

**СИГНАЛЬНЫЕ МОЛЕКУЛЫ КАК БИОМАРКЕРЫ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ
ПРЕЖДЕВРЕМЕННОГО ИЗЛИТИЯ ОКОЛОПЛОДНЫХ ВОД
(КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ)**© М.Х. Афанасьева¹, В.М. Болотских², В.О. Полякова²¹ СПб ГУЗ Городская поликлиника № 44. Женская консультация № 19, Санкт-Петербург;² ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург

Поступила в редакцию: 31.10.2016

Принята к печати: 05.12.2016

■ **Актуальность.** Одним из наиболее распространенных осложнений беременности является преждевременное излитие околоплодных вод (ПИОВ). Данная патология способствует увеличению частоты оперативного родоразрешения, акушерского травматизма и неонатальных осложнений. **Целью исследования** являлась верификация ключевых сигнальных молекул, обеспечивающих целостность плодных оболочек, с последующей разработкой возможных биомаркеров неинвазивного прогнозирования ПИОВ. **Материалы и методы.** В работе проведено сравнительное изучение экспрессии VEGF, MMP9, коннексина-37, коннексина-40, эндорфинов, энкефалинов, актина, миозина в буккальном эпителии и плодных оболочках у 70 пациенток основной группы (с ПИОВ) и у 70 пациенток контрольной группы (со своевременным излитием околоплодных вод). Исследование плодных оболочек и буккального эпителия проводилось с помощью первичных моноклональных мышиных антител к исследуемым маркерам. В качестве вторичных антител использовался универсальный набор, содержащий биотинилированные антимышиные иммуноглобулины. Изучение препаратов проводилось в конфокальном микроскопе OLYMPUS FLUOVIEW FV 1000 при увеличении $\times 400$ и $\times 1000$ с использованием системы MRC-1024, укомплектованной программой компьютерной обработки OLYMPUS FLUOVIEW 5.0. Статистическая обработка материала выполнялась с использованием стандартного статистического пакета программ Statistica 10.0 (Statistica for Windows v.6.0). Результаты. Получены достоверные отличия экспрессии MMP9, VEGF, коннексина-37 и коннексина-40 в группе с ПИОВ и в группе контроля. Многофакторный анализ показателей экспрессии сигнальных молекул позволил установить высокую информативную значимость для прогнозирования ПИОВ MMP-9, коннексинов-37 и -40, а также VEGF. **Заключение.** MMP-9, коннексин-37 и -40, VEGF могут рассматриваться в качестве неинвазивных маркеров прогнозирования ПИОВ.

■ **Ключевые слова:** преждевременное излитие околоплодных вод; буккальный эпителий; плодные оболочки; сигнальные молекулы; матричная металлопротеиназа-9 (MMP-9); коннексин-37; коннексин-40; фактор роста эндотелия сосудов (VEGF).

**SIGNAL MOLECULES AS BIOMARKERS OF PREDICTION OF THE PREMATURE
RUPTURE OF MEMBRANES (CLINICODIAGNOSTIC ASPECTS)**© М.Х. Afanasyeva¹, V.M. Bolotskikh², V.O. Polyakova²¹ Saint Petersburg State Healthcare Institution — City Polyclinic No 44. Women's Health Clinic No 19, Saint Petersburg, Russia;² FSBSI "The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott", Saint Petersburg, Russia

For citation: Journal of Obstetrics and Women's Diseases. 2016;65(6):19-27

Received: 31.10.2016

Accepted: 05.12.2016

■ One of the most commonly encountered pregnancy complications is the premature rupture of membranes. This pathology results in the increase of frequency of operative delivery, birth traumatism and neonatal complications. The purpose of the research described was verification of key signal molecules, providing integrity of fetal membranes, with subsequent development of possible biomarkers of non-invasive prediction of the premature rupture of membranes. This work presents the comparison studies of expression of VEGF, MMP-9, connexin 37, connexin 40, endorphins, enkephalins, actin, miosin in a buccal epithelium and fetal membranes for 70 patients of the basic group (with premature rupture of membranes) and for 70 patients of the control group (with timely rupture of membranes). Research of fetal membranes and buccal epithelium was carried out by means of primary monoclonal mouse antibodies to the investigated markers.

The universal basis set was used as the secondary antibodies, containing of biotinylated anti-mouse immunoproteins. The study of the preparations was carried out in the confocal microscope OLYMPUS FLUOVIEW FV 1000 at the image enlargement of $\times 400$ and $\times 1000$ with use of the system MRC-1024, with the software suite for computer processing OLYMPUS FLUOVIEW 5.0. Statistical processing of the material was carried out with the application of the standard statistical software suite Statistica 10.0. Obtained in a group with the premature rupture of membranes and in a control group were the reliable differences of expression of MMP-9, VEGF, connexin 37 and connexin 40 were. The multifactorial analysis of the indices of expression of signal molecules allowed to discover the high information significance for premature rupture of membranes prediction, matrix metalloproteinase MMP-9, connexin 37 and connexin 40, as well as VEGF. Matrix metalloproteinase MMP-9, connexin 37 and connexin 40, VEGF can be considered as non-invasive markers of premature rupture of membranes prediction.

■ **Keywords:** premature rupture of membranes; buccal epithelium; fetal membranes; signal molecules; matrix metalloproteinase MMP-9; connexin 37; connexin 40; vascular endothelial growth factor (VEGF).

Введение

Преждевременное излитие околоплодных вод (ПИОВ) является одним из наиболее распространенных осложнений беременности. Ведущие акушеры-гинекологи отмечают, что данная патология способствует росту осложнений в родах и в послеродовом периоде со стороны матери, плода и новорожденного [1–3]. По разным литературным данным, ПИОВ при доношенном сроке составляет от 8,2 до 19,6 %, а при недоношенном — от 5 до 35 % [2, 4–6]. ПИОВ приводит к таким осложнениям, как аномалии родовой деятельности, преждевременная отслойка плаценты, хориоамнионит, гипоксия плода и асфиксия новорожденного [7].

Этиопатогенез ПИОВ до настоящего времени остается недостаточно изученным. В современной литературе нет однозначных данных относительно причины преждевременного разрыва плодных оболочек. Многие авторы считают ПИОВ полиэтиологической патологией [8, 9].

Многие исследователи утверждают, что ПИОВ происходит в результате деструкции коллагеновых волокон плодных оболочек под действием матричных металлопротеиназ (ММП) [10]. ММП относятся к семейству цинковых металлопротеиназ, функция которых связана с обменом белков межклеточного матрикса [11]. В результате сравнения гистологического строения плодных оболочек у пациенток при своевременном и преждевременном излитии вод при доношенном сроке беременности было доказано, что при ПИОВ отмечается уменьшение числа коллагеновых волокон с нарушением их обычного волнообразного рисунка, также происходит отложение аморфного вещества между этими волокнами [12].

В плодных оболочках при иммуногистохимическом исследовании ученые обнаружили тканевые ингибиторы матричной металлопротеиназы (ИММП), которые путем ковалентного

соединения с ММП ослабляли их ферментативную активность, препятствуя этим разрушению коллагена, что предотвращало ПИОВ [13, 14]. Повышение концентрации ММП и снижение при этом ИММП может явиться одной из причин, приводящих к ПИОВ за счет разрушения коллагена в плодных оболочках [15].

Еще в 1996 г. S. Fortunato et al. установили, что в процессе родового акта повышается ферментативная активность ММП-2, ММП-8, ММП-9 в амниотической жидкости и ММП-1 в материнской сыворотке крови [13].

Установлено, что ММП-1 способна гидролизовать интерстициальные коллагены I, II и III типов, желатины разных коллагенов, белки соединительнотканного матрикса. ММП-2 гидролизует коллагены I, IV, V, VII, XI типов, желатины. ММП-8 гидролизует коллагены I–III типов. ММП-9 гидролизует желатины, эластин, коллагены III–V и XIV типов [11]. Так как соединительная ткань плодных оболочек в основном представлена коллагеном I и III типов, то повышение ферментативной активности указанных ММП может приводить к разрыву плодных оболочек и ПИОВ.

Ряд исследователей связывают ПИОВ со значительным повышением активности ММП-9 в амниотической жидкости как при доношенной, так и при недоношенной беременности [16]. Таким образом, дальнейшее изучение изменения уровня ММП с целью возможного прогнозирования ПИОВ является весьма перспективным.

S.S. Daneshmand et al. в 2002 г. высказали предположение о возможной роли фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF) в патофизиологии ПИОВ [17].

VEGF — семейство структурно близких между собой белков, которые совместно с рецепторами (VEGFR) играют существенную роль в развитии и регуляции деятельности

кровеносных и лимфатических сосудов [18]. В организме VEGF отвечает за восстановление нарушенного кровоснабжения тканей при любом повреждении [19].

Ряд исследователей доказали, что ПИОВ связано с более низкой концентрацией в амниотической жидкости sVEGFR-1 вне зависимости от срока гестации и наличия или отсутствия интраамниотической инфекции [20].

Опорно-двигательная система клетки представлена цитоскелетом. Цитоскелет состоит из микротрубочек, актиновых филаментов и промежуточных филаментов [21]. Микротрубочки представляют собой длинные нитевидные структуры, протянутые по всей цитоплазме и формирующие сеть, которая поддерживает структурную организацию и локализацию клеточных органелл [21]. Актин — один из наиболее распространенных белков эукариотических клеток. Актиновые филаменты собираются спонтанно и состоят из актиновых субъединиц [21]. Каждая субъединица актина представляет собой один полипептид, состоящий из 375 аминокислотных остатков, с которыми связана молекула аденозинтрифосфата [21]. Как и микротрубочки, актиновые филаменты — это динамические структуры, и внеклеточный сигнал, полученный рецепторами плазматической мембраны, может приводить к локальной перестройке актинового цитоскелета [21]. Движение клеточной коры происходит с помощью специального двигательного белка, миозина, который при связывании с актиновыми филаментами гидролизует аденозинтрифосфат до аденозиндифосфата и фосфата неорганического [21]. Миозины являются мультигенным семейством, и в мышечных клетках имеются различные формы мышечного миозина, из которых наиболее известен миозин I [21]. Возможно, указанные молекулы могут отвечать за растяжимость и прочность плодных оболочек. Однако в современной литературе данный вопрос практически не освещен.

Один из путей межклеточного взаимодействия — формирование непрерывных каналов, которые непосредственно соединяют цитоплазму двух клеток (щелевые соединения) [22]. Щелевые контакты имеются во всех тканях и состоят из белковых каналов, обеспечивающих избирательное прохождение небольших молекул (до 1000 Да), например ионов и низкомолекулярных веществ [21]. Щелевой контакт построен из белковых субъединиц, называемых

коннексинами [21]. Патогенетическим звеном нарушения внутриклеточной проводимости является снижение количества или изменение структуры белков коннексинов — специализированных мембранных структур, осуществляющих прямую связь с соседними клетками [23].

Коннексины — политопные интегральные мембранные крупные белки (25–28 кДа), 4 раза пересекающие мембрану, имеющие две внеклеточные петли, цитоплазматическую петлю с N- и C-концом, вдающиеся в цитоплазму. Шесть белковых коннексиновых субъединиц, сгруппированных вокруг гидрофильной поры, пронизывающей мембрану, образуют коннексон. Два полуканала соседних клеток, расположенных друг против друга, соединяются и образуют, таким образом, непрерывный межклеточный канал между двумя волокнами [24].

Нестабильные белки-коннексины, живущие несколько часов, присутствуют практически во всех клетках [24]. У человека имеется 21 различных коннексин. В зоне межклеточного взаимодействия существуют специфические щелевые контакты, или щелевые соединения, пронизывающие внешние мембраны контактирующих клеток [24]. Щелевое соединение — это щель размером 2–4 нм, состоящая из белковых каналов, через которую передаются электрические сигналы и способны проходить неорганические ионы и небольшие регуляторные молекулы размером до 1 кДа, что обеспечивает метаболическую кооперацию соседних клеток [24].

Изменение экспрессии коннексинов может свидетельствовать о развитии патологического процесса в организме, в том числе угрозе ПИОВ. В настоящее время данное направление остается малоизученным.

Буккальный эпителий — один из наиболее мобильных и активных видов ткани целостного организма, реагирующий на внешние воздействия и внутренние сдвиги метаболизма благодаря его связи со всеми органами и тканями, которая закладывается еще в процессе эмбриогенеза. Состояние клеток буккального эпителия отражает развитие в организме болезней органов кровотока, периферической и центральной нервной систем, эндокринных органов и др. [25].

Буккальный эпителий относится к неороговевающему эпителию ротовой полости [26]. Как известно, многослойный плоский неороговевающий эпителий обладает выраженными барьерными и противомикробными свойствами

ми [27], экспрессируя ряд цитокератинов, характеризующих тканеспецифический процесс дифференцировки эпителиоцитов [28].

Многослойный плоский неороговевающий эпителий состоит из трех слоев: базального, шиповатого (промежуточного), поверхностного. Базальный слой представлен клетками кубической или цилиндрической формы. Промежуточный слой состоит из нескольких слоев полигональных или шиповатых клеток, имеющих многочисленные цитоплазматические выросты. В области выростов клетки шиповатого слоя соединены десмосомами. Поверхностный слой представлен кератиноцитами. Клетки буккального эпителия имеют хорошо различимую цитоплазму, занимающую около 80 % клетки и небольшое округлое ядро, расположенное в центре. В цитоплазме верифицируются небольшие округлые везикулы, в которых синтезируются или депонируются биологически активные вещества — сигнальные молекулы [29, 26].

Буккальный эпителий можно рассматривать как пограничную зону между внешней и внутренней средой организма. Таким образом, изменения функциональной активности клеток буккального эпителия (процессы клеточного обновления и дифференцировки, экспрессия различных сигнальных молекул) во многом отражают состояние локального и системного гомеостаза организма или его нарушения при патологических состояниях [30].

Клетки буккального эпителия способны экспрессировать сигнальные молекулы, регулирующие межклеточные нейроиммуноэндокринные взаимодействия [30]. В связи с неинвазивностью и безболезненностью процедуры забора материала исследование буккального эпителия представляется весьма перспективным.

Таким образом, актуальным является изучение сигнальных молекул буккального эпителия, участвующих в регуляции клеточного гомеостаза плодных оболочек как возможных биомаркеров прогнозирования ПИОВ с целью разработки алгоритма ведения беременных с угрозой ПИОВ.

Материал и методы исследования

Проведено сравнительное изучение экспрессии VEGF, MMP9, коннексина-37, коннексина-40, эндорфинов, энкефалинов, актина, миозина в буккальном эпителии и плодных оболочках у 70 пациенток основной группы

(с ПИОВ) и у 70 пациенток контрольной группы (со своевременным излитием околоплодных вод) в ФГБНУ «НИИАГиР им. Д.О. Отта». Исследование плодных оболочек и буккального эпителия проводилось с помощью первичных моноклональных мышинных антител к исследуемому маркеру. В качестве вторичных антител использовался универсальный набор, содержащий биотинилированные антимышинные иммуноглобулины. Изучение препаратов проводилось в конфокальном микроскопе OLYMPUS FLUOVIEW FV 1000 при увеличении $\times 400$ и $\times 1000$ с использованием системы MRC-1024, укомплектованной программой компьютерной обработки OLYMPUS FLUOVIEW 5.0.

Статистическая обработка материала выполнялась с использованием стандартного статистического пакета программ Statistica 10.0 (Statistica for Windows v. 6.0).

Результаты и их обсуждение

При проведении сравнительной оценки оптической плотности экспрессии сигнальных молекул установлено, что экспрессия MMP9 достоверно выше в группе с ПИОВ по сравнению с группой контроля как в буккальном эпителии ($1,7497 \pm 0,0083$ и $0,9533 \pm 0,0099$), так и в плодных оболочках ($1,936 \pm 0,0092$ и $1,2266 \pm 0,0136$), $p < 0,001$.

Многие исследователи утверждают, что ПИОВ происходит в результате деструкции коллагеновых волокон плодных оболочек под действием матричных металлопротеиназ. Полученные результаты свидетельствуют о повышении экспрессии MMP9 в буккальном эпителии и плодных оболочках у пациенток с ПИОВ по сравнению с группой контроля, что дает основания предположить возможность использования MMP9 в качестве маркера ПИОВ.

Оптическая плотность экспрессии VEGF у пациенток с ПИОВ достоверно ниже, чем у пациенток со своевременным излитием околоплодных вод как в буккальном эпителии ($2,1666 \pm 0,0081$ и $2,6086 \pm 0,0138$), так и в плодных оболочках ($1,2319 \pm 0,0088$ и $1,716 \pm 0,0073$), $p < 0,001$.

С уменьшением оптической плотности экспрессии VEGF увеличивается вероятность ПИОВ, что может свидетельствовать о зависимости целостности плодных оболочек от экспрессии VEGF. Учитывая наличие корреляции как в буккальном эпителии, так и в плодных оболочках, можно рассматривать VEGF в качестве маркера ПИОВ.

Также получено достоверное уменьшение оптической плотности экспрессии коннексина-37, коннексина-40 в группе с ПИОВ по сравнению с группой контроля как в буккальном эпителии ($0,859429 \pm 0,014373$ и $1,227429 \pm 0,006714$; $1,694429 \pm 0,012629$ и $2,308571 \pm 0,011695$), так и в плодных оболочках ($1,738143 \pm 0,018383$ и $2,228571 \pm 0,007884$; $0,907714 \pm 0,007991$ и $2,050143 \pm 0,006469$), $p < 0,001$.

Щелевой контакт построен из белковых субъединиц, называемых коннексинами [45]. Уменьшение щелевых контактов вызывает нарушение внутриклеточной проводимости и может влиять на целостность плодных оболочек, о чем свидетельствует уменьшение оптической плотности коннексина-37 и коннексина-40 в группе пациенток с ПИОВ.

Достоверной разницы оптической плотности экспрессии эндорфина в буккальном эпителии в группе с ПИОВ по сравнению с группой контроля не получено. В плодных оболочках в группе с ПИОВ оптическая плотность экспрессии эндорфина достоверно ниже, чем в группе контроля ($1,570429 \pm 0,008128$ и $1,608429 \pm 0,009587$), $p < 0,01$.

В связи с отсутствием достоверной разницы между оптической плотностью экспрессии эндорфина в буккальном эпителии данный показатель не может быть использован в качестве неинвазивного маркера прогнозирования ПИОВ.

Оптическая плотность экспрессии энкефалина в группе с ПИОВ в буккальном эпителии ниже ($1,952714 \pm 0,009946$ и $2,100429 \pm 0,011729$), а в плодных оболочках

выше, чем в группе контроля ($1,671 \pm 0,010023$ и $1,402857 \pm 0,010093$), $p < 0,001$.

Оптическая плотность актина в буккальном эпителии при ПИОВ выше, чем в группе контроля ($0,405 \pm 0,015026$ и $0,306571 \pm 0,008476$), $p < 0,001$, а в плодных оболочках ниже, чем в группе контроля ($0,600143 \pm 0,009308$ и $1,394429 \pm 0,016034$), $p < 0,001$.

В результате проведенных исследований выявлена обратная зависимость оптической плотности экспрессии энкефалина и актина, что может свидетельствовать о влиянии каких-либо других факторов, помимо ПИОВ, на экспрессию указанных молекул. Данный результат ставит под сомнение явное участие энкефалина и актина в поддержании целостности плодных оболочек.

Достоверной разницы оптической плотности экспрессии миозина в буккальном эпителии в группе с ПИОВ по сравнению с группой контроля не получено. В плодных оболочках в группе с ПИОВ оптическая плотность экспрессии миозина достоверно ниже, чем в группе контроля ($0,684429 \pm 0,006536$ и $0,71400 \pm 0,007574$), $p < 0,01$.

Возможно, молекулы миозина могут отвечать за растяжимость и прочность плодных оболочек, но при отсутствии достоверных различий оптической плотности экспрессии миозина в буккальном эпителии в исследуемых группах не могут рассматриваться в качестве неинвазивных маркеров прогнозирования ПИОВ.

На рис. 1 представлены сравнительные диаграммы оптической плотности четырех наиболее значимых молекул для прогнозирования ПИОВ.

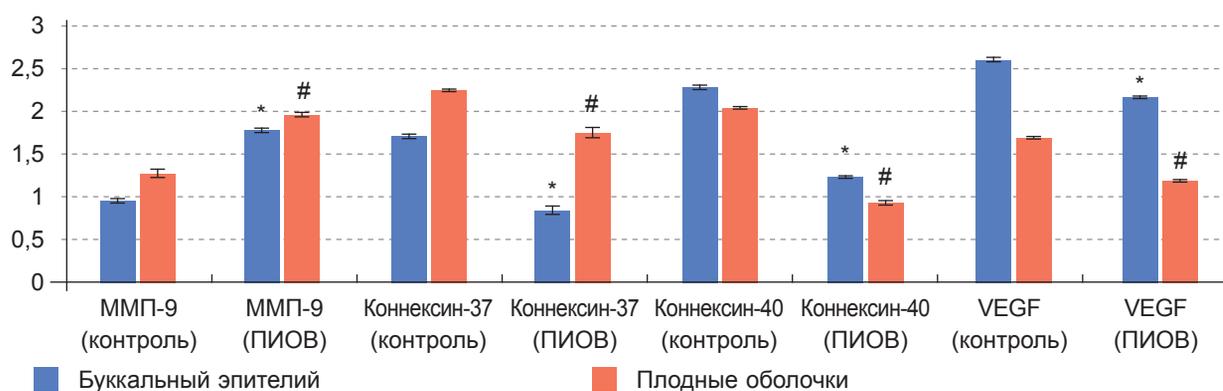


Рис. 1. Сравнительные диаграммы оптической плотности сигнальных молекул в контрольной группе и группе с преждевременным излитием околоплодных вод: * $p < 0,001$ — достоверное отличие значения показателя в группе с ПИОВ от группы контроля в буккальном эпителии; # $p < 0,001$ — достоверное отличие значения показателя в группе с преждевременным излитием околоплодных вод от группы контроля в плодных оболочках

Fig. 1. Comparison diagrams of the optical density of signaling molecules in control group and in group with PROM (premature rupture of membranes). * $p < 0,001$ – a significant difference of the indicator value in group with PROM and in control group in buccal epithelium. # $p < 0,001$ – a significant difference of the indicator value in group with PROM and in control group in fetal membranes

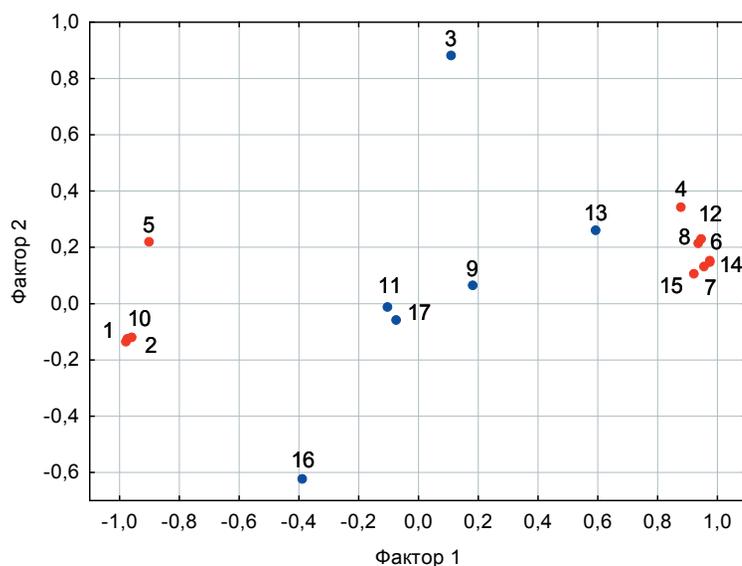


Рис. 2. Двумерный график факторных нагрузок исследованных показателей: 1 — наличие ПИОВ; 2 — MMP9 в плодных оболочках; 3 — эндорфин в плодных оболочках; 4 — коннексин-37 в плодных оболочках; 5 — энкефалин в плодных оболочках; 6 — коннексин-40 в плодных оболочках; 7 — VEGF в плодных оболочках; 8 — актин в плодных оболочках; 9 — миозин в плодных оболочках; 10 — MMP9 в буккальном эпителии; 11 — эндорфин в буккальном эпителии; 12 — коннексин-37 в буккальном эпителии; 13 — энкефалин в буккальном эпителии; 14 — коннексин-40 в буккальном эпителии; 15 — VEGF в буккальном эпителии; 16 — актин в буккальном эпителии; 17 — миозин в буккальном эпителии

Fig. 2. Two-dimensional graph of the factorial loads of studied indicators. 1 – the presence of PROM (premature rupture of membranes); 2 – MMP9 (matrix metalloproteinase 9) in fetal membranes; 3 – endorphin in fetal membranes; 4 – connexin 37 in fetal membranes; 5 – enkephalin in fetal membranes; 6 – connexin 40 in fetal membranes; 7 – VEGF (vascular endothelial growth factor) in fetal membranes; 8 – actin in fetal membranes; 9 – myosin in fetal membranes; 10 – MMP9 (matrix metalloproteinase 9) in buccal epithelium; 11 – endorphin in buccal epithelium; 12 – connexin 37 in buccal epithelium; 13 – enkephalin in buccal epithelium; 14 – connexin 40 in buccal epithelium; 15 – VEGF (vascular endothelial growth factor) in buccal epithelium; 16 – actin in buccal epithelium; 17 – myosin in buccal epithelium

Для всестороннего и компактного описания объектов исследования и получения обобщенной информации о структуре связей между исследованными показателями и выбора наиболее значимых из них был применен многомерный факторный анализ, который позволяет наилучшим образом охарактеризовать реальное поведение исследуемой совокупности признаков и оценить надежность и точность выводов, сделанных на основании полученных данных. Проведен факторный анализ 16 иммуногистохимических показателей для ПИОВ.

В результате анализа установлено, что наименее информативными показателями к фактору, сопряженному с наличием или отсутствием ПИОВ, являются эндорфин, энкефалин, актин и миозин в буккальном эпителии; эндорфин и миозин в плодных оболочках (рис. 2). Однако результаты данного анализа показывают, что отмеченные отличия являются следствием влияния иных факторов, не связанных с ПИОВ и не учтенных при выборе критериев включения/исключения. Остальные показатели,

включая наличие ПИОВ, являются достоверно сопряженными и имеют достаточно высокие значения факторных нагрузок ($|a| > 0,85$).

Для возможности использования сигнальных молекул буккального эпителия в качестве иммуногистохимических маркеров прогнозирования ПИОВ проведен расчет коэффициентов корреляций оптической плотности экспрессии молекул в буккальном эпителии и плодных оболочках. Получены достоверные корреляции оптической плотности экспрессии в буккальном эпителии и плодных оболочках MMP9 как в группе с ПИОВ ($r = 0,747, p < 0,05$), так и в группе контроля ($r = 0,771, p < 0,05$). Также выявлены достоверные корреляции оптической плотности экспрессии в буккальном эпителии и плодных оболочках VEGF в группе с ПИОВ ($r = 0,749, p < 0,05$) и группе контроля ($r = 0,701, p < 0,05$). В группе с ПИОВ выявлена очень слабая, но достоверная корреляция оптической плотности экспрессии в буккальном эпителии и плодных оболочках коннексина-37 ($r = 0,253, p < 0,05$).

Полученные результаты могут свидетельствовать о некотором влиянии энкефалина и коннексина-37 на целостность плодных оболочек, что позволяет рассматривать данные молекулы в качестве возможных маркеров прогнозирования ПИОВ.

Достоверных корреляций экспрессии остальных молекул между буккальным эпителием и плодными оболочками не получено.

Обнаружена слабая обратная корреляционная зависимость между оптической плотностью экспрессии ММР9 и коннексином-40 в плодных оболочках как в группе с ПИОВ ($r = -0,298$, $p < 0,05$), так и в группе контроля ($r = -0,271$, $p < 0,05$). Учитывая высокий коэффициент корреляции оптической плотности экспрессии ММР9 в буккальном эпителии и плодных оболочках как в группе с ПИОВ, так и в группе контроля, обратную корреляцию с коннексином-40, можно предположить участие обеих молекул в поддержании целостности плодных оболочек.

Заключение

В плодных оболочках и буккальном эпителии верифицированы сигнальные молекулы ММП-9, коннексины-37 и -40, VEGF. В результате многофакторного анализа показателей экспрессии сигнальных молекул установлена высокая информативная значимость указанных молекул для прогнозирования ПИОВ. Таким образом, ММП-9, коннексины-37 и -40, VEGF могут рассматриваться в качестве неинвазивных маркеров прогнозирования ПИОВ.

Литература

1. Арасланова С.Н., Волков В.Г., Рева Н.Л. К вопросу о ведении преждевременных родов, осложненных несвоевременным излитием околоплодных вод // Актуальные вопросы клинической педиатрии, акушерства и гинекологии: материалы науч.-практич. конф. – Киров, 1993. – С. 291. [Araşlanova SN, Volkov VG, Reva NL. K voprosu o vedenii prezhdevremennykh rodov, oslozhnennykh nesvoevremennym izlitiem okoloplodnykh vod. Aktual'nye voprosy klinicheskoy pediatrii, akusherstva i ginekologii [conference proceedings]. Kirov; 1993: 291. (In Russ.)]
2. Вдовиченко Ю.П. Влияние длительного безводного промежутка на раннюю неонатальную смертность при преждевременном излитии околоплодных вод и недоношенной беременности // Сб. науч. трудов ассоциации акушеров-гинекологов Украины. – Киев: Феникс, 2001. – С. 483–486. [Vdovichenko YUP. Vliyaniye dlitel'nogo bezvodnogo promezhutka na rannuyu neonatal'nuyu smertnost' pri prezhdevremennom izlitiy okoloplodnykh vod i nedonoshennoj beremennosti. Sb. nauch. trudov associacii akusherov-ginekologov Ukrainy. Kiev: Feniks; 2001. P. 483-486. (In Russ.)]
3. Дворянский С.А. Преждевременные роды: пролонгирование недоношенной беременности, осложненной преждевременным излитием вод. – М.: Медицинская книга, 2002. [Dvoryanskij SA. Prezhdevremennyye rody: prolongirovaniye nedonoshennoj beremennosti, oslozhnennoj prezhdevremennym izlitiem vod. Moscow: Medicinskaya kniga; 2002. (In Russ.)]
4. Максимович О.Н. Разрыв плодного пузыря до начала родовой деятельности (особенности течения беременности, родов, исходы для новорожденных): автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Иркутск, 2007. [Maksimovich ON. Razryv plodnogo puzyrya do nachala rodovoy deyatel'nosti (osobennosti techeniya beremennosti, rodov, iskhody dlya novorozhdennykh): avtoref. dis. ... kand. med. nauk. – Irkutsk, 2007. [Maksimovich ON. Razryv plodnogo puzyrya do nachala rodovoy deyatel'nosti (osobennosti techeniya beremennosti, rodov, iskhody dlya novorozhdennykh). [dissertation] Irkutsk; 2007. (In Russ.)]
5. Чернуха Е.А. Родовой блок. – М.: Медицина, 2001. [Chernuha EA. Rodovoj blok. Moscow: Medicina; 2001. (In Russ.)]
6. Ziaei S, Sadrkhanlu M, Moeini A, Faghihzadeh S. Effect of bacterial vaginosis on premature rupture of membranes and related complications in pregnant women with a gestational age of 37-42 weeks. *Gynecol Obstet Invest.* 2006;61(3):135-8. doi: 10.1159/000090086.
7. Радзинский В.Е., Ордиянц И.М., Алеев И.А. Преждевременный разрыв плодных оболочек. Современные подходы к диагностике и лечению. – М.: Медиабюро StatusPraesens, 2011. [Radzinskij VE, Ordiyanc IM, Aleev IA. Prezhdevremennyy razryv plodnykh obolochek. Sovremennyye podhody k diagnostike i lecheniyu. Moscow: Mediabyuro StatusPraesens; 2011. (In Russ.)]
8. Parry S, Strauss JF. Premature rupture of the fetal membranes. *New England J Med.* 1998;338(10):663-70.
9. Smith M. Management of PROM at term. *J Fam Pract.* 1997;45(3):198-9.
10. Ota A, Yonemoto H, Someya A, et al. Changes in matrix metalloproteinase 2 activities in amniochorions during premature rupture of membranes. *Gynecology Investigations.* 2006;13(8):592-597. doi: 10.1016/j.jsgi.2006.10.001.
11. Соловьева Н.И. Матриксные металлопротеиназы и их биологические функции // Биоорганическая химия. – 1998. – Т. 24. – № 4. – С. 245–255. [Solov'eva NI. Matriksnyye metalloproteinazy i ih biologicheskie funkcii. *Bioorganicheskaya himiya.* 1998;24(4):245-55. (In Russ.)]

12. Ibrahim MEA, Bou-Resli MN, Al-Zaid NS, Bishay LF. Intact fetal membranes: morphological predisposal to rupture. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1983;62:481. doi: 10.3109/00016348309154223.
13. Fortunato S, Menon R, Lombardi S. Induction of MMP-9 and normal presence of MMP-2, TIMP-1 and 2 in human fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1997;176:14. (17th Annual Meeting of the Society of Perinatal Obstetricians, Anaheim, 1997) doi: 10.1016/S0002-9378(97)80084-1.
14. Vadillo-Ortega F, Gonzalez-Avila G, Furth E. 92-kd type IV collagenase (matrix metalloproteinase 9) activity in human chorion increases with labor. *Am J Pathol.* 1995;146:148.
15. Fortunato SJ, Menon RJ. Screening of novel matrix metalloproteinases (MMPs) in human fetal membranes. *Assist Reprod Genet.* 2002;19(10):483-486. doi: 10.1023/A:1020362519981.
16. Athayde N, Edwin S, Romero R, Gomez R. A role for matrix metalloproteinase-9 in spontaneous rupture of the fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;179:1248-1253. doi: 10.1016/S0002-9378(98)70141-3.
17. Daneshmand SS, Chmait RH, Moore TR, Bogie L. Preterm premature rupture of membranes: vascular endothelial growth factor and its association with histologic chorioamnionitis. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;187(5):1131-1136. doi: 10.1067/mob.2002.127145.
18. Шевченко А.В., Коненков В.И. Функциональный полиморфизм генов семейства VEGF // Цитокины и воспаление. – 2012. – Т. 11. – № 4. – С. 14–20. [Shevchenko AV, Konenkov VI. Funkcional'nyj polimorfizm genov semejstva VEGF. *Citokiny i vospalenie.* 2012;11(4):14-20. (In Russ.)]
19. Киселева Е.П., Крылов А.В., Старикова Э.А., Кузнецова С.А. Фактор роста сосудистого эндотелия и иммунная система // Успехи современной биологии. – 2009. – Т. 129. – № 4. – С. 1–12. [Kiseleva EP, Krylov AV, Starikova EA, Kuznecova SA. Faktor rosta sosudistogo ehndoteliya i immunnaya sistema. *Uspekhi sovremennoj biologii.* 2009;129(4):1-12. (In Russ.)]
20. Savasan ZA, Romero R, Chaiworapongsa T, et al. Evidence in support of a role for anti-angiogenic factors in preterm prelabor rupture of membranes. *The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine.* 2010;23(8): 828-841. doi: 10.3109/14767050903440471.
21. Фаллер Д.М., Шилдс Д. Молекулярная биология клетки: руководство для врачей: пер. с англ. – М.: БИНОМ, 2016. [Faller DM, SHilds D. Molekulyarnaya biologiya kletki. *Rukovodstvo dlya vrachej.* Traslated from Engl. Moscow: BINOM; 2016. (In Russ.)]
22. White TW, Paul DL. Genetic diseases and gene knock-outs reveal diverse connexin functions. *Annual Review of Physiology.* 1999;61(1):283-310 doi: 10.1146/annurev.physiol.61.1.283.
23. Willecke K, Eiberger J, Degen J, et al. Structural and functional diversity of connexin genes in the mouse and human genome. *Biological Chemistry.* 2002;383(5):725-37. doi: 10.1515/BC.2002.076.
24. Проничева И.В., Ревшвили А.Ш. Роль коннексинов и натриевого канала NA V1.5, кодируемого геномом SCN5A, в нарушениях проведения электрического импульса в миокарде // Вестник аритмологии. – 2012. – Т. 67. – С. 59–62. [Pronicheva IV, Revishvili AS. Rol' konneksinov i natrievogo kanala NA V1.5, kodiruемого genomom SCN5A, v narusheniyah provedeniya ehlektricheskogo impul'sa v miokarde. *Vestnik aritmologii.* 2012;67:59-62. (In Russ.)]
25. Шахбазов В.Г., Григорьева Н.Н., Колупаева Т.В. Новый цитобиологический показатель биологического возраста и биологического состояния организма человека // Физиология человека. – 1996. – Т. 22. – № 6. – С. 71–75. [Shahbazov VG, Grigor'eva NN, Kolupaeva TV. Novyj citobiologicheskij pokazatel' biologicheskogo vozrasta i biologicheskogo sostojaniya organizma cheloveka // *Fiziologiya cheloveka.* 1996;22(6):71-5. (In Russ.)]
26. Полякова В.О., Пальцева Е.М., Крулевский В.А. Буккальный эпителий. Новые подходы к молекулярной диагностике социально значимой патологии. – СПб.: Изд-во Н-Л, 2015. [Polyakova VO, Pal'ceva EM, Krulevskij VA. Bukkal'nyj ehptelij. Novye podhody k molekulyarnoj diagnostike social'no-znachimoj patologii. Saint Petersburg: Izd-vo N-L; 2015. (In Russ.)]
27. Быков В.Л. Тканевая инженерия слизистой оболочки полости рта // Морфология. – 2010. – Т. 137. – № 1. – С. 62–70. [Bykov VL. Tkanevaya inzheneriya slizistoj obolochki polosti rta. *Morfologiya.* 2010;137(1):62-70. (In Russ.)]
28. Быков В.Л. Функциональная морфология эпителиального барьера слизистой оболочки полости рта // Стоматология. – 1997. – Т. 76. – № 3. – С. 12–17. [Bykov VL. Funkcional'naya morfologiya ehptelial'nogo bar'era slizistoj obolochki polosti rta. *Stomatologiya.* 1997;76(3):12-7. (In Russ.)]
29. Бойчук Н.В., Чельшев Ю.А. Гистология органов полости рта: учебно-методическое пособие. – Казань: КГМУ, 2011. – 96 с. [Bojchuk NV, SChelyshev YuA. Gistologiya organov polosti rta. *Uchebno-metodicheskoe posobie.* Kazan': KGMU; 2011. (In Russ.)]
30. Пальцев М.А., Кветной И.М., Полякова В.О., и др. Сигнальные молекулы в буккальном эпителии: оптимизация диагностики социально значимых заболеваний // Молекулярная медицина. – 2012. –

№ 4. [Pal'cev MA, Kvetnoj IM, Polyakova VO, et al. Signal'nye molekuly v bukka'l'nom ehpitelii: optimizaci-

ya diagnostiki social'no znachimyh zabolevanij. *Molekulyarnaya medicina*. 2012;(4). (In Russ.)]

■ Адреса авторов для переписки (*Information about the authors*)

Марина Хивалиевна Афанасьева — врач. Городская больница № 44. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург.
E-mail: ak-gin128@mail.ru.

Marina H. Afanasyeva — obstetrics and gynecology doctor. City Hospital No. 44, maternity welfare center No 19. FSBSI “The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott”. Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** ak-gin128@mail.ru.

Вячеслав Михайлович Болотских — д-р мед. наук, II акушерское отд. патологии беременности, заместитель директора по лечебной работе. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург.
E-mail: iagmail@ott.ru.

Vyacheslav M. Bolotskih — M.D., Head of the II prenatal unit. FSBSI “The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott”. Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** iagmail@ott.ru.

Виктория Олеговна Полякова — профессор, д-р биол. наук, зав. лабораторией клеточной биологии, отдела патоморфологии ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург.
E-mail: vopol@yandex.ru.

Victoria O. Polyakova — Prof, Dr. Sc., Head of Laboratory of Cell Biology, Department of Pathomorphology. FSBSI “The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott”. Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** vopol@yandex.ru.