

УДК 618.2-076.5:612.014.1

© Г. П. Евсева, С. В. Супрун, В. К. Козлов, 2013.

ОЦЕНКА ЦИТОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН

Г. П. Евсева, С. В. Супрун, В. К. Козлов

Лаборатория перинатальной и детской патологии (зав. – член-корр. РАМН В. К. Козлов), Хабаровский филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» Сибирского отделения РАМН – Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства, 680022, Россия, г. Хабаровск, ул. Воронежская, 49, корп. 1; E-mail: iomid@yandex.ru.

ASSESSMENT OF THE CYTOCHEMICAL INDICES IN PREGNANT WOMEN

G. P. Evseyeva, S. V. Suprun, V. K. Kozlov

SUMMARY

We presented the data of a multidimensional statistical analysis of cytochemical comparison in 240 pregnant women. Using this method, we have established three groups of pregnant women with different types of metabolic reactions that vary according to the cytochemical profile features and the clinical course of pregnancy, labor, and state of newborns and infants of the first year of life. For identifying the risk group of patients with a complicated course of pregnancy and delivery, the activity indicators of succinate-dehydrogenase (SDH), α -glycerophosphate-dehydrogenase (α -GPDH), NADP \cdot H₂-diaphorase (NADP \cdot H₂-DP) and acid phosphatase lymphocytes (APLs) are significant.

ОЦІНКА ЦИТОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ У ВАГІТНИХ ЖІНОК

Г. П. Євсєєва, С. В. Супрун, В. К. Козлов

РЕЗЮМЕ

Представлено дані проведеного багатовимірного статистичного аналізу цитохімічних зіставлень у 240 вагітних жінок. Даний метод дозволив виділити 3 групи вагітних жінок з різним типом метаболічної реакції, що розрізняються за показниками цитохімічного профілю та за клінічним перебігом вагітності, пологів, станом новонароджених та дітей першого року життя. Значущими для віднесення до групи ризику за ускладненим перебігом вагітності та пологів з'явилися показники активності сукцинатдегідрогенази, α -гліцерофосфатдегідрогенази, НАДФ \cdot H₂-діафрази і кислої фосфатази лімфоцитів.

Ключевые слова: беременность, цитохимия, кластерный анализ.

Неспецифической основой всех адаптивных реакций являются изменения энергетического обмена. Именно обеспеченность энергией определяет дальнейшую цепь регуляторных метаболических и структурных изменений в организме [7, 13].

Одним из способов изучения донозологических отклонений в состоянии здоровья беременных женщин и их детей является исследование цитохимической картины крови матери [2, 8, 11], которое помогает выявить компенсаторные и адаптационные изменения обменных процессов на клеточно-молекулярном уровне, когда возможно обнаруживать изменения не только в отдельных видах клеточных элементов (лимфоциты, нейтрофилы), но и в органеллах клеток (митохондрии, лизосомы, липосомы, пероксидазосомы) [11].

Так как метаболический статус лейкоцитов периферической крови описывается большим числом показателей, то современные методы обработки статистических данных ориентируются на многомерные исследования, это позволяет охватить, с одной стороны, большое количество сторон и явлений, а с другой – выделить связи только базисные, когда

в процессе сокращения пространства выбираются наиболее важные информативные признаки из всего исходного многомерного пространства [1, 3].

Целью нашей работы явилось обоснование использования многомерного анализа для создания модели донозологических отклонений в состоянии здоровья у беременных женщин.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Методом случайной выборки было обследовано 240 беременных женщин и их детей. Цитохимические исследования включали в себя определение окислительно-восстановительных ферментов сукцинатдегидрогеназы (СДГ), α -глицерофосфатдегидрогеназы (α -ГФДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и НАДФ \cdot H₂-диафразы (ДФ) с помощью количественного метода [5]. Активность дегидрогеназ выражалась средним числом гранул в клетке. Анализ структуры популяции клеток по активности дегидрогеназ проводили, рассчитывая коэффициенты вариации (V), асимметрии (A), эксцесса (E) и энтропии (H).

Для выявления активности гидролитических ферментов был использован метод азосочетания. Кислую

фосфатазу (КФ) определяли методом А. F. Goldberg, T. Barka [14], щелочную фосфатазу (ЩФ) – по М. Г. Шубич [12]. Для выявления миелопероксидазы (МП) использован метод в модификации Р. П. Нарцисова [4]. Результаты исследования активности ЩФ, КФ и МП оценивали полуколичественным методом по принципу L. S. Karlow (1955) и выражали в условных единицах.

Статистическая обработка материала проведена на персональном компьютере с применением пакета статистических программ: «STATISTICA^R» для «Windows» (версия 6.0). Из совокупности данных рассчитывалась средняя арифметическая вариационного ряда (M), среднее квадратичное отклонение (σ), ошибка средней арифметической (m). Критическая величина уровня значимости принята равной 0,05. В исследовании применялся метод *k*-средних кластерного анализа, который позволяет произвести разбиение множества исследуемых объектов и признаков на однородные в соответствующем понимании группы или кластеры [1, 3].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Большое достоинство кластерного анализа в том, что он позволяет производить разбиение объектов не по одному параметру, а по целому набору признаков в их совокупности. В результате анализа получены 3 кластера (табл. 1).

В 1-ю группу объединились показатели цитохимических исследований 33 беременных женщин, во 2-ом кластере объединились показатели 40 женщин, и в 3-ем кластере – 167 беременных женщин. Анализ среднестатистических цитохимических показателей выявил различия между группами (кластерами) в основном по показателям окислительно-восстановительных ферментов и кислой фосфатазы лимфоцитов (КФЛ).

Хотя по активности СДГ 1 и 2 кластеры достоверно не отличаются, у беременных женщин, отнесенных во 2-ой кластер, выявляется сниженный коэффициент асимметрии СДГ (0,49 – в 1 кластере и 0,2 – во втором, $p > 0,05$), что свидетельствует о снижении числа клеток с высокой активностью фермента, которые, по данным С. В. Петричук и соавторы [9], обладают иммунокомпетентной активностью.

Таблица 1

Цитохимические показатели у беременных женщин с различным типом метаболической реакции

Показатели	1 кластер n=33 M±m	2 кластер n=40 M±m	3 кластер n=167 M±m	p		
				1.2	1.3	2.3
СДГ, гр/кл.	23,40±0,58	22,60±0,46	24,10±0,35	>0,05	>0,05	<0,05
α-ГФДГ, гр/кл.	11,80±0,63	13,50±0,28	9,50±0,42	<0,05	<0,001	<0,001
НАДФ•Н ₂ -ДФ, гр/кл.	17,40±0,81	24,20±0,48	15,40±0,23	<0,001	<0,05	<0,001
ЛДГ, гр/кл.	7,20±0,15	8,10±0,27	10,10±0,88	<0,05	<0,001	<0,05
КФЛ, %	69,10±0,77	84,10±0,85	86,20±0,46	<0,001	<0,001	<0,05
КФН, усл. ед.	106,30±1,40	104,40±0,99	105,70±0,47	>0,05	>0,05	>0,05
ЩФ, усл. ед.	101,60±5,66	99,42±3,43	100,70±2,12	>0,05	>0,05	>0,05
МП, усл. ед.	189,20±2,80	187,71±3,01	191,99±0,90	>0,05	>0,05	>0,05

Ретроспективный анализ каждого наблюдения, вошедшего в кластер, позволил получить следующие данные. В 1 кластер (n=33) вошли 4 здоровые женщины с физиологическим течением беременности (12,1%). В группе удельный вес женщин, страдающих ранним (4,1%) и поздним (3,1%) токсикозом беременных, был наименьшим. Ниже была частота наблюдений женщин с угрозой самопроизвольного прерывания беременности – 6,7%, перенесших острую респираторную вирусную инфекцию (ОРВИ) в течение беременности – 7,7%, анемию – 6,2%. Обострение хронических заболеваний (хронический тонзиллит, заболевания желудочно-кишечного тракта) во время беременности отмечено у 7,2% женщин. По клинической характеристике эта группа оказалась наиболее благоприятной.

В этой группе все дети родились доношенными. Состояние детей при рождении по шкале Апгар ниже

7 баллов отмечалось у 2 детей (13,3%), задержка внутриутробного развития выявлена у 2 детей (13,3%). Перинатальная энцефалопатия диагностирована у 1 ребенка (6,6%). На первом году жизни частые ОРВИ, аллергический диатез перенесли 2 детей (13,3%). Пневмонией, рахитом, анемией дети этой группы не страдали. 93,6% детей, родившихся от матерей этой группы, находились на естественном вскармливании до 6 месяцев и более.

Клинический анализ наблюдений, вошедших в 1 кластер, позволяет говорить о наиболее оптимальном течении беременности и состоянии ферментного статуса лейкоцитов крови в данном наблюдении.

Отличительной чертой 2 кластера является снижение активности СДГ, достоверное повышение активности α-ГФДГ и НАДФ•Н₂-ДФ при достоверном уменьшении разнородности (ДФ V – 28,3±1,23,

$p < 0,05$), разнообразия (ДФ Н – 0,40, $p < 0,001$) клеток по активности фермента и тенденции к снижению пула клеток с высокой активностью фермента α -ГФДГ (А – 0,49 во 2 кластере и 0,57 – в первом, $p > 0,05$). Изменения активности окислительно-восстановительных ферментов у женщин данной группы сопровождаются увеличением активности КФЛ ($69,06 \pm 0,77\%$ – в 1 кластере и $84,07 \pm 0,85\%$ – во 2-ом, $p < 0,001$), что свидетельствует о компенсаторном напряжении ферментной системы лимфоцитов [6]. При клинической интерпретации 40 наблюдений, вошедших во 2 кластер, отмечено, что женщин с физиологическим течением беременности в этой группе было 3 (7,5%). В этой группе отмечено некоторое увеличение числа женщин с ранним (5,1%) и поздним (5,1%) токсикозом беременных. Беременные женщины с анемией составили в этой группе 7,7%. ОРВИ во время беременности перенесли 8,2% женщин. Отягощенный акушерский анамнез имело 5,6% женщин. Также был несколько выше процент наблюдений женщин, перенесших угрозу преждевременного прерывания беременности (7,2%). 5,6% женщин во время беременности переносили обострение хронических заболеваний.

В группе детей, родившихся от матерей, отнесенных во 2 кластер, отклонения в состоянии здоровья отмечались чаще. В этой группе отмечено рождение недоношенного ребенка. Состояние при рождении по шкале Апгар ниже 7 баллов отмечено у 7 (38,8%) детей. Несколько выше число детей, родившихся с внутриутробной гипотрофией – 4 (22,2%). Патология центральной нервной системы у детей, родившихся от матерей этой группы, отмечена в 30,0% случаев. Высок процент детей, перенесших аллергический диатез на первом году жизни – 50,0% (9 детей). В этой группе было 2 детей (10,1%), перенесших анемию. Число детей, часто болеющих ОРВИ, в этой группе практически не отличалось от показателей в 1 группе. На раннем искусственном вскармливании находилось 27,7% детей этой группы.

По данным клинико-лабораторных сопоставлений, вошедших во 2 кластер, состояние метаболического статуса у женщин этой группы можно определить как неполной компенсации с формированием метаболизма физиологического утомления [6].

При анализе цитохимических показателей, объединившихся в 3-ем кластере, нами отмечено, что уровень активности СДГ достоверно не отличался от показателей 1 кластера, но имелось достоверное повышение уровня СДГ по сравнению с показателями женщин 2 группы ($p < 0,05$). Возможно, это происходит в ответ на снижение активности другого фермента, участвующего в процессе энергообеспечения клеток – α -ГФДГ, по сравнению с показателями других кластеров ($p < 0,001$). Уровень активности НАДФ•Н₂-ДФ, катализирующей процессы биологического окисления, был достоверно ниже, чем в

первом ($p < 0,05$) и во втором ($p < 0,001$) кластерах, что свидетельствует о блокаде α -ГФДГ шунта и повреждении «челночного» механизма транспорта электронов. Но увеличение пулов клеток с высокой активностью фермента (ДФ А=0,65, $p > 0,05$), говорит о компенсаторной реакции за счет накопления клеток с высокой активностью фермента и увеличении количества клеток с типичной активностью фермента (ДФ Е=0,17, $p > 0,05$). Достоверное повышение разнообразия пула ДФ ($p < 0,05$) свидетельствует о напряжении системы [10]. Для беременных женщин данной группы также характерно увеличение катаболических процессов, о чем свидетельствует повышение активности КФЛ ($p < 0,001$).

В 3 кластере объединилось 167 женщин, из них только 6 (3,6%) здоровых женщин, беременность у которых протекала без осложнений. В этом кластере объединились наблюдения, которые характеризовались следующими клиническими признаками: обострение имеющегося у них хронического заболевания перенесли 33,3% беременных женщин. ОРВИ в течение беременности перенесли 40,0% женщин данной группы. У 21,0% женщин беременность осложнилась ранним и у – 17,0% поздним токсикозом беременных. Значительно число женщин, имевших отрицательный эмоциональный фон во время беременности (31,8%). Анемию женщины этой группы переносили в 3 раза чаще (23,6%). Отягощенный акушерский анамнез отмечался в 24,6% случаев.

У детей, родившихся от матерей, отнесенных в 3 кластер, 20 детей (29,4%) родилось с внутриутробной гипотрофией. В этой группе больше детей, переносивших частые ОРВИ на первом году жизни – 29 (42,0%), 1 ребенок (1,4%) перенес пневмонию. У 3 детей (5,4%) отмечены признаки рахита. 43,1% детей находилось на раннем искусственном вскармливании.

Клинико-лабораторные сопоставления у беременных женщин, вошедших в 3 кластер, свидетельствуют о несбалансированности процессов окисления, пластических и катаболических реакций, что может вести к снижению функциональных показателей многих систем и органов.

ВЫВОДЫ

Использование кластерного анализа при исследовании цитохимического статуса лейкоцитов периферической крови и изменения активности СДГ, α -ГФДГ, ЛДГ и НАДФ•Н₂-ДФ, КФЛ у беременных женщин позволило установить цитохимические критерии для выделения беременных группы риска по осложненному течению беременности, родов и состояния здоровья ребенка для своевременной коррекции выявленных нарушений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Боровиков В. STATISTICA: искусство анализа данных на компьютере / В. Боровиков. – СПб. : Питер, 2001. – 656 с.

2. Евсева Г. П. Клинико-цитохимические и прогностические критерии в оценке состояния здоровья детей первого года жизни : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.09 / Евсева Г. П. – Хабаровск, 1992. – 21 с.
3. Жижин К. С. Медицинская статистика / К. С. Жижин. – Ростов-на-Дону : Феникс, 2007. – 160 с.
4. Нарциссов Р. П. Модифицированная методика выявления миелопероксидазы / Р. П. Нарциссов // Лабораторное дело. – 1964. – № 3. – С. 150–151.
5. Нарциссов Р. П. Применение пара-нитротетразоля фиолетового для количественного цитохимического определения дегидрогеназ лимфоцитов человека / Р. П. Нарциссов // Архив анат. – 1969. – № 5. – С. 85–91.
6. Новицкая В. П. Экологические аспекты формирования метаболизма лимфоцитов в онтогенезе жителей Крайнего Севера и Сибири : автореф. дис. ... д-ра биол. наук : 03.02.08 / Новицкая В. П. ; ФГБУ «НИИ медицинских проблем Севера» Сибирского отделения РАМН. – Красноярск, 2012. – 32 с.
7. Особенности энергетического обмена клеток в системе мать-плод-новорожденный при беременности, осложненной гестозом / Н. Г. Белова, В. А. Желев, Л. А. Агаркова [и др.] // Сибирский медицинский журнал. – 2008. – № 4. – Вып. 1. – С. 7–10.
8. Синчихин С. П. Прогностическое значение определения перед родами ферментативной активности лимфоцитов у беременных женщин / С. П. Синчихин, Э. У. Лечиева // Вестник ВолГМУ. – 2008. – Вып. 2 (26). – С. 68–70.
9. Ферментный статус лимфоцитов новорожденного и внешняя среда / С. В. Петричук, З. Н. Духова, В. М. Шищенко [и др.] // Педиатрия. – 1985. – № 9. – С. 56–57.
10. Цитохимические исследования тромбоцитов у недоношенных детей первого месяца жизни / О. Б. Васильева, Л. Г. Афолина, Е. П. Бомбардинова [и др.] // Педиатрия. – 1983. – № 10. – С. 27–30.
11. Шищенко В. М. Клинико-цитохимические основы прогнозирования здоровья, роста и развития новорожденных и детей раннего возраста : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.09 / Шищенко В. М. – М., 1988. – 44 с.
12. Шубич М. Г. Цитохимическое определение щелочной фосфатазы лейкоцитов / М. Г. Шубич // Лабораторное дело. – 1965. – № 1. – С. 10–14.
13. Эффективность применения метаболической коррекции у беременных с привычным невынашиванием и группы высокого риска развития плацентарной недостаточности и перинатальных осложнений / Н. М. Мамендалиева, В. М. Шищенко, З. К. Фурсова [и др.] // Здравоохр. Казахстана. – 1991. – № 3. – С. 30–33.
14. Goldberg A. F. Acid phosphatase activity in Human blood cells / A. F. Goldberg, T. Barka // Nature. – 1962. – Vol. 4338. – № 195. – P. 297.