ОС, которое сходно с тем, которое мы наблюдали у матерей этих новорожденных в нашем предыдущем исследовании [3]. Однако течение ОС у новорожденных менее выражено, поскольку у них не отмечается существенного изменения концентрации ТБК-АП, с которыми связаны тяжелые проявления эндогенной интоксикации вследствие взаимодействия карбонильных групп (альдегидных и кетонных) со многими компонентами клетки.

Целесообразно акцентировать внимание на роли витамина Е с учетом поливалентности его функций, которая может критическим образом влиять на дальнейшее развитие организма человека. Так, зарубежными исследователями достоверно установлено [11–13], что α-токоферол выполняет в клетках важные сигнальные функции. В частности, используя технологию генных чипов, исследователям удалось *in vivo* установить его роль в формировании

кримас-фактора (антигемофильный глобулин В) и 5 α -стероидредуктазы 1-го типа, которая катализирует превращение тестостерона в 5 α -дигидротестостерон. Показано, что через геномные механизмы витамин Е активирует γ -глутаминил-цистеинилсинтетазу, что приводит к регуляции биосинтеза восстановленного глутатиона, т.е. в этом случае витамин Е оказывает опосредованный эффект на систему АОЗ. Получены также интересные данные, согласно которым витамин Е может определять генетический полиморфизм и участвовать в процессах воспаления. Также следует добавить, что через систему протеинкиназы С токоферолы регулируют развитие и окончательное формирование периферического отдела зрительного анализатора [14, 15]. По результатам нашего исследования, выявлено, что концентрация витамина Е в пуповинной крови новорожденных основной группы статистически значимо ниже по сравне-

нию с контролем, что может привести к дисбалансу системы ПОЛ–АОЗ.

Заключение

Таким образом, полученные результаты позволяют предполагать, что даже небольшое количество спиртных напитков, потребленных женщиной во время беременности, может вызывать серьезные метаболические сдвиги в организме плода и новорожденного ребенка, в частности, приводя к дисбалансу окислительно-восстановительного обмена, выражаемого нарушением функционирования системы ПОЛ–АОЗ. В свете современных литературных и собственных данных можно полагать, что в дисбалансе системы ПОЛ–АОЗ у таких новорожденных важную роль играет дефицит витамина Е, который можно устранить соответствующей диетой матери и/или назначением ей препаратов α -токоферола во время беременности.

Литература

1. Балашова Т.Н., Собелл Л. Применение техник мотивационного интервью в работе с пациентами, имеющими алкогольные проблемы. *Обзор психиатрии и медицинской психологии им. В.М. Бехтерева*. 2007; 1: 4–7.
2. Балашова Т.Н., Вараикова Е.А., Волкова Е.Н. и др. Фетальный алкогольный синдром: риск развития и эффективность профилактики. *Материалы Форума «Мать и Дитя»*. М., 2011: 4–6.
3. Колесникова Л.И., Протопопова Н.В., Марянян А.Ю. и др. Состояние интегрального редокс-статуса организма при умеренном употреблении беременными слабыми алкогольными напитками. *Журнал фундаментальные исследования*. 2014; 10: 14–18.
4. Малахова Ж.Л., Шилко В.И., Бубнов А.А. Фетальный алкогольный синдром у детей раннего возраста. М.: LAMPLAMBERT Academic Publishing, 2012: 164 с.
5. Балашова Т.Н., Волкова Е.Н., Косых Е.А. и др. Особенности употребления алкоголя женщинами детородного возраста в современной России. *Вестник Тамбовского университета. Серия: Гуманитарные науки*. 2012; 105 (1): 4–7.
6. Chandra A, Surti N, Kesavan S, Agarwal A. Significance of oxidative stress in human reproduction. *Arch. Med*. 2009; 5: 528–542.
7. Марянян А.Ю., Колесникова Л.И., Протопопова Н.В. Система перекисного окисления липидов у беременных, употребляющих алкоголь. *Материалы 2-й международной научно-практической конференции «Наука в современном информационном обществе»*. М., 2013: 47–52.
8. Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс. Патологические состояния и заболевания. Новосибирск: «АРТА», 2008: 284 с.
9. Колесникова Л.И., Осипова Е.В., Гребенкина Л.А. Окислительный стресс при репродуктивных нарушениях эндокринного генеза у женщин. Новосибирск: Наука, 2011: 116 с.
10. Колесникова Л.И., Власов Б.Я., Кравцова О.В. и др. Состояние показателей системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты девушек-подростков разных групп здоровья. *Вестник РАМН*. 2014; 3–4: 50–54.
11. Niki E. Lipid peroxidation: Physiological levels and dual biological effects. *Free Radic. Biol. Med*. 2009; 47: 469–484.
12. Lodge JK. Mass spectrometry approaches for vitamin E research. *Biochem. Soc. Trans*. 2008; 36: 1066–1070.
13. Rimbach G, Moehring J, Hueble P, et al. Gene-regulatory activity of α -tocopherol. *Molecules*. 2010; 15: 1746–1761.
14. Kaya NE. Alpha-tocopherol: looking beyond an antioxidant. *Molecular. Vision*. 2009; 15: 855–860.
15. Yamaoka S, Kim HS, Ogihara T, et al. Severe Vitamin E deficiency exacerbates acute hyperoxic lung injury associated with increased oxidative stress and inflammation. *Free Radical. Res*. 2008; 42: 602–612.