

6. Lomonte C., Antonelli M., Losurdo N. et al. Cinacalcet is effective in relapses of secondary hyperparathyroidism after parathyroidectomy // *Nephrol. dial. transplant.* – 2007. – Vol. 22. – P. 2056–2062.
7. National kidney foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease // *Am. j. kidney. dis.* – 2003. – Vol. 42. – P. 1–202.
8. Schneider R., Kolios G., Koch B. M. et al. An economic comparison of surgical and medical therapy in patients with secondary hyperparathyroidism – the German perspective // *Surgery.* – 2010. – Vol. 148. – P. 1091–1099.
9. Shen W. T., Kebebew E., Suh I. et al. Two hundred and two consecutive operations for secondary hyperparathyroidism: has medical management changed the profiles of patients requiring parathyroidectomy? // *Surgery.* – 2009. – Vol. 146. № 2. – P. 296–299.
10. Silverberg S. J., Rubin M. R., Faiman C. et al. Cinacalcet hydrochloride reduces the serum calcium concentration in inoperable parathyroid carcinoma // *J. clin. endocrinol. metab.* – 2007. – Vol. 92. – P. 3803–3808.
11. Susan C. Pitt, Rebecca S. Sippel, Herbert Chen. Secondary and tertiary hyperparathyroidism, state of the art surgical management // *Surg. clin. north. am.* – 2009. – Vol. 89. № 5. – P. 1227–1239.
12. Thomas W. T. Ho, Todd P. McMullen. Secondary hyperparathyroidism presenting with vocal cord paralysis // *World journal of endocrine surgery.* – 2011. – № 3. – P. 122–124.
13. Tolga Özmen, Manuk Manukyan, Semiha Şen et al. Is three-gland-or-less parathyroidectomy a clinical failure for secondary hyperparathyroidism? // *Turkish journal of surgery.* – 2014. – Cilt30. – Sayı4. – Sayfa: 201–206 / DOI: 10. 5152/UCD. 2014. 2154.
14. Tominaga Y., Matsuoka S., Uno N., Sato T. Parathyroidectomy for secondary hyperparathyroidism in the era of calcimimetics // *Ther. apher. dial.* – 2008. – Vol. 12. Suppl. 1. – P. 21–26.
15. Wissam Saliba, Boutros El-Haddad. Secondary hyperparathyroidism: pathophysiology and treatment // *JABFM.* – September–october. 2009. – Vol. 22. № 5. – P. 574–581.
16. Yoshihiro tominaga current status of parathyroidectomy for secondary hyperparathyroidism in Japan // *NDT.* – 2008. – Vol. 1. Suppl. 3. – P. 35–38.

Поступила 14.01.2016

А. Ю. МУРАТОВА¹, Т. П. БОНДАРЬ¹, А. Х. КАДЕ², А. А. ВЛАСОВ¹

МАРКЕРЫ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН ПРИ ПОЛИМОРФИЗМЕ А2 ГЕНА ГЛИКОПРОТЕИНА РЕЦЕПТОРОВ ТРОМБОЦИТОВ IIB/IIIA

¹ Кафедра медицинской биохимии, клинической лабораторной диагностики и фармации Института живых систем ФГАОУ ВПО «Северо-Кавказский федеральный университет», Россия, 355000, г. Ставрополь, ул. Пушкина, 1, корпус 3; тел. +79624549042. E-mail: anna.murato@yandex.ru;

² кафедра общей и клинической патофизиологии ГБОУ ВПО «Кубанский медицинский университет» Минздрава России, Россия, 350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4; тел. +79882420477. E-mail: akh_kade@mail.ru

Изучена роль полиморфизма А2 гена гликопротеина рецепторов тромбоцитов IIB/IIIA в развитии системной эндотелиальной дисфункции у беременных женщин. У пациенток с полиморфизмом А2 отмечаются повышение уровня маркеров эндотелиальной дисфункции, увеличение выработки провоспалительных цитокинов, усиление свободнорадикальных реакций, снижение антиоксидантной активности. Особенно это выражено в группе женщин, имеющих полиморфизм P1^{A2}/P1^{A2}.

Ключевые слова: тромбофилия, дисфункция эндотелия, полиморфизм генов.

A. Y. MURATOVA¹, T. P. BONDAR¹, A. H. KADE², A. A. VLASOV¹

MARKERS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN PREGNANT WOMEN WITH THE A2 GENE POLYMORPHISM OF PLATELET GLYCOPROTEIN RECEPTORS IIB / IIIA

¹Department of medical biochemistry, clinical laboratory diagnostics and pharmacy living systems Institute FGAOU VPO «North Caucasian federal university», Russia, 355000, Stavropol, str. Pushkin 1, block 3; tel. +79624549042. E-mail: anna.murato@yandex.ru;

The role of gene polymorphism A2 receptors platelet glycoprotein IIb/IIIa in the development of systemic endothelial dysfunction in pregnant women. Patients A2 polymorphism observed increase in markers of endothelial dysfunction, increased production of pro-inflammatory cytokines, increased free-radical reactions, decreased antioxidant activity, especially in the group of women with the polymorphism P1^{A2}/P1^{A2}.

Key words: thrombophilia, endothelial dysfunction, gene polymorphism.

Введение

Генетические тромбофилии являются одним из инициирующих моментов развития таких типичных акушерских осложнений, как невынашивание беременности, синдром потери плода, задержка внутриутробного развития плода, гестоз, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты [4, 17].

Учитывая особенности физиологической адаптации системы гемостаза к беременности, абсолютное большинство генетических форм тромбофилии клинически проявляется именно в течение гестационного процесса. В этот период в организме женщины происходит перестройка свертывающей, противосвертывающей и фибринолитической систем, что приводит к увеличению содержания факторов свертывания крови на 200%. Кроме того, в III триместре наполовину снижается скорость кровотока в венах нижних конечностей из-за частичной механической обструкции беременной маткой венозного оттока. При физиологической беременности тенденция к развитию стаза в сочетании с гиперкоагуляцией предрасполагает к развитию тромбозов и тромбоемболий. Наличие у женщины генетической тромбофилии повышает риск тромботических и акушерских осложнений в десятки и сотни раз [4, 6].

В настоящее время установлено, что генетические anomalies гемостаза ответственны за развитие тромбозов в 80–90% случаев. Мутация Leiden является у 20% пациентов с тромбофилическими осложнениями, дефекты антикоагулянтной системы (дефицит антитромбина-III, дефицит протеина S, дефицит протеина C) – в 20% случаев, синдром липких тромбоцитов – в 14% случаев, а антифосфолипидный синдром – в 25% [4, 14].

Наследственные тромбоцитарные тромбофилии могут быть связаны с мутацией в гене гликопротеина IIb/IIIa (GP IIb/IIIa). Рецепторный комплекс GP IIb/IIIa является главным среди всех рецепторов тромбоцитов и входит в состав группы цитоадгезинов. Гены, кодирующие GP IIb/IIIa, располагаются в области 17-й хромосомы (q21.32) [8, 11].

В настоящее время в мировой литературе имеются противоречивые данные об ассоциации

наличия полиморфизма гена субъединиц рецепторов тромбоцитов GP IIb/IIIa с тромболитическими осложнениями в акушерской практике [4].

При действии на организм повреждающих факторов физической, химической, биологической природы формируются патологические системы. При этом в целом организме имеет место противодействие двух тенденций: с одной стороны, развитие патологии, приводящее к нарушению осуществления нормальных физиологических функций, с другой – включение компенсаторных процессов с формированием функциональных систем, направленных на ликвидацию патологии. Особенности формирования патологических систем подробно изучены [2].

Возникновение тромбофилических осложнений беременности и родов в настоящее время рассматривается с позиции развития синдрома полиорганной недостаточности, в основе которого лежит системная воспалительная реакция, характеризующаяся активированием макрофагов, нейтрофилов, эндотелиальных клеток, гранулоцитов и тромбоцитов [10]. Результатом престаимуляции макрофагов является повышение уровня цитокинов, которые являются связующим звеном между иммунной системой, факторами неспецифической резистентности организма, системами гемопоза и гемостаза, ангиогенезом. В ряде работ показано, что при тромбофилии развивается системная эндотелиальная дисфункция [5, 13, 15]. В качестве фактора, провоцирующего повреждение эндотелия, выступает оксидантный стресс, в результате которого происходит образование продуктов перекисного окисления липидов – свободных радикалов и атомарного кислорода [12, 16].

Цель настоящего исследования – проведение оценки метаболических и иммунных нарушений, активности про-, антиоксидантной системы у беременных женщин с наличием генетического полиморфизма A2 гена субъединиц рецепторов тромбоцитов гликопротеина IIb/IIIa.

Материалы и методы исследования

Обследовано 226 женщин в III триместре беременности, находящихся на лечении в акушерском отделении патологии беременности городской

больницы г. Ставрополя. Возраст пациенток колебался от 20 до 35 лет, в среднем $25,2 \pm 0,6$ года. Из них 59 имели различные акушерские осложнения, ассоциированные с тромбофилией, у 152 женщин беременность протекала без особенностей.

Взятие крови проводилось с согласия лечащего врача при соблюдении правил преаналитического этапа исследования [1].

Все обследованные были разделены на следующие группы:

I – женщины с физиологическим течением беременности, носительством нормального варианта гена субъединиц рецепторов тромбоцитов GP IIb/IIIa ($P1^{A1}/P1^{A1}$) ($n=128$) – контрольная группа;

II – здоровые беременные с гетерозиготным вариантом мутации ($P1^{A1}/P1^{A2}$) ($n=24$);

III – пациентки с тромбофилией и гетерозиготным полиморфизмом ($P1^{A1}/P1^{A2}$) ($n=35$);

IV – пациентки с тромбофилией и гомозиготным полиморфизмом $P1^{A2}/P1^{A2}$ ($n=39$).

Из исследования были исключены пациентки с другими подтвержденными мутациями генов системы гемостаза.

Определение генотипа по полиморфизму $P1^{A1}/P1^{A2}$ проводили амплификационно-рестрикционным методом. Выделение ДНК осуществляли сорбционным методом при помощи набора «ДНК-сорб Б». Амплификационные смеси готовили на основе универсального набора реактивов и препаратов для ПЦР «Ампли Сенс-200-1» производства ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора. Праймеры были синтезированы в ООО «Литех» в соответствии с последовательностями, описанными S. E. Bojesen et al., 2000 [9].

В качестве показателя, характеризующего состояние эндотелия сосудистой стенки, использовали уровень активности фактора Виллебранда (vWF). Определение уровней vWF проводили на анализаторе гемостаза «STA Compact» фирмы «Diagnostica Stago» (Франция) реактивами «vWF STA LIATEST» методом латекс-агглютинации с моноклональными антителами к фактору. Важным фактором, вызывающим повреждение эндотелия, является оксид азота (NO). Для его определения использовали тест-системы ЗАО «БиоХимМак» (R&D Systems, Total Nitric Oxide Assay). Уровень провоспалительных цитокинов интерлейкина-8 (ИЛ-8) и интерлейкина-6 (ИЛ-6) исследовали для оценки эффекторного влияния на эндотелий посредников системной активации гемостаза. Определение проводили иммуноферментным методом с использованием специфических антител и последующим измерением интенсивности окрашивания при длине волны 450 нм. В качестве маркеров оксидантного стресса использовали уровень малонового диальдегида (МДА). Исследование проводили в сыворотке крови методом K. Jagi, I. Nishigaki, H. Chama в реакции с ТБК и тромбоцитах методом J. Smith. Для определения уровня церулоплазмينا (ЦП) использовали метод, основанный на конкурентном иммуноферментном анализе, AssayMax Human Ceruloplasmin ELISA. Для оценки антиоксидантной работы системы использовали суммарную оценку антиоксидантной активности (АОА) на спектрофотометре СФ-46.

Гуморальные показатели беременных женщин

Показатели, единицы измерения	Группы беременных женщин			
	I (n=128)	II (n=24)	III (n=35)	IV (n=39)
МДА сыворотки, мкмоль/л	$3,29 \pm 0,15$	$3,31 \pm 0,24$	$5,17 \pm 0,28$ $p_1 < 0,001$	$6,91 \pm 0,37$ $p_1 < 0,001$
МДА Тр, мкмоль/10 ⁹ Тр	$1,82 \pm 0,09$	$2,61 \pm 0,19$ $p_1 < 0,001$	$3,7 \pm 0,16$ $p_1 < 0,001$	$5,5 \pm 0,29$ $p_1 < 0,001$
Нитриты, мкмоль/мл	$7,97 \pm 0,38$	$8,99 \pm 0,24$ $p_1 < 0,05$	$12,33 \pm 0,23$ $p_1 < 0,001$	$12,42 \pm 0,28$ $p_1 < 0,001$
АОА	$0,65 \pm 0,02$	$0,66 \pm 0,02$	$0,64 \pm 0,03$	$0,34 \pm 0,02$ $p_1 < 0,001$
Церулоплазмин, мг/дл	$14,53 \pm 0,22$	$15,1 \pm 0,21$	$12,41 \pm 0,25$ $p_1 < 0,01$	$10,11 \pm 0,24$ $p_1 < 0,001$
ИЛ 6, пг/мл	$6,21 \pm 0,17$	$7,33 \pm 0,11$ $p_1 < 0,01$	$10,62 \pm 0,24$ $p_1 < 0,001$	$12,31 \pm 0,25$ $p_1 < 0,001$
ИЛ 8, пг/мл	$5,42 \pm 0,18$	$6,15 \pm 0,12$ $p_1 < 0,05$	$9,37 \pm 0,25$ $p_1 < 0,001$	$11,62 \pm 0,24$ $p_1 < 0,001$
vWF, %	$112,6 \pm 2,34$	$116,9 \pm 2,54$	$148,7 \pm 2,73$ $p_1 < 0,001$	$212,6 \pm 2,27$ $p_1 < 0,001$

Примечание: p_1 – достоверность различий по сравнению с I группой пациенток.

Результаты исследования

Об изменениях в системе «свободнорадикальные реакции – антиоксиданты» у женщин мы судили по показателям МДА в сыворотке крови и тромбоцитах, ЦП и АОА.

Данные изменения метаболических показателей представлены в таблице.

При проведении сравнительного анализа данных выявлено, что у женщин без клинических проявлений тромбофилии (I и II группы) показатели не выходили за рамки референсных границ, однако у пациенток с гетерозиготным полиморфизмом выявлено достоверное повышение уровня МДА тромбоцитов ($p < 0,001$) – на 43,4%, нитритов ($p < 0,05$) – на 12,8%, ИЛ-6 – на 18% и ИЛ-8 – на 13,4% ($p < 0,01$ и $p < 0,05$ соответственно).

Проведя анализ данных пациенток с тромбофилией, мы констатировали усиление перекисных процессов в сыворотке и тромбоцитах у всех женщин в сравнении с показателями контрольной группы. В наибольшей степени был увеличен уровень МДА тромбоцитов в группе IV у женщин с гомозиготным вариантом полиморфизма (A2A2). В сравнении с I группой он возрос на 202%. Показатель МДА сыворотки был также увеличен в 2 раза. В группе III у женщин с тромбофилией и гетерозиготным полиморфизмом показатели МДА сыворотки и тромбоцитов были выше на 57% и 103% соответственно.

Известно, что избыточное образование NO вызывает прооксидантный эффект, нитрооксидативный стресс, повреждение мембран и апоптоз [3, 7].

У женщин с полиморфизмом A2 выявлены достоверные повышения уровней нитритов, но степень достоверности была различной. В III и IV группах у больных женщин с гетеро- и гомозиготным дефектом повышение составило 54,7% и 55,8% соответственно ($p < 0,001$). У здоровых пациенток с гетерозиготным дисморфизмом (группа II) также отмечено увеличение уровня нитритов до 8,99 мкмоль/мл ($p < 0,05$).

Показатель АОА достоверно измененным оказался только в IV группе пациенток (снижен на 47,6%), а церулоплазмин, который также обладает антиоксидантной активностью, достоверно снижался на 14,6% и 30,4% в группах III и IV у женщин с тромбофилией.

У пациенток с тромбофилией (группы III и IV) достоверно повышались уровни провоспалительных цитокинов ($p < 0,001$). В III группе женщин повышение ИЛ-6 и ИЛ-8 составило 71% и 72,8%, а в IV – 98,2% и 114% соответственно. У здоровых женщин с полиморфизмом A1A2 (группа II) также отмечено повышение уровней ИЛ-6 и ИЛ-8 на 18% и 13,4%, но степень достоверности была ниже.

Уровень vWF достоверно ($p < 0,001$) отличался только у пациенток с тромбофилией и дисморфизмом A2 (группы III и IV). Наибольшие изменения это-

го показателя отмечены у женщин IV группы. От показателя у женщин I группы он отличался на 88,8%.

Обсуждение

Полученный фактический материал свидетельствует о том, что у пациенток с тромбофилией и дисморфизмом A2 (группы III и IV) отмечаются повышение уровня маркеров эндотелиальной дисфункции, увеличение выработки провоспалительных цитокинов, усиление свободнорадикальных реакций, снижение АОА, что в совокупности свидетельствует о комплексном характере гуморальных расстройств.

О важной роли дефекта гена субъединиц рецепторов Tr GP IIb/IIIa в развитии эндотелиальной дисфункции свидетельствует тот факт, что наиболее выраженные изменения показателей наблюдались в группе IV у пациенток, имеющих гомозиготный полиморфизм этого гена.

Выявление достоверных изменений показателей у здоровых беременных женщин II группы показывает влияние дисморфизма A2 на развитие признаков эндотелиальной дисфункции даже без наличия клинических проявлений тромбофилии, что может свидетельствовать о высокой чувствительности этих показателей к наличию генетического дефекта.

Таким образом, показано, что наличие дисморфизма A2 гена субъединиц рецепторов тромбоцитов гликопротеина IIb/IIIa у беременных женщин приводит к дисфункции эндотелия, развитию воспаления и иммунных нарушений в организме беременных женщин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Клиническая лабораторная аналитика / Ред. В. В. Меньшиков. – Москва: Лаб. пресс, 2000. – Т. 3. – 383 с.
2. Крыжановский Г. Н. Основы общей патофизиологии. – М.: «Мед. информ. агентст.», 2011. – 253 с.
3. Малышев И. Ю., Манухина Е. Б. Стресс, адаптация и оксид азота // Биохимия. – 1998. – Т. 63. Вып. 7. – С. 992–1006.
4. Макацария А. Д., Бицадзе В. О. и др. Тромбозы и тромбоземболии в акушерско-гинекологической клинике: Молекулярно-генетические механизмы и стратегия профилактики тромбоземболических осложнений: Рук. для врачей. – М.: ООО «Мед. информ. агентст.», 2007. – 1064 с.
5. Мозговая Е. В., Малышева О. В., Иващенко Т. Э. и др. Эндотелиальная дисфункция при гестозе. Патогенез, генетическая предрасположенность, диагностика и профилактика. – С-Петербург: изд. Н-Л, 2005. – 32 с.
6. Муратова А. Ю., Бондарь Т. П. Влияние полиморфизма гена субъединиц рецепторов тромбоцитов гликопротеина IIb/IIIa на изменение показателей плазменного гемостаза в раннем послеродовом периоде // Фунд. иссл-я. – 2014. – № 7. Ч. 3. – С. 544–548.
7. Стокле Ж. К. и соавт. Гиперпродукция оксида азота в патофизиологии кровеносных сосудов // Биохимия. – 1998. – Т. 63. Вып. 7. – С. 976–983.

8. Хаспекова С. Г. и соавт. Вариации содержания гликопротеина IIb-IIIa (альфаIIb/бета3 интегрин) у здоровых доноров. Влияние на агрегационную активность тромбоцитов и эффективность действия аспирина // Биомедицинская химия: Научно-практический журнал. НИИ биомедицинской химии РАМН (Москва). – 2008. – Т. 54. № 3. – С. 361–371.

9. *Bojesen S. E., Juul K., Schnohr P. et al.* Platelet glycoprotein IIb/IIIa P1A2/ P1A2 homozygosity associated with risk of ischemic cardiovascular disease and myocardial infarction in young men // Journal of the American college of cardiology. – 2003. – V. 42. № 4. – P. 661–667.

10. *Broughton Pipkin F.* New approaches in terminology, prevention and therapy of hestosis: Book of abstracts, first international symposium. – Moscow, 1997. – P. 13–16.

11. *Frey U. H., Aral N., Muller N., Siffert W.* Cooperative effect of GNB3 825OT and GPIIIa PJ(A) polymorphisms in enhanced platelet aggregation // Thromb. res. – 2003. – № 109 (5–6). – P. 279–286.

12. *Jauniaux E., Poston L., Burton G. J.* Placental-related diseases of pregnancy: Involvement of oxidative stress and

implications in human evolution. – London: UK. Placenta, 2007. – Vol. 28. № 1. – P. 52–58.

13. *Jeffrey S. Gilbert.* Pathophysiology of hypertension during preeclampsia: Linking placental ischemia with endothelial dysfunction // Am. j. physiol. heart. circ. physiol. – 2008. – № 294. – P. 541–550.

14. *Levine J. S., Branch D. W., Rauch J.* The antiphospholipid syndrome // N. engl. j. med. – 2002. – № 346 (10). – P. 752–763.

15. *Mutter W. P., Karumanchi S. A.* Molecular mechanisms of preeclampsia // Microvasc. res. – 2008. – Vol. 75. № 1. – P. 1–8.

16. *Patil S. B., Kodliwadmth M. V., Kodliwadmth S. M.* Role of lipid peroxidation and enzymatic antioxidants in pregnancy-induced hypertension // Taiwan j. obstet. gynec. – 2006. – Vol. 45. № 3. Pt. 1. – P. 89–200.

17. *Preston F. et al.* Increased fetal loss in women with heritable thrombophilia // Lancet. – 1996. – № 348. – P. 913–916.

Поступила 05.11.2015

Ю. А. МЫЛЬНИКОВА, Е. О. БОЙКО, Л. Е. ЛОЖНИКОВА, О. Г. ЗАЙЦЕВА

КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ ПРЕДИКТОРОВ АУТОАГРЕССИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ У ЛИЦ ПРИЗЫВНОГО И ДОПРИЗЫВНОГО ВОЗРАСТА

*ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет»,
Россия, 350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4; тел. (861) 268-57-72. E-mail: m_julia@mail.ru*

Клиническим методом обследовано 200 юношей призывного и допризывного возраста с аутоагрессивным поведением в анамнезе. Выявлен комплекс клинико-психопатологических и социальных факторов, оказывающих влияние на вероятность возникновения аутоагрессивного поведения.

Ключевые слова: аутоагрессивное поведение, суицидальное поведение, лица призывного возраста, подростки, предикторы.

Y. A. MYLNIKOVA, E. O. BOYKO, L. E. LOZHNIKOVA, O. G. ZAYTCEVA

COMPREHENSIVE ANALYSIS OF CLINICAL AND SOCIAL FACTORS INFLUENCING THE EMERGENCE OF AUTOAGGRESSIVE BEHAVIOR IN OF MILITARY AGE

*Department of psychiatry Kuban state medical university,
Russia, 350063, Krasnodar, Sedin street, 4; tel. (861) 268-57-72. E-mail: m_julia@mail.ru*

Clinical method were used to examine 200 young men of draft age having autoagresstive actions in the anamnesis. It was revealed a complex clinical-psychopathological and social factors that influence the likelihood of autoaggressive behavior.

Key words: autoaggressive behavior; autodestructive behavior; suicide behavior; recruit, teenagers, predictors.