

<https://doi.org/10.34883/PI.2023.13.3.004>



Керменбаева А.Ж.¹, Шоонаева Н.Дж.¹ , Молдоканова М.Т.²

¹ Кыргызский научный центр репродукции человека, Бишкек, Кыргызстан

² Международная высшая школа медицины, Бишкек, Кыргызстан

Эндогенная интоксикация и формирование микроядер в клетках при спаечных процессах в малом тазу у женщин

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: обоснование концепции исследования, проведение сравнительного анализа, обобщение и интерпретация результатов, формулировка выводов, разработка дизайна обзорно-аналитического исследования, консультация по определенным вопросам – Керменбаева А.Ж.; анализ, обобщение и сбор данных литературы, сбор и систематизация данных, разработка дизайна исследования – Шоонаева Н.Дж.; пробоподготовка образцов, проведение инструментальных исследований, анализ и систематизация данных, сбор и систематизация данных клинических исследований, оформление рукописи, работа с графическим материалом, редактирование и переработка рукописи – Молдоканова М.Т.

Подана: 27.04.2023

Принята: 05.06.2023

Контакты: argenalymkulov24@gmail.com

Резюме

В работе представлены данные оценки эндогенной интоксикации и формирования микроядер в клетках у женщин репродуктивного возраста при развитии спаечного процесса в малом тазу. Показано, что развитие эндогенной интоксикации обусловлено деградацией белков, накоплением в плазме крови среднемолекулярных пептидов и активацией фосфолипазы, а также увеличением количества клеток с микроядрами в буккальном эпителии, отражающим стадию спаечного процесса и генетическую предрасположенность части женщин к образованию спаек при воспалении и оперативных вмешательствах на органах малого таза.

Ключевые слова: женщины, спаечный процесс в малом тазу, эндогенная интоксикация, среднемолекулярные пептиды, фосфолипаза, микроядра

Kermenbaeva A.¹, Shoonaeва N.¹ ✉, Moldokanova M.²

¹ Kyrgyz Scientific Center for Human Reproduction, Bishkek, Kyrgyzstan

² International Higher School of Medicine, Bishkek, Kyrgyzstan

Endogenous Intoxication and Formation of Micronuclei in Cells in Pelvic Adhesion in Women

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: substantiation of the concept of the study, conducting a comparative analysis, generalization and interpretation of the outcomes, formulation of conclusions, development of the design of a review and analytical research, consultation on certain issues – Kermenbaeva A.; analysis, generalization and collection of bibliographic data, collection and systematization of data, development of the study design – Shoonaeва N.; sample preparation, instrumental studies, data analysis and systematization, collection and systematization of clinical trial data, manuscript design, work with graphic material, editing and revision of the manuscript – Moldokanova M.

Submitted: 27.04.2023

Accepted: 05.06.2023

Contacts: argenalmkulov24@gmail.com

Abstract

The paper presents data on the assessment of endogenous intoxication and the formation of micronuclei in cells in women of reproductive age with the development of pelvic adhesions. It has been shown that the development of endogenous intoxication is due to the degradation of proteins and the accumulation of medium-molecular peptides in the blood plasma and the activation of phospholipase, as well as an increase in the number of cells with micronuclei in the buccal epithelium, reflecting the stage of the adhesive process and the genetic predisposition of some women to the formation of adhesions during inflammation and surgical interventions in the pelvic organs.

Keywords: women, pelvic adhesion, endogenous intoxication, medium-molecular peptides, phospholipase, micronuclei

■ ВВЕДЕНИЕ

Наибольший удельный вес (до 60–70%) в структуре женского бесплодия принадлежит трубно-перитонеальному фактору, основной причиной которого является спаечный процесс в малом тазу [1, 3, 6, 12]. Формирование спаек в малом тазу у женщин осуществляется вследствие хронически текущих заболеваний матки, придатков, оперативных вмешательств и других причин [2, 8]. При этом происходит системное снижение защитных механизмов, ишемия тканей и клеток. Эндогенная интоксикация в той или иной степени является неотъемлемой частью воспалительного процесса в органах, при этом в биологических жидкостях и тканях накапливаются продукты нарушенного обмена веществ, вызывающие дисфункцию органов и систем [5, 10, 11].

К таким продуктам деградации белков относятся среднемолекулярные пептиды (СМП) с молекулярной массой 300–5000 дальтон. СМП оказывают влияние на жизнедеятельность всех органов и систем, так как по строению близки к регуляторным пептидам. СМП способны соединяться и блокировать рецепторы любой клетки, неадекватно влиять на ее метаболизм и функции. Показателем эндотоксикоза может

являться и активность некоторых ферментов, в частности фосфолипазы, субстратом для которой являются фосфолипиды клеточных мембран. После гидролиза и отщепления от фосфолипидов свободных жирных кислот образуются медиаторы широкого спектра клеточных продуктов провоспалительного характера [7].

Другим немаловажным аспектом развития спаечного процесса является наличие генетической предрасположенности у определенного числа женщин. В исследованиях некоторых авторов [9, 16] показано, что клетки с микроядрами (МЯ) могут явиться одним из маркеров патологических процессов в организме человека. Сам механизм образования МЯ говорит о снижении жизнедеятельности этих клеток в результате нарушения их функционирования посредством активизации апоптоза, а также о возможном наличии повреждения хромосом [13].

Ограниченность сведений о развитии механизмов эндогенной интоксикации и образовании МЯ в клетках определила необходимость настоящих исследований.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка эндогенной интоксикации по концентрации СМП и активности фосфолипазы в крови и формирования МЯ в клетках буккального эпителия при спаечных процессах в малом тазу у женщин.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования явились 159 женщин репродуктивного возраста, которые были подразделены на контрольную и клиническую группы. Контрольную группу составили 20 здоровых женщин (1-я группа). Клиническая группа состояла из 139 женщин, из которых 36 женщин – с хроническими воспалительными процессами в придатках (сальпингоофорит), без развития спаечного процесса (2-я группа); 28 женщин – с 1-й стадией спаечного процесса (3-я группа); 44 женщины – со 2-й стадией спаечного процесса (4-я группа); 22 женщины – с 3-й стадией спаечного процесса (5-я группа); 8 женщин – с 4-й стадией спаечного процесса (6-я группа).

Диагноз женщин клинической группы верифицировался на основании ультразвукового исследования органов малого таза, гистеросальпингографии, диагностической лапароскопии, при которой устанавливали распространенность спаек на придатках матки.

Определение концентрации СМП в плазме крови проводилось спектрофотометрическим методом [4] и основывалось на детекции плазмы крови, освобожденной от грубодисперсных белков при помощи 10% раствора трихлоруксусной кислоты, разведенного дистиллированной водой. Определение активности фосфолипазы осуществлялось методом токсического гемолиза красных клеток крови при инкубации их раствором стандартного препарата яичного лецитина. Определение МЯ в буккальном эпителии проводилось по методу P.E. Tolbert, C.M. Shy, J.M. Allen (1992) [14].

Материал обработан методом вариационной статистики на персональном компьютере в электронных таблицах Microsoft Office Windows 95 с использованием пакета статистической программы Statistica 6.0, достоверность различий показателей оценивалась с использованием критерия Стьюдента. Код достоверности: при $P=95\%$, или $P<0,05$; при $P=99\%$, или $P<0,01$; при $P=99,9\%$, или $P<0,001$.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из данных рис. 1, динамика концентрации СМП в крови имеет нарастающий характер по мере повышения воспаления и стадии спаечного процесса в малом тазу. Если значения между контрольной и первыми 3 клиническими группами не достигают достоверных показателей ($P>0,05$), то при 3-й стадии развития спаек показатель СМП достоверно повышается по отношению как к значению контрольной группы ($P<0,01$), так и к показателям 2-й и 3-й клинических групп ($P<0,05$). Относительно показателя при 4-й стадии развития спаек достоверного увеличения не отмечается ($P>0,05$). При 4-й стадии развития спаек концентрация СМП имеет максимальное значение относительно первых 3 групп исследования ($P<0,05$ – $<0,01$).

Активность фосфолипазы в крови (рис. 2) увеличивается, начиная с периода воспаления придатков матки, по сравнению с контрольным значением ($P<0,05$). По мере развития спаечного процесса активность фосфолипазы на 1-й стадии достигает значения $21,1\pm 2,63$ ($P<0,05$), а на 2-й стадии повышается в 2 раза по сравнению с контролем ($P<0,01$). При 3-й и 4-й стадиях развития спаечного процесса активность фосфолипазы увеличивается в 3 раза ($P<0,001$) по сравнению с контрольным значением, а также имеет достоверное значение по сравнению с показателями 1–3-й клинических групп ($P<0,01$ – $<0,001$).

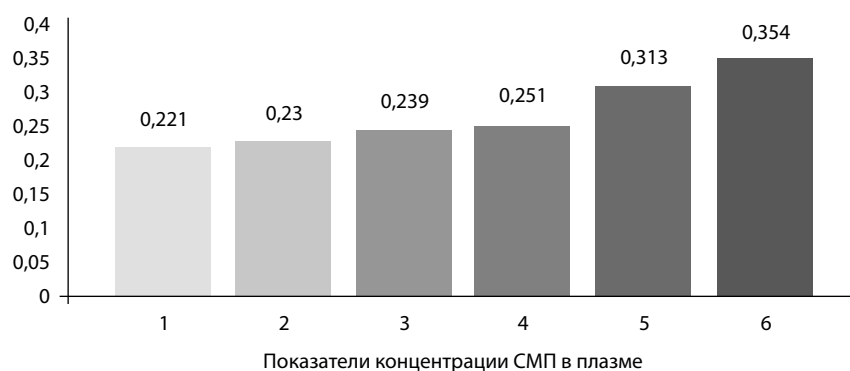


Рис. 1. Показатели концентрации СМП в плазме крови у обследованных женщин
Fig. 1. Plasma medium molecular peptide concentrations in women surveyed

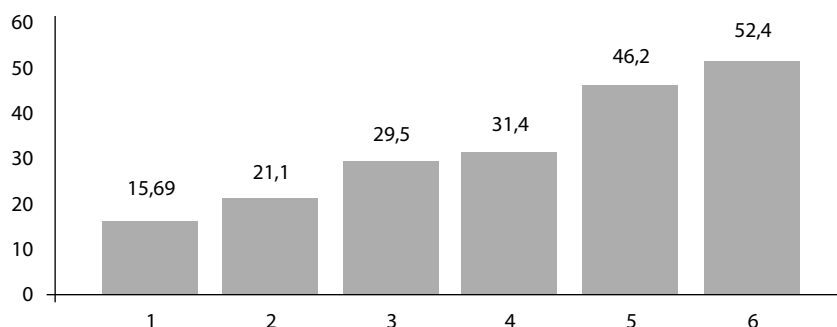


Рис. 2. Показатели активности фосфолипазы в крови у обследованных женщин
Fig. 2. Blood phospholipase activity of screened women



Другим патофизиологическим аспектом развития спаечного процесса в малом тазу может явиться процесс формирования МЯ в клетках. Механизм образования МЯ связан с жизнеспособностью клеток вследствие активизации апоптоза. Для регистрации различных цитогенетических нарушений в организме человека самыми доступными и удобными являются эпителиоидные клетки ротовой полости из-за возможности получения достаточного количества материала, проведения множества исследований и нетравматичности получения клеток. Основным механизмом образования МЯ является фрагментация хромосом [15].

Как видно из данных рис. 3, если частота клеток, содержащих МЯ, в контрольной группе составляет $0,34 \pm 0,022$, то во 2-й клинической группе показатель равен $0,48 \pm 0,017$ ($P < 0,05$). При развитии спаечного процесса значение частоты клеток с МЯ имеет тенденцию к дальнейшему увеличению. Так, у женщин 3-й группы этот показатель достигает $0,51 \pm 0,025$, что достоверно относительно контроля ($P < 0,05$). При 2-й стадии развития спаек (4-я группа) частота клеток с МЯ составляет $0,54 \pm 0,03$, что также достоверно относительно контрольного показателя ($P < 0,05$), но не имеет значимости по отношению к показателям 2-й и 3-й групп ($P > 0,05$). В 5-й и 6-й группах женщин показатель МЯ составил $0,61 \pm 0,032$ и $0,63 \pm 0,037$ соответственно, что достоверно по сравнению с 1–3-й анализируемыми группами ($P < 0,05$ – $0,01$).

Анализ частоты клеток с МЯ в обследуемых группах показал, что в контрольной группе диапазон колебаний клеток с МЯ составил от 0,3 до 0,37. При этом популяционные колебания составляют от 0,2 до 0,5. Во 2-й группе у 84% женщин индивидуальные показатели не выходили за пределы индивидуальных значений. В 3-й группе это процентное отношение составило 63%, а в 4-й группе – 46%. У женщин 5-й и 6-й групп во всех случаях индивидуальные колебания частоты клеток с МЯ выходили за пределы индивидуальных колебаний.

Следовательно, при развитии спаечного процесса в малом тазу у женщин происходит накопление в крови продуктов деградации белков и активации деструктивных ферментов, составляющих основу эндогенной интоксикации в организме. Причем эти процессы изменяются в зависимости от стадии выраженности спаек. К причинно-следственным и патогенетическим механизмам этих изменений следует отнести длительную тканевую гипоксию, микроциркуляторные изменения в органах, иммунологические реакции, участие клеточных механизмов воспаления. Активация

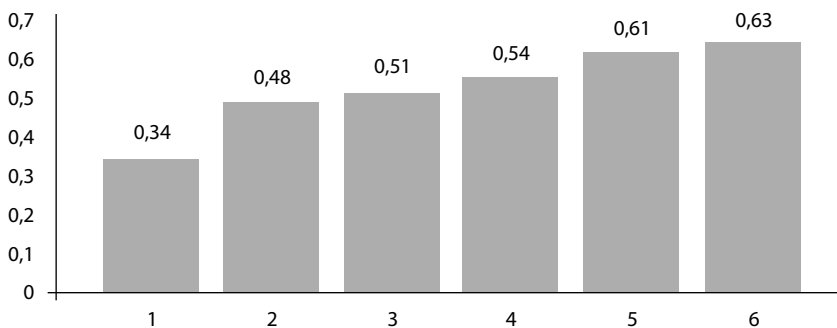


Рис. 3. Частота клеток с МЯ у обследованных женщин
Fig. 3. Frequency of cells with micronuclei in screened women

фосфолипазы приводит к нарушению морфофункционального состояния клеточных мембран, преимущественно фосфолипидного матрикса, с изменением биосинтеза липидного слоя. Так как точкой приложения действия фосфолипазы являются жирно-кислотные составляющие липидной структуры клеток, то это приводит к повышению проницаемости клеточных мембран, нарушению транспорта ионов и модификации рецепторов белков.

Другим аспектом формирования спаечного процесса в малом тазу у женщин является влияние на эксфолиативный эпителий с образованием МЯ. Повышенное образование МЯ свидетельствует о снижении жизнедеятельности этих клеток, что является маркером активизации апоптоза, а также генетической предрасположенности части женщин к спаечным процессам. Следует отметить, что нарушение митотического деления влечет за собой потерю части генетического материала. Развитие спаечного процесса, с одной стороны, видимо, обусловлено тем, что иммунная система уже не элиминирует поврежденные клетки, а с другой – уровень повреждения генома женщин при прогрессировании спаечного процесса становится более заметным, что приводит к включению механизмов апоптоза клеток.

■ ВЫВОДЫ

1. Эндогенная интоксикация является одним из важных патогенетических звеньев развития спаечного процесса в малом тазу у женщин и обусловлена увеличением концентрации в крови СМП и активности фосфолипазы.
2. Повышенное формирование МЯ в клетках буккального эпителия свидетельствует о развитии механизмов апоптоза и возможной генетической предрасположенности к появлению спаечного процесса при оперативных вмешательствах и воспалении органов малого таза у женщин.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Azarova A.Z. Improving the Diagnosis and Rehabilitation of Women with Adhesions Process in the Small Pelvis [Dissertation Abstract]. Bishkek; 2006. p. 22.
2. Baranov AN, Istomina NG. *Ectopic pregnancy: guidelines*. SPb.: Publishing house N-L; 2010. (in Russian)
3. Burlev VA, Dubinskaia ED, Gasparov AS. Peritoneal adhesions: from pathogenesis to prevention. *Reproduction problems*. 2009;15(3):36–44. (in Russian)
4. Gabrielyan NI, Lipatova VI. Experience in using the indicator of average blood molecules for diagnosing nephrological diseases in children. *Lab. case*. 1984;3(138):40. (in Russian)
5. Dalgic T., Oymaci E., Bostanci F.B., Caker T., et.al. Effects of carbon dioxide pneumoperitoneum on postoperative adhesion formation and oxidative stress in a rat cecal abrasion model. *Int J. Surg*. 2015;21:57–62.
6. Dubinskaya E, Gasparov A, Nazarov S, Dorfman M. Состояние репродуктивной системы больных с тазовыми перитонеальными спайками и бесплодием. *Врач*. 2010;(7):43–5. (in Russian)
7. Ishutina NA. Phospholipase A2 activity and the state of lipid peroxidation processes in peripheral blood in pregnant women with herpes virus infection. *Successes of modern natural science*. 2013;(2):12–4. (in Russian)
8. Herrmann A., De Wilde R.L. Adhesions are the major cause of complications in operative gynecology. *Best Pract Res Clin Obstet Gynecol*. 2015;15:193–195.
9. Kalaev VN, Butorina AK, Kudryavtseva OL. The frequency of occurrence of cells with micronuclei in squamous epithelium obtained from scrapings from the cervix of women of childbearing age in various physiological conditions, in normal conditions and in inflammation. In *Natural History and Humanism*. 2006. P. 22. (in Russian)
10. Kujovich J. von Willebrand disease and pregnancy. *J. Thromb Haemost*. 2005;3(2):246–253.
11. Kwek K., Yeo G. Current understanding of pre eclampsia. *Ann Acad. Med. Singapore*. 2002;31(3):320–327.
12. Pathogenesis, consequences, and control of peritoneal adhesions in gynecologic surgery. The Practice Committee the American Society for Reproductive Medicine in collaboration with the Society of Reproductive Surgeons. *Fertil Steril*. 2013;99(6):1550–1555.
13. Pawitan J.A., Suryono L. Sensitivity and specificity of the micronucleus test in hypotonic-swollen mononucleus test in binucleocytes: to assessed lymphocytes: to assess chromosomal breaks. *Anal. Quant. Histol*. 2006;3:175–180.
14. Tolbert P.E., Shy C.M., Allen J.M. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mutat. Res*. 1992;271:69–77.
15. Sycheva LP. Biological significance, criteria for determination and limits of variation of the full range of karyological parameters in assessing the cytogenetic status of a person. *Medical genetics*. 2007;6(11):3–11. (in Russian)
16. Voitovich A.M., Afonin V.Y., Krupnova E.V. The level of organism. *Tsitol. Genet*. 2003;37(4):10–15. (in Russian)