© Коллектив авторов, 2018
УДК 618.32:618.39-079.6
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13007>
ISSN – 2073-8137

НОВЫЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕГРАВИДАРНОЙ ПОДГОТОВКИ У ЖЕНЩИН С РАННИМИ ПОТЕРЯМИ ПЛОДА В АНАМНЕЗЕ

О. Г. Тишкова¹, Л. В. Дикарева¹, А. К. Аюпова², Д. Л. Теплый²

¹ Астраханский государственный медицинский университет, Россия

² Астраханский государственный университет, Россия

NEW APPROACH TO EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF PREGRAVID PREPARATION OF WOMEN WITH EARLY LOSS OF THE FETUS IN ANAMNESIS

Tishkova O. G.¹, Dikareva L. V.¹, Ayupova A. K.², Teplyi D. L.²

¹ Astrakhan State Medical University, Russia

² Astrakhan State University, Russia

Целью данного исследования стал поиск нового метода оценки эффективности прегравидарной подготовки, основанный на изучении морфологии биологических жидкостей и показателя в них уровня карбонильных групп белков как основного маркера оксидативного стресса, определяющего состояние белкового гомеостаза.

Ключевые слова: неразвивающаяся беременность, карбонильные группы белков, морфология биологических жидкостей

The purpose of the study was to find a new method for evaluation of the effectiveness of pregravid preparation based on the study of the morphology of biological fluids and the carbonyl groups of proteins content in the biological fluids as the main marker of oxidative stress, determining the state of protein homeostasis.

Keywords: undeveloped pregnancy, carbonyl groups of proteins, morphology of biological fluids

Согласно существующей статистике, примерно 12–15 % всех беременностей заканчиваются самопроизвольным выкидышем или преждевременными родами [7]. Частота ранних потерь беременности по данным некоторых исследователей значительно выше и достигает 31–80 % [8, 9]. Ежегодно в среднем на 7–9 % продолжает увеличиваться число пациенток с неразвивающейся беременностью [3].

Одним из приоритетных направлений современной медицины следует считать разработку новых подходов не только к диагностике, но и к прогнозированию течения беременности у женщин с потерями плода в анамнезе на этапе прегравидарной подготовки [6].

В последние годы в клинической медицине получил применение метод клиновидной дегидратации биологических жидкостей, который базируется на извлечении информации при фазовом переходе биологической жидкости в твердое состояние. При высушивании капли исследуемой жидкости, лежащей на поверхности подложки, формируется тонкая пленка – фация, рисунок которой отражает структуру пространственного расположения элементов, ранее находившихся в растворенном высокоподвижном состоянии [5].

Биожидкости, кроме воды, содержат важные компоненты – белки. Характер структуропостроения фаций во многом определяется полимерностью и ам-

фифильностью белковых макромолекул, входящих в состав биологической жидкости. Появление повышенной концентрации токсических веществ – ауто- и экзотоксинов, продуктов незавершенного метаболизма приводит к сбою межмолекулярных взаимодействий, что находит свое отражение в сформированном во время дегидратации рисунке фации [5].

В настоящее время определены структурные характеристики целого ряда биологических жидкостей (сыворотки крови, аспирата из полости матки, ликвора, мочи, сока предстательной железы, менструальных выделений и др.) в норме, установлены особенности их твердой фазы при различных заболеваниях [1, 5].

Полученные результаты свидетельствуют о высокой информативности метода клиновидной дегидратации при определении характера и тяжести нарушений, прогнозировании исхода заболевания, оценке эффективности лечения, устойчивости организма к внешним, в том числе неблагоприятным, воздействиям [4].

Цель исследования – разработка метода оценки эффективности прегравидарной подготовки у женщин с ранними потерями плода в анамнезе на основе особенностей морфологического строения биологических жидкостей и содержания в них карбонильных групп белков.

Материал и методы. Основные группы исследования составили 30 пациенток с неразвиваю-

щейся беременностью и 30 женщин, которые решили прервать беременность по желанию в сроке до 12 недель. Группы контроля метода составили 25 пациенток после неразвивающейся беременности, которым проводился курс прегравидарной подготовки, и 15 женщин, отказавшихся от реабилитации, а также 35 практически здоровых женщин детородного возраста без репродуктивных потерь в анамнезе.

Критериями включения стали: информированное согласие женщин на участие в исследовании, срок гестации до 12 недель беременности. Критерии исключения: отказ от участия в исследовании; срок гестации более 12 недель беременности; наличие ВИЧ-инфекции; острое течение соматических и вирусных заболеваний.

В группах проводили общий и гинекологический осмотр, а также стандартное клинико-лабораторное обследование и гистологическое исследование материала, полученного из полости матки путем вакуум-аспирации.

В качестве материала исследования методом клиновидной дегидратации использовали биологические жидкости: сыворотку крови, аспирационную жидкость из полости матки, полученную путем вакуум-аспирации, а также менструальные выделения пациенток исследуемых групп.

Для более полного понимания состояния белкового гомеостаза параллельно проводилось изучение уровня маркеров оксидативного стресса – карбонильных групп белков во всех исследуемых группах. Оценка содержания уровня карбонильных групп белков осуществлялась по методике С. N. Oliver с соавт. (1987), модифицированной Е. Е. Дубининой (1993) [2].

Метод клиновидной дегидратации применялся во всех группах и заключался в том, что каплю биологической жидкости объемом 10–20 мкл с помощью пипеточного микродозатора наносили на чистое предметное стекло. В течение последующих 24 часов происходило высушивание капли при комнатной температуре и минимальной подвижности воздуха. По истечении этого времени исследовали структуру сформированных фаций путем микроскопии в обычном свете с помощью микроскопа Leica MZ 12.5 с модулем цифровой камеры Leica ICC 50 (Leica Microsystems AG, Germany).

Сравнение средних значений между группами осуществлялось с помощью параметрического t-критерия Стьюдента и критерия Фишера. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,001$ и $p < 0,01$ соответственно. Связь между количественными показателями оценивали с помощью рангового коэффициента корреляции Спирмена (r).

Результаты и обсуждение. Уровень карбонильных групп белков в сыворотке крови в группе пациенток с неразвивающейся беременностью был выше на 11,2 % ($p > 0,001$). Статистически значимыми оказались различия показателей карбонильных групп белков в аспирационной жидкости из полости матки. У женщин с неразвивающейся беременностью уровень карбонильных групп составил $32,2 \pm 0,82$ нмоль/мг, в контрольной группе показатель не превышал 13,7 нмоль/мг; $F = 23,26$ ($p < 0,001$).

Между показателями карбонильных групп белков и диагнозом неразвивающейся беременности выявлена положительная корреляционная связь: умеренная с показателями в сыворотке крови ($r = 0,73$; $p < 0,05$) и сильная с уровнем карбонильных групп белков в аспирационной жидкости из полости матки ($r = 0,93$; $p < 0,001$).

Применение метода клиновидной дегидратации позволило выявить процессы нарушения в системе гомеостаза у женщин с неразвивающейся беременностью: в 78 % случаев в сыворотке крови и в аспирационной жидкости у них определялся патологический – иррадиальный тип структуропостроения фации (рис. 1, 2).

Рис. 1. Фация сыворотки крови пациентки с прогрессирующей беременностью: радиальный тип структуропостроения; $\times 10$

Рис. 2. Фация сыворотки крови пациентки с неразвивающейся беременностью: иррадиальный тип структуропостроения; $\times 10$

В 3 раза чаще в этой группе женщин встречались аномальные структуры, характеризующие метаболические нарушения (двойные фации, жгуты, серповидные образования), языковые структуры как маркеры воспаления. Необходимо отметить, что у пациенток с неразвивающейся беременностью были дифференцированы особые образования в виде дискообразных структур, которые регистрировались в 73,3 % случаев (рис. 3). В группе контроля данные структуры не встречались.

У пациенток с неразвивающейся беременностью обнаружена выраженная корреляционная связь между уровнями карбонильных групп белков в сыворотке крови и иррадиальным типом структуропостроения фаций ($r = 0,99$; $p = 0,006$), языковыми структурами ($r = 0,81$; $p = 0,023$). Отмечалась умеренная корреляция между наличием токсических бляшек в фациях аспира-

рационной жидкости из полости матки и уровнем карбонильных групп белков ($r=0,44$; $p=0,012$). Сильная корреляция установлена между уровнем карбонильных групп белков и дискообразными структурами как в сыворотке, так и в аспирационной жидкости из полости матки ($r=0,78$; $p=0,030$).

Рис. 3. Фация менструальных выделений пациентки с неразвивающейся беременностью: а – языки Арнольда; б – дискообразные структуры; в – бляшки; х 40

Использование корреляционного анализа позволило установить важную инициирующую взаимосвязь между изменениями, происходящими при неразвивающейся беременности в аспирационной жидкости из полости матки, с появлением аномальных морфологических структур в фациях аспирационной жидкости. Полученные результаты стали основанием для использования в дальнейшей работе менструальных выделений у пациенток, перенесших неразвивающуюся беременность.

Менструальные выделения получали с использованием зонда Пайпеля на 2–3 день восстановленного менструального цикла с целью контроля эффективности проводимой терапии на этапе реабилитации и прегравидарной подготовки [3].

В фациях менструальных выделений женщин, перенесших неразвивающуюся беременность, но не согласившихся пройти курс прегравидарной подготовки, на протяжении 3 циклов и более определялось значительное количество аномальных структур.

У женщин, прошедших курс стандартной прегравидарной подготовки, уже через месяц отмечалось значительное снижение или полное отсутствие аномальных структур. Тип структуропостроения фаций, характерный для практически здоровых женщин без репродуктивных потерь в анамнезе, отсутствие патогномичных для неразвивающейся беременности дискообразных структур определили завершение этапа прегравидарной подготовки.

В результате исследования было также установлено, что у практически здоровых женщин средний показатель уровня карбонильных групп белков в менструальных выделениях составил 3,1 нмоль/мг, а у женщин, перенесших потерю плода, в восстановленном менструальном цикле – 24,2 нмоль/мг. Таким образом, определение уровня карбонильных групп белков в менструальных выделениях на этапе прегравидарной подготовки также может являться критерием ее эффективности.

Как показали результаты проведенных исследований, при неразвивающейся беременности могут наблюдаться изменения гомеостаза, в основе которых лежат нарушения механизмов пероксидации и катаболизма, развивающиеся на фоне хронических воспалительных процессов. Это свидетельствует о необходимости комплексного подхода к лечению и реабилитации пациенток с неразвивающейся беременностью в анамнезе. На основании этих типовых элементов разработан новый подход к оценке эффективности прегравидарной подготовки. Предлагаемый подход предусматривает атравматичный способ забора материала и позволяет в условиях женской консультации (на малых объемах биожидкостей с минимальными материальными затратами) в короткие сроки получить объективную информацию о состоянии гомеостаза полости матки и своевременно составить оптимальный план лечения. Одновременное проведение биохимических методов исследования и структурного анализа биологических жидкостей повышает точность диагностики и прогноза.

Заключение. Вопреки снижению материнской заболеваемости и детской смертности, сокращение потерь беременности, к сожалению, не является целью современной политики, но должно стать таковой в будущем. Разработка высокоинформативных методов диагностики и прогнозирования ранних потерь беременности позволит снизить неблагоприятные исходы и будет способствовать репродуктивному здоровью женщин.

Литература

1. Дикарева, Л. В. Гиперпластические процессы матки: клинико-диагностическое значение маркеров биологических жидкостей : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Дикарева Л. В. – Волгоград, 2009. – 47 с.
2. Дубинина, Е. Е. Окислительная модификация белков плазмы крови больных психическими расстройствами (депрессия, деперсонализация) / Е. Е. Дубинина, М. Г. Морозова, Н. В. Леонова [и др.] // Вопросы медицинской химии. – 2000. – № 4. – С. 52–57.
3. Радзинский, В. Е. Неразвивающаяся беременность / В. Е. Радзинский, В. И. Димитрова, И. Ю. Майскова. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 200 с.
4. Тишкова, О. Г. Неразвивающаяся беременность : учебное пособие / О. Г. Тишкова, Л. В. Дикарева, Д. Л. Теплый, А. К. Аюпова. – Астрахань : Астраханский государственный медицинский университет, 2016. – 84 с.
5. Шабалин, В. Н. Морфология биологических жидкостей / В. Н. Шабалин, С. Н. Шатохина. – М. : Хризостом, 2001. – 304 с.
6. Alijotas-Reig, J. Current concepts and new trends in the diagnosis and management of recurrent miscarriage / J. Alijotas-Reig, C. Garrido-Gimenez // Obstet. Gynecol. Surv. – 2013. – Vol. 68, № 6. – P. 445–466. doi: 10.1097/OGX.0b013e31828aca19
7. Coccia, M. Two-year outcome after recurrent first trimester miscarriages: prognostic value of the past obstetric history / M. Coccia, F. Rizzello // Arch. Gynecol. Obstet. – 2017. – Vol. 295, № 1. – P. 261–262. doi: 10.1007/s00404-016-4213-8
8. Fei, H. Plasma metabolomics profile and potential biomarkers for missed abortion / H. Fei, J. Hou, Z. Wu [et al.] // Biomed. chromatog. – 2016. – Vol. 30, № 12. – P. 1942–1952. doi: 10.1002/bmc.3770
9. The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine / Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion // Fertility and sterility. – 2012. – Vol. 98, № 5. – P. 1103–1111. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.06.048

References

1. Dikareva L. V. Giperplasticheskie processy v matki: kliniko-dagnosticheskoe znachenie markerov biologicheskikh zhidkostej. Volgograd; 2009.
2. Dubinina E. E., Morozova M. G., Leonova N. V. *Voprosy meditsinskiy khimii. – Questions of medical chemistry.* 2000;(4):52-57.
3. Radzinskij V. E., Dimitrova V. I., Majskova I. J. *Nerazvivajushhajasja beremennost'.* M.: «GEOTAR-Media»; 2009.
4. Tishkova O. G., Dikareva L. V., Teplyj D. L., Ayupova A. K. *Nerazvivayushchayasja beremennost': Uchebnoe posobie.* Astrakhan; 2016.
5. Shabalin V. N., Shatovina S. N. *Morfologiya biologicheskikh zhidkostej.* M.: «Xrizostom»; 2001.
6. Alijotas-Reig J., Garrido-Gimenez C. *Obstet. Gynecol. Surv.* 2013;68:445-466. doi: 10.1097/OGX.0b013e31828aca19
7. Coccia M., Rizzello F. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2017;295(1):261-262. doi: 10.1007/s00404-016-4213-8
8. Fei H., Hou J., Wu Z., Zhang L., Zhao H., Dong X. *Bio-med. Chromatog.* 2013;30(12):1942-1952. doi: 10.1002/bmc.3770
9. The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Fertility and sterility.* 2012;98:1103-111. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.06.048

Сведения об авторах:

Тишкова Ольга Геннадьевна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры акушерства и гинекологии; тел.: 89896839585; e-mail: tishkov2003@mail.ru

Дикарева Людмила Васильевна, доктор медицинских наук, зав. кафедрой; e-mail: dikarevalv@mail.ru

Аюпова Адилья Камильевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник совместной лаборатории физики конденсированного состояния и новых методов исследования в материаловедении; e-mail: adilya_ayupova@mail.ru

Теплый Давид Львович, доктор биологических наук, профессор, зав. кафедрой физиологии и морфологии человека и животных; e-mail: dima.teplyj@yandex.ru

© Коллектив авторов, 2018

УДК 618.141-076.1

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13008>

ISSN – 2073-8137

К ВОПРОСУ О КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКЕ ЭКСПРЕССИИ α -SMA ПРИ АДЕНОМИОЗЕ

Г. М. Могильная, А. Н. Симовоник, И. С. Гуменюк, А. С. Сотниченко,
Е. В. Кувейда, Е. А. Губарева

Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия

TO QUESTION OF QUANTITATIVE EVALUATION OF α -SMA EXPRESSION IN ADENOMYOSIS

Mogilnaja G. M., Simovonik A. N., Gumenjuk I. S., Sotnichenko A. S.,
Kuevda E. V., Gubareva E. A.

Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia

Работа посвящена сравнительной оценке содержания гладкомышечного актина (α -SMA) в «переходной зоне» матки и в наружном миометрии у пациенток с аденомиозом. Материалом для исследования послужили образцы маток, удаленных у больных с аденомиозом (47 женщин), в качестве контроля использовался материал после гистерэктомии по поводу миомы матки. Обзорные срезы окрашивали по Маллори, иммуногистохимическое выявление α -SMA проводили по стандартному протоколу с использованием моноклональных антител anti-Actin antibody (Abcam, Англия). Количественная оценка экспрессии α -SMA проведена по разработанной методике с оценкой площади позитивных участков в узкой спектральной зоне с оптической плотностью выше пороговой. Сравнительный анализ выполнен с помощью программы «DAP analyzer», в основе которой лежит алгоритм цветовой деконволюции. Изучение содержания α -SMA показало, что в гладкомышечных клетках наружного миометрия экспрессия его выше, чем в одноименных клетках внутреннего миометрия. При оценке уровня коллагена в полихромных микропрепаратах, окрашенных по Маллори, оказалось, что при аденомиозе имеют место изменения объема экстрацеллюлярного фибриллярного компонента в «переходной зоне», тогда как в зоне наружного миометрия он практически не меняется.

Ключевые слова: переходная зона, аденомиоз, матка, иммуногистохимия, морфометрия

The study was devoted to a comparative assessment of the level of smooth muscle actin (α -SMA) in the «junctional zone» and in the outer myometrium of patients with adenomyosis. Material for the study – uterine samples removed from patients with adenomyosis (47 women). Control material – uterine samples removed from patients with leiomyoma. In the main group, the expression of α -SMA was higher in smooth muscle cells of the outer myometrium than