

заболеваниями органов малого таза // Матер. IV Международной конференции «Человек и электромагнитные поля». – Саров, 2013. – С. 95-96.

4. *Гречканев Г.О., Чурикова М.С.* Коррекция перекисного стресса как важный элемент патогенетического лечения воспалительных заболеваний органов малого таза // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2013. – Т. 13, № 5. – С. 8-11.

5. *Коробков Д.М.* Трубно-перитонеальное бесплодие у женщин репродуктивного возраста и его клиничко-факторный анализ // Бюллетень науки и практики. – 2016. – № 12 (13). – С. 186-189.

6. *Кузнецова И.В.* Роль окислительного стресса и антиоксидантной защиты в репродукции человека // Акушерство и гинекология. – 2016. – № 3. – С. 116-121.

7. *Мешкова О.А.* Проблема вторичного бесплодия: распространенность и современные методы лечения // Эндоскопическая хирургия. – 2015. – № 21 (4). – С. 69-75.

8. *Яковлева Н.В.* Хирургическое лечение трубного бесплодия: проблемы и решения // Вестник новых медицинских технологий. – 2014. – Т. 21, № 1. – С. 121-127.

КАСПАЗЫ КАК ФЕРМЕНТЫ АПОПТОЗА ПРИ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ РАННИХ СРОКОВ

*Лебедева О.П., Жукова И.О., Ивашова О.Н., Пахомов С.П.,
Чурносов М.И.*

**Белгородский государственный национальный исследовательский
университет**

**Кафедра акушерства и гинекологии
Кафедра медико-биологических дисциплин**

Введение. Каспазы являются белками семейства протеаз и играют ключевую роль в процессах клеточной гибели (апоптоза и пироптоза), а также в индукции синтеза провоспалительных цитокинов [6]. Так как известно, что апоптоз может играть значительную роль в патогенезе невынашивания беременности ранних сроков [3], изучение особенностей экспрессии каспаз в эндометрии при неразвивающейся беременности и самопроизвольных выкидышах ранних сроков представляет существенный интерес.

Цель работы – установить особенности экспрессии иницирующих каспаз 8 и 9, эффекторной каспазы 3, а также каспазы 1, играющей роль в индукции пироптоза и активации провоспалительных цитокинов, у пациенток с неразвивающейся беременностью и самопроизвольными выкидышами ранних сроков.

Материалы и методы. Были обследованы 34 женщины с неразвивающейся беременностью (I группа) и 34 – с самопроизвольными выкидышами (II группа) на сроке 6-10 недель. Контрольную (III) группу

составили 57 пациенток, которым был произведен медицинский аборт на том же сроке беременности. Критериями исключения были наличие тяжелых экстрагенитальных заболеваний, эндокринных нарушений и антифосфолипидного синдрома, а также отказ пациентки от участия в исследовании.

Сбор материала производили с помощью выскабливания полости матки. Полученную ткань эндометрия помещали в консервирующий раствор RNAlater (“Ambion”, США). Выделение РНК, обратную транскрипцию и количественную полимеразную цепную реакцию проводили по ранее описанной методике [1]. Экстракцию РНК осуществляли методом фенол-хлороформной экстракции с использованием реагента Тризол (“Invitrogen”, США). Для проведения обратной транскрипции использовали набор Mint (“Евроген”, Россия). Для инициации реакции применяли олигодезоксинуклеотиды (oligoDT), синтезированные фирмой «Евроген». Реакцию обратной транскрипции проводили согласно инструкции производителя на амплификаторе «Терцик» («ДНК-технология», Россия).

Исследование экспрессии мРНК проводили с помощью количественной ПЦР согласно рекомендациям MIQE [2]. Подбор праймеров генов осуществлялся с помощью базы данных BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov). Была изучена экспрессия мРНК каспаз 1, 3, 8 и 9.

Для ПЦР в режиме реального времени использовали смесь qPCRmix-HS SYBR («Евроген», Россия). С помощью программы GeNorm-Plus (www.biogazelle.com) в качестве генов-нормировщиков были выбраны наиболее стабильно экспрессируемые – пептидилпролилизомераза А (PPIA) и бета-актин. Амплификацию проводили на амплификаторе «CFX96» («Biorad», США).

Полученные результаты выражали в относительных единицах (relative units), вычисляя их по формуле

$$R = 2^{-(Cq_{target} - (Cq_{ref1} + Cq_{ref2})/2)},$$

где R – нормализованная экспрессия мРНК исследованных генов, Cq target – Cq исследованного гена, Cq ref – Cq генов-нормировщиков [5].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы «Statistica 13.2» (Statsoft, США). Проверка нормальности распределения признаков проводилась с помощью критерия Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Так как результаты не подчинялись нормальному распределению, их представляли как медиану (нижний квартиль; верхний квартиль), достоверность различий оценивали с помощью критерия Манна-Уитни. Различия считали статистически достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты. Было установлено увеличение экспрессии каспаз как у пациенток с неразвивающейся беременностью, так и у женщин с самопроизвольными выкидышами.

В случае неразвивающейся беременности наблюдалось увеличение экспрессии мРНК каспазы 1 в 6,3 раза по сравнению с группой контроля (0,019 (0,003; 0,06) против 0,003 (0,0013; 0,0067) соответственно, $p = 0,002$).

Каспаза-1 индуцируется рецепторами системы врожденного иммунитета (NOD-подобными рецепторами, AIM2, IFI16), которые, в свою очередь, активируются компонентами вирусов и бактерий [4]. Активация каспазы приводит к выработке провоспалительных цитокинов – интерлейкина-1 и интерлейкина-18, а также индуцирует клеточную гибель путем пироптоза.

Также у пациенток с неразвивающейся беременностью было установлено увеличение уровня каспазы 9, инициирующей апоптоз по внутреннему (митохондриальному) пути, в 2 раза (0,01 (0,007; 0,051) против 0,005 (0,0017; 0,0095) в контроле, $p=0,01$). Экспрессия мРНК каспазы 8, являющейся инициирующей каспазой внешнего пути апоптоза, а также эффекторной каспазы 3 у пациенток с неразвивающейся беременностью не имела достоверных различий с группой контроля.

У пациенток с самопроизвольными выкидышами наблюдалось 25-кратное увеличение экспрессии мРНК каспазы 3 (0,01 (0,0009; 0,028)) по сравнению с группой контроля (0,0004 (0,00002; 0,0039), $p=0,003$), а также 5-кратное – по сравнению с группой пациенток с неразвивающейся беременностью (0,002 (0,00007; 0,0079), $p=0,03$). Экспрессия мРНК каспаз 1, 8 и 9 в эндометрии в группе с самопроизвольными выкидышами не имела достоверных различий и с группой контроля, и с группой с неразвивающейся беременностью.

Заключение. Таким образом, у пациенток с неразвивающейся беременностью наблюдается увеличение каспазы-1, индуцирующей воспалительный ответ и клеточную гибель путем пироптоза. Увеличение в эндометрии инициирующей каспазы-9 у пациенток данной группы, однако, не приводит к активации каскада апоптоза, так как уровень эффекторной каспазы 3 достоверно не увеличивается.

У пациенток с самопроизвольными выкидышами в эндометрии наблюдается достоверное увеличение уровня эффекторной каспазы 3 как по сравнению с контрольной группой, так и по сравнению с пациентками с неразвивающейся беременностью. Каспаза 3 является эффекторной каспазой, которая приводит к необратимому апоптозу. Это может играть существенную роль в патогенезе данного осложнения.

Благодарности. Исследование выполнено при поддержке гранта Президента РФ МД-2326.2017.7.

Список литературы

1. Лебедева О.П., Пахомов С.П., Ивашова О.Н., Старцева Н.Ю., Чурносоев М.И. и др. Сигнальные рецепторы врожденного иммунитета в индукции апоптоза при невынашивании беременности ранних сроков // Акушерство и гинекология. – 2015. – № 2. – С. 39-43.

2. Bustin S.A., Benes V., Garson J.A., Hellems J., Huggett J., Kubista M. et al. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments // Clinical chemistry. – 2009. – Т. 55. – №. 4. – С. 611-622.

3. *Cinar O., Kara F., Can A.* Potential role of decidual apoptosis in the pathogenesis of miscarriages // *Gynecological Endocrinology*. – 2012. – Т. 28. – №. 5. – С. 382-385.

4. *Pandey S., Kawai T., Akira S.* Microbial sensing by Toll-like receptors and intracellular nucleic acid sensors // *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. – 2015. – Т. 7. – № 1. – С. a016246.

5. *Pfaffl M.W.* Quantification strategies in real-time polymerase chain reaction // *Martin Filion, Hg., Quantitative real-time PCR in Applied Microbiology*. – 2012. – С. 53-62.

6. *Shalini S., Dorstyn L., Dawar S., Kumar S.* Old, new and emerging functions of caspases // *Cell Death and Differentiation*. – 2015. – Т. 22. – № 4. – С. 526-539.

ВОЗМОЖНОСТИ ДИАГНОСТИКИ ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИТА У ПАЦИЕНТОК С НАРУШЕНИЕМ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ

Лызикова Ю.А.

**Гомельский государственный медицинский университет
Кафедра акушерства и гинекологии
г. Гомель, Республика Беларусь**

Введение. В настоящее время отмечается высокая частота нарушения репродуктивной функции с тенденцией к возрастанию, что свидетельствует о диагностической, лечебной и социальной важности этой проблемы. Частота бесплодных браков среди супругов детородного возраста, по данным различных авторов, колеблется от 15 до 20% [2]. Нередко причиной нарушения репродуктивной способности женщин является хронический эндометрит, который встречается у 40-70% пациенток с бесплодием и привычным невынашиванием беременности [1]. Несмотря на то, что за последние десятилетия накоплено много знаний в области нарушений репродуктивной способности эндометрия при различных патологических состояниях, мы, тем не менее, далеки от осознания тонких регуляторных механизмов. Понимание их, возможно, и определит более высокую степень коррекции репродуктивной патологии [3, 4].

Основные результаты. Представлены результаты обследования 120 пациенток репродуктивного возраста. 80(66,67±4,3%) пациенток с патологией репродуктивной функции составили основную группу, 40(33,33±4,3%) пациенток без репродуктивных нарушений – контрольную группу. Среди пациенток с патологией репродуктивной функции у 50% выявлена аэробная инфекция половых органов (p=0,04), при этом в эндометрии ДНК микроорганизмов выявлена у 33% пациенток (0,02). У четверти пациенток основной группы в эндометрии выявлено сочетание ДНК *Streptococcus spp.* и *Staphylococcus spp.* (p=0,03). У 30 (37,50±5,4%) пациенток