

АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕНОТОКСИЧНОСТИ ПРИ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ

В. Гончарова¹,
А. Жанатаев², кандидат биологических наук,
З. Чайка²,
А. Дурнев², член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук,
профессор,
Н. Богдан²,
Н. Луценко¹, кандидат медицинских наук,
К. Морозова¹, кандидат медицинских наук,
С. Лунина¹,
Ю. Доброхотова¹, доктор медицинских наук, профессор,
О. Макаров¹, доктор медицинских наук, профессор
¹РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва
²НИИ фармакологии им. В.В. Закусова, Москва
E-mail: v_seredenina@mail.ru

В проведенном клиническом исследовании изучались показатели генотоксичности в венозной крови (уровень ДНК-комет, внеклеточной ДНК, содержание белка P53 и чувствительность лейкоцитов к действию прооксиданта) при невынашивании беременности.

Ключевые слова: акушерство и гинекология, невынашивание беременности, окислительный стресс, повреждения ДНК, белок P53.

Невынашивание беременности – актуальная проблема современной медицины, имеющая большое социально-экономическое значение в сформировавшихся демографических условиях. По эпидемиологическим данным до 15–20% беременностей прерываются преждевременно [1]. К этиологическим факторам потери беременности относят генетические дефекты, инфекционные, эндокринные, иммунологические, экстрагенитальные заболевания, коагулопатии, анатомические аномалии, социальные причины, мужской фактор, однако до 66% акушерских потерь остаются неясными [1].

Анализ механизмов невынашивания беременности, по многочисленным литературным данным, позволяет определить в качестве ведущего патогенетического звена окислительный стресс. Дисбаланс свободнорадикальных продуктов приводит к повреждению клеточных структур, функционально важных макромолекул, включая нуклеиновые кислоты [2].

При нормально протекающей беременности окислительный стресс имеет физиологическое значение в процессах контролирующего ее развитие. Однако при патологическом течении беременности продукция свободнорадикальных интермедиатов выходит за рамки физиологической нормы, что приводит к нарушениям в клетке, генетическим повреждениям [2]. Поскольку последние являются одной из главных причин невынашивания беременности, их своевременная диагностика может оказаться полезной для лечебно-профилактических мероприятий и медико-генетической консультации. Решение проблемы ограничивается недостаточной чувствительностью цитогенетических методов исследования. Вместе с тем для регистрации ранних повреждений

генетического аппарата, включая предмутационные, в последние годы предложены новые подходы, такие как метод ДНК-комет, определение 8-гидрокси-2-деоксигуанозина (8-oxodG) [3], уровня внеклеточной ДНК (ДНК_{вн}) и связанных с генетическими повреждениями показателей белка P53, цитохрома С (Cyt C) [4, 5].

Нами проанализированы показатели генотоксичности на ранних сроках гестации у пациенток с диагнозами: «начавшийся выкидыш; ретрохориальная гематома» и «неразвивающаяся беременность» по сравнению с показателями при физиологически протекающей беременности, а также у небеременных женщин.

В клиническое исследование были включены 94 женщины, из них 69 беременных, объединенных в 3 группы: 1-я – с диагнозом: «начавшийся выкидыш; ретрохориальная гематома» (НЧВ; n=20), 2-я – с неразвивающейся беременностью (НрБ; n=25) и 3-я – с физиологически протекающей беременностью (ФпБ; n=24). Кроме того, были обследованы 25 здоровых небеременных женщин (НБ; 4-я группа).

Критериями включения в группы беременных были: согласие на участие в клиническом исследовании, срок беременности 8–16 нед, отсутствие грубой экстрагенитальной и генитальной патологии. Из клинического исследования исключали пациенток, применявших вспомогательные репродуктивные технологии, а из контрольных групп (3-я и 4-я) – пациенток с репродуктивными потерями в анамнезе.

Всем женщинам проведено стандартное клинико-лабораторное обследование по протоколу отделения гинекологического профиля, включавшее активное выявление жалоб, сбор анамнестических данных, объективный осмотр, гинекологический осмотр, стандартное лабораторное обследование, УЗИ органов малого таза. По клиническим характеристикам включенные в исследование группы были однородными.

Показатели генотоксичности и уровень маркеров апоптоза определяли в образцах венозной крови, полученной в сроки 10–11, 12–13 и 14–15 нед гестации у пациенток 1-й и 3-й групп, при сроке гестации 10–11 нед – у пациенток 2-й группы, а также у небеременных женщин.

Уровень ДНК-повреждений в лейкоцитах крови оценивали методом ДНК-комет в щелочной версии [3]. Метод основан на регистрации различной подвижности в постоянном электрическом поле ДНК и фрагментов ДНК лизированных клеток, заключенных в агарозный гель. При этом ДНК мигрирует к аноду, формируя электрофоретический след, напоминающий «хвост кометы», параметры которого зависят от степени поврежденности ДНК. Полученные с микропрепаратов изображения ДНК-комет анализировали с использованием программного обеспечения CASP 1.2.2. В качестве показателя поврежденности ДНК использовали процентное содержание ДНК (%ДНК) в хвосте от общего количества ДНК в комете.

Оценку 8-oxodG в ДНК лейкоцитов крови проводили модифицированным методом ДНК-комет с использованием набора Human 8-oxoGuanineDNAGlycosylase (OGG1), FLAREAssay (R&D Systems Inc., США), FLARE (Fragment Length Analysis using Repair Enzymes). Метод основан на регистрации уровней 1- и 2-нитевых разрывов ДНК индивидуальных клеток после обработки hOGG1 – ферментом эксцизионной репарации 8-oxodG в ДНК клеток [3]. Содержание 8-oxodG выражали в %ДНК в хвосте, определяемом как разница показателей %ДНК в хвосте в лизированных

клетках, обработанных hOGG1, и аналогичного показателя для лизированных клеток, обработанных только ферментным буфером.

Уровень 8-oxodG в сыворотке крови оценивали иммуноферментным методом с использованием набора 8-hydroxy-2-deoxy Guanosine EIAKit (Cayman Chemical, США) в соответствии с инструкцией производителя. Концентрацию 8-oxodG выражали в нг/мл сыворотки.

Концентрацию (усл. ед. из 1 мл сыворотки – усл/мл) белка P53 в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с использованием набора Human p53 Platinum ELISA (eBioscience, США) в соответствии с инструкцией производителя.

Концентрацию белка Сут С в сыворотке крови (нг/мл сыворотки) оценивали иммуноферментным методом с использованием набора Human Cytochrome c Platinum ELISA (eBioscience, США) в соответствии с инструкцией производителя.

Концентрацию внеклеточной ДНК в плазме крови (нг/мл плазмы) определяли флуоресцентным методом с использованием набора Qubit® dsDNA HS Assay Kit (Invitrogen, США) на флуориметре Qubit® 1.0 в соответствии с инструкцией производителя.

Для оценки индуцируемых повреждений *ex vivo* лейкоциты крови подвергали воздействию перекиси водорода в конечной концентрации 100 мкм в течение 5 мин при температуре 5°C. По окончании инкубации клетки переносили в агарозный гель и проводили процедуры по методу ДНК-комет, как описано выше. Чувствительность к действию перекиси водорода, индуцирующей ДНК-повреждения по свободнорадикальному механизму, позволяет косвенно оценить степень антиоксидантной защиты на уровне отдельных клеток. Индуцируемые ДНК-повреждения оценивали в Δ%DНК в хвосте как разницу показателей %ДНК в хвосте в клетках, обработанных H₂O₂, и для необработанных клеток.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statistica 10 (StatSoft Inc.). Для оценки свойств распределения показателей использовали критерии Колмогорова–Смирнова, Шапиро–Уилка. Количественные показатели анализировали по методу Краскела–Уоллиса, Фриденмана, по методу апостериорных множественных сравнений при сравнении 3 и 4 независимых групп, применяли U-критерий Манна–Уитни и T-критерий Уилкоксона для попарных сравнений. Корреляционные связи оценивали по методу Спирмена. При нормальном распределении параметров использовали t-критерий Стьюдента. Для анализа качественных показателей использовали метод χ² и точного критерия Фишера. Результаты считали статистически достоверными при p<0,05.

Сравнительный анализ показателей генотоксичности и апоптоза у пациенток с патологией беременности, физиологически протекающей беременностью и у небеременных женщин позволил установить следующее.

Уровень 8-oxodG оказался сходным в группах с патологически протекавшей и с физиологической беременностью. Разнонаправленные отличия в лейкоцитах и в сыворотке крови обнаружены у небеременных по сравнению с показателями при физиологической беременности (табл. 1).

Из табл. 1 видно, что повреждения ДНК, регистрируемые методом ДНК-комет, а также уровень ДНК_{вн} в плазме крови более выражены в группах с патологией беременности (НЧВ и НрБ), чем в контрольных группах (ФпБ и НБ).

Наиболее высокое содержание показателя апоптоза – белка P53 обнаружено при неразвивающейся беременности, повышенный его уровень по сравнению с таковым при физиологически протекавшей беременности выявлен в группе НЧВ; показатели в группах с патологией беременности достоверно различались (табл. 2).

Содержание в сыворотке крови Сут С в группах не различалось, за исключением достоверного увеличения показателя в сроки 14–15 нед гестации у пациенток с начавшимся выкидышем (см. табл. 2).

Сравнительный анализ повреждений ДНК в образцах крови пациенток 1-4-й групп

Таблица 1

Показатель	10-11 нед				12-13 нед			14-15 нед		
	Группа				Группа			Группа		
	1-я (НЧВ)	2-я (НрБ)	3-я (ФпБ)	4-я (НБ)	1-я (НЧВ)	3-я (ФпБ)	4-я (НБ)	1-я (НЧВ)	3-я (ФпБ)	4-я (НБ)
8-oxodG в ДНК лейкоцитов	3,9±3,1 (1,1–13,4)	5,7±4,4 (2,0–17,4)	3,2±3,0 (1,1–13,9)	3,2±0,4 (2,5–3,9)	4,9±3,5 (1,6–12,7)	5,2±3,2 (0,3–7,6)	3,2±0,4 (2,5–3,9)	4,6±4,6 (0,6–21,1)	3,7±3,3 (0,5–15,0)	3,2±0,4 (2,5–3,9)
	p ₁₋₂ =0,387489 p ₁₋₃ =0,31509	p ₂₋₃ =0,083701	p ₃₋₄ =0,939695	p ₃₋₄ =0,939695	p ₁₋₃ =0,50156	p ₁₋₃ =0,50156 p ₃₋₄ =0,045799	p ₃₋₄ =0,045799	p ₁₋₃ =0,436354	p ₁₋₃ =0,436354 p ₃₋₄ =0,649886	p ₃₋₄ =0,649886
8-oxodG в сыворотке крови	2,5±0,6 (1,6–3,6)	2,7±1,6 (1,0–9,6)	3,1±1,9 (1,8–11,5)	2,7±0,5 (2,1–4,1)	2,6±0,7 (1,3–3,8)	2,3±0,9 (1,5–5,5)	2,7±0,5 (2,1–4,1)	2,4±0,7 (0,9–3,9)	2,0±1,1 (0,8–5,1)	2,7±0,5 (2,1–4,1)
	p ₁₋₂ =0,464393 p ₁₋₃ =0,156671	p ₂₋₃ =0,633853	p ₃₋₄ =0,748969	p ₃₋₄ =0,748969	p ₁₋₃ =0,429077	p ₁₋₃ =0,429077 p ₃₋₄ =0,023512	p ₃₋₄ =0,023512	p ₁₋₃ =0,219451	p ₁₋₃ =0,219451 p ₃₋₄ =0,000900	p ₃₋₄ =0,000900
%ДНК в хвосте	3,8±1,8 (0,7–6,9)	2,7±3,5 (0,6–16,2)	1,5±1,1 (0,3–4,1)	2,6±1,3 (0,3–4,2)	4,2±2,9 (0,9–11,0)	1,6±1,8 (0,3–7,6)	2,6±1,3 (0,3–4,2)	3,3±4,7 (1,2–15,6)	1,3±1,1 (0,5–5,4)	2,6±1,3 (0,3–4,2)
	p ₁₋₂ =0,263140 p ₁₋₃ =0,000549	p ₂₋₃ =0,013557	p ₃₋₄ =0,340473	p ₃₋₄ =0,340473	p ₁₋₃ =0,000266	p ₁₋₃ =0,000266 p ₃₋₄ =0,203737	p ₃₋₄ =0,203737	p ₁₋₃ =0,000021	p ₁₋₃ =0,000021 p ₃₋₄ =0,198406	p ₃₋₄ =0,198406
ДНК _{вн} , нг/мл	0,8±0,2 (0,4–1,4)	0,9±0,2 (0,5–1,3)	0,6±0,2 (0,4–1,1)	0,9±0,2 (0,5–1,2)	0,7±0,2 (0,4–1,2)	0,6±0,2 (0,3–1,0)	0,9±0,2 (0,5–1,2)	0,8±0,2 (0,4–1,0)	0,5±0,2 (0,3–0,9)	0,9±0,2 (0,5–1,2)
	p ₁₋₂ =0,406006 p ₁₋₃ =0,006245	p ₂₋₃ =0,002230	p ₃₋₄ =0,000089	p ₃₋₄ =0,000089	p ₁₋₃ =0,065974	p ₁₋₃ =0,065974 p ₃₋₄ =0,000400	p ₃₋₄ =0,000400	p ₁₋₃ =0,000530	p ₁₋₃ =0,000530 p ₃₋₄ =0,000041	p ₃₋₄ =0,000041

Примечание. В скобках – пределы колебаний; p – достоверность различий между соответствующими группами (от 1-й до 4-й) – здесь и в табл. 2, 3.

Исследования *ex vivo* по определению чувствительности лейкоцитов крови пациенток исследованных групп к действию прооксиданта – перекиси водорода (H₂O₂) продемонстрировали наиболее высокую чувствительность при оценке по индукции ДНК-комет клеток крови пациенток с неразвивающейся беременностью, затем – с диагнозом НЧВ, наименее чувствительными оказались клетки при ФпБ (табл. 3).

Отметим, что нами выявлены достоверные различия в содержании белка P53 и ДНК_{вн} у женщин с физиологически протекающей беременностью и у небеременных, причем в группе ФпБ они оказались меньше (см. табл. 1, 2).

В литературе мы не нашли подобных комплексных исследований, однако в ряде работ авторами решались похожие задачи.

Так, T. Stein и соавт. [4] в качестве маркера окислительно-го стресса изучался 8-oxodG: его повышение на ранних сроках беременности ассоциировалось с низкой массой тела плода при рождении и укорочением длительности гестации, а снижение – с возникновением дефектов развития плода. Однако в другом исследовании [5], наоборот, было зарегистрировано повышение уровня маркера к концу срока при нормально протекающей беременности.

Полученные нами результаты показали повышение уровня 8-oxodG как при патологически протекающей, так и при физиологической беременности. Возможно, в изученные сроки гестации данный показатель отображает как процессы повреждения ДНК, так и ее репарацию. В пользу этой точки зрения свидетельствуют данные о повышении уровня 8-oxodG в клетках крови женщин с нормально протекающей беременностью в сроки гестации 12–13 нед по сравнению с таковыми у небеременных женщин (см. табл. 1). Полученные результаты не позволяют говорить о возможности диф-

ференциации нормально протекающей и патологической беременности на ранних сроках гестации по уровню 8-oxodG в лейкоцитах.

Повреждения ДНК, зарегистрированные методом ДНК-комет, оказались выше в группах с патологически протекавшей беременностью, в то время как группы ФпБ и НБ не различались. В литературе нам не удалось обнаружить анализа ДНК-комет при патологии беременности, однако хорошо известны работы, выполненные традиционными методами регистрации ДНК-повреждений, установившие связь воздействия неблагоприятных факторов с низкой массой тела плода и гормональными нарушениями [6]. Не исключено, что установленные нами ассоциации, касающиеся изменений уровня ДНК-комет, с патологией беременности могут быть использованы для разработки новых методов диагностики.

Определение свободной ДНК в плазме крови полностью подтвердило предыдущие результаты. Концентрация ДНК_{вн} в группах с патологически протекающей беременностью была выше, чем при физиологической. Полученные результаты соответствуют ранее опубликованным. Так, выявлено [7] повышение общей и фетальной свободной ДНК при самопроизвольном выкидыше. Другие авторы [8] наблюдали прогрессирующее увеличение концентрации фетальной и общей ДНК с 6-й по 12-ю неделю физиологической беременности, а при самопроизвольном выкидыше данный показатель увеличивался в несколько раз. С. Clark-Ganheart и соавт. [19] обнаружен повышенный уровень свободной ДНК после 8-й недели гестации в связи с неразвивающейся беременностью.

Как известно, повреждения ДНК сопровождаются увеличением экспрессии белка P53, опосредующего процессы репарации и механизмы апоптоза, поэтому определение его со-

Таблица 2

Сравнение показателей апоптоза (уровень белка P53 м Cyt C) в образцах крови пациенток 1–4-й групп

Показатель	10-11 нед				12-13 нед			14-15 нед		
	Группа									
	1-я (НЧВ)	2-я (НрБ)	3-я (ФпБ)	4-я (НБ)	1-я (НЧВ)	3-я (ФпБ)	4-я (НБ)	1-я (НЧВ)	3-я (ФпБ)	4-я (НБ)
Белок P53, у.е./мл	0,4±0,2 (0,1–1,1)	0,7±0,5 (0,2–1,8)	0,3±0,3 (0,1–1,5)	0,6±0,2 (0,3–1,1)	0,5±0,4 (0,1–1,4)	0,2±0,4 (0,1–1,6)	0,6±0,2 (0,3–1,1)	0,7±0,3 (0,2–1,3)	0,4±0,3 (0,1–1,6)	0,6±0,2 (0,3–1,1)
	p ₁₋₂ =0,012283 p ₁₋₃ =0,153623	p ₂₋₃ =0,000803	p ₃₋₄ =0,000177	p ₃₋₄ =0,000177	p ₁₋₃ =0,198640	p ₁₋₃ =0,198640 p ₃₋₄ =0,000061	p ₃₋₄ =0,000061	p ₁₋₃ =0,016694	p ₁₋₃ =0,016694 p ₃₋₄ =0,000216	p ₃₋₄ =0,000216
Cyt C, нг/мл	0,6±0,7 (0,1–3,2)	0,6±0,3 (0,2–1,8)	0,6±0,6 (0,0–2,6)	0,4±1,9 (0,2–10,0)	0,6±0,6 (0,1–3,0)	0,5±0,6 (0,0–2,6)	0,4±1,9 (0,2–10,0)	0,8±0,6 (0,2–2,8)	0,4±0,6 (0,0–2,2)	0,4±1,9 (0,2–10,0)
	p ₁₋₂ =0,681856 p ₁₋₃ =0,545968	p ₂₋₃ =0,717552	p ₃₋₄ =0,833668	p ₃₋₄ =0,833668	p ₁₋₃ =0,205509	p ₁₋₃ =0,205509 p ₃₋₄ =0,968093	p ₃₋₄ =0,968093	p ₁₋₃ =0,018462	p ₁₋₃ =0,018462 p ₃₋₄ =0,26700	p ₃₋₄ =0,26700

Таблица 3

Индукция перекисью водорода ДНК-повреждений в лейкоцитах *ex vivo* образцов крови пациенток 1–4-й групп

Показатель	10-11 нед				12-13 нед			14-15 нед		
	Группа									
	1-я (НЧВ)	2-я (НрБ)	3-я (ФпБ)	4-я (НБ)	1-я (НЧВ)	3-я (ФпБ)	4-я (НБ)	1-я (НЧВ)	3-я (ФпБ)	4-я (НБ)
Δ%ДНК в хвосте	23,1±7,9 (12,0–36,6)	31,1±10,4 (14,1–49,3)	17,1±6,6 (10,2–31,7)	17,1±4,0 (10,3–26,7)	28,6±10,7 (11,5–48,3)	23,0±6,9 (13,1–36,4)	17,1±4,0 (10,3–26,7)	30,5±8,6 (9,4–39,0)	20,4±8,9 (13,6–51,7)	17,1±4,0 (10,3–26,7)
	p ₁₋₂ =0,025221 p ₁₋₃ =0,073190	p ₂₋₃ =0,000147	p ₃₋₄ =0,705232	p ₃₋₄ =0,705232	p ₁₋₃ =0,077028	p ₁₋₃ =0,077028 p ₃₋₄ =0,001736	p ₃₋₄ =0,001736	p ₁₋₃ =0,041432	p ₁₋₃ =0,041432 p ₃₋₄ =0,056591	p ₃₋₄ =0,056591

держания в биологически доступных субстратах может иметь диагностическое значение. Данный показатель был выше в группах НрБ и НчВ, чем при физиологически протекающей беременности. Характерно, что при неразвивающейся беременности, которая рассматривается как более тяжелая патология, уровень P53 был выше, чем при начавшемся выкидыше, а при нормально протекающей беременности – ниже, чем у небеременных женщин, что, вероятно, отражает включение адаптационных механизмов при беременности. Другие авторы отметили связь увеличения уровня P53 с идиопатическим прерыванием беременности [4]. Таким образом, полученные нами при определении белка P53 результаты соответствуют приводимым в литературе.

Достоверное повышение содержания Сут С установлено нами в группе НчВ при сроке гестации 14–15 нед. По данному маркеру можно было бы судить об активации митохондриального пути апоптоза. Лишь в немногих исследованиях обнаружены такие сдвиги при беременности – например, в гомогенате плаценты при вызывающих гипоксию герпесвирусных инфекциях [11]. В другой работе уровень Сут С исследован при преждевременных родах, но ассоциаций не выявлено [12]. Таким образом, на основании собственных и литературных данных можно заключить, что определение Сут С в плазме крови в изученные сроки гестации не позволяет дифференцировать состояние невынашивания беременности.

Исходя из установленных фактов увеличения ДНК-повреждений и сопряженного повышения маркера апоптоза белка P53, представлялось целесообразным охарактеризовать «антиоксидантную емкость» клеток крови пациенток из групп с патологией беременности и при физиологическом ее течении. Для этого был использован прием с добавлением *ex vivo* к лейкоцитам крови прооксиданта – перекиси водорода с оценкой уровня индукции ДНК-комет. Наименьшее повреждающее воздействие прооксиданта установлено для клеток крови пациенток с физиологически протекающей беременностью, значительно более выраженный деструктивный эффект обнаружен у пациенток 1-й группы (НчВ), еще выше он был во 2-й группе (НрБ). Эти результаты полностью соответствуют данным, полученным при изучении в исследованных группах ДНК-комет, ДНК_{вн} и белка P53, что подтверждает связь показателей генотоксичности с окислительным стрессом. Аналогичных клинических исследований в литературе не обнаружено.

Таким образом, проведенное исследование позволяет заключить, что выявлен кластер взаимосвязанных параметров, демонстрирующих генотоксические проявления при невынашивании беременности. Механизм патогенетических изменений представляется следующим. Различные этиологические факторы обуславливают снижение антиоксидантной защиты, что в проведенном исследовании *ex vivo* демонстрируется зависимым от тяжести патологии увеличением чувствительности клеток крови пациенток к действию прооксиданта. Усиление свободнорадикальной атаки ведет к увеличению ДНК-повреждений, установленному нами при анализе ДНК-комет и ДНК_{вн}, а также повышению концентрации белка P53 в крови, что может свидетельствовать о репаративных процессах либо о включении механизмов апоптоза. В любом случае

выявленный кластер параметров, включающих чувствительность к прооксиданту, ДНК-кометы, ДНК_{вн}, белок P53, позволяет дифференцировать такие состояния патологической беременности, как НчВ и НрБ, а также физиологически протекающую беременность. Поэтому масштабирование исследования для определения границ физиологической нормы параметров кластера может способствовать разработке и внедрению новых методов диагностики ранних нарушений наследственных структур, ведущих к репродуктивным потерям.

Литература

1. Макаров О.В. Гинекология. Клинические лекции / М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010; 352 с.
2. Agarwal A., Aponte-Mellado A., Premkumar B. et al. The effects of oxidative stress on female reproduction: a review // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2012; 10: 49. doi: 10.1186/1477-7827-10-49
3. Collins A. Measuring oxidative damage to DNA and its repair with the comet assay // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects.* – 2014; 1840 (2): 794–800.
4. Dehua Wei, Qinghua Wu, Huirong Shi. Apoptosis and p53 expression in the placental villi of females with unexplained recurrent spontaneous abortion // *Exp. Therap. Med.* – 2014; 7: 191–4.
5. Луценко М.Т., Андриевская И.А. Содержание цитохрома С и количество ядер в состоянии апоптоза в плаценте беременных, перенесших обострение герпес-вирусной инфекции // *Фундаментальные исследования.* – 2010; 2: 75–9.
6. Stein T., Scholl T., Schluter M. et al. Oxidative stress early in pregnancy and pregnancy outcome // *Free Radical Research.* – 2008; 42 (10):841–8.
7. Hung T., Lo L., Chiu T. et al. A longitudinal study of oxidative stress and antioxidant status in women with uncomplicated pregnancies throughout gestation // *Reprod. Sci.* – 2010; 17 (4): 401–9.
8. Slatter T., Park L., Anderson K. et al. Smoking during pregnancy causes double-strand DNA break damage to the placenta // *Human Pathology.* – 2014; 45 (1): 17–26.
9. Lim J., Kim M., Han Y. et al. Cell-free fetal DNA and Cell-free total DNA levels in spontaneous abortion with fetal chromosomal aneuploidy // *PLoS One.* – 2013; 8 (2): 1–8.
10. Yin A., Ng E., Zhang X. et al. Correlation of maternal plasma total cell-free DNA and fetal DNA levels with short term outcome of first-trimester vaginal bleeding // *Hum. Reprod.* – 2007; 22: 1736–43.
11. Clark-Ganheart C., Fries M., Leifheit K. et al. Use of cell-free DNA in the investigation of intrauterine fetal demise and miscarriage // *Obstet. Gynecol.* – 2015; 125 (6): 1321–9.
12. Zhang J., Zhou F., Song Y. et al. Long Dwell-Time Exposure of human chorionic villi to transvaginal ultrasound in the first trimester of pregnancy induces activation of caspase-3 and cytochrome C release // *Biol. Reprod.* – 2002; 67: 580–3.

GENOTOXICITY ANALYSIS IN MISCARRIAGE

V. Goncharova¹; A. Zhanataev², Candidate of Biological Sciences; Z. Chaika²; Professor A. Durnev², MD, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences; N. Bogdan²; N. Lutsenko¹, Candidate of Medical Sciences; K. Morozova¹, Candidate of Medical Sciences; S. Lunina¹; Professor Yu. Dobrokhotova¹, MD; Professor O. Makarov¹, MD

¹N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow

²V.V. Zakusov Research Institute of Pharmacology, Moscow

The performed clinical trial has investigated venous blood genotoxicity indicators (DNA comet level, extracellular DNA, p53 protein level, and leukocyte susceptibility to a prooxidant) in miscarriage.

Key words: obstetrics and gynecology, miscarriage, oxidative stress, DNA damage, p53 protein.