

Роль нарушений антиоксидантной защиты в течении внутрипеченочного холестаза беременных и развитии гестационных осложнений

Ю. Б. Успенская, к.м.н.¹

А. А. Шептулин, д.м.н., проф.²

И. В. Кузнецова, д.м.н., проф.¹

Н. В. Гончаренко³

А. Н. Герасимов, д.ф.-м.н., проф.⁴

¹Кафедра акушерства и гинекологии № 1 и

²кафедра пропедевтики внутренних болезней,

³централизованная лабораторно-диагностическая служба ЛГК,

³отделение патологии беременных № 2 УКБ № 2, клиника акушерства и гинекологии им. В. Ф. Снегирева,

⁴кафедра медицинской информатики и статистики медико-профилактического факультета ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), г. Москва

Role of antioxidant defense disorders during intrahepatic cholestasis of pregnant women and development of gestational complications

Yu. B. Uspenskaya, A. A. Sheptulin, I. V. Kuznetsova, N. V. Goncharenko, A. N. Gerasimov

First Moscow State Medical University n.a. I. M. Sechenov, Moscow, Russia

Резюме

До настоящего времени не до конца ясны механизмы возникновения гестационных осложнений при внутрипеченочном холестазе беременных (ВХБ) и не известны четкие предикторы их развития. Окислительный стресс и нарушения антиоксидантной защиты, являющиеся патогенетическим звеном различной патологии беременности, могут играть роль в развитии осложнений беременности при ВХБ и служить прогностическим маркером их возникновения. Цель исследования. Определение роли нарушений антиоксидантного статуса в развитии осложнений беременности у пациенток с ВХБ. Материалы исследования. В проспективное исследование были включены 97 беременных женщин, имевших ВХБ. Из них методом случайной выборки была выделена группа 57 пациенток. Пациенткам выделенной группы проводилось клиническое и лабораторное обследование с определением биохимических маркеров повреждения функции печени, УЗИ. Антиоксидантный статус оценивался на основании определения содержания ферментов антиоксидантной защиты (супероксиддисмутаза [СОД], глутатионпероксидаза [ГТП]) и их коферментов (цинк, селен). Выраженность кожного зуда устанавливалась в диапазоне от 0 до 3 исходно (при выявлении ВХБ), а также через 1 и 2 недели лечения. Лечение проводилось препаратами урсодеоксихолевой кислоты в дозе от 500 мг до 2 г в сутки. Результаты. У пациенток с ВХБ, имевших осложнения беременности (преждевременные роды, внутриутробная гипоксия плода, преэклампсия, необходимость в проведении кесарева сечения), отмечены более низкие уровни СОД, ГТП, селена и цинка в сравнении с пациентками, не имевшими этих осложнений. Факторами, способствующими нарушениям антиоксидантной защиты у пациенток с ВХБ, оказались его раннее начало и длительное течение, многоплодная беременность, применение программ вспомогательных репродуктивных технологий и препаратов половых гормонов, наличие билиарного сладжа и низкая эффективность лечения кожного зуда. Заключение. Истощение защитных механизмов, препятствующих развитию окислительного стресса, является одним из звеньев патогенеза развития осложнений беременности у пациенток с ВХБ. Нарушения антиоксидантной защиты при ВХБ можно рассматривать как предиктор развития осложнений беременности и показание для активного ведения пациенток.

Ключевые слова: внутрипеченочный холестаз беременных, окислительный стресс, ферменты антиоксидантной защиты, глутатионпероксидаза, супероксиддисмутаза, селен, гестационные осложнения.

Summary

To date, the mechanisms of the onset of gestational complications in intrahepatic cholestasis of pregnant women (VCB) are not fully understood, and clear predictors of their development are not known. Oxidative stress and antioxidant defense disorders, which are a pathogenetic link in various pathologies of pregnancy, can play a role in the development of complications of pregnancy in VCB and serve as a prognostic marker for their occurrence. Purpose of the study. Determination of the role of antioxidant status disorders in the development of complications of pregnancy in patients with VCB. Materials of the study. A prospective study included 97 pregnant women who had VCB. Of these, a group of 57 patients was randomly selected. Patients of the isolated group underwent clinical and laboratory examination with determination of biochemical markers of damage to liver function, ultrasound. Antioxidant status was assessed on the basis of the determination of the content of antioxidant defense enzymes (superoxide dismutase [SOD], glutathione peroxidase [GTP]) and their coenzymes (zinc, selenium). Severe pruritus was established in the range from 0 to 3 initially (with the detection of VCB), and after 1 and 2 weeks of treatment. The treatment was carried out with ursodeoxycholic acid preparations at a dose of 500 mg to 2 g per day. Results. In patients with VCB who had complications of pregnancy (preterm delivery, intrauterine fetal hypoxia, preeclampsia, the need for caesarean section), lower levels of SOD, GTP, selenium and zinc were observed compared to patients who did not have these complications. Factors contributing to the disturbance of antioxidant protection in patients with VCB were its early onset and prolonged course, multiple pregnancies, the use of assisted reproductive technologies and sex hormone drugs, the presence of biliary sludge and the low efficacy of treatment of pruritus. The conclusion. The depletion of protective mechanisms that inhibit the development of oxidative stress is one of the links in the pathogenesis of complications of pregnancy in patients with VCB. Disorders of antioxidant protection in VCB can be considered as a predictor of the development of pregnancy complications and an indication for active management of patients.

Key words: Intrahepatic cholestasis of pregnancy, oxidative stress, enzymes of antioxidant defense, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, selenium, gestational complications.

Одной из нерешенных до конца проблем современного акушерства является внутрипеченочный холестаз беременных (ВХБ). Интерес к ВХБ определяется как недостаточной изученностью патогенеза его развития, так и непредсказуемостью и неясностью причин развития опасных осложнений со стороны плода.

Основой развития специфической холестатической реакции у генетически предрасположенных лиц является недостаточность транспортных систем печени, которая формируется под влиянием высоких уровней половых гормонов и их метаболитов, характерных для поздних сроков беременности [1, 2, 3]. До настоящего времени не до конца ясны механизмы возникновения нарушений со стороны плода и неблагоприятных исходов беременности при ВХБ. Высказываются гипотезы о неблагоприятном влиянии токсических гидрофобных желчных кислот на плаценту, сократительную функцию миокарда и сердечный ритм у плода, нарушения соотношения белков сурфактанта в легких и функции надпочечников [4, 5, 6, 7, 8, 9], однако четкие механизмы и предикторы развития осложнений беременности при ВХБ пока не ясны.

Неотъемлемым звеном патогенетической цепи развития многочисленных осложнений беременности является окислительный стресс [10]. Беременность сама по себе ассоциирована с окислительным стрессом и даже при ее физиологическом течении повышает нагрузку на антиоксидантные системы. При нормальном течении беременности сохраняется равновесие между окислительной агрессией и антиоксидантной защитой. Декомпенсация антиоксидантных ресурсов с дисбалансом между активными формами кислорода и антиоксидантами наблюдается при беременностях, осложненных преэклампсией, гестационным сахарным диабетом, невынашиванием и синдромом задержки роста плода [10]. Основными эндогенными факторами антиоксидантной защиты являются ферменты (глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, супероксиддисмутаза), содержащие в качестве кофакторов селен и цинк. Взаимосвязь дефицита селена и различной патологии беременности, в том числе и ВХБ, была выявлена во многих исследованиях [11, 12, 13, 14, 15, 16, 17]. Учитывая, что селен играет одну из ключевых ролей в обеспечении биосинтеза ферментов антиоксидантной защиты [18], можно предположить, что наличие его дефицита при ВХБ является фоном для развития или отражением уже существующего окислительного стресса.

Таким образом, суммируя вышеприведенные данные, можно предположить, что расстройства антиоксидантной защиты и окислительный стресс могут являться частью патогенеза и предикторами развития осложнений беременности при ВХБ. В связи этим нами было проведено исследование, целью которого явилось определение роли нарушений антиоксидантного статуса в развитии осложнений беременности у пациенток с ВХБ.

Материалы и методы

В проспективное исследование были включены 97 беременных женщин, имевших ВХБ. Из них методом

случайной выборки была выделена группа, в которую вошли 57 пациенток. Им проводилось клиническое и лабораторное обследование с определением биохимических маркеров нарушения функции печени. Антиоксидантный статус оценивался на основании определения содержания ферментов антиоксидантной защиты (супероксиддисмутаза [СОД], глутатионпероксидаза [ГТП]) и их кофакторов (цинк, селен). Выраженность кожного зуда устанавливалась в диапазоне от 0 до 3 баллов исходно (при выявлении ВХБ), а также через 1 и 2 недели лечения. Лечение проводилось препаратами урсodeоксиколовой кислоты (УДХК) в дозе от 500 мг до 2 г в сутки. При изучении перинатальных исходов определялись срок родов, способ родоразрешения, наличие признаков внутриутробной гипоксии плода. У матери учитывались анамнестические сведения, данные акушерского и соматического анамнеза, срок беременности на момент возникновения ВХБ, сопутствующая акушерская патология, использование программ вспомогательных репродуктивных технологий и экстракорпорального оплодотворения (ВРТ и ЭКО) для наступления зачатия, прием препаратов половых гормонов во время данной беременности.

Уровень факторов антиоксидантной защиты у больных с ВХБ, имевших осложнения беременности, сравнивался с таковым у пациенток с ВХБ, протекавшим без указанных осложнений.

Статистический анализ данных проводили с использованием пакета статистических программ IBM PSS Statistics 22.

95-процентные доверительные границы к частоте (95 % ДИ) рассчитывали на основе биномиального распределения.

При сравнении числовых показателей в двух группах рассчитывали статистическую значимость p_1 среднего арифметического при помощи дисперсионного анализа и распределения рангов при помощи критерия Манн-Уитни (p_2) и Колмогорова-Смирнова (p_3).

Связи между числовыми показателями, включая выраженность зуда в баллах, искали при помощи коэффициента корреляции Пирсона r и коэффициента ранговой корреляции Спирмена r_s .

Данные представлены в виде $M \pm m$, где M — среднее арифметическое, m — статистическая погрешность среднего.

Различия считали достоверными (статистически значимыми) при $p < 0,05$.

Результаты

Средний возраст пациенток группы наблюдения составил $29,2 \pm 5,7$ года. К моменту диагностики ВХБ средний срок беременности у обследованных пациенток достигал $30,6 \pm 7,4$ недели гестации.

В табл. 1 представлены исходные клинические характеристики и частота осложнений беременности у 57 наблюдавшихся пациенток с ВХБ.

При анализе клинических проявлений у наблюдавшихся пациенток средний показатель выраженно-

Таблица 1
Характеристика клинических особенностей и частота осложнений беременности у пациенток с ВХБ

Клинические особенности	Абс.	Отн.	95% ДИ	
			От	До
Многоплодная беременность	12	21,05%	12,74%	31,91%
Возникновение беременности после применения ЭКО и ВРТ	13	22,81%	14,13%	33,89%
Прием препаратов половых гормонов во время беременности	42	73,68%	62,24%	83,03%
Билиарный сладж	41	71,93%	60,34%	81,57%
Внутриутробная гипоксия плода	17	29,82%	19,91%	41,54%
Преждевременные роды	22	38,60%	27,56%	50,66%
Частота случаев проведения кесарева сечения	19	33,33%	22,91%	45,24%
Преэклампсия	10	17,54%	10,05%	27,87%

Таблица 2
Характеристика лабораторных параметров антиоксидантной защиты

Показатель	M	Min	Max	Квартиль 25%	Me	Квартиль 75%
Уровень СОД, ЕД/мл	179,98	145	287	158	169	198
Уровень ГТП, ЕД/л	4921,82	3983	7824	4110,5	4910	5481
Уровень селена, мкг/л	86,72	30	121	72	87	104
Уровень цинка, мкг/л	822,12	663	1125	768	812	878,5

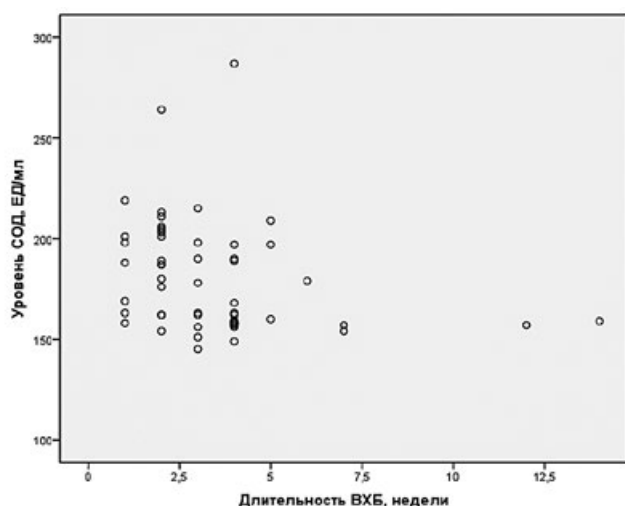


Рисунок 1. Зависимость уровня СОД от длительности течения ВХБ.

сти кожного зуда составил 1 балл у одной пациентки (1,8% ДИ: 0,4–6,3%), 2 балла у 22 пациенток (38,6% ДИ: 27,6–50,7%), 3 балла у 34 женщин (59,6% ДИ: 47,6–70,9%).

В табл. 2 представлена характеристика лабораторных показателей антиоксидантной защиты.

Взаимосвязь клинических характеристик и антиоксидантного статуса у пациенток с ВХБ

Использование программ ВРТ и ЭКО оказалось взаимосвязано с более низкими уровнями ГТП. Из 13 пациенток, у которых беременность наступила после использования ВРТ, средняя величина показателя ГТП составила $4420,9 \pm 186,4$ ЕД/л, у 44 пациенток с естественно наступившей беременностью — $5069,8 \pm 131,8$ ЕД/л ($p_2 = 0,006$; $p_3 = 0,009$).

Были выявлены достоверные различия уровня СОД, селена и цинка у женщин с ВХБ, принимавших и не принимавших препараты половых гормонов во время беременности (препараты прогестерона и эстрогенов). У пациенток, принимавших препараты половых гормонов, уровень СОД составил $176,6 \pm 4,6$ ЕД/мл; у пациенток, не получавших гормональную терапию, — $189,3 \pm 4,9$ ЕД/мл ($p_2 = 0,017$; $p_3 = 0,018$). В случаях приема пациентками препаратов половых гормонов во время беременности концентрация селена составила $82,05 \pm 3,38$ мкг/л, у пациенток, не получавших половые гормоны, — $99,80 \pm 3,34$ мкг/л ($p_1 = 0,005$; $p_2 = 0,004$; $p_3 = 0,001$). Уровень цинка у женщин, получавших гормональную терапию, достигал $817,7 \pm 15,3$ мкг/л, у пациенток, не получавших этого лечения, — $834,6 \pm 19,9$ мкг/л ($p_3 = 0,034$).

Уровень ГТП у пациенток с многоплодной беременностью ($4422 \pm 191,6$ ЕД/л) был достоверно ниже, чем у пациенток с одноплодной беременностью — $5055 \pm 130,9$ ЕД/л ($p_1 = 0,024$; $p_2 = 0,011$; $p_3 = 0,004$).

Заслуживающей внимания оказалась отрицательная корреляция между выраженностью кожного зуда через две недели лечения и уровнем СОД (коэффициент корреляции $-0,306$; $p = 0,02$; коэффициент ранговой корреляции $-0,374$; $p = 0,004$).

Наличие билиарного сладжа во время беременности у женщин с ВХБ оказалось дополнительным фактором, способствовавшим нарушениям антиоксидантной защиты. У пациенток, имевших билиарный сладж, уровень СОД составил $177,27 \pm 4,68$ ЕД/мл, у пациенток, не имевших билиарного сладжа, — $186,94 \pm 5,09$ ЕД/мл ($p_2 = 0,045$). Аналогично более низкий уровень ГТП выявлен у пациенток с билиарным сладжем ($4741,76 \pm 114,95$ ЕД/л) в сравнении с пациентками, не имевшими билиарного сладжа ($5383,25 \pm 259,32$ ЕД/л) ($p_1 = 0,011$; $p_2 = 0,025$).

У наблюдавшихся пациенток были обнаружены отрицательные корреляционные связи между длительностью ВХБ и уровнями СОД (коэффициент корреляции $r = -0,306$; $p = 0,02$; коэффициент ранговой корреляции $r = -0,374$; $p = 0,004$), ГТП (коэффициент корреляции $r = -0,314$; $p = 0,017$; коэффициент ранговой корреляции $r = -0,341$; $p = 0,009$), селена (коэффициент корреляции $r = -0,235$; $p = 0,079$; коэффициент ранговой корреляции $r = -0,392$; $p = 0,003$) и цинка (коэффициент корреляции $r = -0,277$; $p = 0,037$, ранговой корреляции $r = -0,316$; $p = 0,017$), см. рис. 1, 2.

Взаимосвязь нарушений антиоксидантного статуса и осложнений беременности

Невынашивание беременности

В обследованной группе пациенток обнаружена взаимосвязь между снижением параметров антиоксидантной защиты и невынашиванием беременности. Так, уровень СОД, ГТП и селена у пациенток, имевших преждевременные роды, был ниже, чем у женщин с беременностью, доношенной к моменту родоразрешения. У пациенток, не доносивших беременность, уровень СОД составил $166,0 \pm 3,1$ Ед/мл, у пациенток, доносивших беременность до срока, — $188,7 \pm 5,2$ Ед/мл ($p_1 = 0,002$; $p_2 = 0,001$; $p_3 = 0,005$). Величина показателя ГТП у женщин, имевших преждевременные роды, составила $4676,3 \pm 183,6$ ЕД/л, у женщин с родами в срок — $5076,2 \pm 144,4$ ЕД/л ($p_2 = 0,025$, $p_3 = 0,046$). У женщин, имевших преждевременные роды, уровень селена достигал $82,05 \pm 3,11$ мкг/л, у пациенток со срочными родами — $89,7 \pm 4,1$ мкг/л ($p_3 = 0,011$).

Преэклампсия

У пациенток с беременностью, осложнившейся преэклампсией, показатели СОД, ГТП и цинка были достоверно ниже, чем у пациенток, не имевших данного осложнения. У женщин с беременностью, сопровождавшейся преэклампсией, уровень СОД составил $159,8 \pm 3,6$ Ед/мл, у пациенток, не имевших преэклампсии, — $184,2 \pm 4,1$ Ед/мл ($p_1 = 0,01$; $p_2 = 0,004$; $p_3 = 0,024$). Средние показатели ГТП у пациенток с преэклампсией составил $4049,8 \pm 16,7$ ЕД/л, у женщин, не имевших преэклампсии, — $5107,3 \pm 124,1$ ЕД/л ($p_1 = 0,001$; $p_2 = 0,001$; $p_3 = 0,001$). Уровень цинка при наличии преэклампсии составил $769,8 \pm 18,1$ мкг/л, при отсутствии этого осложнения — $833,2 \pm 14,1$ мкг/л ($p_2 = 0,035$; $p_3 = 0,024$).

Внутриутробная гипоксия плода

У пациенток, с беременностью, осложнившейся внутриутробной гипоксией плода (ВГП), уровни СОД и селена были достоверно ниже, чем у женщин, не имевших данной патологии. Уровень СОД у пациенток с ВГП составил $165,8 \pm 3,6$ Ед/мл, у пациенток, не имевших ВГП, — $186 \pm 4,7$ Ед/мл ($p_1 = 0,011$; $p_2 = 0,004$, $p_3 = 0,027$). У женщин с беременностью, сопровождавшейся ВГП, уровень селена составил $76,4 \pm 3,2$ мкг/л, у беременных, не имевших ВГП, — $91,1 \pm 3,5$ мкг/л ($p_1 = 0,016$; $p_2 = 0,003$; $p_3 = 0,005$).

Кесарево сечение

При оценке роли окислительного стресса как фактора, обуславливающего более частую необходимость проведения кесарева сечения, учитывались лишь осложнения беременности, ассоциированные с ВХБ.

У пациенток, имевших осложнения беременности, потребовавшие проведения кесарева сечения, уровни СОД, ГТП и цинка были достоверно ниже, чем у пациенток, имевших естественные роды. У женщин, осложнения беременности которых потребовали проведения оперативных родов, уровень СОД составил $167,1 \pm 4,3$ Ед/мл,

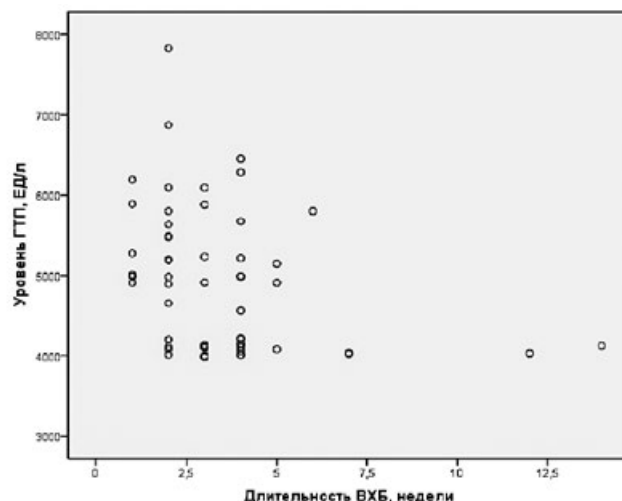


Рисунок 2. Зависимость уровня ГТП от длительности течения ВХБ.

у пациенток с естественными родами — $186,4 \pm 4,7$ Ед/мл ($p_1 = 0,012$; $p_2 = 0,006$; $p_3 = 0,039$). У пациенток, которым было произведено кесарево сечение уровень, ГТП составил $4517,7 \pm 157,4$ ЕД/л, у женщин с самопроизвольными родами — $5123,8 \pm 144,6$ ЕД/л ($p_1 = 0,012$; $p_2 = 0,003$; $p_3 = 0,013$). Величина показателя цинка у женщин, которым было произведено кесарево сечение, составила $779 \pm 14,3$ мкг/л, у женщин, имевших естественные роды, — $843,6 \pm 16,2$ ($p_1 = 0,013$; $p_2 = 0,011$; $p_3 = 0,039$).

Обсуждение

Недостаточная эффективность снижения кожного зуда у беременных с ВХБ на фоне лечения УДХК взаимосвязана с более низкими значениями СОД. Отсюда следует, что более тяжелые формы ВХБ, резистентные к лечению, способствуют развитию окислительного стресса. Раннее начало и длительное течение ВХБ обуславливают более длительную персистенцию неблагоприятного биохимического фона, что способствует истощению компенсаторно-приспособительных ресурсов и развитию окислительного стресса.

Известно, что длительное использование гормональных контрацептивов взаимосвязано с развитием окислительного стресса [19, 20, 21]. По-видимому, подобным образом, у пациенток с ВХБ применение препаратов половых гормонов во время беременности способствует формированию окислительного стресса. Использование программ ВРТ для наступления беременности, которые сопровождаются высокой гормональной нагрузкой как за счет продуцируемых в высоких концентрациях собственных половых гормонов при проведении гиперстимуляции суперовуляции, так и за счет половых гормонов, назначаемых для пролонгирования беременности высокого риска, также способствует снижению показателей антиоксидантной защиты.

Наличие многоплодной беременности у пациенток с ВХБ ассоциировано с развитием окислительного стресса. Возможно, в этом случае ведущую роль в декомпенсации защитных антиоксидантных систем

(помимо повреждающего воздействия высокого уровня желчных кислот) также играет большая концентрация половых гормонов, характерная для многоплодной беременности. Таким образом, учитывая эти данные, можно заключить, что в развитии окислительного стресса у пациенток с ВХБ значимую роль играют гормональные факторы.

Образование билиарного сладжа у пациенток с ВХБ также оказалось взаимосвязанным с расстройствами антиоксидантного статуса.

Недостаток ферментов антиоксидантной защиты и их кофакторов при осложненной беременности в отсутствие ВХБ и при его наличии дает основание предположить, что одной из причин развития осложнений беременности служит декомпенсированный окислительный стресс, представляющий собой универсальную реакцию в ответ на различные триггерные воздействия. Наличие фонового дефицита селена при различной патологии беременности и подтвержденного при внутрипеченочном холестазе беременных, вероятно, можно расценивать как самостоятельный фактор, повышающий риск развития осложнений беременности.

Таким образом, полученные данные дают основание полагать, что истощение защитных механизмов, препятствующих развитию окислительного стресса, является одним из звеньев патогенеза осложнений беременности у пациенток с ВХБ. Нарушения антиоксидантной защиты при ВХБ можно рассматривать также как предиктор развития осложнений беременности и показание для активного ведения пациенток. Возможность применения антиоксидантов у пациенток с ВХБ требует дальнейшего изучения.

Выводы

1. Гормональные факторы играют значимую роль в развитии окислительного стресса у пациенток с ВХБ, о чем свидетельствует снижение активности антиоксидантной защиты на фоне многоплодной беременности, частоты использования программ ВРТ для наступления зачатия и применения препаратов половых гормонов во время беременности.
2. Длительное течение ВХБ, низкая эффективность лечения кожного зуда и наличие билиарного сладжа у пациенток с ВХБ способствуют развитию декомпенсации антиоксидантных защитных механизмов.
3. Истощение факторов антиоксидантной защиты у пациенток с ВХБ взаимосвязано с развитием осложнений беременности (преждевременные роды, внутриутробная гипоксия плода, преэклампсия) и более частым проведением кесарева сечения.

Список литературы

1. Floreani A, Carderi I, Paternoster D, Soardo G, Azzaroli F, Esposito W, et al. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: three novel MDR3 gene mutations. *Aliment Pharmacol Ther*. Jun 12006; 23 (11): 1649–53.
2. Williamson C, Geenes V. Intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Obstet Gynecol*. 2014 Jul; 124 (1): 120–33.
3. Joshi D, James A, Quaglia A, Westbrook RH, Heneghan MA. Liver disease in pregnancy. *Lancet*. 2010 Feb 13. 375 (9714): 594–605.

4. Al Inizi S, Gupta R, Gale A: Fetal tachyarrhythmia with atrial flutter in obstetric cholestasis. *Int J Gynaecol Obstet* 2006; 93 (1): 53–4.
5. Shand AW, Dickinson JE, D'Orsogna L: Refractory fetal supraventricular tachycardia and obstetric cholestasis. *Fetal Diagn Ther* 2008; 24 (3): 277–81.
6. Sheikh Abdul Kadir SH, Miragoli M, Abu-Hayyeh S, et al. Bile acid-induced arrhythmia is mediated by muscarinic M2 receptors in neonatal rat cardiomyocytes. *PLoS One* 2010; 5: e9689.
7. Wang C, Chen X, Zhou SF, Li X. Impaired fetal adrenal function in intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Med Sci Monit*. 2011; 17 (5): CR265–71.
8. Shi Y. Expression of pulmonary surfactant protein A mRNA in lungs of fetal rats with maternal intrahepatic cholestasis. *Chinese journal of perinatal medicine*. 2011; 14 (5).
9. Yu L, Ding YL, Wang CX. Relationship between total bile acid concentration and fetal pulmonary surfactant in intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 2011; 46 (5): 324–8.
10. Duhig K, Chappell LC, Shennan AH. Oxidative stress in pregnancy and reproduction. *Obstet Med*. 2016 Sep; 9 (3): 113–6.
11. Dobrzynski W, Trafikowska U, Trafikowska A, Pilecki A, Szymanski W, Zachara BA. Decreased selenium concentration in maternal and cord blood in preterm compared with term delivery. *Analyst* 1998; 123: 93–7.
12. Tara F, Rayman MP, Boskabadi H, et al. Selenium supplementation and premature (prelabour) rupture of membranes: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *J Obstet Gynaecol* 2010; 30: 30–4.
13. Kilinc M, Guven MA, Ezer M, Ertas IE, Coskun A. Evaluation of serum selenium levels in Turkish women with gestational diabetes mellitus, glucose intolerant, and normal controls. *Biol Trace Elem Res* 2008; 123: 35–40.
14. Barrington JW, Lindsay P, James D, Smith S, Roberts A. Selenium deficiency and miscarriage: a possible link? *Br J Obstet Gynaecol* 1996; 103: 130–2.
15. Kocak I, Aksoy E, Ustun C. Recurrent spontaneous abortion and selenium deficiency. *Int J Gynaecol Obstet* 1999; 65: 79–80.
16. Kauppi A, Korpela H, Makila UM, Yrjanheikki E. Low serum selenium concentration and glutathione peroxidase activity in intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1987; 294: 150–2.
17. Reyes H, Baez ME, Gonzalez MC, et al. Selenium, zinc and copper plasma levels in intrahepatic cholestasis of pregnancy, in normal pregnancies and in healthy individuals, in Chile. *J Hepatol* 2000; 32: 542–9.
18. Rayman MP. The importance of selenium to human health. *Lancet* 2000; 356: 233–41.
19. Andozia MB, Vieira CS, Franceschini SA, Torqueti Tolloni MR, Silva de Sa MF, Ferriani RA. Ethinylestradiol and estradiol have different effects on oxidative stress and nitric oxide synthesis in human endothelial cell cultures. *Fertil Steril*. 2010; 94: 1578–82.
20. Pincemail J, Vanbelle S, Gaspard U, Collette G, Haleng J, Chermamy-Bien JP, et al. Effect of different contraceptive methods on the oxidative stress status in women aged 40–48 years from the ELAN study in the province of Liege, Belgium. *Hum Reprod*. 2007; 22: 2335–43.
21. Chen JT, Kotani K. Different Effects of Oral Contraceptive and Dydrogesterone Treatment on Oxidative Stress Levels in Premenopausal Women. *J Clin Med Res*. 2018 Feb; 10 (2): 146–153.

