
МАРКЕРЫ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ ПРИ НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ

О.Г. Тишкова, Л.В. Дикарёва

Кафедра акушерства и гинекологии
Педиатрический факультет
Астраханская государственная медицинская академия
ул. Бакинская, 126, Астрахань, Россия, 414056

Д.Л. Теплый

Кафедра физиологии и морфологии человека и животных
Астраханский государственный университет
ул. Куликова, 13, Астрахань, Россия, 414056

Перспективный анализ 60 случаев с неразвивающейся и нормально протекающей беременностью; клинический, биохимический, трансвагинальной эхографии, статистический, патогистологический.

Ключевые слова: неразвивающаяся беременность, оксидативный стресс, окислительная модификация белков, карбонильные группы белков.

Частота невынашивания в популяции составляет 20% от общего числа беременностей [1, 3, 9]. Неразвивающаяся беременность (НБ) представляет собой один из патогенетических вариантов невынашивания беременности и характеризуется гибелью эмбриона/плода, но не всегда сопровождается его самопроизвольным изгнанием из полости матки (критерии ВОЗ).

Актуальность проблемы заключается не только в увеличении частоты НБ среди случаев самопроизвольных выкидышей на ранних сроках до 24,5—28,6% [4, 5], но и в том, что с каждой прервавшейся беременностью риск потери последующей желанной беременности возрастает в два раза, составляя 36—38% [6, 9].

Сегодня не вызывает сомнения полиэтиологичность развития неразвивающейся беременности НБ [6, 9]. Еще несколько лет назад ведущими механизмами развития НБ были заболевания эндокринной системы и гемостазиологические нарушения в организме матери, в настоящее время преобладают иммунные нарушения и инфекции, передаваемые половым путем. Даже при отсутствии прямого воздействия инфекционных агентов на плод персистенция их в эндометрии с развитием хронического эндометрита (ХЭ), а также сопутствующие эндокринопатии и аутоиммунные сдвиги ведут к нарушению процессов имплантации, инвазии и развития хориона и, в конечном итоге, к гибели эмбриона [7].

На фоне ХЭ происходят изменения и в системе локального гомеостаза. Это выражается в увеличении лейкоцитарной инфильтрации эндометрия, в резком возрастании титров иммуноглобулинов, а длительная персистенция инфекции приводит к изменениям антигенной структуры клеток вплоть до разрушения их плазматических мембран.

При физиологическом внутриклеточном метаболизме все клетки организма, как известно, продуцируют активные формы кислорода (АФК), содержание кото-

рых постоянно и сбалансировано за счет системы антиоксидантной защиты (АОЗ). Нарушение или разрушение мембран клеток в результате хронической инфекционной интоксикации ведет к дисбалансу системы «про- и антиоксидантов» и избыточной продукции АФК, и как следствие, к развитию оксидативного стресса (ОС) [8]. В результате изучения роли процессов ОС в развитии патологических состояний сформировалась перекисная гипотеза гибели клеток.

Все формы АФК при превышении их физиологического уровня проявляют высокую цитотоксичность в отношении всех типов клеток. На сегодняшний день выделяют четыре наиболее вероятных мишени окислительной цитотоксической атаки АФК: повреждение мембраносвязанных белков, индукция процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в мембранах, инактивация цитозольных ферментов и повреждение митохондриальной, ядерной ДНК.

Действие АФК на любой из перечисленных видов макромолекул может стать критическим для жизнедеятельности клетки [1].

Процесс окисления белков постоянно протекает в тканях организма, и окислительная модификация белков (ОМБ) играет важную роль в обороте белков в организме. Первые работы по изучению ОМБ и их роли в процессе жизнедеятельности организма появились в 80-х годах, однако основные положения о механизмах ОМБ были заложены еще в работах W.M. Garrison и соавт. в 1962 году. Позднее K.B. Vekman и V.N. Ames (1998) показали, что накопление модифицированных белков закономерно протекает в ответ на ОС. В связи с разнообразным химическим строением, особенностями структурной организации белков процесс окислительной модификации носит сложный и специфический характер [1, 2]. Окислительное повреждение белков может быть связано как с первичным нарушением скелета полипептидной цепочки, так и отдельных аминокислотных остатков [4]. ОМБ с повышенным содержанием КГ — один из ранних и наиболее надежных индикаторов поражений тканей при свободно-радикальной патологии, так как белки могут улавливать от 50% до 75% свободно-радикальных соединений и являются высокоселективными маркерами окислительного повреждения в тканях [1].

Показано, что при ряде патологических состояний именно протеины, а не липиды и нуклеиновые кислоты становятся эффективными ловушками генерируемых АФК, и их окислительная модификация рассматривается как один из ранних и надежных маркеров ОС [1]. Также доказано, что деградированные белки могут находиться в клетках часами и даже днями, а продукты ПОЛ подвергаются детоксикации уже через несколько минут [9].

К сожалению, об уровне ОС и о состоянии антиоксидантной системы (АОС) в клинике можно судить только по показателям периферической крови, что не всегда отражает характер изменений на локальном уровне, особенно на начальных стадиях заболевания [1]. В литературе встречаются многочисленные сообщения об исследовании продуктов ОМБ в периферической крови, но отсутствует информация, касающаяся изучения уровня указанного маркера в АЖ или менструальных выделениях (МВ) в последующем при НБ.

В связи с этим цель исследования: определить содержание ОМБ (КГ) в биологических жидкостях (сыворотке крови, аспирационной жидкости) у пациенток с неразвивающейся и нормально протекающей беременностью.

Материалы и методы исследования. Проведено проспективное когортное исследование 60 женщин. Все исследуемые дали добровольное информированное согласие на участие в обследовании.

Основная группа представлена 30 пациентками с НБ, контрольная — 30 женщин с нормально развивающейся беременностью без признаков угрозы прерывания, обратившихся в различные клиники для выполнения искусственного аборта. Обе группы были сопоставимы по возрасту. Возраст исследуемых колебался от 17 до 45 лет, составив в среднем $25 \pm 2,05$ года.

В обеих группах проводилось комплексное обследование: общий, гинекологический осмотр и традиционное клиничко-лабораторное обследование, ультразвуковое исследование, гистологический анализ материала из полости матки.

Одновременно проводился сравнительный анализ содержания КГ в сыворотке крови и аспирационной жидкости из полости матки.

Выбор АЖ (а в дальнейшем МВ) в качестве исследуемого биологического материала обусловлен тем, что при ранее проведенных исследованиях Е. Г Шварёва и соавт., (1993), В.М. Сидельниковой и соавт., (2006) доказана высокая информативность биологического материала, полученного непосредственно из пораженного органа. Кроме того, учитывалось также и биологическое своеобразие эндометрия, который испытывает на себе влияние не только нейроэндокринно-иммунной системы, но и продуктов свободнорадикального окисления (СРО).

Определение КГ проводилось по методике С.Н. Oliver et al. (1987), модифицированной Е.Е. Дубининой (1993). Статистическая обработка результатов осуществлялась с использованием программ Excel, Access (Microsoft Office 2007) и Statistica 6 (StatSoft). Для определения значимости различий сопоставляемых величин использовали параметрические критерии Стьюдента и Фишера. За уровень статистической достоверности было принято ($p < 0,001$).

Результаты исследования. В результате проведенного анализа выявлено, что в 2,1% случаев в исследуемой группе НБ отмечена повторно. При этом срок «заморозки» беременности от 6 до 9 недель диагностирован в 73,8%, а у 26,4% пациенток этот процесс зарегистрирован на сроках от 9 до 12 недель.

НБ по типу гибели эмбриона наблюдалась у 75% женщин, а по типу анэмбрионии — в 25% случаев ($p < 0,001$).

При оценке клинических данных наиболее часто пациентки (64%) предъявляли жалобы на мажущие кровянистые выделения из половых путей, тянущие боли внизу живота. В 36% случаев течение НБ было бессимптомное, и диагноз выставлялся только по результатам ультразвукового исследования.

При анализе акушерско-гинекологического анамнеза пациенток с НБ и контрольной группы установлено, что средний возраст менархе составил $12,5 \pm 1,3$ лет ($p > 0,001$). Возраст начала половой жизни $17 \pm 1,79$ лет в обеих группах.

У 9 пациенток (30%) основной группы данная беременность была первой и предстояли первые роды, у троих женщин (10%) с НБ в анамнезе имели место самопроизвольные прерывания беременности на ранних сроках.

Необходимо отметить, что искусственное прерывание беременности чаще регистрировалось у женщин контрольной группы, в том числе два аборта и более.

У 2 пациенток (6%) основной группы ранее имело место первичное бесплодие, которое на фоне проводимого лечения завершилось наступлением беременности.

Особенностью последних лет является все более широкое распространение у женщин репродуктивного возраста экстрагенитальных заболеваний и особенно увеличение удельного веса сочетанной сопутствующей соматической патологии. Так, в группе женщин с НБ у 20% в анамнезе отмечался хронический тонзиллит, у 5% — хронический гастрит, в 10% случаев — диффузно-узловая струма, 6% женщин страдают хроническим пиелонефритом, анемия отмечалась у 15% пациенток.

У пациенток с НБ чаще, по сравнению с контрольной группой, выявлялись ХЭ ($p < 0,05$), хронические воспалительные заболевания придатков ($p < 0,001$). Кроме того, отмечено, что частота вирусной инфекции (цитомегаловирусной инфекции и вируса простого герпеса I типа) в группе пациенток с НБ превышала аналогичный показатель в контрольной группе в 3,5 раза ($p < 0,001$). Также частота микст-инфекции и инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), в группе женщин с НБ превышала частоту данного показателя в контрольной группе ($p < 0,001$).

Результаты гистологических исследований основной группы показали, что у 26 женщин (86% случаев) в препаратах ворсины хориона с выраженной лимфолейкоцитарной инфильтрацией и склерозированными ворсинами хориона.

При проведении сравнительного анализа содержания КГ в исследуемых БЖ обращал на себя внимание факт значительной варибельности исследуемых показателей в периферической крови обеих групп (табл. 1). Необходимо отметить, что широкая варибельность показателей отмечается и при их оценке внутри одной нозологической группы, что вероятно, связано с влиянием на их уровень имеющейся сопутствующей генитальной и экстрагенитальной патологии (ЭГП).

Таблица 1

Сравнительный анализ содержания КГ в исследуемых БЖ

Исследуемая группа	КГ (нмоль\мг)	
	АЖ из полости матки ($M \pm m$)	периферическая кровь, ($M \pm m$)
Контрольная группа ($n = 30$)	$13,7 \pm 0,38^{***}$	$37,0 \pm 0,46^{***}$
Неразвивающаяся беременность ($n = 30$)	$32,0 \pm 1,24^{***}$	$55,34 \pm 0,23^{***}$

Примечание: $*** p < 0,001$.

Исследование КГ в АЖ из полости матки продемонстрировало, что концентрация этих маркеров при НБ в 2,5 раза превышает показатель таковых в контрольной группе.

Обсуждение полученных результатов. Выявленные нами исходно высокие концентрации КГ в периферической крови, характерные для развития ОС [4], свидетельствуют о возможном активном высвобождении протеина за счет гравидар-

ных белков беременности, циркулирующих в периферической крови, с одной стороны, либо влиянием имеющейся ЭГП.

Данные, полученные на локальном уровне, а именно при исследовании АЖ, позволяют в большей мере говорить о влиянии интенсификации СРО на исход беременности. Известно, что каждая ткань обладает определенной буферной емкостью антиоксидантной и прооксидантной систем. Некоторые ткани в силу особенностей своей функциональной и метаболической активности обладают высокой чувствительностью к процессам ОС, что связано с низкой буферной емкостью АОС, соответственно, и высокой лабильностью системы про- и антиоксидантов. Результаты, полученные при исследовании, свидетельствуют о низкой буферной емкости АОС эндометрия, о повреждающем воздействии продуктов интенсификации ОС, в том числе и КГ на рецепторный аппарат матки и систему ее регуляции, следствием чего и является формирование такого осложнения как НБ.

Заключение

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что оценка ОМБ-КГ в АЖ позволяет судить о степени их повреждающего воздействия на клетки эндометрия при НБ.

Белковый гомеостаз является фундаментом, на котором базируются все другие системы гомеостаза, повышение устойчивости белковых молекул (путем изменения их структурно-функциональных параметров) открывает возможность для терапии различных патологических состояний.

Интенсивность и направленность процессов ОМБ является одним из чувствительных индикаторов (маркеров) метаболических перестроек и состояния клеток эндометрия при формировании НБ.

Идентификация ОМБ ОС в различных БЖ позволяет применять полученные результаты в качестве объективного маркера для решения важных клинико-диагностических задач, а именно, комплексной антиоксидантной коррекции на этапе прегравидарной подготовки и профилактики НБ у пациенток групп риска.

Комплексная терапия должна проводиться на системном и локальном уровнях, улучшая метаболические процессы в органе-мишени — матке.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] *Dikareva L.M.* Uterine hyperplasia: clinical-diagnostic value cookies biological fluids // Dissertation of the PhD. MD. — Volgograd, 2009. — P. 40.
- [2] *Gumenyuk E.G., Kormakova T.L., Ukvalberg M.E., T.L. Karpechenko A.V., Sirenko E.V., Povalchuk N.M.* The role of infection in the etiology of placenta // Bulletin of Peoples' Friendship University of Russia. Series "Medicine. Obstetrics and Gynecology". — 2012. — № 5. — P. 212—217.
- [3] *Obstetrics: national leadership. Quick Start Guide / ed. A.C. Ajlamazian, V.N. Serov, V.E. Radzinsky, G.M. Savelyeva.* — M.: GEOTAR-media, 2012.
- [4] *Radzinski V.E.* Obstetric aggression / ed.: Mediaburo Status of prezens, 2011.
- [5] *Reproductive health: Stud. posob. / Ed. V.E. Radzinsky.* — M.: RUDN, 2011.
- [6] *Selikhova M.S., Burova N.A., Shatilova N.V., Dmitrienko G.V., Kuznetsova O.A.* Stopped pregnancy in evolution and innate immunity // Bulletin of Peoples' Friendship University of Russia. Series "Medicine. Obstetrics and Gynecology". — 2012. — № 5. — P. 237—241.

- [7] *Stepanyan L.W., Sinchihin S.P.* A new combination of drugs to treat placenta // Bulletin of Peoples' Friendship University of Russia. Series "Medicine. Obstetrics and Gynecology". — 2012. — № 5. — P. 142—148.
- [8] *Tepliy D.L.* Neurophysiological effects of vitamin E. — Astrakhan: Publishing House "Astrakhan University". — 2010.
- [9] *Vanko L.V., Safronova V.G., Matveeva N.K., Sukhikh G.T.* Oxidative stress in the genesis of obstetric complications. — M.: GEOTAR-Media, 2010. — P. 264.

MARKERS OF OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS IN THE NON-DEVELOPING PREGNANCY

O.G. Tishkova, L.V. Dikareva

Department of obstetrics and gynecology of Obstetrics and Gynecology
of the Pediatric Faculty
Astrakhan State Medical Academy
Bertyulskaya str., Astrakhan, Russia, 414056

D.L. Tepliy

Department of Physiology and Morphology of Human and Animals
Astrakhan State University
Kulikova str., Astrakhan, Russia, 414056

Prospective analysis of 60 cases with non-developing and normal pregnancy, clinical, biochemical, transvaginal sonography, statistical, histopathological.

Key words: non-developing pregnancy, oxidative stress, oxidative modification of proteins, carbonyl groups of proteins.