

МОДИФИКАЦИЯ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН ПЛАЦЕНТЫ В РАЗВИТИИ ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У ЖЕНЩИН С СИНДРОМОМ ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ

Друккер Н.А., Селютина С.Н.

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России (НИИ акушерства и педиатрии). Российская Федерация, Ростовская область, Ростов-на-Дону, e-mail: edu.center@rniiap.ru

Плацентарная недостаточность обусловлена нарушением инвазии вневорсинчатого цитотрофобласта в эндотелий сосудов плацентарного ложа. Патогенез заболевания представлял особый интерес в плане формирования клинических признаков в процессе течения беременности у женщин, в анамнезе которых имел место синдром поликистозных яичников (СПКЯ). Данное заболевание обусловлено состоянием беременной. В исследование включены 35 беременных женщин с плацентарной недостаточностью, обусловленной синдромом поликистозных яичников. Особенности течения беременности заключались в неоднократной угрозе ее прерывания. Имели место первичная и вторичная слабость родовой деятельности, а также высокая частота оперативного родоразрешения. Осложнение беременности связано с выявлением фетоплацентарной недостаточности. 30 пациенток с физиологической беременностью и родами составили контрольную группу. Материалом исследования служила плацентарная ткань женщин. Проведен анализ спектра кислот фосфолипидов плацентарных мембран у женщин с синдромом поликистозных яичников. Гормональный статус данных беременных характеризовался низким уровнем эстрадиола, прогестерона и кортизола. Выявлено повышение в фосфолипидах плацентарных мембран содержания стеариновой, олеиновой кислот и снижение уровня линолевой кислоты. В условиях наиболее выраженного эстрогенного дефицита в плаценте имеет место повышенное содержание арахидоновой кислоты, являющейся источником биологически активных веществ – простагландинов и простациклинов, обеспечивающих процесс развязывания родовой деятельности. Течение беременности характеризовалось угрозой ее прерывания. Выявленная модификация фосфолипидного состава мембран плаценты при синдроме поликистозных яичников характеризовалась снижением уровня фосфатидилхолина, фосфатидилинозита и повышением уровня сфингомиелина, лизофосфатидилхолина и фосфатидилглицерина. Повышенная активность фосфалипазы-A2 обусловила деструкцию липидного компонента плазматических мембран плаценты женщин. Динамика содержания фосфолипидов в мембранах плаценты женщин с СПКЯ подтверждается активностью этого фермента. Наличие более высокого уровня арахидоновой кислоты в клеточных мембранах плаценты при синдроме поликистозных яичников является физиологической особенностью плазматических мембран плаценты. Сделан вывод, что для нормального функционирования плаценты у женщин с синдромом поликистозных яичников необходимы контроль и коррекция гормонального статуса на протяжении всего срока беременности.

Ключевые слова: плацента, клеточные мембраны, фосфолипиды, кислоты, склерополикистоз яичников.

MODIFICATION OF PLACENTAL CELL MEMBRANES IN THE DEVELOPMENT OF PLACENTAL INSUFFICIENCY IN WOMEN WITH POLYCYSTIC OVARY SYNDROME

Drukker N.A., Selyutina S.N.

Federal State Budget Establishment of High Education "Rostov State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation. Rostov-on-Don, e-mail: edu.center@rniiap.ru

Placental insufficiency is caused by a violation of the invasion of the extracellular cytotrophoblast into the endothelium of the vessels of the placental bed. The pathogenesis of the disease was of particular interest in terms of the formation of clinical factors during pregnancy in women with polycystic ovary syndrome (PCOS). This disease is caused by the condition of a pregnant woman. The study included 35 pregnant women with placental insufficiency due to PCOS. The peculiarities of the course of pregnancy consisted in the threat of termination, in primary and secondary weakness of labor activity, high frequency of operative delivery. Pregnancy complication is associated with the detection of fetoplacental insufficiency. The control group consisted of 30 patients with physiological pregnancy and childbirth. The placental tissue of women served as the material of the study. The spectrum of phospholipid acids was analyzed in the membranes of placentas from pregnant women with polycystic ovary syndrome. The hormonal status of the examined pregnant women was low in estradiol, progesterone and cortisol. Increased content of stearic and oleic acids was found in phospholipids of placental membranes. At the same time, the level of linoleic acid was reduced. With an obvious estrogenic deficiency in the placenta, we registered an increased content of arachidonic acid - a source of biologically active substances – prostacyclins and prostaglandins. They Ensure The launch of the labor activity process. The course of pregnancy was characterized

by the threat of its termination. The revealed modification of the phospholipid composition of placental membranes in polycystic ovary syndrome was characterized by a decrease in the level of phosphatidylcholine, phosphatidylinositol and an increase in sphingomyelin, lysophosphatidylcholine and phosphatidylglycerol. The destruction of the lipid component of plasma membranes of the placenta of women is caused by an increase in the activity of phospholipase-A2. The contribution of this enzyme to the dynamics of phospholipid content in the placental membranes of women with polycystic ovary syndrome is confirmed. The presence of a higher level of arachidonic acid in the cell membranes of the placenta, in polycystic ovary syndrome, is a physiological feature of the plasma membranes of the placenta. It is concluded that for the normal functioning of the placenta in women with PCOS, control and correction of hormonal status throughout the entire pregnancy period is necessary.

Keywords: placenta, cell membranes, phospholipids, acids, scleropolycystic ovaries.

Плацентарная недостаточность является интегральным проявлением нарушения инвазии вневорсинчатого цитотрофобласта в эндотелий сосудов плацентарного ложа. Специфичность и уникальное многообразие функций плаценты обусловлены ее биологическим значением. При этом для данного органа, с его резко генерализованными обменными процессами, характерны свойства эндокринных органов, хотя у него существует собственный метаболизм. В то же время состояние беременной женщины определяет метаболическую и функциональную полноценность плаценты. При этом происходящие в организме матери различные изменения вызывают соответствующие адаптивные реакции у плода, в большей степени определяющиеся состоянием плаценты. Осуществляя взаимосвязь между материнским и плодовым организмами, плацента имеет целый комплекс специфических взаимодействий с отдельными дефинитивными органами и является составной частью системогенеза. В ее функцию входит также участие в развитии и дифференцировке практически всех жизненно важных систем плода. Наряду с этим каждая из указанных функций определяет уровень адаптивных процессов. Недостаточная инвазия вневорсинчатого цитотрофобласта в эндотелий сосудов плацентарного ложа эндометрия обусловлена заболеваниями беременной женщины. Следствием данной ситуации является развитие гипоксии, обусловленной нарушением кровоснабжения фетоплацентарного комплекса.

Многообразие и уникальность функций плаценты обусловлены ее специфическим и в то же время многообразным биологическим значением. Наличие своеобразного обмена веществ, обусловленного резко генерализованными обменными процессами плацента обладает одновременно и свойствами эндокринных органов. Состояние беременной женщины определяет функциональную полноценность плаценты. Адаптивные реакции у плода, обусловленные происходящими в организме матери различными изменениями, в значительной степени определяются состоянием плаценты – временного эндокринного органа у беременной женщины. Способность к синтезу многих нейропептидов позволила исследователям конца XX в. рассматривать плаценту как «третий мозг». Учеными было доказано, что во время беременности плацента защищает нервные центры плода от

воздействия вредных факторов [1]. Нарушение функций плаценты является одной из основных причин перинатальной заболеваемости и смертности. Современными исследователями получены и обобщены данные о характеристике липидного компонента плаценты. Эта информация свидетельствует о синтезе липидов плацентарной тканью, механизмах транспорта их к плоду. Охарактеризованы особенности метаболизма и функциональное значение динамики фосфолипидов плазматических мембран трофобласта по мере развития беременности [2].

Из анализа различных источников, касающихся течения беременности и родов, следует, что одной из причин развития плацентарной недостаточности является бесплодие женщины в течение 2–6 лет, связанное с нарушением нейроэндокринных механизмов овуляции [3, 4]. По данным статистического сборника «Здравоохранение в России 2021 г.», количество женщин, зарегистрированных в 2020 г. с диагнозом «бесплодие», установленным впервые в жизни, составило 63,0 тыс. человек, что в 1,2 раза больше аналогичного показателя за 2005 г. [5]. Динамика этого заболевания за четыре года такова: в 2010 г. – 70,7 тыс. человек; 2015 г. – 94,2 тыс. человек; 2018 г. – 88,0 тыс. человек и в 2019 г. – 83,3 тыс. женщин. Установлено, что маточные, эндокринные, трубные, иммунологические факторы могут обуславливать первичное бесплодие. При первичном бесплодии у 60–80% женщин выявляется эндокринная дисфункция. Причинами этого состояния считают умственное и физическое переутомление, расстройство овуляции, вызванное стрессом, а также дистрофию (в том числе анорексию), синдром поликистозных яичников (СПКЯ), гипотиреоз, ожирение, адреногенитальный синдром, бесконтрольное использование КОК и средств экстренной контрацепции.

Синдром поликистозных яичников является заболеванием всего организма, а не болезнью яичников или матки. При этом на первое место ставят нарушения обмена веществ. В 50% случаев метаболические нарушения отмечаются при абсолютно нормальной массе тела. Имеющиеся статистические данные указывают, что распространенность этого заболевания варьирует в пределах от 2 до 26 на 100 женщин (от 2 до 25% в общей популяции). Но наиболее часто эта патология имеет место у женщин с бесплодием эндокринного генеза и составляет от 55,2% до 94,0% [6]. Причина рассматриваемого заболевания до конца еще не изучена, но часто оно имеет семейную историю и симптомы его связаны с измененным уровнем гормонов. Как такового лечения синдрома поликистозных яичников у женщин не существует. В последнее время разработаны нескольких линий терапии, причем учитываются заболевания и возраст пациентки. Программа лечения направлена на максимальное сокращение или устранение симптомов заболевания, снижение всех возникших рисков, связанных с наличием синдрома

поликистозных яичников, возможность избежать отдаленных последствий этого заболевания (рака эндометрия, сахарного диабета и пр.) и получить беременность.

Изложенные факты обосновывают целесообразность научного поиска критериев ранней диагностики церебральных нарушений и прогнозирования их последствий у новорожденных от женщин со склерополикистозом яичников, а также проведения своевременных патогенетически обоснованных лечебных и реабилитационных мероприятий.

С учетом вышесказанного целью нашего исследования стало изучение состояния плаценты в условиях наличия у женщин склерополикистоза яичников. Научное наблюдение выполнялось в дизайне проспективного и ретроспективного исследований. Шифр основных специальностей: 14.01.01. (акушерство и гинекология); 03.01.04 (биохимия). Значимость полученных научных результатов подтверждали методами статистической обработки данных.

Материал и методы исследования. Были обследованы 65 беременных женщин в возрасте 21–33 лет. Из них 30 практически здоровых беременных женщин составили контрольную группу, плаценты которых получены после нормальных своевременных родов. 35 беременных с СПКЯ выделены во вторую группу. У 14 из них угроза прерывания беременности имела место в 8–12 недель, а также в 20–28 недель. У 21 женщины угроза прерывания наблюдалась в 18–22 и 28–32 недели. Среди данных пациенток у 17 человек беременность была повторной, а у 23 – третьей. Предыдущие беременности заканчивались выкидышами. Осложнения беременности и родов у этих женщин были связаны с наличием фетоплацентарной недостаточности (ФПН). Причиной развившейся ФПН явилась гипофункция яичников, имевшая место, по-видимому, вследствие неполноценной гормональной коррекции до наступления беременности.

Изучение анамнеза 65 беременных женщин, включенных в исследование, показало, что в контрольной группе возраст женщин был в пределах 24–29 лет, беременность их протекала без осложнений и завершилась рождением здоровых детей. Вес новорожденных соответствовал норме и достигал 3480–3570 г. Во 2-й группе женщин, ранее страдавших бесплодием в результате склерополикистоза яичников, возраст соответствовал 23–29 годам. Течение беременности у них характеризовалось осложнением в виде угрозы ее прерывания. В исследовании изучали плаценты женщин, взятые сразу после родов в сроке 39–40 недель при соблюдении холодового режима (4°C). Из центральной части плодной стороны плацент диаметром 5×5 см получали гомогенаты. Методом дифференциального ультрацентрифугирования, разработанным для плацентарной ткани, из полученных гомогенатов выделяли мембраны микроворсин синцитиотрофобласта, являющихся активными элементами в транспортных процессах системы «мать – плод» [1, 7].

Всем женщинам в течение беременности была проведена ультразвуковая морфометрия плаценты и плода. Для характеристики состояния эндокринных желез матери и эндокринной функции фетоплацентарного комплекса из локтевой вены женщин забирали периферическую кровь, в сыворотке которой определяли содержание прогестерона, эстрадиола, эстриола, альфа-фетопротейна иммунофлюоресцентным методом на установке «Amerlite» (Англия), используя наборы фирмы «Amersham» (Англия). Плацентарный лактоген определяли так же, применяя анализатор «Arkus» (LKB, Швеция) и наборы фирмы «DELFIA». Степень чистоты препарата из плацентарной ткани выявляли по определению активности маркерных ферментов 5-нуклеотидазы (К.Ф. 3.1.3.5) и Na, K-АТФазы (К.Ф. 3.6.1.3). По приросту неорганического фосфора определяли активность 5-нуклеотидазы. При этом активность Na, K-АТФазы оценивали по разности между общей активностью АТФазы и активностью Ca, Mg-АТФазы [8], Rf с известными из литературы величинами [9, 10].

Мембранные липиды экстрагировали классическим методом Фолча. Содержание холестерина определяли коммерческими наборами химических реактивов (НПО «Биолар»). Уровень общих фосфолипидов определяли унифицированным методом по содержанию липидного фосфора [10]. Фосфолипиды идентифицировали с помощью стандартных свидетелей («Sigma», США), а также сопоставляя полученные для отдельных фракций Rf с известными данными из литературы.

Для количественной оценки хроматограмм использовали денситометрическую установку «CamagTLCScanner 11» (Швейцария) с интегратором фирмы «HexlettPachard» (США). Жирнокислотный состав фосфолипидов изучали с помощью газожидкостной хроматографии. Идентификацию пиков осуществляли с помощью стандартных смесей (GLCmixture, «Merk», Германия) по времени удержания в сравнении со свидетелями и данными из литературы. Методом Левиса с соавт. в плацентарной ткани определяли активность фосфолипазы A₂ (К.Ф.З. 1.14). Количество фосфолипазы вычисляли по приросту свободных жирных кислот, которые диагностировали методом О.Д. Кушмановой и Г.М. Ивченко. Количество белка в клеточных мембранах плаценты определяли классическим методом по Лоури. Фракционирование белков плацентарных мембран проводили унифицированным методом электрофореза в 10%-ном полиакриламидном геле в системе с додецилсульфатом натрия. Количественную оценку электрофореграмм белков проводили на денситометрической установке «CamagTLCScanner 11» (Швейцария). При определении молекулярных масс белков в качестве маркеров использовали следующие коммерческие препараты: гамма-глобулин (мол.м. 230000 «Koch-Ligtt», Англия), гамма-глобулин (мол.м. 160000 «Koch-Ligtt», Англия), гамма-глобулин (мол.м. 160000, «РФ»), бычий сывороточный альбумин (мол.м. 68000 «Koch-Ligtt», Англия), овальбумин (мол.м. 45000 «Merck», Германия),

рибонуклеазу (мол.м. 13700 «Reanal», Венгрия), цитохром С (мол.м. 12500 «Carbiochem», США).

Достоверность полученных результатов определяли репрезентативным объемом выборки обследованных пациенток и качеством исследований, проведенных современными биохимическими методами. Вариационно-статистическая обработка включала традиционные методы и представляла группировку материала, вычисления средней арифметической (М), среднего квадратического отклонения (δ) и средней ошибки (m). Достоверность различий количественных показателей определяли с помощью критериев достоверности Фишера–Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

Характер течения беременности и родов у 35 женщин с бесплодием в анамнезе вследствие нарушения механизмов овуляции нейроэндокринного генеза показал высокий процент осложнений беременности и родового акта, что обусловило высокую частоту оперативного родоразрешения. Осложнения родового акта – первичная и вторичная слабость родовой деятельности, угрожающая внутриутробная асфиксия плода. Данные осложнения обусловлены фетоплацентарной недостаточностью, вызванной первичной гипофункцией яичников по причине неполноценной гормональной коррекции до наступления беременности. У женщин основной группы при микроскопии плаценты было обнаружено наличие небольших участков кальциноза, фиброза и мелких межворсинчатых кровоизлияний. В то же время изменений материнской и плодовой поверхности в плацентах контрольной группы не было выявлено. При этом отмечали небольшие участки фибриноидных масс, умеренную гиповаскуляризацию децидуальной ткани плаценты.

Анализ клинических данных новорожденных показал, что среди основных причин перинатальной смертности выявлены врожденные уродства, несовместимые с жизнью, а также патология эндокринной и сердечно-сосудистой систем. Следует подчеркнуть, что гормональный статус женщин в период беременности характеризовался низким уровнем эстрадиола, прогестерона и кортизола на фоне незначительных отклонений в содержании эстриола. Биохимические показатели плазматических мембран плаценты всех обследованных представлены нами в таблице.

Биохимические показатели плазматических мембран плаценты женщин
в норме и при нарушении функции яичников ($M \pm m$)

№	Контрольная	Женщины с
---	-------------	-----------

	Показатели	группа	синдромом поликистозных яичников (СПКЯ)
	Общие фосфолипиды(моль/мг белка)	0,71±0,03	0,59±0,02*
	Холестерин (мкмоль/мг белка)	0,41±0,02	0,46±0,02
	Коэффициент холестерин/фосфолипид	0,57±0,03	0,78±0,03*
	Фосфолипаза А-2 (мкмоль/мг белка)	4,00±0,20	5,10±0,10*
	Фосфатидилхолин (%)	20,5±0,8	16,2±0,7*
	Фосфатидилэтаноламин (%)	17,8±0,7	13,8±0,6*
	Сфингомиелин (%)	23,4±1,1	26,8±1,1*
	Лизофосфатидилхолин (%)	8,3±0,3	12,0±0,6*
	Фосфатидилинозит (%)	8,8±0,5	7,4±0,2*
	Фосфатидилглицерин (%)	5,8±0,3	6,8±0,3*
	Фосфатидилсерин (%)	8,1±0,5	9,2±0,5

- – отличия достоверны по отношению к контрольным значениям.

Нами отмечено, что развитие плаценты в условиях нарушенного гормонального баланса приводит к значительным сдвигам в ее обменно-регуляторных процессах. Это касается и случаев доношенной беременности. У женщин с синдромом поликистозных яичников (основная группа) уровень общих фосфолипидов мембран был снижен. При этом содержание холестерина имело тенденцию к повышению. Выше нормы оказался коэффициент молярного соотношения холестерин/фосфолипиды. Это может свидетельствовать об изменении жесткости мембран плаценты при синдроме поликистозных яичников.

Иным показателем модификации фосфолипидного состава мембран плаценты у женщин с данной патологией в анамнезе явилось снижение уровня фосфатидилхолина до 16,2% против 20,5% в норме и фосфатидилэтаноламина – до 13,8% при 17,8% в контрольной группе, а также фосфатидилинозита – с 8,8% до 7,4% ($p<0,05$). В основной группе женщин

было обнаружено повышенное содержание сфингомиелина ($p<0,01$), лизофосфатидилхолина ($p<0,001$) и фосфатидилглицерина ($p<0,01$). Стабильной оставалась лишь фракция фосфатидилсерина. По нашим данным, обнаруженные отклонения в структуре мембран плаценты при СПКЯ у женщин сочетались с низким уровнем в крови эстрадиола. Деструкция липидного компонента плазматических мембран плаценты женщин, по-видимому, обусловлена повышением активности фосфолипазы А-2 относительно контроля. Данное положение подтверждает вклад этого фермента в динамику содержания фосфолипидов в мембранах плаценты женщин с синдромом поликистозных яичников.

Жирнокислотный состав фосфолипидов мембран плаценты свидетельствует, что доминирующими кислотами в нем при СПКЯ являются пальмитиновая, стеариновая, олеиновая и арахидоновая – обычно преобладающие во всех других тканях человека. Необходимо отметить, что уровень арахидоновой кислоты в клеточных мембранах плаценты превышал контрольные данные. Функциональная значимость указанной кислоты общеизвестна и является следствием ее высокой ненасыщенности. Она служит источником ряда биологически активных веществ – эйкозаноидов, таких как простагландины и простациклины, играющих чрезвычайно важную роль в развязывании родовой деятельности. Перечисленные метаболиты имеют существенное значение в работе рецепторов боли, снижении агрегации тромбоцитов, сужении сосудов, а также в иммунитете. Ими обеспечиваются важнейшие метаболические процессы в организме. Наличие более высокого уровня полиненасыщенной арахидоновой кислоты является, очевидно, особенностью плазматических мембран этого органа. Выявленный нами ее повышенный уровень в указанной ткани мы отнесли к важным условиям формирования компенсаторных реакций плаценты при синдроме поликистозных яичников.

Анализ полученных научных данных позволяет отметить повышение в фосфолипидах плацентарных мембран содержания стеариновой, олеиновой кислот, а также снижение содержания линолевой кислоты. Динамика полиненасыщенной арахидоновой кислоты заключалась в повышении ее количества в плаценте женщин с синдромом поликистозных яичников, как и пальмитиновой кислоты, но менее значимом (условие наиболее выраженного эстрогенного дефицита на протяжении всей беременности).

Выводы

1. Высокая активность фосфолипазы-А2 обуславливает характер фосфолипидов в клеточных мембранах плацент женщин с синдромом поликистозных яичников.
2. Наличие более высокого уровня арахидоновой кислоты относительно нормы в фосфолипидах клеточных мембран плаценты при синдроме поликистозных яичников

обуславливает синтез простаглицлинов и простаглицлинов, являющихся необходимым условием активации метаболизма при данной патологии, и завершение беременности.

Список литературы

1. Крукиер И.И. Биохимические механизмы клеточной регуляции в плаценте и околоплодной среде при физиологической и осложненной беременности: автореф. дис. ... докт. биол. наук. Нижний Новгород, 2009. 46 с.
2. Погорелова Т.Н., Линде В.А., Гуныко В.О., Крукиер И.И., Селютина С.Н. Метаболизм, транспорт и состав липидов в плаценте // Фундаментальные исследования. 2015. Т. 2 № 26. С. 5832-5836.
3. Савельева Г.М., Шалина Р.И., Сичинава Л.Г., Панина О.Б., Курцер М.А. Акушерство: учебник. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. 576 с.
4. Алесенко А.В., Бачурин С.О., Каратассо Ю.О., Коротаева А.А., Шевцова Е.Ф., Шингарова Л.Н. Коррекция димебоном нарушений состава фосфолипидов в структурах мозга, вызванных фактором некроза опухоли α в эксперименте // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2018. № 118 (8). С. 91-97.
5. Здравоохранение в России 2021: Стат. сборник. Росстат. М., 2021. 171 с.
6. Низяева Н.В. Морфологическая и молекулярно-генетическая характеристика поражений плаценты и их роль в патогенезе преэклампсии: дис. ... докт. мед. наук. Москва, 2021. 336 с.
7. Парейшвили В.В., Радюшкина Е.А. Прогностические критерии осложнений гестации и состояния новорожденных по результатам исследования белков «зоны» беременности у женщин с синдромом поликистозных яичников в I триместре // Современные проблемы науки и образования. 2017. № 2. [Электронный ресурс]. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=26272> (дата обращения: 06.12.2022).
8. Погорелова Т.Н., Гуныко В.О., Никашина А.А., Каушанская Л.В., Аллилуев И.А., Ларичкин А.В. Модификация связывания аминокислот с цитоплазматическими белками плаценты при осложненной беременности // Российский вестник акушера-гинеколога. 2019. № 19 (6). С. 5-10.
9. Бадалян О.Л. Невропатология: учеб. для вузов. 2-е изд. перераб. М.: Просвещение, 1987. 317 с.
10. Клиническая лабораторная диагностика (методы и трактовка лабораторных исследований) / под ред. проф. В.С. Камышникова. 2-е изд. М.: МЕДпресс-информ, 2017. 720 с.