

<https://doi.org/10.23946/2500-0764-2019-4-3-22-26>

ПРОФИЛЬ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ У ЖЕНЩИН С НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТЬЮ

ОРДИЯНЦ И.М., БАРАБАШЕВА С.С.*, САВИЧЕВА А.М.

ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Министерства образования и науки Российской Федерации, г. Москва, Россия

Резюме

Цель. Определить роль органических кислот в патогенезе неразвивающейся беременности.

Материалы и методы. Были обследованы 2 группы пациенток (всего 30 женщин): основную группу составили 20 женщин с неразвивающейся беременностью (НБ), группу сравнения – 10 женщин с физиологически протекающей беременностью. Отбор всех образцов производился непосредственно при вакуумаспирации содержимого полости матки. После двукратного центрифугирования материала, отбора надсадка и его ультрафильтрации проводилось определение органических кислот методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Количественную оценку органических кислот проводили, сравнивая результаты анализа проб с внешними стандартами при 214 нм.

Результаты. У женщин основной группы в сыворотке крови и эндометрии концентра-

ция молочной кислоты составила $10,01 \pm 0,16$ и $8,28 \pm 0,20$ ммоль/л соответственно, что было достоверно выше, чем у женщин в группе сравнения ($8,16 \pm 0,24$ and $7,57 \pm 0,20$ ммоль/л). В основной группе в эндометрии были снижены концентрации пировиноградной кислоты более чем на 10 ммоль/л ($27,71 \pm 0,04$ ммоль/л), что также достоверно отличалось от группы сравнения ($34,1 \pm 0,40$ ммоль/л). Также у женщин с НБ определялась 4-гидроксифенилуксусная кислота, в то время как в группе сравнения она не определялась ни у одной женщины.

Заключение. Выявленные метаболические изменения могут играть важную роль в патофизиологических механизмах, лежащих в основе неразвивающейся беременности, и являться новыми биомаркерами гестационных потерь.

Ключевые слова: неразвивающаяся беременность, органические кислоты, метаболиты, цикл Кребса.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:

Ордыянц И.М., Барабашева С.С., Савичева А.М. Профиль органических кислот у женщин с неразвивающейся беременностью // *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2019. Т. 4, № 3. С. 22-26.

ORIGINAL RESEARCH

SERUM AND ENDOMETRIAL ORGANIC ACID PROFILE IN WOMEN WITH MISSED ABORTION

IRINA M. ORDİYANTS, SOFIA S. BARABASHEVA*, ANNA M. SAVICHEVA

Peoples' Friendship University of Russia (6, Miklukho-Maklaya Street, Moscow, 117198), Russian Federation

English ►

Abstract

Aim. To determine the role of organic acids in the pathogenesis of missed abortion.

Materials and Methods. To analyze the endometrial organic acid content, we applied high performance liquid chromatography. Sampling was

performed from 20 women with missed abortion and 10 patients with normal pregnancy utilising the vacuum aspiration. Following protein separation by means of double centrifugation and ultrafiltration, supernatant was profiled for the organic acids.

Results. Women who experienced missing abortion had significantly higher concentrations of serum and endometrial lactic acid concentrations (10.01 ± 0.16 and 8.28 ± 0.20 mmol/L, respectively) than those with healthy pregnancy (8.16 ± 0.24 and 7.57 ± 0.20 mmol/L, respectively). In contrast,

endometrial pyruvic acid level was lower in abortion group (27.71 ± 0.04 mmol/L) as compared to the controls (34.1 ± 0.40 mmol/L). Furthermore, *4-hydroxyphenylacetic acid* was found exclusively in women with missed abortion.

Conclusion. Changes in organic acid profile may play a major role in pathogenesis of missed abortion. Serum and endometrial *4-hydroxyphenylacetic acid* can be suggested as a novel biomarker of early pregnancy loss.

Keywords: missed abortion, organic acids, metabolites, citric acid cycle.

Conflict of Interest: the authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

For citation:

Irina M. Ordiyants, Sofia S. Barabasheva, Anna M. Savicheva. Serum and endometrial organic acid profile in women with missed abortion. *Fundamental and Clinical Medicine*. 2019; 4 (3): 22-26.

Введение

Невынашивание беременности (НБ) – не только медицинская, но и социальная проблема, что особенно актуально в настоящее время, когда происходит снижение естественного прироста населения. Поистине «черным ящиком» потерянных гестаций следует считать НБ [1].

НБ – патологический симптомокомплекс, включающий нежизнеспособность плода (эмбриона), патологическую инертность миометрия и нарушения в системе гемостаза.

По оценкам различных авторов, до 26% всех беременностей заканчиваются самопроизвольным выкидышем и до 10% из них диагностируются как НБ. Более того, 80% ранних выкидышей происходит в первом триместре [2]. По мнению В.Е. Радзинского (2015), каждая пятая желанная беременность примерно в равной пропорции завершается самопроизвольным абортom или останавливается в развитии [1].

Нет единого предиктора к развитию НБ. Причины и механизмы НБ очень сложны и тесно связаны с иммунной функцией, инфекционным фактором, наследственностью, эндокринными заболеваниями, заболеваниями органов малого таза, образом жизни, окружающей средой и другими факторами. У 40-50% беременных точная причина замиранья беременности не установлена [1,2].

В последние годы при обсуждении генеза большинства акушерских осложнений особое внимание уделяют протеомным и метаболомным факторам, которые являются наименее изученными и могут создать новые возможности для рас-

ширения представлений о патогенезе замиранья беременности на ранних сроках [3], что и послужило основой для выбора цели нашего исследования.

Цель исследования

Определить роль органических кислот в патогенезе неразвивающейся беременности.

Материалы и методы

Было обследовано 30 женщин, которые сформировали 2 группы: I основную группу составили 20 женщин с НБ, II группу сравнения – женщины с физиологически протекающей беременностью, обратившиеся за искусственным абортom.

Критерии включения: женщины репродуктивного возраста с НБ, подтвержденной ультразвуковым исследованием (УЗИ).

Критерии исключения из исследования: наличие онкологических заболеваний, пороки развития органов малого таза, антифосфолипидный синдром (АФС) и системные заболевания.

Всем женщинам определяли органические кислоты в сыворотке крови и эндометрии методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Отбор всех образцов производился непосредственно при вакуумаспирации содержимого полости матки. После забора материал сразу центрифугировали, отделяя сыворотку с плазмой и ткань эндометрия. Пробы хранили при -70° C до анализа. В день анализа образцы размораживали, энергично встряхивали с помо-

щью встряхивателя Vortex в течение 10 сек. Выпавшие в осадок белки удаляли центрифугированием (10000g, 15 мин). Супернатант отбирали и готовили для дальнейшей работы. Для проведения исследования применяли высокоочищенные реактивы (analytical grade) и воду очищенную Milli-Q, Milli-RO ("Millipore", США). Образец сыворотки и ткани эндометрия разводились эквивалентным количеством буфера, содержащим 5 мМ K_2HPO_4 , 25 мМ KH_2PO_4 , pH 3,5, белки отделяли фильтрованием через фильтр UltrafreeR-MC 10,000 NMWL Filter Units, 20 мкл ультрафильтра были анализированы в хроматографе ВЭЖХ ("Shimadzu" Япония) на колонке Multospher SAX-5 мкм. В качестве элюирующего раствора использовали буфер, содержащий 5мМ KH_2PO_4 , 25 мМ KH_2PO_4 , pH 3,5. Количественную оценку органических кислот проводили, сравнивая результаты анализа проб с внешними стандартами при 214 нм.

Проанализированы достоверно значимые органические кислоты в сыворотке крови и эндометрии, связанные с нарушениями обмена жирных кислот, аминокислот, а также являющиеся промежуточными метаболитами в цикле Кребса.

Статистический анализ полученных данных выполнен с помощью пакета модулей STATISTICA® for Windows, Release 6.0 компании StatSoft®Inc., США (2003), серийный номер AXAR802D898511FA. При сравнении количественных признаков двух независимых групп использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Оценка статистической значимости частотных различий в двух независимых

группах осуществлялась при помощи критерия Пирсона χ^2 и точного критерия Фишера. При проверке нулевых гипотез критическое значение уровня статистической значимости принималось равным 0,05.

Результаты

Большая часть обследованных женщин основной группы находилась в активном репродуктивном возрасте – их средний возраст составил $29,8 \pm 5,8$ лет. Средний возраст женщин группы сравнения был несколько ниже и составил $24,3 \pm 3,7$ лет. По соматическому и акушерскому анамнезу группы были сопоставимы.

При исследовании сыворотки крови не определялись в обеих группах десять органических кислот: этилмалоновая, мевалоновая, 2-гидроксиизокапроновая, фенилмолочная, 2-метил-3-гидроксиасляная, 3-метилглутаровая, себациновая, сукциновая, N-ацетиласпартамовая и 3-гидрокси-3-метилглутаровая кислоты.

Были выявлены в сыворотке крови, но не имели достоверно значимых различий в исследуемых группах изовалериановая, адипиновая и глутаровая кислоты. В сравниваемых группах достоверно значимые различия имели молочная, пировиноградная, гиппуровая, гидроксифенилмолочная, 4-гидроксифенилуксусная и 4-гидроксифенилпировиноградная кислоты (таблица 1).

При исследовании аналогичных показателей в эндометрии не определялись ни в одной из исследуемых групп девять органических кислот: 3-гидрокси-3-метилглутаровая, этилмалоновая, 2-гидроксиизокапроновая, фенилмолочная, 2-ме-

Таблица 1.

Органические кислоты в сыворотке крови.

Table 1.
Serum organic acid content.

Органические кислоты в сыворотке крови <i>Serum organic acids</i>	I группа (ммоль/л) <i>Patients with missing abortion (mmol/L)</i>	II группа (ммоль/л) <i>Patients with healthy pregnancy (mmol/L)</i>	P
Изовалериановая <i>Isovaleric acid</i>	0,18 ± 0,30	0,18 ± 1,20	p = 0,106
Адипиновая <i>Adipic acid</i>	0,10 ± 0,30	0,24 ± 0,50	p = 0,101
Глутаровая <i>Glutaric acid</i>	0,41 ± 0,30	0,03 ± 0,90	p = 0,121
Молочная <i>Lactic acid</i>	10,01 ± 0,16	8,16 ± 0,24	p = 0,05
Пировиноградная <i>Pyruvic acid</i>	27,71 ± 0,04	34,1 ± 0,40	p = 0,051
Гиппуровая <i>Hippuric acid</i>	0,19 ± 0,80	0,23 ± 0,90	p = 0,052
Гидроксифенилмолочная <i>Hydroxyphenyllactic acid</i>	0,11 ± 0,40	0,17 ± 0,20	p = 0,051
4-гидроксифенилуксусная <i>4-hydroxyphenylacetic acid</i>	0,06 ± 0,30	0,00 ± 0,00	p = 0,051
4-гидроксифенилпировиноградная <i>4-hydroxyphenylpyruvic acid</i>	0,14 ± 0,70	0,17 ± 0,20	p = 0,002

Органические кислоты в эндометрии <i>Endometrial organic acids</i>	I группа (ммоль/л) <i>Patients with missing abortion (mmol/L)</i>	II группа (ммоль/л) <i>Patients with healthy pregnancy (mmol/L)</i>	P
Глутаровая <i>Glutaric acid</i>	0,41 ± 0,30	0,03 ± 0,90	p = 0,121
Адипиновая <i>Adipic acid</i>	0,15 ± 0,30	0,17 ± 0,50	p = 0,201
Изовалериановая <i>Isovaleric acid</i>	0,12 ± 0,60	0,28 ± 6,20	p = 0,126
Гидроксифенилмолочная <i>Hydroxyphenyllactic acid</i>	0,08 ± 0,40	0,05 ± 0,20	p = 0,122
4-гидроксифенилпировиноградная <i>4-hydroxyphenylpyruvic acid</i>	0,04 ± 0,70	0,10 ± 0,20	p = 0,131
Мевалоновая <i>Mevalonic acid</i>	0,005 ± 0,20	0,025 ± 0,20	p = 0,112
Молочная <i>Lactic acid</i>	8,28 ± 0,20	7,57 ± 0,20	p = 0,05
Пировиноградная <i>Pyruvic acid</i>	23,72 ± 0,90	24,60 ± 0,80	p = 0,05
4-гидроксифенилуксусная <i>4-hydroxyphenylacetic acid</i>	0,08 ± 0,30	0,00 ± 0,00	p = 0,05
Гиппуровая <i>Hippuric acid</i>	0,19 ± 0,70	0,13 ± 0,90	p = 0,03

Таблица 2.

Органические кислоты в эндометрии.

Table 2.

Endometrial organic acid content.

тил-3-гидроксимасляная, 3-метилглутаровая, себациновая, сукциновая и N-ацетиласпартамовая кислоты.

Не имели достоверных различий содержание глутаровой, адипиновой, изовалериановой, гидроксифенилмолочной, 4-гидроксифенилпировиноградной и мевалоновой кислот. Достоверно значимые различия имели молочная, пировиноградная, 4-гидроксифенилуксусная и гиппуровая кислоты (таблица 2).

Обсуждение

Мы обнаружили достоверно значимые изменения в профиле органических кислот у женщин с НБ, в сравнении с контрольной группой. Увеличение концентрации молочной кислоты может указывать на повышение ее выработки при сниженном клиренсе, на нарушение оксигенации тканей, ишемию и повышение выработки пировиноградной кислоты, являющейся ключевым этапом метаболизма [4].

Соотношение лактат/пируват является показателем окислительно-восстановительного равновесия в клетке, и сдвиг может быть следствием окислительного стресса, дефекта пируватдегидрогеназного комплекса (ПДК), при котором реакция превращения лактата в пируват не пройдет и лактат будет накапливаться. По данным литературы, в крови здоровых людей величина отношения пируват/лактат равна в среднем 10 (9,3 – 14,3), а ее изменение указывает на нарушение нормального метаболизма [5], что мы и увидели у женщин с НБ.

Учитывая то, что ишемия не ограничивается с патобиохимической точки зрения только ги-

поксией, а является и нарушением поставки питательных субстратов окисления, в частности, глюкозы, органические кислоты, образующиеся в результате протеолиза собственных белков, являются основной альтернативой для получения энергии в ходе катаболизма. Они теряют аминогруппы, превращаются в кетокислоты и вливаются в пути распада или через пируват, или через промежуточные продукты цикла Кребса.

4-гидроксифенилуксусная кислота является промежуточным продуктом распада в организме человека незаменимой ароматической аминокислоты – фенилаланина, который при окислении превращается в тирозин, являющийся заменимой аминокислотой, участвующей в синтезе белка, в образовании гормонов щитовидной железы, катехоламинов, меланина. В результате нарушения превращения фенилаланина в тирозин образуется дефицит тирозина, дефицит катехоламинов, гормонов щитовидной железы, меланина. Большие концентрации фенилаланина ограничивают транспорт тирозина и триптофана через гематоэнцефалический барьер и тормозят синтез нейромедиаторов. На возможное нарушение превращения фенилаланина в тирозин могут указывать достоверно значимые изменения в концентрациях гиппуровой, гидроксифенилмолочной и 4-гидроксифенилпировиноградной кислот, которые также являются их промежуточными соединениями в процессе катаболизма. Обращает на себя внимание то, что 4-гидроксифенилуксусная кислота определялась только у женщин с НБ.

На нарушение рецептивности эндометрия может указывать определение мевалоновой кисло-

ты, которая была определена только в эндометрии у исследуемых женщин. Это один из ключевых метаболитов в цикле Кребса, предшественник стероидов.

Особо важным для клинициста должно быть понимание того, что в этих условиях возврат к нормальному метаболизму практически невозможен, что, вероятно, и объясняет отсутствие эффективных способов профилактики гестационных потерь на ранних сроках.

Заключение

Исходя из результатов нашего исследования, мы можем предположить, что в основе НБ лежат

детерминанты нарушенного метаболизма организма – определение 4-гидроксифенилуксусной кислоты, повышенные уровни молочной кислоты и нарушение соотношения ее с пировиноградной кислотой могут играть важную роль в патобиохимических механизмах, лежащих в основе прерывания беременности, и являться новыми биомаркерами гестационных потерь.

Источник финансирования

Данная работа не имела источников финансирования.

Funding

There was no funding for this project.

Литература / References:

1. *Неразвивающаяся беременность*. Под ред. Радзинского В.Е. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2016. [Nerazvivayushchayasya beremennost'. Radzinski E, eds. 2-nd ed., revised and supplemented with new information. Moscow: GEOTAR-MediaPubl; 2015. (In Russ.).]
2. Dugas C, Gossman WG. Miscarriage. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2018. Accessed Jan 11 2019. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532992>
3. Liu X, Wang X, Sun H, Guo Z, Liu X, Yuan T, Fu Y, Tang X, Li J, Sun W, Zhao W. Urinary metabolic variation analysis during pregnancy and application in Gestational Diabetes Mellitus and spontaneous abortion biomarker discovery. *Sci Rep*. 2019;9(1):2605. DOI:10.1038/s41598-019-39259-2
4. Ilias I, Apollonatu S, Nikitas N, Theodorakopoulou M, Vassiliou AG, Kotanidou A, Dimopoulou I. Microdialysis-Assessed Adipose Tissue Metabolism, Circulating Cytokines and Outcome in Critical Illness. *Metabolites*. 2018;8(4):62. DOI:10.3390/metabo8040062
5. Xing H, Luo Y, Wang S. Effects of Negative Emotions and Life Events on Women's Missed Miscarriage. *Iran J Public Health*. 2018;47(2):219-224.

Сведения об авторах

Ордянец Ирина Михайловна, доктор медицинских наук, профессор, кафедра акушерства и гинекологии с курсом перинатологии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Министерства образования и науки Российской Федерации, г. Москва, Россия.

Вклад в статью: концепция, дизайн исследования.
ORCID: 0000-0001-5882-9995

Барабашева Софья Сергеевна, аспирант кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Министерства образования и науки Российской Федерации, г. Москва, Россия.

Вклад в статью: анализ литературы, написание статьи.
ORCID: 0000-0003-4348-5987

Савичева Анна Михайловна, аспирант кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Министерства образования и науки Российской Федерации, г. Москва, Россия.

Вклад в статью: дизайн исследования, анализ литературы.
ORCID: 0000-0003-4348-5987

Корреспонденцию адресовать:

Барабашева Софья Сергеевна
127282, г. Москва, Заревый проезд, д. 10
E-mail: vorkina@list.ru

Authors

Dr. Irina M. Ordyanants, MD, DSc, Professor, Department of Obstetrics, Gynecology, and Maternal-Fetal Medicine, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation.

Contribution: conceived and designed the study.
ORCID: 0000-0001-5882-9995

Dr. Sofia S. Barabasheva, MD, PhD Student, Department of Obstetrics, Gynecology, and Maternal-Fetal Medicine, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation.

Contribution: performed the literature analysis; wrote the manuscript.
ORCID: 0000-0003-4348-5987

Dr. Anna M. Savicheva, MD, PhD Student, Department of Obstetrics, Gynecology, and Maternal-Fetal Medicine, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation.

Contribution: designed the study; performed the literature analysis.
ORCID: 0000-0003-4348-5987

Corresponding author:

Sofya S. Barabasheva
10, Zarevyi Proezd, Moscow, 127282, Russian Federation
E-mail: vorkina@list.ru

Статья поступила: 05.07.2019 г.

Принята в печать: 31.08.2019 г.

Received: 05.07.2019

Accepted: 31.08.2019