

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 616.8-009.24-02:618.3/.7]-07:618.346-074

Погорелова Т.Н., Гунько В.О., Никашина А.А., Михельсон А.А., Аллилуев И.А., Михельсон А.М.

ДИСБАЛАНС ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ОКОЛОПЛОДНЫХ ВОДАХ ПРИ ПРЕЭКЛАМПСИИ

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 344012, Ростов-на-Дону, Россия

Изучены показатели прооксидантных и антиоксидантных процессов в околоплодных водах в динамике физиологической беременности и при преэклампсии. С помощью спектрофотометрических и флуориметрических методов оценивали активность НАДФН-оксидазы, ксантинооксидазы, супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, системы глутатионзависимых ферментов, содержание антиоксидантных витаминов – ретинола и α -токоферола, продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) – диеновых конъюгатов и оснований Шиффа, а также параметры перекисной хемилюминесценции. Установлено, что при преэклампсии имеет место повышение активности прооксидантных ферментов – НАДФН-оксидазы и ксантинооксидазы, снижение активности антиоксидантных ферментов – СОД, каталазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, глутатионтрансферазы, содержания жирорастворимых витаминов. Между прооксидантными и антиоксидантными показателями, содержанием продуктов ПОЛ, интенсивностью хемилюминесценции установлена корреляционная связь, степень которой различна во II и в III триместрах беременности, отличающимися особенностями роста и развития плода в эти периоды. Выявленные изменения, очевидно, играют патогенетическую роль в формировании и дальнейшем развитии преэклампсии, а показатели окислительно-восстановительных процессов могут служить информативными маркерами пре- и постнатальной патологии.

Ключевые слова: окислительно-восстановительный баланс; прооксидантные и антиоксидантные ферменты; антиоксидантные витамины; продукты перекисного окисления липидов; околоплодные воды; преэклампсия.

Для цитирования: Погорелова Т.Н., Гунько В.О., Никашина А.А., Михельсон А.А., Аллилуев И.А., Михельсон А.М. Дисбаланс окислительно-восстановительных процессов в околоплодных водах при преэклампсии. Клиническая лабораторная диагностика. 2018; 63 (8): 483-489. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-8-483-489>

Pogorelova T.N., Gunko V.O., Nikashina A.A., Mikhelson A.A., Alliluev I.A., Mikhelson A.M.

DISBALANCE OF REDOX PROCESSES IN AMNIOTIC FLUID AT PRE-ECLAMPSIA

Rostov State Medical University, 344012, Rostov-on-Don, Russia

The parameters of pro and antioxidant processes in the amniotic fluid in the dynamics of physiological pregnancy and pre-eclampsia were studied. Spectrophotometric and fluorimetric methods were used to evaluate the activity of NADPH-oxidase, xanthine-oxidase, superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione-dependent enzyme systems, the content of antioxidant vitamins – retinol and α -tocopherol, lipid peroxidation products (LPP) – diene conjugates and Schiff bases, and parameters of peroxide chemiluminescence. It was found that with preeclampsia there is an increase in the activity of prooxidant enzymes NADPH-oxidase and xanthine-oxidase, a decrease in the activity of antioxidant enzymes SOD, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione transferase, and the content of fat-soluble vitamins. Between pro- and antioxidant indices and the content of LPP, intensity of chemiluminescence a correlation is established, the degree of which is different in the II and III trimesters of pregnancy. The revealed changes obviously play a pathogenetic role in the formation and further development of preeclampsia, and the indicators of oxidation-reduction processes can serve as informative markers of pre- and postnatal pathology.

Key words: redox balance; pro- and antioxidant enzymes; antioxidant vitamins; lipid peroxidation products; amniotic fluid; pre-eclampsia.

For citation: Pogorelova T.N., Gunko V.O., Nikashina A.A., Mikhelson A.A., Alliluev I.A., Mikhelson A.M. Disbalance of redox processes in amniotic fluid at pre-eclampsia. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2018; 63 (8): 483-489 (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-8-483-489>

For correspondence: Pogorelova Tatyana Nikolaevna, Doctor of Biological Sciences, Professor, Chief Researcher of Department of Biomedical Problems in Obstetrics, Gynecology and Pediatrics; e-mail: tnp.rniiap@yandex.ru

Information about authors:

Pogorelova T.N.: <https://orcid.org/0000-0002-0400-0652>

Gunko V.O.: <https://orcid.org/0000-0001-8607-9052>

Nikashina A.A.: <https://orcid.org/0000-0001-8099-9093>

Alliluev I.A.: <https://orcid.org/0000-0001-7654-0650>

Mikhelson A.A.: <https://orcid.org/0000-0002-8282-2248>

Mikhelson A.M.: <https://orcid.org/0000-0003-1680-8509>

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 03.04.2018
Accepted 11.05.2018

Для корреспонденции: Погорелова Татьяна Николаевна, д-р биол. наук, проф., гл. науч. сотр. отдела медико-биологических проблем в акушерстве, гинекологии и педиатрии; e-mail: tnp.rniiap@yandex.ru

Введение. Соотношение окислительно-восстановительных реакций в организме играет важную роль в регуляции многих молекулярно-клеточных процессов. Изменение этого соотношения может приводить к нарушению практически всех видов обмена веществ и энергетического обеспечения клеток [1, 2]. Теоретическая ценность изучения характера окислительно-восстановительных процессов определяется необходимостью понимания механизмов формирования патологических состояний. Кроме того, значение анализа показателей редокс-процессов обусловлено возможностью использования этих данных в диагностических и прогностических целях в качестве критериев оценки развития патологии. Особую важность состояние редокс-процессов имеет в период гестации, когда интенсивность метаболизма повышается в связи с необходимостью обеспечения трофических и энергетических потребностей не только материнского организма, но и плода, и удовлетворение этих потребностей необходимо для нормального течения и исхода беременности [3].

Весьма информативным объектом изучения состояния биологической системы мать–плацента–плод являются околоплодные воды – одна из сред организма, быстро реагирующая изменением своего состава на любые отклонения, происходящие в организмах матери, плода и плаценте, осуществляющей взаимосвязь между ними. При этом глубина и длительность изменений находятся в прямой зависимости от характера патологии и эффективности проводимого лечения. Биохимический анализ околоплодных вод может представить весьма ценные сведения о течении беременности, состоянии плода и дать возможность прогнозировать состояние новорождённого. Следует отметить, что взаимосвязь между матерью и плодом, помимо основного плацентарного обмена, происходит также с помощью параплацентарного обмена, в котором именно околоплодные воды играют ведущую роль [4]. В то же время исследования окислительно-восстановительных процессов в околоплодных водах при патологической беременности отражены в современной литературе крайне недостаточно [5, 6]. Большая часть из них выполнена в плацентарной ткани и сыворотке крови.

В числе факторов, осложняющих беременность и нарушающих нормальное развитие плода, важная роль принадлежит преэклампсии, которая до настоящего времени остаётся важной проблемой современного акушерства. Частота преэклампсии во всём мире достигает 5–8% и не имеет тенденции к снижению [7, 8]. У женщин, перенёвших преэклампсию в период беременности, в последующем наблюдается развитие ожирения, хронической артериальной гипертензии, сахарного диабета, метаболического синдрома, ишемической болезни сердца. Различными метаболическими, гормональными, сердечно-сосудистыми заболеваниями в отдельные периоды развития страдают и дети, рождённые этими женщинами [9].

Высокая частота материнской и перинатальной заболеваемости и смертности при преэклампсии связана с отсутствием точных знаний о патогенезе заболевания и достоверных диагностических критериев, что приводит к неадекватной терапии и различным осложнениям при данной патологии [10, 11]. Это обосновывает актуальность дальнейшего изучения биохимических механизмов формирования преэклампсии и своевременного выявления пациенток с повышенным риском её развития с учётом того, что клинические симптомы преэклампсии обычно не проявляются до 20 недель гестации [12]. Поскольку преэклампсия сопровождается развитием внутриутробной гипоксии, периодически чередующейся с реперфузией в фетоплацентарном комплексе [13], соотношение окислительно-восстановительных процессов в околоплодных водах при данном осложнении беременности приобретает особую важность.

В связи с вышеуказанным настоящая работа посвящена

изучению окислительно-восстановительных характеристик околоплодных вод при физиологической беременности и преэклампсии с целью выяснения роли выявленных нарушений в развитии этой акушерской патологии и их значения в диагностике возможных пре- и постнатальных осложнений.

Материал и методы. В проспективное исследование включили 58 женщин в возрасте 24–30 лет, из которых составили 2 группы. В 1-ю группу вошли 28 клинически здоровых женщин с неосложнённым течением беременности и родов (контрольная группа). Во 2-ю (основную) группу включили 30 женщин, у которых беременность осложнилась преэклампсией средней степени в соответствии с международной классификацией болезней МКБ-10, код O14.0. По возрасту, индексу массы тела, соматическому, акушерско-гинекологическому анамнезу, паритету беременностей и родов женщины обеих групп были сопоставимы. Из исследования исключались пациентки с декомпенсированными формами соматических заболеваний, многоплодной беременностью, аутоиммунной патологией и женщины, не давшие информированного согласия на расширенный алгоритм обследования. Критериями включения в исследование был возраст женщин до 35 лет и клинические признаки преэклампсии, приведённые в МКБ и появившиеся у обследованных нами женщин после 22–24 нед гестации. Обследованные женщины наблюдались в консультативной поликлинике Ростовского НИИ акушерства и педиатрии в рамках программы «Акушерский мониторинг». Пациентки с преэклампсией получали амбулаторное лечение, а в случае необходимости их госпитализировали в отделение патологии беременности института.

Материалом для исследования служили околоплодные воды, взятые в сроки 16–18 нед и 39–40 нед. В первом случае околоплодные воды получали путём трансабдоминального амниоцентеза. Проведение этой процедуры осуществлялось для исключения хромосомной патологии плода*. У всех плодов женщин, включённых в исследование, был нормальный хромосомный набор. Во втором случае околоплодные воды получали при вскрытии плодного пузыря в первом периоде родов.

Для суждения о прооксидантных процессах в околоплодных водах изучали активность НАДФН-оксидазы и ксантиноксидазы, которые оценивали с помощью спектрофотометрических методов [14]. Об активности ксантиноксидазы (КФ 1.2.3.2.) судили по усилению степени окисления ксантина и определению уровня образовавшейся мочевой кислоты в ультрафиолетовой области при длине волны 293 нм, используя коэффициент молярной экстинкции $7,59 \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Активность ферментов выражали в нмоль/мин \times мг белка. Активность НАДФН-оксидазы (КФ 1.11.1.2) определяли по восстановлению 2,6-дихлорфенолиндофенола (ДХФДФ) в присутствии НАДФН при 600 нм. Коэффициент молярной экстинкции для 2,6-ДХФДФ – $21 \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Состояние антиоксидантной системы оценивали по показателям активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, глутатионпероксидазы (ГПО), глутатионредуктазы (ГР), глутатион-S-трансферазы (ГСТ), а также содержанию а-токоферола и ретинола. Активность СОД (КФ 1.1.5.11) определяли по степени торможения реакции восстановления нитросиногетразолия в результате ферментативной дисмутации генерируемого супероксидного анион-радикала при 540 нм [14]. За единицу активности принимали количество фермента, вызывающее 50% торможение реакции, и выражали в усл. ед./мг белка. Об активности каталазы (КФ 1.11.1.6) судили по убыли H_2O_2 при длине волны 230 нм, учитывая коэффициент молярной экстинкции H_2O_2 , равный 0,071 [15]. Активность выражали в нмоль H_2O_2 /мин \times мг белка. Активность глутатион-

*Приказ Минздрава России от 01.11.2012 г. № 572н

зависимых ферментов определяли с помощью общепринятых спектрофотометрических методов [16]. Активность ГПО (КФ 1.11.1.9) оценивали в реакции расщепления гидроперекиси третбутила при длине волны 412 нм, используя в качестве субстрата восстановленный глутатион. Активность GST (КФ 2.1.5.18) определяли по скорости реакции образования GS-2,4-динитробензола в реакции восстановленного глутатиона с 1-хлор-динитробензолом при 340 нм. Активность ГР (КФ 1.6.4.2) измеряли по степени окисления НАДФН при длине волны 340 нм в присутствии окисленного глутатиона. Активность этих ферментов выражали в нмоль/мин×мг белка.

Содержание α -токоферола определяли спектрофотометрическим методом после его экстракции ксилолом в реакции с 4,7-дифенил-1,10-фенантролином, измеряя окраску образовавшегося продукта при длине волны 539 нм [17]. Содержание ретинола оценивали по величине абсорбции ксилоловой фазы в УФ-зоне спектра при 335 нм, используя коэффициент поглощения 1% раствора ретинола в ксилоле 22,23 [17]. Концентрацию α -токоферола и ретинола выражали в мкг/л.

Об интенсивности свободно-радикального окисления липидов судили по содержанию диеновых конъюгатов и оснований Шиффа. Определение диеновых конъюгатов осуществляли спектрофотометрически при длине волны 233 нм [18] в гептановой фазе экстрагирующей смеси (гептан с изопропиловым спиртом в объёмном соотношении 1:1). Содержание диеновых конъюгатов рассчитывали, исходя из величины молярного коэффициента, равного $2,2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, и выражали в мкмоль/л. Основания Шиффа определяли по флуоресценции хлороформных экстрактов из образцов околоплодных вод при длине волны возбуждения 360 нм и максимума испускания при длине волны 440 нм. Калибровку шкалы флуориметра (RF-5101, «Shimadzu», Япония) строили по стандартному раствору хирина сульфата. Относительное содержание оснований Шиффа выражали в условных единицах.

Кроме того, оценку степени выраженности свободно-радикальных процессов в околоплодных водах проводили методом хемилюминесценции. Регистрацию параметров хемилюминесценции осуществляли на люминометре Emilite («BioRad», США) со спектральным диапазоном 350–950 нм, динамическим диапазоном 10 квант/с. Измерения проводили при длине волны 425 нм и стандартизации сигнала при 5000 мВ, что соответствовало световому потоку интенсивностью 6,5–10 квант/с. Оценивали интенсивность и светосумму (за 1 мин) перекисной хемилюминесценции.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью лицензионного пакета программ Statistica (версия 6.0 фирмы «StatSoft Inc.»). Степень соответствия закона распределения данных нормальному распределению оценивали с помощью критерия Шапиро–Уилка. Однородность дисперсий проверяли по критерию Фишера. При заданных объёмах выборок ($n_1 = 28$; $n_2 = 30$) значение F-критерия Фишера для различных параметров изменялось от 2,1 до 3,2, что давало уровень значимости $p < 0,05$. Достоверность различий между сравниваемыми показателями определяли по критерию Стьюдента (t -критерий) для независимых выборок. Корреляционный анализ выполнен с использованием критерия Пирсона и расчёт коэффициента корреляции r . Результаты оценивали как статистически значимые при $p < 0,05$.

Результаты. Полученные данные свидетельствуют о значительном изменении интенсивности окислительно-восстановительных процессов в околоплодных водах при преэклампсии по сравнению с аналогичными показателями при физиологической гестации, причём степень этих изменений зависит от её срока (см. таблицу). В околоплодных водах у женщин основной группы относительно пациенток контрольной группы увеличивалась активность прооксидантных ферментов, к числу которых относится НАДФН-оксидаза, приво-

дящая к образованию супероксидного анион-радикала, и ксантинооксидаза, также приводящая к образованию активных форм кислорода (АФК): супероксидного анион-радикала и перекиси водорода. Активность НАДФН-оксидазы при преэклампсии повышается во II триместре на 62,5%, а в III триместре – на 44,1%. Для ксантинооксидазы установлено повышение активности на 52,6 и 40,0% соответственно – во II триместре и к концу беременности. Активность антиоксидантных ферментов СОД и каталазы, участвующих в утилизации супероксидного анион-радикала и перекиси водорода, напротив, снижается, для СОД снижение составляет 48,2 и 43,5%, а для каталазы – 35,5 и 31,5% – соответственно во II и III триместрах.

Что касается антиоксидантных ферментов, сопряженных с глутатионом и участвующих в регуляции редокс-зависимых процессов, то их активность также уменьшается в околоплодных водах женщин, беременность которых осложнилась преэклампсией. Наиболее выраженное уменьшение активности характерно для ГПО: на 41,3 и 50,3% во II и III триместрах соответственно. Несколько в меньшей степени снижается активность ГР и GST – в среднем на 35 и 45% во II и III триместрах соответственно. В состав многокомпонентной антиоксидантной системы наряду с ферментами входят жирорастворимые витамины α -токоферол и ретиноиды. Содержание ретинола снижается на 32 и 38%, а α -токоферола – на 19 и 25% во II и III триместрах гестации.

Из полученных нами данных следует, что дисбаланс прооксидантной и антиоксидантной систем при преэклампсии приводит к усилению процессов свободнорадикального окисления, важной частью которого является перекисное окисление липидов (ПОЛ). Количество первичных продуктов ПОЛ – диеновых конъюгатов в околоплодных водах женщин с преэклампсией увеличивается во II триместре на 36%, а в III – на 42% по сравнению с таковыми при неосложнённой беременности. Содержание конечных продуктов перекисаации – оснований Шиффа – повышено на 29 и 37% во II и III триместрах соответственно.

Ещё одним подтверждением нарушения баланса процессов свободнорадикального окисления при преэклампсии являются показатели перекисной хемилюминесценции. Уровень интенсивности её свечения в околоплодных водах повышен на 36 и 53% в середине и в конце беременности, а показатель светосуммы увеличен соответственно на 22 и 34%.

Зависимость между показателями ПОЛ, повышением интенсивности прооксидантных и снижением антиоксидантных процессов подтверждается результатами корреляционного анализа. Прямая корреляционная связь выявлена между содержанием диеновых конъюгатов и активностью НАДФН-оксидазы ($r = 0,86$ во II триместре и $0,79$ – в III триместре; $p < 0,01$), а также активностью ксантинооксидазы ($r = 0,81$ и $0,75$; $p < 0,01$). Коэффициенты корреляции между содержанием оснований Шиффа и активностью НАДФН-оксидазы и ксантинооксидазы равны соответственно $0,82$ и $0,77$ ($p < 0,01$) во II триместре и $0,80$ и $0,78$ ($p < 0,01$) – в III триместре.

Для антиоксидантного фермента СОД установлена обратная корреляционная связь его активности с показателями ПОЛ, более значимая во II триместре по сравнению с III триместром. В сопоставлении с содержанием диеновых конъюгатов коэффициент корреляции составляет $-0,87$ ($p < 0,01$) во II триместре и $-0,84$ – в III триместре ($p < 0,01$), в сопоставлении с содержанием оснований Шиффа $r = -0,80$; $p < 0,01$ (II триместр) и $r = -0,79$; $p < 0,01$ (III триместр). Коэффициент корреляции между активностью каталазы и уровнем диеновых конъюгатов составил $-0,85$ ($p < 0,01$) во II триместре и $-0,78$ ($p < 0,01$) в III триместре. Сопоставление активности каталазы и содержания оснований Шиффа также подтверждает тесную взаимосвязь между ними: во II триместре $r = -0,82$, в III триместре $-0,76$ ($p < 0,01$). Отрицательная взаимосвязь различной степени установлена между продуктами

ПОЛ и глутатион-зависимыми ферментами, а также жирорастворимыми витаминами. Коэффициенты корреляции при этом находятся в пределах $-0,82...-0,71$ ($p < 0,01$).

Обсуждение. Патологические механизмы развития преэклампсии закладываются уже на ранних этапах беременности задолго до появления её клинических признаков и обусловлены нарушением инвазии трофобласта и неполноценной трансформацией стенок спиральных артерий с последующей системной активацией эндотелия [19]. Развивающиеся вследствие этих процессов патологические нарушения связаны прежде всего с внутриутробной гипоксией, дисбалансом материнско-плацентарного и плодово-плацентарного кровотока и окислительным стрессом. Последний рассматривается в настоящее время как основное связующее звено между этапами морфофункциональных повреждений при преэклампсии [13]. Причём для окислительного стресса при данной акушерской патологии характерна не только его локальная активация в плаценте, но и системная активация в фетоплацентарном комплексе, о чём свидетельствуют полученные нами данные анализа околоплодных вод.

Повышение активности прооксидантных ферментов НАДФН-оксидазы и ксантинооксидазы во II и III триместрах приводит к усиленной генерации супероксидного анион-радикала и перекиси водорода. Такими же последствиями сопровождается снижение активности СОД и каталазы. Разнонаправленная динамика вышеуказанных ферментов усиливает свободнорадикальные процессы, приводя к значительному накоплению АФК. Важно отметить, что более выраженное повышение активности прооксидантных ферментов при преэклампсии происходит во II триместре по сравнению с III триместром. В это же время значительно уменьшается антиоксидантная активность СОД и каталазы. Поэтому в 16–18 недель осложнённой беременности может иметь место особенно интенсивная продукция свободных радикалов. Очевидно, это связано с тем, что данный период является весьма важным в развитии плода и фетоплацентарной системы в целом [3]. Подтверждением данного предположения является выраженная пероксидация во II триместре по сравнению с III триместром и физиологической беременности. Изменение указанных реакций на этой стадии внутриутробного онтогенеза связано с модификацией темпов роста, клеточной дифференцировки, интенсивными пролиферативными, анаболическими процессами, реакциями ангиогенеза и апоптоза, происходящими прежде всего в плаценте и организме плода. Именно нарушения, возникающие в указанные сроки, зачастую являются причиной осложнённого течения беременности в последующем.

Существенный вклад в генерацию АФК и развитие окислительного стресса при преэклампсии вносит установленное нами снижение в околоплодных водах активности антиоксидантных ферментов, участвующих в регуляции редокс-зависимых процессов, главным образом путём поддержания баланса между восстановленным и окисленным глутатионом. Как известно, сохранение оптимального для клетки соотношения восстановленного глутатиона и окисленного служит важным условием для её жизнедеятельности. Восстановленный глутатион, являясь внутриклеточным антиоксидантом, выполняет роль косубстрата в реакциях детоксикации пероксидов, катализируемых ГПО и GST [20]. Однако при преэклампсии происходит уменьшение активности данных ферментов, особенно ГПО, поэтому возможность «обезвреживания» H_2O_2 /пероксидов в этих условиях значительно снижается, что имеет весьма негативные последствия для баланса окислительно-восстановительных процессов.

Что касается GST, образующей суперсемейство изоформ, катализирующих конъюгацию глутатиона с целым спектром неполярных компонентов эндогенного и экзогенного происхождения, то она вносит существенный вклад в защиту клет-

ки от возможного токсического действия этих соединений [21]. В числе продуктов окисления полиненасыщенных жирных кислот, фосфолипидов, белков, нуклеотидов, биогенных аминов и других соединений появляются вещества с токсическими свойствами, которые будут субстратами изоформ GST. Наряду с важной ролью в системе детоксикации GST участвует в работе антиоксидантной системы благодаря способности восстанавливать различные органические гидроперекиси (в отличие от ГПО, взаимодействующей с H_2O_2). В физиологических условиях GST служит существенным блоком развитию деструктивного действия окислительного стресса в связи с её высокой активностью по отношению к продуктам ПОЛ. Снижение активности GST при преэклампсии нарушает эффективность всех этих механизмов.

Для ГР – фермента, восстанавливающего окисленный глутатион в присутствии НАДФН, характерно аналогичное по степени уменьшение активности, что приводит к накоплению окисленного глутатиона и, следовательно, к нарушению клеточного редокс-статуса и изменению редокс-зависимой регуляции многих биологически важных процессов в фетоплацентарной системе. Совокупность модификации активности изученных про- и антиоксидантных ферментов при преэклампсии, очевидно, приводит к усилению внутриутробной гипоксии и развитию окислительного стресса.

Изменение содержания α -токоферола и ретиноидов, обладающих антиоксидантными свойствами, усугубляет дисбаланс окислительно-восстановительных процессов, особенно к концу осложнённой беременности. Обращает на себя внимание более выраженное уменьшение уровня ретинола в разные периоды гестации по сравнению с аналогичными величинами α -токоферола, по-видимому, связанное с чрезвычайно лёгкой его окисляемостью. Недостаток данного витамина во время беременности может приводить к серьёзным пренатальным нарушениям, поскольку внутриутробный плод самостоятельно не синтезирует его и зависит от материнской и плацентарной доставки [22]. Дополнительный вклад в ухудшение снабжения плода витамином А вносит снижение в околоплодных водах при преэклампсии содержания ретинол-связывающего белка 4, который участвует в доставке ретинола плоду [23].

Динамика содержания изученных нами витаминов в разные сроки физиологической беременности свидетельствует о том, что во II триместре потребность в них, вероятно, более высока. Это ещё раз подтверждает важность данного триместра во внутриутробном периоде развития. К концу физиологической беременности количество токоферола и ретинола ниже, чем в 16–18 недель. При преэклампсии изменение уровня антиоксидантных витаминов более значимо в III триместре по сравнению со II триместром. По данным литературы, при преэклампсии уменьшение содержания α -токоферола установлено также в сыворотке крови [24], причём авторы обнаружили тесную отрицательную корреляцию между уровнем этого витамина, продуктами ПОЛ и степенью окислительного стресса, что дало им основание рекомендовать женщинам с преэклампсией дополнительно принимать этот антиоксидантный витамин.

Сопоставление степени изменений показателей антиоксидантной системы защиты при физиологической беременности и при преэклампсии свидетельствует о том, что в первом случае основную роль в усилении свободнорадикальных процессов играют ферменты, сопряженные с глутатионом. При преэклампсии снижение всех изученных показателей как ферментативной, так и неферментативной антиоксидантных систем способствует активации свободнорадикального окисления, что подтверждается обратной корреляционной связью между этими показателями и уровнем продуктов ПОЛ – диеновых конъюгатов и оснований Шиффа. Об увеличении интенсивности свободнорадикальных процессов

Показатели окислительно-восстановительных процессов в околоплодных водах при физиологической беременности и преэклампсии

Показатель	Физиологическая беременность		Преэклампсия		p
	II триместр	III триместр	II триместр	III триместр	
НАДФН-оксидаза, нмоль/ мин·мг белка	0,24 ± 0,02 (0,20 – 0,28)	0,34 ± 0,03 (0,28 – 0,40)	0,39 ± 0,04 (0,31 – 0,47)	0,49 ± 0,06 (0,37 – 0,61)	p ₁ = 0,08 p ₂ = 0,02 p ₃ = 0,033
Ксантинооксидаза (нмоль/ мин·мг белка)	0,19 ± 0,02 (0,15 – 0,23)	0,25 ± 0,02 (0,21 – 0,29)	0,29 ± 0,03 (0,23 – 0,35)	0,35 ± 0,04 (0,27 – 0,43)	p ₁ = 0,039 p ₂ = 0,08 p ₃ = 0,033
Супероксиддисмутаза (о.ед./ мг белка)	1,61 ± 0,11 (1,39 – 1,83)	2,34 ± 0,21 (1,93 – 2,75)	0,83 ± 0,09 (0,65 – 1,01)	1,32 ± 0,12 (1,08 – 1,56)	p ₁ = 0,003 p ₂ = 0,001 p ₃ = 0,002
Каталаза (нмоль/мин·мг белка)	0,48 ± 0,05 (0,38 – 0,58)	0,70 ± 0,06 (0,58 – 0,82)	0,31 ± 0,03 (0,25 – 0,37)	0,48 ± 0,05 (0,38 – 0,58)	p ₁ = 0,007 p ₂ = 0,04 p ₃ = 0,006
Глутатионпероксидаза (нмоль/ мин·мг белка)	0,97 ± 0,08 (0,81 – 1,13)	1,83 ± 0,25 (1,34 – 2,32)	0,57 ± 0,05 (0,47 – 0,67)	0,91 ± 0,07 (0,77 – 1,05)	p ₁ = 0,002 p ₂ = 0,002 p ₃ = 0,002
Глутатионредуктаза (нмоль/ мин·мг белка)	0,36 ± 0,04 (0,28 – 0,44)	0,52 ± 0,04 (0,44 – 0,60)	0,24 ± 0,02 (0,20 – 0,28)	0,31 ± 0,03 (0,25 – 0,37)	p ₁ = 0,007 p ₂ = 0,008 p ₃ = 0,000
Глутатион-S-трансфераза (нмоль/мин·мг белка)	0,54 ± 0,04 (0,46 – 0,62)	0,75 ± 0,08 (0,59 – 0,91)	0,34 ± 0,04 (0,26 – 0,42)	0,39 ± 0,04 (0,31 – 0,47)	p ₁ = 0,023 p ₂ = 0,001 p ₃ = 0,001
α-Токоферол (мкг/л)	58,2 ± 4,2 (49,97 – 66,43)	40,3 ± 3,8 (2,85 – 47,75)	47,1 ± 3,5 (40,24 – 53,96)	30,2 ± 2,2 (25,89 – 34,51)	p ₁ = 0,003 p ₂ = 0,046 p ₃ = 0,023
Ретинол (мкг/л)	6,23 ± 0,46 (5,33 – 7,13)	3,44 ± 0,29 (2,87 – 4,01)	4,21 ± 0,28 (3,66 – 4,76)	2,12 ± 0,14 (1,85 – 2,39)	p ₁ = 0,002 p ₂ = 0,002 p ₃ = 0,001
Дниевые конъюгаты (мкмоль/л)	11,4 ± 0,8 (9,83 – 12,97)	14,6 ± 0,9 (12,84 – 16,36)	15,5 ± 1,2 (13,15 – 17,85)	20,7 ± 1,3 (18,15 – 23,25)	p ₁ = 0,010 p ₂ = 0,007 p ₃ = 0,001
Основания Шиффа (о.ед./л)	18, ± 1,2 (15,85 – 20,55)	23,4 ± 2,1 (19,28 – 27,52)	23,5 ± 1,7 (20,17 – 26,83)	32,1 ± 2,2 (27,79 – 36,41)	p ₁ = 0,036 p ₂ = 0,015 p ₃ = 0,006
Интенсивность перекисной хемилюминесценции (× 10 ⁵ квант/с)	9,3 ± 0,6 (8,12 – 10,48)	13,4 ± 1,2 (11,05 – 15,75)	12,6 ± 0,7 (11,23 – 13,97)	20,7 ± 1,3 (18,15 – 23,25)	p ₁ = 0,003 p ₂ = 0,001 p ₃ = 0,002
Светосумма перекисной хемилюминесценции (× 10 ⁶ квант/с)	19,2 ± 1,5 (16,26 – 22,14)	29,2 ± 2,7 (23,91 – 34,49)	23,4 ± 1,4 (20,66 – 26,14)	39,3 ± 2,6 (34,20 – 44,40)	p ₁ = 0,002 p ₂ = 0,045 p ₃ = 0,009

Примечание. p₁ – достоверность различий между показателями II и III триместров физиологической беременности; p₂ – между показателями при физиологической беременности и при преэклампсии во II триместре; p₃ – между показателями при физиологической беременности и при преэклампсии в III триместре. Данные представлены в виде средней величины ± ошибка среднего (в скобках – 95% доверительный интервал).

свидетельствуют и динамика параметров перекисной хемилюминесценции, светосумма которой отражает общую антиоксидантную активность околоплодных вод.

Поскольку работы по изучению свободнорадикальных процессов в околоплодных водах в течение беременности, осложнённой преэклампсией, в информационных базах отсутствуют, мы сопоставили наши данные с аналогичными исследованиями в околоплодных водах, но при других акушерских патологиях – гестационном сахарном диабете, преждевременных родах и гипертонии, также приводящих к развитию окислительного стресса [5, 6]. Авторы этих работ установили повышение содержания продуктов ПОЛ и снижение некоторых показателей антиоксидантной защиты, к сожалению, без учёта изменений антиоксидантных ферментов, сопряжённых с глутатионом. Данные исследования подтверждают высокую реактивность метаболизма околоплодных вод в ответ на развитие осложнённой беременности и их активное участие в формировании повреждённых в фетоплацентарном комплексе.

Важное значение среди последствий окислительно-восстановительного дисбаланса могут иметь изменения структуры и свойств белков, наблюдающиеся при накоплении

АФК, в частности усиление окислительного карбонилирования белков [25]. Эта посттрансляционная модификация сопровождается повышением чувствительности белков к действию пептидгидролаз, активность которых увеличивается в околоплодных водах при преэклампсии [26]. Особенно негативным представляется то, что повреждённый окисленный белок будет продолжать участвовать в межклеточной коммуникации, передаче сигнала в искажённом виде, нарушая тем самым многочисленные регуляторные процессы. Помимо этого в результате данной модификации происходит изменение соотношения белково-связанных и свободных аминокислот, в том числе обладающих антиоксидантной активностью [27].

Окислительная деструкция белков, по-видимому, отражается и на протеомном спектре околоплодных вод и плаценты, дисбаланс которых при преэклампсии установлен нами ранее [23]. Выявленное в этих исследованиях с помощью масс-спектрометрии снижение уровней неферментативного антиоксиданта гаптоглобина и антиоксидантного фермента пероксиредоксина-2 будет, в свою очередь, способствовать усилению окислительных процессов. Кроме того, усиление внутриутробной гипоксии, повышение генерации АФК, уве-

личение количества метаболитов окислительной модификации липидов способны приводить к развитию эндотелиальной дисфункции, являющейся составной частью мультисистемного воспалительного ответа при преэклампсии [28].

Подытоживая причины и последствия выявленных нарушений, можно ещё раз отметить, что дисбаланс окислительно-восстановительных процессов при данной акушерской патологии приводит к развитию окислительного стресса, сопровождающегося снижением фетоплацентарного и параплацентарного обменов. Это, по принципу обратной связи, ещё в большей степени усиливает метаболические повреждения в течение пренатального периода развития и в дальнейшем приводит к осложнениям в развитии новорождённого. Наблюдения за новорождёнными основной группы, которые были переведены из родильного блока в отделение патологии и реабилитации новорождённых, показали, что у 25% из них появились признаки постнатальной энцефало- и кардиопатии. Причём в первом случае наиболее информативными прогностическими тестами служат показатели содержания ксантинооксидазы и ГПО, во втором – НАДФ-оксидазы и GST.

Таким образом, изученные показатели свободнорадикальных реакций в околоплодных водах, особенно активность НАДФ-оксидазы, ксантинооксидазы, ГПО и GST, степень которых наиболее значима, могут быть маркерами развития окислительного стресса при преэклампсии и прогнозирования постнатальных повреждений.

Заключение. Резюмируя полученные данные, можно заключить, что развитие преэклампсии происходит на фоне нарушения баланса окислительно-восстановительных процессов в околоплодных водах. Повышение активности прооксидантных ферментов и снижение антиоксидантных показателей ферментативной и неферментативной систем, очевидно, являются важными причинами развития окислительного стресса и, как следствие, дальнейших метаболических нарушений в фетоплацентарном комплексе, имеющих место при этой акушерской патологии. Разные триместры беременности отличаются различной степенью участия прооксидантных и антиоксидантных процессов в накоплении продуктов свободнорадикального окисления, как при физиологической, так и при осложнённой гестации, что может быть связано с особенностями роста и развития плода в эти периоды. Результаты настоящего исследования позволяют расширить наши представления о биохимических механизмах развития преэклампсии, а также предложить информативные диагностические и прогностические тесты для пренатальной и постнатальной диагностики.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1, 2, 5-7, 9, 11, 13, 15, 17, 19-22, 24, 25, 27-28 см. REFERENCES)

3. Арутюнян А.В., Шестопалов А.В., Буштырева И.О., Микашинович З.И. *Биохимические механизмы формирования плаценты при физиологической и осложнённой беременности*. СПб.: «Литография»; 2010.
4. Радзинский В.Е., Милованов А.П. ред. *Экстраэмбриональные и околоплодные структуры при нормальной и осложнённой беременности*. М.: МИА; 2004.
8. Ходжаева З.С., Акатьева А.С., Холин А.М., Сафонова А.Д., Вавина О.В., Муминова К.Т. Молекулярные детерминанты развития ранней и поздней преэклампсии. *Акушерство и гинекология*. 2014; (6): 14-9.
10. Сидорова И.С., Никитина Н.А. Современный взгляд на проблему преэклампсии: аргументы и факты. *Акушерство и гинекология*. 2013; (5): 10-6.
12. Стародубцева Н.Л., Попов А.А., Николаев Е.Н., Иванец Т.Ю., Алексеева М.Л., Логинова Н.С. и др. Поиск воспроизводимых биомаркеров для диагностики преэклампсии. *Акушерство и гинекология*. 2013; (2): 10-7.

- некология. 2013; (2): 10-7.
14. Карпищенко А.И., ред. *Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике*. 3-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013. т.2.
16. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободно-радикального окисления и антиоксидантной системы организма. Методические рекомендации. СПб.: ИКФ «Фоллиант»; 2000.
18. Стальная И.Д. *Современные методы в биохимии*. Орехович В.Н., ред М.: Медицина; 1977.
23. Погорелова Т.Н., Гунько В.О., Линде В.А. Протеомный профиль плаценты при физиологической беременности и беременности, осложнённой преэклампсией. *Акушерство и гинекология*. 2013; (7): 24-8.
26. Погорелова Т.Н., Гунько В.О., Линде В.А. Роль процессов деградации и окислительной модификации белков в развитии преэклампсии. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2015; 15(2): 10-3.

REFERENCES

1. Ye Z.W., Zhang J., Townsend D.M., Tew K.D. Oxidative stress, redox regulation and diseases of cellular differentiation. *Biochim. Biophys. Acta*. 2015; 1850(8):1607-21.
2. McDonagh B. Detection of ROS induced proteomic signatures by mass spectrometry *Front. Physiol*. 2017; 8(470). Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2017.00470/full> (accessed 7 July 2017).
3. Arutyunyan A.V., Shestopalov A.V., Bushtyryeva I.O., Mikashinovich Z.I. *Biochemical mechanisms of placenta formation in physiological and complicated pregnancy*. [Биохимические механизмы формирования плаценты при физиологической и осложнённой беременности]. St.Petersburg: «Литография»; 2010. (in Russian)
4. Radzinskiy V.Ye., Milovanov A.P., eds. *Extraembryonic and amniotic structures in normal and complicated pregnancy*. [Jekstrajembrional'nye i okoloplodnye struktury pri normal'noy i oslozhnyonnoy beremennosti]. Moscow: MIA; 2004. (in Russian)
5. Bogavac M., Lakic N., Simin N., Nikolic A., Sudji J., Bozin B. Biomarkers of oxidative stress in amniotic fluid and complications in pregnancy. *J. Matern. Fetal Neonatal Med*. 2012; 25(1): 104-8.
6. Cim N., Tolunay H.E., Karaman E., Boza B., Bilici M., Çetin O. et al. Amniotic fluid oxidant-antioxidant status in foetal congenital nervous system anomalies. *J. Int. Med. Res*. 2017; 46(3): 1146-52.
7. Ghulmiyyah L., Sibai B. *Maternal mortality from preeclampsia/eclampsia*. *Semin. Perinatol*. 2012; 36(1): 56-9.
8. Khodzhayeva Z.S., Akat'yeva A.S., Kholin A.M., Safonova A.D., Vavina O.V., Muminova K.T. Molecular determinants of the development of early and late preeclampsia. [Molekuljarnye determinanty razvitiya rannej i pozdney prejeklampsii]. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2014; (6): 14-9. (in Russian)
9. Young B., Hacker M.R., Rana S. *Preeclampsia and risk of cardiovascular disease and cancer in later life: systematic review and meta-analysis*. *Hypertens. Pregnancy*. 2012; 31(1): 50-8.
10. Sidorova I.S., Nikitina N.A. Modern view on the problem of preeclampsia: arguments and facts. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2013; (5): 10-6. (in Russian)
11. El-Sayed A.A.F. Preeclampsia: A review of the pathogenesis and possible management strategies based on its pathophysiological derangements. *Taiwan J. Obstet. Gynecol*. 2017; 56(5): 593-8.
12. Starodubtseva N.L., Popov A.A., Nikolayev Ye.N., Ivanets T.YU., Alekseyeva M.L., Loginova N.S. et al. Search for reproducible biomarkers for the diagnosis of preeclampsia. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2013; (2): 10-7. (in Russian)
13. Redman C. The six stages of pre-eclampsia. *Pregnancy Hypertens*. 2014; 4(3): 246. DOI:10.1016/j.preghy.2014.04.020. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2210778914000798?via%3Dihub> (accessed 9 July 2014).
14. Karpishchenko A.I., ed. *Medical laboratory technologies: a guide to clinical laboratory diagnostics [Meditsinskie laboratornye tekhnologii: rukovodstvo po klinicheskoy laboratornoy diagnostike]* 3rd ed. Moscow: GEOTAR-Media; 2013. V.2. (in Russian)
15. Leff J.A., Oppgaard M.A., Curiel T.J., Brown K.S., Schooley R.T., Repine J.E. Progressive increases in serum catalase activity in advancing human immunodeficiency virus infection. *Free Radic. Biol. Med*. 1992; 13(2): 143-9.
16. Arutyunyan A.V., Dubinina Y.Y., Zybina N.N. Methods for assessing free radical oxidation and the body's antioxidant system. Guidelines. [Metody otsenki svobodno-radikal'nogo okisleniya i antioksidantnoy sistemy organizma. Metodicheskie rekomendatsii]. St.Petersburg: IKF «Foliant»; 2000. (in Russian)

17. Rutkowski M., Grzegorzczak K. Modifications of spectrophotometric methods for antioxidative vitamins determination convenient in analytic practice. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 2007; 6(3): 17-28.
18. Stal'naya I.D. Modern methods in biochemistry. [Sovremennyye metody v biokhimi]. Orekhovich V.N., ed. Moscow: Meditsina; 1977. (in Russian)
19. Roberts J.H., Hubel C.A. The two stage model of preeclampsia: variations on the theme. *Placenta.* 2009; 30(A): 32-7.
20. Deponte M. Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes. *Biochim. Biophys. Acta.* 2013; 1830: 3217-66.
21. Wu B., Dong D. Human cytosolic glutathione transferases: structure, function, and drug discovery. *Trends Pharmacol. Sci.* 2012; 33: 656-68.
22. Spiegler E., Kim Y.K., Wassef L., Shete V., Quadro L. Maternal-fetal transfer and metabolism of vitamin A and its precursor β -carotene in the developing tissues (2012) *Biochim. Biophys. Acta.* 2012; 1821(1), 88-98.
23. Pogorelova T.N., Gunko V.O., Linde V.A. Proteomic profile of the placenta during physiological pregnancy and pregnancy complicated by preeclampsia. *Akusherstvo i ginekologiya.* 2013; (7): 24-8. (in Russian)
24. Asha Rani N., Naidu J.N. Protein carbonylation, lipid peroxidation and serum alpha tocopherol activity in preeclampsia. *International Journal of Recent Trends in Science and Technology.* 2013; 8(3): 163-6.
25. Gao H.J., Zhu Y.M., He W.H., Liu A.X., Dong M.Y., Jin M. et al. Endoplasmic reticulum stress induced by oxidative stress in decidual cells: a possible mechanism of early pregnancy loss. *Mol. Biol. Rep.* 2012; 39(9): 9179-86.
26. Pogorelova T.N., Gunko V.O., Linde V.A. The role of the processes of destruction and oxidative modification of proteins in the development of preeclampsia. *Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa.* 2015; 15(2): 10-3. (in Russian)
27. Qian Y., Zhang L., Rui C., Ding H., Mao P., Ruan H. et al. Peptidome analysis of amniotic fluid from pregnancies with preeclampsia. *Mol. Med. Rep.* 2017; 16(5): 7337-44.
28. Possomato-Vieira J.S., Khalil R.A. Mechanisms of Endothelial Dysfunction in Hypertensive Pregnancy and Preeclampsia. *Adv. Pharmacol.* 2016; 77: 361-431.

Поступила 03.04.18

Принята к печати 11.05.18

©КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 612.313.1

Колсанов А.В., Чаплыгин С.С., Соколов А.В., Власов М.Ю., Мьякишева Ю.В.

ЭКСПРЕСС-МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МЕТАБОЛИЗМА В РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 443099, Самара, Россия

Поиск новых способов диагностики заболеваний различной этиологии и внедрение их в практическое здравоохранение остаётся одним из приоритетных направлений современной медицины. Среди известных методов анализа биологических жидкостей особое место занимают методы экспресс-диагностики различных патологических состояний по маркерам, обнаруживаемым в ротовой жидкости (РЖ). В данной статье представлен критический обзор последних разработок отечественных и зарубежных исследователей (проанализировано 56 источников), касающихся как уже существующих и широко применяемых, так и находящихся на стадии разработки устройств. Обсуждаются перспективы использования РЖ в качестве диагностической среды, а также различные методы быстрого определения маркеров патологических состояний. Приведены основные принципы, преимущества и недостатки иммунохроматографических тестов, электрохимического, микрофлюидного анализа, изотермической амплификации и устройств на основе смартфонов для экспресс-диагностики различных маркеров в РЖ.

Ключевые слова: экспресс-диагностика; ротовая жидкость; метаболизм; биомаркеры; обзор.

Для цитирования: Колсанов А.В., Чаплыгин С.С., Соколов А.В., Власов М.Ю., Мьякишева Ю.В. Экспресс-методы определения показателей метаболизма в ротовой жидкости. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2018; 63 (8): 489-495. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-8-489-495>

Kolsanov A.V., Chaplygin S.S., Sokolov A.V., Vlasov M.Yu., Myakisheva Yu.V.

EXPRESS METHODS FOR DETECTION THE INDICATORS OF METABOLISM IN THE ORAL LIQUID (A REVIEW)

Samara State Medical University, 443099, Russia, Samara

The search for new ways to diagnose diseases of different etiologies and their introduction into practical health care remains one of the priority areas of modern medicine. Among the known methods for the analysis of biological fluids, a special place is occupied by the methods of express diagnostics of various pathological conditions by markers found in the oral fluid. This article presents a critical review of the latest developments of domestic and foreign researchers (56 sources are analyzed) concerning both existing and widely used devices and those that are at the development stage. The prospects of using oral fluid as a diagnostic medium, as well as various methods for the rapid detection of markers of pathological conditions, are discussed. The main principles, advantages and disadvantages of immunochromatographic tests, electrochemical, microfluidic analysis, isothermal amplification, and devices based on smartphones for express diagnostics of various markers in oral fluid are presented.

Key words: express diagnostics, oral fluid, metabolism, biomarkers, review

For correspondence: Myakisheva Yu.V., Head of the Department of Medical Biology, Genetics and Ecology, MD, Associate Professor, e-mail: myakisheva@yandex.ru

For citation: *Kolsanov A.V., Chaplygin S.S., Sokolov A.V., Vlasov M.Yu., Myakisheva Yu.V. Express METHODS FOR DETECTION THE INDICATORS OF METABOLISM IN THE ORAL LIQUID (A REVIEW). Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2018; 63 (8): 489-495 (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-8-489-495>*

Для корреспонденции: Мьякишева Юлия Валерьевна, д-р мед. наук, доц., зав. каф. мед. биологии, генетики и экологии; e-mail: myakisheva@yandex.ru