

РОЛЬ ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО ФАКТОРА РОСТА БЕТА В МОДИФИКАЦИИ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ АНГИОГЕННЫХ ФАКТОРОВ ПРИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДАХ

Зенкина З. В., Линде В. А., Друккер Н. А., Некрасова М. Г., Кулакова В. А., Александрова Е. М.

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии» Министерства здравоохранения России, Россия (344012, Ростов-на-Дону, ул. Мечникова, 43, E-mail: Secretary@rniiap.ru).

Представлены результаты исследования содержания в околоплодных водах ангиогенных и ростовых факторов (NO, NO-синтазы, аргиназы) и (СЭФРА и ТФР β_1) при физиологических срочных и преждевременных родах. Полученные данные свидетельствуют о том, что при преждевременных родах повышенная активность клеток миометрия обуславливается нарушением процессов, регулирующих в них уровень Ca^{2+} , в частности, за счёт низкого содержания NO. Снижение генерации NO приводит к нарушению реакций, обеспечивающих падение в клетках миометрия уровня ионов кальция, которое является одним из факторов повышения контрактильной активности матки. При данной патологии, по нашим данным, падение продукции NO обусловлено высоким уровнем ТФР- β_1 , ингибирующего активность NO-синтазы, осуществляющей генерацию оксида азота из L- аргинина. Выявленные нарушения содержания в околоплодных водах эндогенных регуляторов метаболизма клеток миометрия – ангиогенных соединений, позволили определить роль каждого из этих биоактивных компонентов в механизме развязывания родовой деятельности при преждевременных родах.

Ключевые слова: факторы роста, ангиогенные соединения, преждевременные роды.

THE ROLE OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR B (TGF B) IN MODIFICATION OF INTRACELLULAR ANGIOGENIC FACTORS DURING PRETERM DELIVERY

Zenkina Z. V., Linde V. A., Drukker N. A., Nekrasova M. G., Kulakova V. A., Aleksandrova E. M.

Federal State Budget Establishment “Rostov-on-Don research institute of obstetrics and pediatrics” of Ministry of Health of Russian Federation. (344012, Rostov-on-Don, Mechnikova str., 43, E-mail: Secretary@rniiap.ru).

The results of the investigation of the content in the amniotic fluids of angiogenic and growth factors (NO, NO-synthase, arginase and vascular-endothelial growth factor (VEGF) and TGF β_1) during physiological and urgent preterm delivery have been presented. The obtained data evidence that during the preterm delivery the increased myometrium cell activity is stipulated for disturbance of the processes, regulating in them Ca^{2+} level, in particular, at the expense of low NO content, which is one of the factors of increasing the contractile uterus activity. Decrease in generation of NO leads to violation of the reactions providing falling in cages a miometriya of level of ions of calcium which is one of factors of increase of constriction activity of a uterus. At this pathology, according to our data, falling of production of NO is caused by the high TFR- β_1 level, inhibiting activity NO-synthase, carrying out generation of oxide of nitrogen from L-argin. The revealed disturbances of the content in the amniotic fluids of endogenous regulators of myometrium cell metabolism – angiogenic connections, allowed to determine the role of each of these bioactive components in the mechanism of birth activity beginning during preterm delivery.

Key words: growth factor, angiogenic connections, preterm delivery.

Проблема преждевременных родов на протяжении многих лет остаётся одним из актуальных вопросов акушерства [6, 8]. Частота преждевременных родов варьирует от 6 % до 15 % в зависимости от географической и демографической ситуации изучаемой популяции. В ряде научных публикаций подчеркивается, что преждевременные роды являются полиэтиологичным осложнением беременности [2]. При этом многочисленные исследования в этой области демонстрируют эволюционную смену доминирующих факторов в генезе преждевременных родов. В настоящее время существует убеждение о

наличии различных патогенетических путей в развитии преждевременных родов [4]. В научной литературе все чаще рассматриваются вопросы инициации преждевременных родов, обусловленные действием ряда биоактивных веществ, содержащихся в амниотической жидкости [8]. Это подтверждается обнаруженными, данными авторами, в околоплодных водах изменениями в экспрессии белков, осуществляющих непосредственно обмен протеинов и проведение сигнала, а также транспорт определенных соединений, участвующих в различных реакциях, характерных для сократительной деятельности матки. Несмотря на обширную информацию, до настоящего времени нет полной определенности в отношении роли того или иного фактора в процессах регуляции родовой деятельности, нет четких представлений о влиянии локальных пулов тканевых биорегуляторов на их системную динамику, недостаточно выяснены взаимоотношения между отдельными клеточно-молекулярными регуляторами сократительной активности миометрия.

Все вышеизложенное послужило основанием для изучения в околоплодных водах вазоактивных соединений, обеспечивающих сократительную и релаксирующую реакции миометрия в процессе родового акта.

Цель исследования – выяснение патогенетических механизмов преждевременных родов с позиций измененной продукции ТФРβ₁, контролирующего ангиогенные компоненты, участвующих в регуляции биохимических процессов, индуцирующих родовую деятельность.

Материалы и методы исследования

Проспективно обследовано 70 беременных, у 49 из которых роды произошли в сроки 34 – 37 недель. При этом в течение гестации у данных женщин не выявлено каких-либо инфекционных заболеваний и ИППП (I группа). Контрольную группу составили 21 женщина, беременность и роды у которых были физиологическими. Средний возраст в контрольной группе составил $24,86 \pm 5,17$, в основной – $24,12 \pm 5,07$. В контрольной группе 3 (15,4 %) пациентки были первобеременными, а 18 (84,6 %) – повторнобеременными. В основной группе из 49 пациенток 6 (12,24 %) были первобеременными, 43 (87,6 %) – повторнобеременными. Особое внимание обращает на себя тот факт, что у 39 (79,6 %) беременных основной группы имеют место нарушения в эндокринной системе, представленные чаще всего аутоиммунным тиреоидитом, диффузным нетоксическим зобом, гипокортицизмом.

Материалом для исследования служили околоплодные воды, взятые в I периоде родов при поступлении женщины в родильное отделение ФГБУ «РНИИАП».

Содержание сосудисто-эндотелиального фактора роста (СЭФР-А) и ТФРβ₁ в околоплодных водах определяли методом иммуноферментного анализа, наборами фирмы Cytimmunesystems (USA). Эндогенное содержание оксида азота определяли с помощью

классической реакции Грисса по содержанию его метаболитов (NO_2^- , NO_3^-) с использованием коммерческого набора реактивов фирмы «AldrichChemicalCO» (USA). Активность NO-синтазы (КФ 1.14.13.39) измеряли по увеличению продукции NO из L-аргинина в присутствии NADPH [9]. Активность аргиназы (КФ 3.5.3.1) определяли колориметрическим унифицированным методом [5].

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программы «Statistika-6» с применением основных методов описательной статистики и непараметрических методов (определение различий между сравниваемыми группами с применением U-критерия Манна – Уитни и критерия Вилкоксона). Достоверными считались различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Полученные результаты исследования представлены в таблице 1 и свидетельствуют о том, что при преждевременных родах имеет место нарушение баланса биоактивных соединений.

Таблица 1

Содержание ангиогенных и ростовых факторов в околоплодных водах при срочных и преждевременных родах

Показатель	Преждевременные роды	Срочные (физиологические роды)
СЭФР-А (пкг/мл)	$186,0 \pm 16,2^*$	$114,0 \pm 7,0^1$
NO_x (пкг/мл)	$22,8 \pm 1,5^*$	$36,9 \pm 2,7^2$
NO-синтаза (мкмоль/л)	$19,26 \pm 1,1^*$	$42,6 \pm 1,9^1$
Аргиназа (мкмоль/мин мг белка)	$0,154 \pm 0,02^*$	$0,077 \pm 0,035^1$
ТФР β_1 (пкг/мл)	$29,1 \pm 4,2^*$	$09,6 \pm 1,1^3$

* – достоверные различия между показателями у женщин с преждевременными и срочными (физиологическими) родами.

¹ – $p < 0,001$; ² - $p < 0,01$; ³ - $p < 0,04$

Инициация родовой деятельности при физиологической беременности происходит в генетически закреплённый срок, а в случае развития патологии – на фоне изменения регуляции метаболических процессов, участвующих в активации веществ, синтезируемых организмами матери и плода. Обращает внимание тот факт, что индукция родовой деятельности определяется не только абсолютным количеством биологически активных соединений, но и их соотношением [6]. В ранее проведённых исследованиях при преждевременных родах у данных женщин нами не выявлено изменений в продукции провоспалительных интерлейкинов: ИЛ-1 β и ФНО- α [3]. Последнее подтверждает, что преждевременные роды у пациенток I группы обусловлены метаболическими нарушениями.

В полученных данных об уровне факторов роста при преждевременных родах выявлено повышение в околоплодных водах содержания СЭФР-А в 1,63 раза, а ТФР β_1 – более чем в 3 раза (таблица). Поскольку экспрессия гена СЭФР-А активируется гипоксией [10], можно полагать, что такое значительное увеличение его содержания обусловлено выраженной гипоксемией. Следует подчеркнуть, что полученные результаты, касающиеся модификации продукции ТФР β_1 , увеличивают возможность повреждения различных звеньев в общей цепи метаболических эффектов ТФР β_1 , одним из которых является усиление дерепрессии гена СЭФР-А, в результате чего становится очевидным его участие в процессе усиленного синтеза СЭФР-А. Особое внимание заслуживает факт взаимосвязи и взаимозависимости между уровнем СЭФР-А и ТФР β_1 .

Под контролем последнего полипептида находится активность NO-синтазы и аргиназы, высокий уровень которого обусловил снижение первой в 2,21 раза и повышение второй – в 2 раза. Такое увеличение продукции ТФР β_1 согласуется с данными об индукции ТФР β_1 под действием элиситирующих агентов, в частности, холестерина [7]. Повышенное содержание ТФР β_1 индуцирует активность аргиназы, в результате чего усиливается продукция пролина (основного компонента соединительной ткани), способствующего структурным изменениям плодных оболочек (увеличивается их плотность). Учитывая физиологические эффекты ТФР β_1 , очевидно, что в условиях преждевременных родов высокий уровень этого цитокина может быть фактором фиброгенеза [7]. Следует отметить отсутствие преждевременного разрыва плодных оболочек у женщин I группы. В то же время повышенное содержание ТФР β_1 (таблица) снижает активность NO-синтазы, приводящее к падению генерации NO, и как следствие – NO-радикала [6]. По нашим данным, у женщин с преждевременными родами показатели NO_x оказались ниже контрольных данных в 1,62 раза. Мы полагаем, что выявленная динамика метаболитов оксида азота (NO_x) и активности NO-синтазы свидетельствует об изменении регуляторных процессов при преждевременных родах, по сравнению с физиологическими.

Известно, что непосредственным индуктором сокращения гладкомышечных клеток миометрия являются ионы кальция, концентрация которых наряду с утеротониками, обеспечивается действием релаксантов (NO). К одной из функций последнего относят снижение концентрации Ca^{2+} внутри гладкомышечных клеток миометрия [1]. Их темп сокращения и расслабления определяется скоростью нарастания и падения концентрации Ca^{2+} в цитоплазме.

Становится очевидным, что в развитии преждевременных родов участвуют процессы, обусловленные снижением выработки NO, не достигающего уровня, необходимого для обеспечения падения концентрации Ca^{2+} в клетках миометрия.

Полученные данные свидетельствуют о том, что при преждевременных родах повышенная сократительная активность клеток миометрия обуславливается нарушением процессов, регулирующих в них уровень Ca^{2+} , в частности, за счёт низкого содержания NO, которое является одним из факторов повышения контрактильной активности матки. Существенное значение в падении генерации NO играет высокая продукция ТФР β_1 .

Выявленные нами нарушения содержания в околоплодных водах эндогенных регуляторов метаболизма клеток миометрия-ангиогенных соединений, позволили определить роль каждого из этих биоактивных компонентов в механизме развязывания родовой деятельности при преждевременных родах, что будет способствовать совершенствованию терапевтических мероприятий при данной патологии.

Список литературы

1. Карева Е. Н., Гаспарян Н. Д., Кирпичникова Н. В. и др. Сократительная деятельность матки при беременности. Биохимические механизмы // Вестн. РАМН. – 2002. – № 4. – С.31-37.
2. Краснопольский В. И., Логутова О. Ф., Серова О. Ф. Лечение недостаточности лютеиновой фазы у женщин с невынашиванием беременности // Рос. вестник. акуш.-гин. – 2006. – № 3. – С.66-71.
3. Лигидова А. Т. Патогенетические аспекты угрозы прерывания беременности в 1 триместре: Автореф.дисс. ... канд. мед. наук. – Ростов н/Д, 2011. – 26 с.
4. Макаров О. В., Бахарева И. В., Кузнецов И. А., Романовская В. В. Современные подходы к прогнозированию преждевременных родов // Рос. вестник, акуш.-гин. – 2007. – № 6. – С.10-15.
5. Норберг У. Тиц. Клиническое руководство по лабораторным тестам. – М.: Изд-во ЮНИМЕД-пресс. – 943с.
6. Орлов В. И., Погорелова Т. Н., Сагамонова К. Ю., Друккер Н. А. Околоплодные воды. Химический состав и биологические функции. – Ростов-на-Дону: Изд. Эверест, 2009. – 224 с.
7. Шварц Я. Ш., Хощенко О. М., Душкин М. И., Феофанова Н. А. Действие холестерина и агонистов ядерных гормональных рецепторов на продукцию трансформирующего фактора роста бета в макрофагах // Бюллетень эксперим. биологии и медицины. – 2009. – Т. 147. – № 9. – С.294-297.
8. Buhimschi C. S., Weiner C. P., Buhimschi I. A. Clinical proteomics: a novel diagnostic tool for the new biology of preterm labor, part I: proteomics tools//Obstet. Gynecol. Surv. – 2006. – Vol. 61. – P. 481-486.

9. Julio J. L., Gude N. U., Riug R. L. Human fetal membrane oxide synthase//Reproduction and Development. – 1995. – Vol.7. – № 6. – P. 1505-1508.
10. Lyall F., Bulmer J.N., Kelly H. etal. Human trophoblast invasion and spiral artery transformation: the role of nitric oxide // am. J. Patal. – 1999. – 154, №4. – P.1105-1114.

Рецензенты:

Каушанская Людмила Владимировна, д.м.н., профессор кафедры акушерства и гинекологии № 1 ГБОУ ВПО Рост ГМУ Минздрава России, г. Ростов-на-Дону.

Андреева Вера Олеговна, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник акушерско-гинекологического отдела ФГБУ «РНИИАП» Минздрава РФ, г. Ростов-на-Дону.