УДК 618.346+618•33:616-007•12-034
©Коллектив авторов

ДИСБАЛАНС МЕТАЛЛСОДЕРЖАЩИХ БЕЛКОВ И СВОБОДНЫХ ИОНОВ МЕТАЛЛОВ В ОКОЛОПЛОДНЫХ ВОДАХ ПРИ ЗАДЕРЖКЕ РОСТА ПЛОДА

Т.Н. Погорелова*, В.А. Линде, В.О. Гунько, С.Н. Селютина

Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии,
344012, Ростов-на-Дону, ул. Мечникова, 43; тел.: (863)227-50-774; факс: (863)232-57-63;
эл. почта: tnp.rniiap@yandex.ru

Изучены особенности динамики ионов металлов (цинка, меди, железа, магния), а также белков их содержащих или связывающих в околоплодных водах при задержке роста плода (ЗРП). Установлено, что при ЗРП, развивающейся на фоне плацентарной недостаточности, имеет место снижение уровня ионов цинка, железа, магния и повышение содержания меди в околоплодных водах во II и III триместрах беременности. Показатели церулоплазмина, ферритина, Ca^{2+}, Mg^{2+}-АТРазы при ЗРП в указанные триместры ниже, а цинк-α-2-гликопротеина выше, чем в аналогичные сроки нормальной беременности. Обнаружена взаимосвязь между содержанием исследуемых микроэлементов в околоплодных водах и нарушениями в развитии новорожденного. Выявленные отличия, очевидно, являются одной из причин метаболических повреждений, играющих патогенетическую роль в развитии ЗРП, а содержание ионов металлов и их соотношения в околоплодных водах могут быть использованы в качестве маркеров пре- и постнатальной патологии.

Ключевые слова: металлы, металлсодержащие белки, околоплодные воды, задержка роста плода, плацентарная недостаточность

DOI: 10.18097/PBMC20166201069

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время не вызывает сомнения, что полноценность репродуктивных процессов напрямую зависит от снабжения организма женщины жизненно важными микроэлементами, значительная часть которых находится в состоянии связанном с белками, в том числе ферментами [1, 2]. Особое значение металлсодержащие белки, как и свободные ионы металлов, играют в период гестации в связи с необходимостью обеспечения не только потребностей материнского организма, но и процессов роста и развития плода. К наиболее значимым микроэлементам относятся металлы: цинк, медь, магний, а также железо [3, 4].

Известно, что цинксодержащие белки принимают участие практически во всех видах обмена веществ, включая обмен нуклеиновых кислот, белков, углеводов, тканевое дыхание, синтез многих гормонов, в частности эстрогенов. Цинк является незаменимым микроэлементом, необходимым для нормального роста и развития, он участвует в регуляции экспрессии генов, процессах дифференциации и пролиферации клеток, что особенно важно в период эмбриогенеза [5]. Среди многочисленных белков, содержащих цинк, большую роль играет цинк-α-2-гликопротеин, который необходим для процессов пролиферации, апоптоза, энергообеспечения тканей [6].

Ионы меди входят в состав ферментов, также участвующих во многих биохимических процессах, что определяет значение этого микроэлемента в функционировании фетоплацентарной системы [7]. К числу специфических медьсодержащих белков относится церулоплазмин, выполняющий в организме ряд важных биологических функций, среди которых следует отметить его сильное антиоксидантное действие и участие в стабилизации клеточных мембран [8].

Кофактором большого числа ферментов, необходимых для регуляции практически всех видов обмена веществ, является магний. Он участвует в поддержании баланса липидов, синтезе нуклеиновых кислот, мембранном транспорте, регуляции углеводного обмена и энергетического потенциала клетки [9]. Причём, почти половина магний-зависимых белков связаны с обменом макроэргов. К их числу относится и Ca^{2+},Mg^{2+}-зависимая аденозинтрифосфатаза (АТРаза). Особенно важен этот элемент для обеспечения репродуктивных процессов [10]. Дефицит магния при беременности может привести к нарушению имплантации эмбриона, увеличению риска самопроизвольных абортов и преждевременных родов [11].

Из всех микроэлементов наиболее значимая роль в механизмах биологического окисления, обеспечивающих организм энергией, принадлежит железу. Оптимальный запас железа – необходимое условие для поддержания нормального уровня физиологически важных процессов. Основным белком, выполняющим функцию депонирования железа, является ферритин, который может служить высокоинформативным маркером, характеризующим метаболизм железа [12].

Важной биологической средой гестационного периода, быстро реагирующей на патологические процессы в организме матери и особенно плода отклонениями в своем составе, являются околоплодные воды. В связи с этим, изучение в околоплодных водах вышеназванных металлов и содержащих или связывающих их белков, может

* - адресат для переписки

представить ценную информацию о течении беременности, состоянии плода и дать возможность прогнозировать состояние новорожденного.

На протяжении последних десятилетий среди осложнений гестации, приводящих к перинатальной заболеваемости и смертности, одно из ведущих мест занимает задержка роста плода (ЗРП). Данная акушерская патология является не самостоятельной нозологической формой заболевания, а следствием различных патологических процессов, происходящих в системе "мать-плацента-плод". В связи с этим в Международной классификации болезней (МКБ) имеется несколько рубрик, позволяющих классифицировать ЗРП и причины её возникновения (шифры P05-P08). Наиболее важной из них является развитие плацентарной недостаточности (ПН), которая включена в классификацию как основной диагноз патологического состояния плода (МКБ-10.036.5.0). Именно с патологией плаценты непосредственно связаны около 20% случаев перинатальной смертности. ПН как клинический синдром характеризуется структурными, метаболическими и, как следствие, функциональными изменениями в плаценте, которые могут сопровождаться задержкой роста (развития) плода. Однако, несмотря на достаточно высокую частоту ЗРП биохимические механизмы её развития до настоящего времени остаются мало изученными [13].

Вышеизложенное определило цель настоящей работы – оценить количество цинка, меди, железа, магния, а также белков: цинк-α-2-гликопротеина, церулоплазмина, ферритина и активности Ca^{2+},Mg^{2+}-АТРазы в околоплодных водах при физиологической беременности и ЗРП.

МЕТОДИКА

В проспективное исследование были включены 58 беременных в возрасте 24-33 лет (средний возраст 26,7±0,4 года). Контрольную группу составили 28 практически здоровых женщин с неосложнённым течением беременности и родов. Основная группа включала 30 женщин, беременность которых осложнилась ассиметричной формой ЗРП на фоне плацентарной недостаточности, верифицированной после родов. Все обследованные дали информированное согласие на расширенный алгоритм исследования, которое было утверждено этическим комитетом Ростовского НИИ акушерства и педиатрии. По возрасту, индексу массы тела, соматическому и акушерско-гинекологическому анамнезу, паритету беременности и родов женщины обеих групп были сопоставимы. Из исследования были исключены пациентки с инфекционными заболеваниями, декомпенсированными формами соматических заболеваний, многоплодной беременностью, антенатальной гибелью плода, аутоиммунной патологией, признаками преэклампсии. Критериями при постановке диагноза служили снижение фето- и маточноплацентарного кровотока при допплерометрии, темпы роста плода по данным ультразвуковой биометрии, биофизический профиль плода, снижение активности специфического плацентарного изофермента – термостабильной щелочной фосфатазы. Все пациентки наблюдались в консультативной поликлинике РНИИАП по программе "Акушерский мониторинг", предусматривающей расширенный протокол обследования во время беременности. Пациентки основной группы во II триместре беременности были госпитализированы в отделение патологии беременных, где им проводили комплексное клинико-лабораторное обследование, а также лечение плацентарной дисфункции на основании Федеральных стандартов и порядка оказания помощи в акушерстве и гинекологии (Приказ 572н от 2 апреля 2013 г). Комплекс медикаментозной терапии включал селективные стимуляторы β_2-адренорецепторов для улучшения фетоплацентарного кровотока), глюкокортикостероиды (бетазон) для профилактики респираторного дистресс-синдрома плода, дигидропиридиновые производные (нифедипин) в качестве токолитических средств.

Материалом для настоящего исследования служили околоплодные воды, полученные во II триместре беременности (22-23 недели) путём трансабдоминального амниоцентеза и при вскрытии плодного пузыря в I периоде родов (39-40 недель). Содержание цинка и меди в околоплодных водах определяли с помощью наборов фирмы "Витал Девелопмент Корпорэйшн" (Россия) на спектрофотометре UV-Visible Spectrophotometer Evolution 300 (США). Содержание железа и магния оценивали, используя наборы фирмы "Randox" (Германия) на анализаторе Sapphiri 400 (Япония). Количество цинк-α-2-гликопротеина и ферритина определяли методом иммуноферментного анализа с помощью наборов фирм "BioVendor" (Чехия) и "Вектор-Бест" (Россия), соответственно, на микропланшетном фотометре Sunrise ("Tecan", Швейцария). О количестве церулоплазмина судили по результатам иммунотурбидиметрического анализа, который проводили с использованием наборов фирмы "Sentinel" (Италия). Исследования проводили в соответствии с протоколами фирм-разработчиков. Активность Ca^{2+},Mg^{2+}-АТРазы оценивали по приросту содержания неорганического фосфата в реакции с молибдатом аммония. Реакционная смесь содержала 10 мМ трис-HCl буфер (pH 7,0), 5 мМ $MgCl_2$, 0,15 мМ $CaCl_2$, 5 мМ АТР, 100 мкг белка [14].

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью лицензионного пакета программ Statistica (версия 6.0 фирмы "StatSoft. Jnc"). Однородность дисперсий проверяли по критерию Фишера. Достоверность различий между сравниваемыми показателями определяли по критерию Стьюдента (t-критерий) и его аналогу для непараметрических распределений – критерию Манна-Уитни. Результаты оценивали как статистически значимые при $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведённые нами исследования свидетельствуют об изменении уровня металлов и связанных с ними белков в околоплодных водах женщин основной группы по сравнению с аналогичными величинами в контрольной группе (таблица).

Таблица. Содержание металлов, металлсодержащих и металлсвязывающих белков в околоплодных водах при физиологической беременности и ЗРП.

Показатели	Физиологическая беременность		ЗРП	
	II триместр	III триместр	II триместр	III триместр
Цинк (ммоль/л)	1,32±0,07	1,59±0,09	0,82±0,06**	0,94±0,07**
Медь (ммоль/л)	0,31±0,02	0,36±0,03	0,77±0,06**	0,64±0,05**
Железо (мкмоль/л)	0,23±0,02	0,32±0,03	0,15±0,02*	0,22±0,02**
Магний (ммоль/л)	0,83±0,06	1,48±0,10	0,59±0,04**	0,99±0,08**
Цинк-α-2-гликопротеин (мкг/мл)	25,1±2,3	23,1±1,7	60,4±6,1**	51,2±5,8**
Церулоплазмин (мг/мл)	0,36±0,03	0,25±0,02	0,21±0,03**	0,16±0,02*
Ферритин (нг/мл)	30,2±2,7	45,1±3,6	18,3±1,5**	28,7±2,1**
АТРаза (нмоль/мин × мг белка)	0,42±0,04	0,51±0,05	0,27±0,03**	0,30±0,03**

Примечание: достоверность отличий относительно контрольных величин: * - $p<0,01$; ** - $p<0,001$.

Так, при беременности, осложнённой ЗРП, показатели цинка, железа, магния в околоплодных водах снижаются как во II, так и в III триместрах гестации в среднем на 30-40%. Снижение содержания цинка может способствовать самопроизвольному выкидышу, порокам развития, дискоординации родовой деятельности [15]. Последнее объясняется действием цинка на метаболизм простагландинов, а также андрогенов, эстрогенов, прогестерона за счёт его нахождения в составе домена “цинковые пальцы” в ряде белков, регулирующих действие стероидных гормонов [6].

В отличие от вышеприведенных ионов металлов, для меди, напротив, характерно повышение содержания в околоплодных водах при ЗРП в 1,8-2,5 раза по сравнению с соответствующими физиологическими величинами. Такая динамика уровня меди в околоплодных водах может быть связана с конкуренцией между медью и цинком за связывание с плацентарными транспортерами двухвалентных ионов [16, 17]. Повышенное связывание ионов цинка, сопровождающееся снижением его содержания [18], освобождает сайты для связывания меди, что приводит к увеличению её транспорта в околоплодные воды. Высокие концентрации ионов меди вызывают снижение активности ряда ферментов [19], что может приводить к энергетическому дисбалансу в фетоплацентарной системе. Важно отметить, что между динамикой меди и цинка существует определенная взаимосвязь: высокий уровень меди усиливает тератогенный эффект дефицита цинка [20]. С учётом этих данных, отношение цинк/медь приобретает особую информационную значимость, отражая баланс важных микроэлементов в фетоплацентарной системе. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что при беременности, осложненной ЗРП, величина данного коэффициента в околоплодных водах значительно отличается от аналогичного показателя при физиологической беременности. Так, во II триместре при ЗРП указанный показатель в околоплодных водах составил 1,3±0,06, что в 3,2 раза ниже, чем в соответствующий срок нормальной гестации, когда он равен 4,2±0,25. Эти результаты позволили нам использовать определение содержания цинка и меди в околоплодных водах и, особенно, их соотношение в оценке состояния внутриутробного плода и состояния новорождённого ребенка [21].

Развитие беременности, осложненной ЗРП, происходит на фоне снижения уровня и активности (для АТРазы) изученных металлсодержащих и металлзависимых белков. Уменьшение содержания медьсодержащего церулоплазмина, являющегося активным неферментативным антиоксидантом, на 42% и 36% (во II и III триместрах), очевидно, сопровождается падением общей антиоксидантной защиты и, следовательно, усилением свободнорадикальных процессов и развитием внутриутробной гипоксии, имеющей место при ЗРП. Количество цинк-α-2-гликопротеина в околоплодных водах при ЗРП значительно возрастает (в среднем в 2,4 раза), такая его динамика может быть одной из причин уменьшения свободного пула цинка. Кроме того, по данным ряда авторов, избыточная продукция цинк-α-2-гликопротеина приводит к снижению массы тела и даже к кахексии, а “нокаут” его гена сопровождается ожирением и связанной с ним инсулиновой резистентностью [22]. В связи с этим усиление продукции и, как следствие, секреции в околоплодные воды при ЗРП цинк-α-2-гликопротеина, в значительной степени ответственного за регуляцию массы тела, очевидно, играет важную роль в механизмах развития данной патологии. По-видимому, модификация и других, регулируемых им процессов, таких как пролиферация, клеточная дифференциация, вносит определённый вклад в развитие осложнённой беременности.

Как указывалось выше, при ЗРП в околоплодных водах снижается содержание магния и железа. Учитывая значение этих микроэлементов в поддержании жизненно важных биологических процессов, можно полагать, что их дефицит при данной патологии также будет приводить к нарушению ряда метаболических путей, ответственных за нормальное обеспечение клеточных функций. Аналогичные степень и направленность изменений имеют место и для белков, связанных с описанными металлами. Содержание ферритина в околоплодных водах снижено при ЗРП относительно контрольных величин в обоих триместрах в среднем на 37%. Что касается АТРазы, то её активность при ЗРП на 35% и 40% соответственно ниже контрольных величин во II и III триместрах гестации. Такая направленность изменений, вероятно, свидетельствует о прямой зависимости этих белков от запаса соответствующих микроэлементов.

Анализируя причины развития выявленных метаболических нарушений, можно полагать, что прежде всего они вызваны дисфункцией плаценты, которая, как указывалось, играет ведущую роль в формировании ЗРП. В связи с этим основная терапия женщин с ЗРП направлена именно на снижение плацентарной дисфункции.

Поскольку плацента снабжает плод органическими соединениями, синтезированными в самом органе и неорганическими веществами, в том числе микроэлементами, транспортируемыми к плоду из материнской крови [23, 24], то изменение содержания последних в околоплодных водах при ЗРП, очевидно, связано с повреждениями механизмов трансплацентарного перехода.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Резюмируя полученные данные, можно заключить, что развитие ЗРП происходит на фоне изменения в околоплодных водах баланса металлов и белков, содержащих или связывающих металлы на протяжении II и III триместров беременности. Результаты настоящего исследования позволяют расширить наши представления о биохимических механизмах развития ЗРП, а также предложить информативные тесты пре- и постнатальной диагностики.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Скальный А.В., Рудаков И.А.* (2004) Биоэлементы в медицине, Оникс 21 век, Мир. 272 с.
2. *Шаторная В.Ф., Линник В.А., Каплуненко В.Г., Савенкова Е.А., Чекман И.С.* (2014) Микроэлементы в медицине, **15**, 34-39.
3. *Можейко Л.Ф., Рубахова Н.Н., Лапотко М.Л., Вареник В.С., Войнова А.А.* (2007) Медицинские новости, №6, 32-35.
4. *Hansch R., Mendel R.R.* (2009) Curr Opin Plant Biol., **12**, 259-266.
5. *Прасад А.С.* (2014) Микроэлементы в медицине, **15**, 3-12.
6. *King J.C.* (2011) Am. J. Clin. Nutr., **94**, 679-684.
7. *Turski M.L., Thiele D.J.* (2009) J. Biol Chem., **284**, 717-721.
8. *Healy J., Tipton K.* (2007) J. Neural. Transm., **114**, 777-781.
9. *Torshin I.Y., Gromova O.A.* (2011) in: Magnesium and pyridoxine: fundamental studies and clinical practice, New York: Nova Science. p.196.
10. *Хашукоева А.З., Хлынова С.А., Нариманова М.Р., Карелина Л.А.* (2014) Акушерство и гинекология, №2, 37-41.
11. *Дадак К.* (2013) Акушерство, гинекология и репродукция, **7**, 6-14.
12. *Finazzi D., Arosio P.* (2014) Arch. Toxicol, **88**, 1787-1802.
13. *Cecconi D., Lonardoni F., Favretto D., Cosmi E., Tucci M., Visentin S. Ferrara S.D.* (2011) Electrophoresis, **32**, 3630-3637.
14. *Лызлова С.Н., Владимиров В.Г. (ред.)* (1997) Ферменты и нуклеиновые кислоты. Изд-во С-Петербург. ун-та, СПб.
15. *Uriu-Adams J.Y., Keen C.L.* (2010) Birth Defects Res. B. Dev. Reprod. Toxicol., **89**, 313-325.
16. *Lee J., Prohaska J., Thiele D.* (2001) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **98**, 6842-6907.
17. *Ford D.* (2004) Proc. Nutr. Soc., **63**, 21-29.
18. *Florianczyk B., Baranowski W., Marciniak B., Stryjecka-Zimmer M.* (2002)Ann. Univ. Mariae Curie Sklodowska Med., **57**, 387-391.
19. *Lutsenko S.* (2010) Opin. Chem. Biol, **14**, 211-217.
20. *Fukada T., Yamasaki S., Nishida K., Murakami M., Hirano T.* (2011) J. Biol. Inorg. Chem., **16**, 1123-1134.
21. *Гунько В.О., Погорелова Т.Н., Линде В.А., Друккер Н.А., Крукиер И.И.* Патент 2521287 РФ, МПК G 01N 33/52. Способ прогнозирования развития кардиопатии и энцефалопатии в неонатальном периоде у новорождённых. Опубл. 27.06.2014. Бюл.№ 18.
22. *Bing C., Mracek T., Gao D., Trayhurn P.* (2010) Int. J. Obes. (Lond), **34**, 1559-1565.
23. *Погорелова Т.Н., Линде В.А., Крукиер И.И., Гунько В.О., Друккер Н.А.* (2012) Молекулярные механизмы регуляции метаболических процессов в плаценте при физиологически протекающей и осложнённой беременности, Гиппократ, СПБ.
24. *McArdle H.J., Andersen H.S., Jones H.* (2008) J. Neuroendocrinol., **20**, 427-431.

Поступила: 23. 11. 2015.
Принята к печати: 18. 01. 2016.

THE IMBALANCE OF METAL-CONTAINING PROTEINS AND FREE METAL IONS IN THE AMNIOTIC FLUID DURING FETAL GROWTH

T.N. Pogorelova, V.A. Linde, V.O. Gunko, S.N. Selyutina

Rostov Scientific-Research Institute of Obstetrics and Pediatrics,
43 Mechnikova str., Rostov-on-Don, 344012 Russia; tel.: (863) 227-50-77; fax: (863)232-57-63;
e-mail: tnp.rniiap@yandex.ru

The levels of zinc, copper, iron, and magnesium ions, and some of their binding proteins have been investigated in an amniotic fluid under the fetal growth retardation (FGR). FGR, developed under conditions of placental insufficiency, is characterized by a decrease in the content of zinc, iron, and magnesium ions and by an increase in the copper content in the amniotic fluid in the II and III trimesters of pregnancy. During these trimesters the levels of ceruloplasmin, ferritin, and Ca^{2+},Mg^{2+}-ATPase were lower in FGR, while the level of zinc-α-2-glycoprotein was higher than during the same periods of normal pregnancy. Changes in the parameters studied in the amniotic fluid were associated with developmental disorders of the newborns. These changes obviously have a pathogenetic importance in the development of FGR, and the levels of metal ions and their ratio in the amniotic fluid can be used as markers of the pre- and postnatal pathology.

Key words: metals, metal-containing proteins, amniotic fluid, fetal growth retardation, placental insufficiency