
МЕДИЦИНА

УДК: 618.5+618.39+618.346+57.052

**СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ МЕТАБОЛОМНЫХ НАРУШЕНИЙ
В ОКОЛОПЛОДНЫХ ВОДАХ ПРИ РАННИХ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДАХ****© 2015 г. Н.А. Друккер, В.А. Линде, З.В. Зенкина, М.Г. Некрасова,
Е.О. Шкотова, В.А. Кулакова, Ю.В. Ганиковская**

Друккер Нина Александровна – доктор биологических наук, главный научный сотрудник, отдел медико-биологических проблем в акушерстве, гинекологии и педиатрии, Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии, ул. Мечникова, 43, Ростов н/Д, 344012, e-mail: biochem@rniiap.ru

Drukker Nina Aleksandrovna – Doctor of Biological Science, Main Researcher, Department of Medico-Biological Problems in Obstetrics, Gynecology and Pediatrics, Rostov Scientific Research Institute of Obstetrics and Pediatrics, Mechnikov St., 43, Rostov-on-Don, 344012, Russia, e-mail: biochem@rniiap.ru

Линде Виктор Анатольевич – доктор медицинских наук, профессор, директор, Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии, ул. Мечникова, 43, Ростов н/Д, 344012, e-mail: biochem@rniiap.ru

Linde Viktor Anatol'evich – Doctor of Medical Science, Professor, Director of the Rostov Scientific Research Institute of Obstetrics and Pediatrics, Mechnikov St., 43, Rostov-on-Don, 344012, Russia, e-mail: biochem@rniiap.ru

Зенкина Зоя Вячеславовна – младший научный сотрудник, врач акушер-гинеколог родового отделения, Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии, ул. Мечникова, 43, Ростов н/Д, 344012, e-mail: zienkinaz@mail.ru

Zenkina Zoya Vyacheslavovna – Junior Researcher, Obstetrician Gynecologist, Rostov Scientific Research Institute of Obstetrics and Pediatrics, Mechnikov St., 43, Rostov-on-Don, 344012, Russia, e-mail: zienkinaz@mail.ru

Некрасова Марина Геннадиевна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник, врач акушер-гинеколог родового отделения, Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии, ул. Мечникова, 43, Ростов н/Д, 344012, e-mail: mn_list@list.ru

Nekrasova Marina Gennadievna – Candidate of Medical Science, Researcher, Obstetrician Gynecologist, Rostov Scientific Research Institute of Obstetrics and Pediatrics, Mechnikov St., 43, Rostov-on-Don, 344012, Russia, e-mail: mn_list@list.ru

Шкотова Екатерина Олеговна – младший научный сотрудник, врач акушер-гинеколог родового отделения, Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии, ул. Мечникова, 43, Ростов н/Д, 344012, e-mail: vyatamynka@mail.ru

Shkotova Ekaterina Olegovna – Junior Researcher, Obstetrician Gynecologist, Rostov Scientific Research Institute of Obstetrics and Pediatrics, Mechnikov St., 43, Rostov-on-Don, 344012, Russia, e-mail: vyatamynka@mail.ru

Кулакова Валерия Андреевна – младший научный сотрудник, Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии, ул. Мечникова, 43, Ростов н/Д, 344012, e-mail: firenze-06@mail.ru

Kulakova Valeriya Andreevna – Junior Researcher, Rostov Scientific Research Institute of Obstetrics and Pediatrics, Mechnikov St., 43, Rostov-on-Don, 344012, Russia, e-mail: firenze-06@mail.ru

Ганиковская Юлия Викторовна – научный сотрудник, Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии, ул. Мечникова, 43, Ростов н/Д, 344012, e-mail: yganikov@mail.ru

Ganikovskaya Yuliya Viktorovna – Researcher, Rostov Scientific Research Institute of Obstetrics and Pediatrics, Mechnikov St., 43, Rostov-on-Don, 344012, Russia, e-mail: yganikov@mail.ru

Изучен в околоплодных водах комплекс взаимосвязанных биорегуляторов сократительной деятельности матки. Определены аннексин, кахектин, ДНК-связывающая активность субъединицы p65 NF- κ B и фосфолипазы A₂. Выявлено повышение содержания аннексина, кахектина и активности ФЛА₂ при со-

хранении ДНК-связывающей активности p65 NF- κ B на уровне нормы. Такой характер изменений свидетельствует о ведущей роли модификации кахектина в нарушении регуляторных реакций сократительной активности миометрия.

Ключевые слова: преждевременные роды, околоплодные воды, аннексин, кахектин, p65 NF- κ B, активность ФЛА₂.

We studied in the amniotic fluid the complex of interrelated regulation of contractile uterine activity. We identified the annexin, cachectin, DNA-binding activity P65 subunit of NF- κ B and phospholipase A₂. Identified increased levels of annexin, cachectin and PLA₂ activity while maintaining DNA-binding activity p65 NF- κ B at the physiological level. That confirms the leading role of modifications cachectin in violation of regulatory reactions of contractile activity of myometrium.

Keywords: preterm birth, amniotic fluid, annexin, cachectin, R65 NF- κ B, activity A₂.

Значительная роль в отсутствии тенденции к снижению количества преждевременных родов принадлежит широкому внедрению вспомогательных репродуктивных технологий (ЭКО, ICSI, стимуляция овуляции), в связи с чем выросло количество многоплодных беременностей, являющихся фактором риска преждевременного её прерывания [1]. При этом экстрагенитальная патология у женщин и наличие рубца на матке также служат факторами развития преждевременных родов. Наряду с медицинской проблемой преждевременные роды ассоциируются с социальной проблемой, так как перинатальная заболеваемость и смертность у недоношенных новорождённых в 40 раз выше, чем у доношенных. В то же время имеются данные о повышенной заболеваемости и смертности у недоношенных детей при многоплодии, которые в 4–11 раз выше, чем при преждевременных родах одним плодом [2]. В научной литературе имеются указания на необходимость уделить особое внимание современным методам диагностики преждевременного прерывания беременности. Следует подчеркнуть, что все клинические методы, которые обладают высокой чувствительностью (клинические симптомы, укорочение шейки матки по данным УЗИ), считают поздними признаками преждевременных родов, когда терапия данного осложнения беременности может быть неэффективной. Полученные в последнее время сведения о происхождении околоплодных вод, скорости циркуляции и процессах их резорбции, а также новые данные о патогенезе мало- и многоводия способствовали появлению значительного интереса к их изучению [3]. При этом в связи с достижениями молекулярной биологии систематизированы исследования о динамике информационных регуляторных биологически активных макромолекул амниотической жидкости и влияние на них системы «малых молекул». В то же время весьма мало сведений о роли околоплодных вод как биологического посредника передачи информации от плода к материнскому

организму [3, 4]. Поэтому особую актуальность приобретают вопросы современного биохимического анализа околоплодных вод при различных акушерских патологиях, в том числе и преждевременных родах, с целью выяснения механизма развития данной патологии и возможности проведения научно обоснованных терапевтических мероприятий и реальной профилактики данного осложнения беременности.

Для своевременного прогнозирования преждевременных родов необходимы выявление возможных метаболических изменений, участвующих в регуляции сократительной деятельности матки, и разработка маркёров этой патологии с целью её предупреждения. В настоящее время не вызывает сомнений, что преждевременные роды – результат не одной, а многих причин, приводящих к несвоевременному усилению маточной активности. Последняя регулируется суммированным действием многих биоактивных компонентов, причём снижение продукции любого из её ингибиторов или повышение стимуляторов может обусловить преждевременную контрактильную активность миометрия и привести к прерыванию беременности. Поскольку в инициации родов ведущую роль играют простагландины, изучение метаболических изменений, влияющих на интенсивность их синтеза в компонентах фетоплацентарного комплекса, в том числе околоплодных водах, с позиций достижений молекулярной биологии имеет важное значение для понимания процессов развязывания родовой деятельности в разные сроки гестации [5, 6].

Целью исследования явилось изучение комплекса функционально взаимосвязанных биорегуляторов сократительной деятельности матки.

Материалы и методы

Под наблюдением находилось 66 беременных женщин, первую группу составили 29 женщин с ранними преждевременными родами (28–32 неде-

ли), возраст которых варьировал в пределах 20–29 лет (40 %). Остальные 37 женщин в возрасте 30–39 лет вошли в контрольную группу. Течение беременности у женщин I группы в 100 % случаев характеризовалось значительным количеством осложнений (угроза прерывания, ЗРП, преэклампсия). Наряду с этим среди беременных I группы у 93,1 % имело место инфицирование хламидиями, трихомонадами, а также выявлена условно-патогенная микрофлора: уреоплазма, микоплазма. Среди данных пациенток первобеременные составили 37,9 %, в то время как в контрольной группе первобеременных было 72,9 %. Возраст последних аналогичен возрасту женщин с ранними преждевременными родами. В то же время гестация и роды у пациенток контрольной группы протекали без осложнений. Среди экстрагенитальных заболеваний, выявленных у пациенток с преждевременными родами, у 72,4 % имела место эндокринная патология: заболевания щитовидной железы, сахарный диабет, гипофункция яичников, синдром гиперандрогении, врожденная дисфункция коры надпочечников.

Материалом для исследования служили околоплодные воды, полученные в первом периоде родов при их отхождении. Определение аннексина, кахектина проводили иммуноферментным методом, наборами фирмы Europe/Inc (Австрия). ДНК-связывающую активность субъединицы p65 транскрипционного фактора NF-kB и фосфолипазы A₂ (ФЛА₂) оценивали с помощью иммуноферментных наборов фирмы Cayman Chemical (США).

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью лицензионного пакета программ Statistica (фирмы Satsoft. Inc., версия 5.1). Для оценки статистической значимости различий между сравниваемыми величинами в группах использовали критерий Стьюдента (t-критерий). Отклонения между рядами считали достоверными при вероятности различий, превышающих 95 % ($p < 0,05$).

Результаты исследования показали, что в околоплодных водах женщин с ранними преждевременными родами выявлены изменения в содержании биорегуляторов сократительной деятельности матки (таблица).

Так, уровень аннексина был в 2,1 раза выше контрольных данных ($p < 0,00049$), а уровень кахектина также превышал физиологические показатели в 1,5 раза ($p < 0,000001$), в то время как ДНК-связывающая активность субъединицы p65 транскрипционного фактора NF-kB соответствовала контрольным данным. На фоне представленных полученных показателей околоплодных вод, так же как и аннексин, наиболее значимые изменения обнаружены в активности ФЛА₂, её величина превы-

шала физиологические данные более чем в 2 раза ($p=0,00022$). Метаболическая взаимосвязь описанных клеточных биорегуляторов такова: ядерный фактор NF-kB активируется кахектином, при этом аннексин контролирует активность ФЛА₂ (в данном случае ингибирует её). У пациенток с ранними преждевременными родами соответствие норме активности p65 ядерного фактора, надо полагать, – результат действия высокого уровня кахектина (провоспалительного цитокина) [7]. Это является результатом присоединения к нему белка IкВ, нейтрализующего его активность и только при фосфорилировании IкВ, обеспечивается функция p65 NF-kB. Известным ингибитором продукции кахектина в околоплодных водах является бикунин, осуществляющий эту функцию через блокирование CD-14/TLR4/MD₂. Однако при ранних преждевременных родах этот белок в амниотической жидкости не обнаружен [3]. Последнее свидетельствует об отсутствии фактора, ограничивающего синтез кахектина, мощного провоспалительного полипептида. В этом случае наблюдается димеризация данного ядерного фактора на субъединицы p50 и p65. Последнее приводит к активации других генов, вызывающих, по-видимому, синтез иных белков и полипептидов, не свойственных данному сроку беременности. Выше указывалось, что имело место высокое содержание в околоплодных водах аннексина, функция которого заключается в ингибировании ФЛА₂. Но у данных женщин активность этого фермента в околоплодных водах была также повышена более чем в 2 раза ($p = 0,00022$). Можно полагать, что в такой метаболической ситуации при преждевременных родах имеются другие факторы, определяющие повышение активности ФЛА₂, что приводит к дисбалансу в регуляторных реакциях сократительной деятельности матки.

Содержание биорегуляторов в околоплодных водах у беременных с ранними преждевременными родами

| Показатель, о.е/мг белка | Ранние преждевременные роды | Физиологические роды | p |
|------------------------------------|-----------------------------|----------------------|------------|
| Кахектин, пг/мл | 87,9±1,8* | 60,7±1,7 | p=0,000001 |
| Аннексин, пг/мл | 0,517±0,072* | 0,245±0,065 | p=0,00049 |
| Фосфолипаза A ₂ , пг/мл | 7973±526* | 3867±373 | p=0,00022 |
| p65 ядерного фактора NF-kB | 52,5±8,3 | 58,0±6,5 | p=0,99156 |

* – достоверные различия относительно контрольных данных.

Особого внимания заслуживает соотношение регуляторных полипептидов кахектина и аннексина при физиологических и ранних преждевременных родах, равное в первом случае 248, а во втором – 170. Последнее свидетельствует о том, что при физиологической беременности продукция кахектина почти в 250 раз выше относительно аннексина. Поскольку кахектин является активатором ядерного фактора NF- κ B, то становится очевидным, что хотя и сохраняется при ранних преждевременных родах активация ядерного фактора NF- κ B на физиологическом уровне, который в свою очередь обеспечивает также синтез ФЛА₂, но в то же время выявленное повышение содержания аннексина в околоплодных водах свидетельствует о нарушении его продукции. Этот процесс контролируется глюкокортикоидами, реализующими своё действие через аннексин [8], что подтверждает роль воспалительного процесса в модификации изученных регуляторных компонентов, лежащих в основе преждевременной сократительной активности миометрия. Наряду с этим увеличенный уровень аннексина усиливает ингибирующее действие на активность ФЛА₂. Можно полагать, что в этих условиях, хотя и имеет место повышение содержания в околоплодных водах аннексина, оно оказывается недостаточным для поддержания физиологической активности фосфолипазы А₂. Такое значительное увеличение активности ФЛА₂, несомненно, способствует активированию каскада арахидоновой кислоты, приводящей к синтезу простагландинов, а следовательно, и усилению сократительной деятельности матки, завершающейся преждевременными родами. Несомненный интерес представляют выявленные особенности метаболических взаимоотношений изучаемых компонентов. Известно, что активация синтеза аннексина контролируется гормонами надпочечников. В данном случае у женщин с ранними преждевременными родами имели место заболевания, свидетельствующие о гипофункции надпочечников. Последнее имеет большое значение для понимания молекулярных механизмов увеличения содержания аннексина в околоплодных водах без участия гормонов надпочечников, которые, действуя на аннексин, снижают доступность фосфолипидных субстратов для фосфолипазы А₂ и подавляют синтез простагландинов [9]. Проведённые исследования позволяют считать, что в повышении уровня данного полипептида в околоплодных водах при ранних преждевременных родах, очевидно, участвуют свободные радикалы, являющиеся неизменными спутниками в условиях патологии, в том числе и при бактериальных инфекциях [10]. Как

указывалось выше, у наблюдаемых женщин выявлены различные виды инфекций, что позволяет считать их источником образования свободных радикалов. Интенсификация свободнорадикальных процессов модифицирует активность ферментов, ускоряющих синтез простагландинов [10].

Резюмируя полученные данные, можно заключить, что модификация содержания молекулярных клеточных биорегуляторов сократительной активности матки в околоплодных водах находит отражение в нарушении их взаимодействия, являющемся одним из начальных метаболомных повреждений, и может служить специфическим механизмом преждевременных родов.

Выявленные изменения в содержании биорегуляторов сократительной активности миометрия в околоплодных водах при ранних преждевременных родах позволяют акцентировать внимание на том, что ведущим компонентом, нарушающим регуляторные реакции в изученном комплексе, является модификация кахектина (провоспалительного цитокина). Таким образом, повышение содержания кахектина и активности фосфолипазы А₂ в околоплодных водах при беременности, осложнённой ранними преждевременными родами, является специфическим критерием развития этого осложнения и может быть использовано для их диагностики. Из полученных данных можно сделать вывод, что нарушение соотношений клеточных биорегуляторов в околоплодных водах, которое находит отражение в сократительной активности миометрия, является одним из начальных повреждений, приводящих к дальнейшим метаболомным и функциональным нарушениям, обуславливающим ранние преждевременные роды.

Литература

1. Савельева Г.М., Шалина Р.И., Курцер М.А. Преждевременные роды как важнейшая проблема современного акушерства // Акушерство и гинекология. 2012. № 8–2. С. 4–10.
2. Сидельникова В.М., Сухих Г.Т. Невынашивание беременности. М., 2010. 534 с.
3. Погорелова Т.Н., Гунько В.О., Друккер Н.А. Динамика протеомного профиля околоплодных вод при физиологической и осложнённой беременности // Вопр. биол., мед., фарм. и химии. 2010. № 11. С. 42–47.
4. Погорелова Т.Н. Свободные аминокислоты околоплодных вод в прогнозировании церебральных поражений у новорождённых // Актуальные проблемы педиатрии : материалы XV конгресса педиатров России с междунар. участием. М., 2011. С. 668 – 668.
5. Козлов П.В. Этиология и патогенез преждевременного разрыва плодных оболочек при недоношен-

ной беременности // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2007. № 6 (2). С. 64 – 72.

6. Никашина А.А., Крукиер И.И., Кудаев А.Е. Активность свободнорадикальных процессов в сыворотке крови женщин с беременностью высокого риска // Мед. вестн. Юга России. 2013. № 4. С. 115–118.

7. Орлов В.И., Погорелова Т.Н., Крукиер И.И. Околоплодные воды. Химический состав и биологические функции. Ростов н/Д., 2009. 223 с.

8. Дедов И.И. Инновационные технологии в лечении и профилактике сахарного диабета и его осложнения // Сахарный диабет. 2013. № 3. С. 2 – 10.

9. Радзинский В.Е. Акушерская агрессия. М., 2011. 688 с.

10. Dundar O., Yoruk P., Tutuncu I. Second trimester amniotic fluid annexin A5 levels and subsequent development growth restriction // J. Prenat. Diagn. 2008. Vol. 28, № 10. P. 887 – 891.

References

1. Savel'eva G.M., Shalina R.I., Kurtser M.A. Prezhdevremennyye rody kak vazhneishaya problema sovremennogo akusherstva [Premature birth as the most important problem of modern obstetrics]. *Akusherstvo i ginekologiya*, 2012, no 8-2, pp. 4-10.

2. Sidel'nikova V.M, Sukhikh G.T. *Nevynashivanie beremennosti* [Miscarriage]. Moscow, 2010, 534 p.

3. Pogorelova T.N., Gun'ko V.O., Drukker N.A. Dinamika proteomnogo profilya okoloplodnykh vod pri fiziologicheskoi i oslozhnennoi beremennosti [Dynamics of proteomic profile of amniotic fluid at physiological and complicated pregnancy]. *Voprosy biologicheskoi, med-*

itsinskoi i farmatsevticheskoi khimii, 2010, no 11, pp. 42-47.

4. Pogorelova T.N. [Free amino acids of amniotic fluid in predicting cerebral lesions in newborns]. *Aktual'nye problemy pediatrii* [Actual problems of pediatrics]. Articles 15 Congress of Pediatricians of Russia with international participation. Moscow, 2011, pp. 668-686.

5. Kozlov P.V. Etiologiya i patogeneza prezhdevremennogo razryva plodnykh obolochek pri nedonoshennoi beremennosti [The etiology and pathogenesis of premature rupture of membranes in preterm pregnancy]. *Voprosy ginekologii, akusherstva i perinatologii*, 2007, vol. 6 (2), pp. 64-72.

6. Nikashina A.A., Krukier I.I., Kudaev A.E. Aktivnost' svobodnoradikal'nykh protsessov v syvorotke krovi zhenshchin s beremennost'yu vysokogo riska. *Meditsinskii vestnik Yuga Rossii*, 2013, no 4, pp. 115-118.

7. Orlov V.I., Pogorelova T.N., Krukier I.I. *Okoloplodnye vody. Khimicheskii sostav i biologicheskie funktsii* [Amniotic fluid. Chemical composition and biological functions]. Rostov-on-Don, 2009, 223 p.

8. Dedov I.I. Innovatsionnye tekhnologii v lechenii i profilaktike sakharnogo diabeta i ego oslozhnenii [Innovative technologies in the treatment and prevention of diabetes and its complications]. *Sakharnyi diabet*, 2013, no 3, pp. 2-10.

9. Radzinskii V.E. *Akusherskaya agressiya* [Obstetric aggression]. Moscow, 2011, 688 p.

10. Dundar O., Yoruk P., Tutuncu I. Second trimester amniotic fluid annexin A5 levels and subsequent development of intrauterine growth restriction. *J. Prenat. Diagn.*, 2008, vol. 28, no 10, pp. 887-891.