

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФОРМИРОВАНИЯ СВЯЗИ ЭМБРИОНА С ПЛАЦЕНТОЙ ПРИ ОБОСТРЕНИИ У БЕРЕМЕННОЙ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ**М.Т.Луценко, И.А.Андриевская, И.В.Довжикова***Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания Сибирского отделения РАМН,
675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22***РЕЗЮМЕ**

У 25 беременных с хронической цитомегаловирусной инфекцией в стадии обострения, чья беременность закончилась медицинским абортom при сроке гестации 6-8 недель, изучен нейрогормональный фон и иммунный статус, определена морфоструктура плаценты и сосудов эндометрия. Выявлено серотонин-опосредованное изменение иммунного ответа на присутствие цитомегаловирусного антигена, что проявлялось в усилении периферической циркуляции провоспалительных маркеров TNF α , IL-1, IL-4, IFN γ при одновременном снижении уровня IFN α , что вызывало локальное повреждение фетоплацентарного барьера, нарушение обменных процессов, способствующих его структурной перестройке. При исследовании плацент установлено нарушение формирования эмбриотрофа и трансформации цитотрофобластических элементов в синцитиотрофобласт, задержка дифференцировки мезенхимы в сторону образования эндотелия кровеносных сосудов. Маточные артерии в большинстве случаев были спазмированы, что определяло снижение показателей систоло-диастолического отношения в них. Важной причиной выявленных гестационных нарушений дифференцировки структур трофобласта и эндометрия при реактивации цитомегаловирусной инфекции и нарушении иммунного ответа явилось подавление продукции альфа-фетопротеина. Полученные результаты указывают на роль цитомегаловирусной инфекции в развитии дистрофических изменений ворсинчатого хориона, недостаточности маточного кровообращения и развития самопроизвольного аборта на ранних этапах гестации.

Ключевые слова: цитомегаловирусная инфекция, беременность, ворсинки, α -фетопротеин.

SUMMARY**MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTIC OF PLACENTA AND FETUS CONNECTION FORMATION IN EXACERBATION OF CYTOMEGALOVIRUS INFECTION****M.T.Lutsenko, I.A.Andrievskaya, I.V.Dovzhikova***Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration of Siberian Branch RAMS,
22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000,
Russian Federation*

A neuroendocrine profile and immune status as well as the morphology of placenta and endometrial vessels were studied in 25 pregnant women with the exacerbation of chronic cytomegalovirus infection whose preg-

nancy ended up with the abortion at the 6-8 weeks. A serotonin-mediated change of the immune response to cytomegalovirus antigen was revealed, which was manifested in the increase of peripheral circulation of pro-inflammatory markers TNF α , IL-1, IL-4, IFN γ at the simultaneous decrease of IFN α level, which caused a local damage of fetoplacental barrier and the metabolic disorder contributing to its structural reconstruction. While studying placentas the disorder in the formation of embryotroph and cytotrophoblastic elements transformation into syntrophoblast, the delay in mesenchyme differentiation towards the formation of blood vessels endothelium were found out. Uterine arteries in most cases were spasming, which led to the decrease of systolic ratio parameters in them. The depression of alpha-fetoprotein production was the most important cause of the revealed gestation disorders of differentiation of trophoblast structures and endometrium at reactivation of cytomegalovirus infection and immune response disorders. The obtained results suggest the role of cytomegalovirus infection in the development of dystrophic changes of chorion villi, insufficiency of uterine blood circulation and the development of the spontaneous abortion at the early stage of gestation.

Key words: cytomegalovirus infection, pregnancy, villi, alpha-fetoprotein.

Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) весьма распространена среди людей. Инфицирование происходит через сперму, слизь канала шейки матки, слюну, кровь, грудное молоко. К возрасту 45-50 лет почти 75% взрослого населения инфицированы цитомегаловирусом (ЦМВ).

Особое внимание привлекает ЦМВИ при беременности. Как известно, наиболее тяжелые последствия инфицирования отмечаются в I триместре беременности. При заражении плода в III триместре гестации новорожденный не имеет симптомов инфекции, но в сыворотке его периферической крови обнаруживается IgM [1, 4, 5]. Отсутствие симптомов инфекции при рождении еще не означает дальнейшего благополучия. При заболевании плода во время беременности, у ребенка возникают тяжелые поражения центральной нервной системы. ЦМВИ – одна из причин выкидышей на ранних сроках гестации. При внутриутробном заражении погибает до 30% больных детей [2, 5]. Очень важно знать, как будет развиваться беременность, если обострение хронической ЦМВИ происходит на ранних сроках гестации.

Целью работы явилось изучение морфофункционального состояния плаценты и сосудов эндометрия при сроке 6-8 недель в зависимости от иммунного статуса и уровня α -фетопротеина при различной степени

выраженности ЦМВИ.

Материалы и методы исследования

Обследовано 40 беременных на сроке гестации 6-8 недель в возрасте 18-25 лет с хронической ЦМВИ в стадии обострения (основная группа) с титром антител 1:800 (n=20) и 1:1600 (n=20). В контрольную группу вошли 20 беременных на тех же сроках гестации без патологии. Симптоматически ЦМВИ проявлялась в виде острого респираторного заболевания, сопровождающегося ринофарингитом. Диагноз обострения ЦМВИ устанавливали при комплексном исследовании периферической крови на наличие IgM или четырехкратного и более нарастания титра антител IgG в парных сыворотках в динамике через 10 дней, индекса avidности более 65%, а также ДНК ЦМВ. Исследования проведены с учетом требований Хельсинкской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и нормативных документов «Правила клинической практики в Российской Федерации», утвержденных Приказом №266 от 19.06.03 МЗ и СР РФ.

Верификация ЦМВ, определение типоспецифических антител, индекса avidности осуществлялись методами ИФА на спектрофотометре Stat Fax 2100 (США) с использованием тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск), выявление ДНК ЦМВ методом полимеразной цепной реакции проводили на аппарате ДТ-96 с использованием наборов НПО «ДНК-технология» (Москва).

Содержание в сыворотке крови IL-2, IFN γ и IFN α оценивали с помощью наборов реактивов ООО «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург), уровень TNF α – с использованием наборов реактивов ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург). Уровень IL-1 и IL-4 в сыворотке крови определяли с помощью наборов реактивов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Субпопуляцию NK-лимфоцитов (CD16+) изучали на проточном цитофлюориметре Beckman Coulter Epics XL-MCL (США).

Исследование гемодинамики фетоплацентарного комплекса проводилось с помощью ультразвукового сканера Aloka SSD-1700 (Япония), состояние кровотока оценивали по А.Н.Стрижакову и соавт. (1996).

Строение плаценты изучали на гистологических срезах: полутонких, окрашенных толуидиновым синим, альциановым синим, пикрофукцином по Ван Гизону. ДНК и полисахариды выявляли по Ван Дуйну, гликозаминогликаны окрашивали по методу Стивенса, перекиси липидов выявляли по методу Винклера-Шульце. Препараты изучали с использованием программы Bio Vision (США).

Все расчеты производили с использованием программного пакета Statistica 6.0. Проверку нормальности распределения проводили по критерию Колмогорова-Смирнова. Проверку гипотезы о статистической значимости различий двух выборок проводили с помощью t-критерия Стьюдента. Показатели считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Вследствие обострения хронической ЦМВИ в организме беременной происходили следующие взаимосвязанные события:

1. изменение иммунного статуса;
2. увеличение периферической циркуляции серотонина;
3. снижение уровня маточного кровоснабжения;
4. подавление синтеза плацентарных гормонов.

Изменение иммунного ответа у беременных на присутствие ЦМВ-антигена характеризовалось активацией NK-лимфоцитов (CD16+) и усиленной продукцией иммунокомпетентными клетками каскада провоспалительных цитокинов TNF α , IL-1, IL-4, IFN γ при альфа-интерферонодефиците, что поддерживало хронизацию инфекционно-воспалительного процесса (таб.). Причем наиболее выраженные изменения клеточного иммунитета были характерны для основной группы беременных с титром антител IgG к ЦМВ 1:1600.

Таблица

Показатели клеточного иммунитета, серотонина у беременных при хронической ЦМВИ в стадии обострения (M $\pm$ m)

Показатели	Обострение ЦМВИ		Контроль
	титр 1:800	титр 1:1600	
NK-лимфоциты (CD16+), %	13,10 $\pm$ 0,47***	18,50 $\pm$ 0,80**	10,00 $\pm$ 0,10
IL-1, пг/мл	20,0 $\pm$ 0,9**	80,0 $\pm$ 1,2***	14,7 $\pm$ 0,5
IL-2, пг/мл	5,0 $\pm$ 0,7***	12,0 $\pm$ 0,5***	38,5 $\pm$ 0,9
IL-4, пг/мл	30,0 $\pm$ 1,4*	41,0 $\pm$ 1,9***	25,0 $\pm$ 1,4
TNF α , пг/мл	95,5 $\pm$ 2,0***	200,0 $\pm$ 12,0***	20,0 $\pm$ 1,7
IFN α , пг/мл	75,5 $\pm$ 2,3***	35,0 $\pm$ 1,7***	46,0 $\pm$ 1,2
IFN γ , пг/мл	150,6 $\pm$ 2,5***	390,5 $\pm$ 18***	139,8 $\pm$ 2,9
Серотонин, мкмоль/мл	1,72 $\pm$ 0,04***	1,11 $\pm$ 0,03**	0,86 $\pm$ 0,07

Примечание: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ – уровень статистической значимости различий показателей по сравнению с контрольной группой.

Следует указать и на то, что при ЦМВИ усиливается выработка серотонина, который оказывает регуляторное влияние на лимфоидные органы и иммунокомпетентные клетки, повышая выработку провоспалительных цитокинов [3]. Более того, высокий уровень серотонина (табл.), который определялся в крови беременных с ЦМВИ и соответствовал степени выраженности иммунного ответа, способствовал нарушению маточного кровообращения за счет увеличения сократительной функции гладкой мускулатуры маточных артерий [7], что проявлялось в росте систоло-диастолического отношения до $2,80 \pm 0,08$ при титре 1:1600 ($p < 0,001$) и до $2,20 \pm 0,08$ при титре 1:800 ($p < 0,05$), в контроле данный показатель составил $1,80 \pm 0,03$. Ультразвуковые исследования подтверждались гистологически – на препаратах выявлялся спазм гладкой мускулатуры большей части маточных сосудов, что препятствовало достаточному кровоснабжению децидуальной оболочки и доставке крови к месту имплантации зародыша (рис. 1).

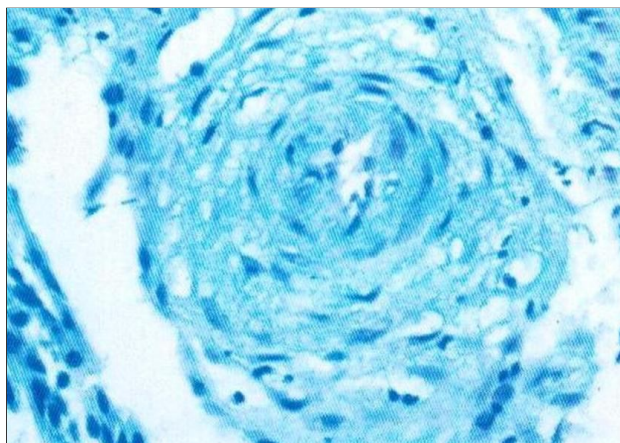


Рис. 1. Маточная артерия при сроке 6-7 недель. ЦМВИ в стадии обострения (титр антител IgG к ЦМВ 1:1600). Маточная артерия спазмирована. Окраска альциановым синим по Сидмену. Увеличение: 10×40 .

Как известно, оплодотворенная яйцеклетка, пройдя по маточной трубе, попадает на слизистую оболочку матки, которая на 14-15 день после начала предыдущего менструального цикла становится наиболее благоприятной за счет гестационных изменений для принятия оплодотворенной яйцеклетки. Попадая на слизистую оболочку матки, эмбрион еще покрыт защитной оболочкой (*zona pellucida*), которая не позволяет зародышу на первых порах внедряться в толщу слизистой оболочки матки. Источником питания в это время для зародыша становится секрет, вырабатываемый железами слизистой оболочки матки. За это время зародыш проходит очень сложный путь – превращается из многоклеточного узелка в бластодермический пузырек. *Zona pellucida* начинает рассасываться, а трофобластические клетки вступают в контакт с клетками слизистой оболочки матки. Освободившиеся от *pellucida* клетки трофобласта прикрепляются к клеткам слизистой оболочки матки и начинают внедряться, разрушая децидуальные клетки. На 8-9 день зародыш полностью

внедряется в толщу слизистой оболочки матки. Трофобласт продолжает разрастаться. В процессе роста трофобласта разрушаются мелкие капилляры слизистой оболочки матки, и материнская кровь свободно изливается в просвет лакун (рис. 2а).

Железы слизистой активно выделяют секрет, необходимый для питания зародыша (рис. 2б). Так происходит формирование эмбриотрофа (рис. 2в).

При обострении хронической ЦМВИ на ранних сроках образование эмбриотрофа становилось недостаточным, что подтверждалось формированием небольших кровяных лакун и лакун с тканевой жидкостью, расположенных отдельно и на большом расстоянии друг от друга (рис. 2г). Более того, выявлялось недостаточное поступление маточной крови в сформированные лакуны (рис. 3), что приводило к снижению поступления кислорода и питательных веществ к зародышу.

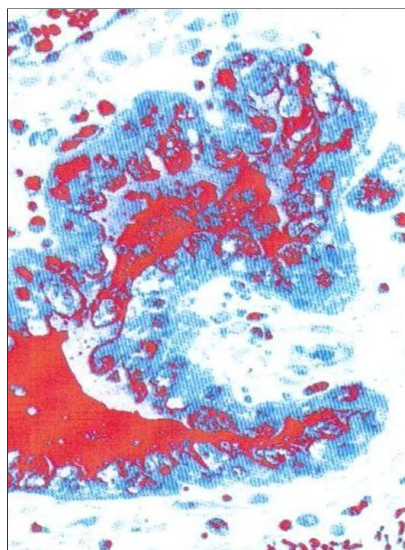
Одной из вероятных причин неполной гравидарной трансформации эпителия и сосудов слизистой оболочки матки, а также дифференцировки мезенхимы ворсин хориона в кровеносные сосуды явилось снижение выработки α -фетопротеина [6, 8]. В периферической крови беременных основной группы снижение показателей гормона происходило до $5,00 \pm 0,21$ МЕ/мл при титре 1:1600 ($p < 0,001$) и до $10,00 \pm 0,87$ МЕ/мл при титре 1:800 ($p < 0,01$), в контрольной группе содержание в крови α -фетопротеина составило $15,2 \pm 1,2$ МЕ/мл.

При исследовании морфоструктуры плацент от этих же женщин отмечалось нарушение дифференцировки мезенхимы в сторону образования капилляров. На одну ворсинку приходилось не более 1-2 сосудов, расположенных преимущественно в средней и центральной зонах. Часто встречались безсосудистые ворсинки (рис. 4а) с элементами структурной дезорганизации трофобласта (рис. 4б), вплоть до их гибели (рис. 4в). Кроме того, выявлялось нарушение дифференцировки трофобласта на синцитиотрофобласт и цитотрофобласт (рис. 5б), по сравнению с контролем (рис. 5а). Встречались цитотрофобластические клетки с элементами структурной дезорганизации ядра и вакуолизацией цитоплазмы. В синцитиотрофобласте обнаруживались ядра неправильной формы, местами с элементами инвагинации. В центральной зоне строма рыхлая, местами отечная. Встречались единичные фибробласты, наблюдалось увеличение количества макрофагов. Щеточная кайма представлена истонченными и укороченными микроворсинками, что ослабляло обменные процессы между кровью матери и плода. В то же время, в наружном покрове ворсинок выявлялась активная реакция на перекиси жирных кислот (рис. 4г).

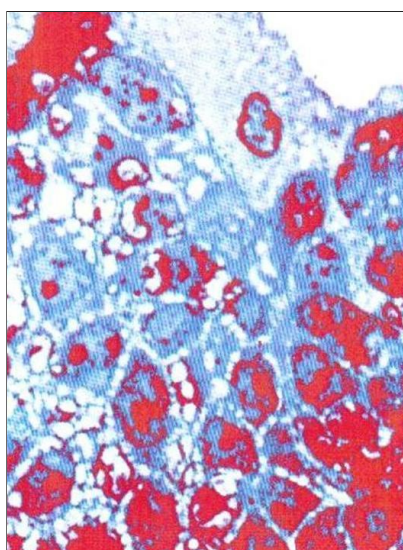
Таким образом, морфологические изменения фетоплацентарного комплекса при обострении хронической ЦМВИ на ранних сроках гестации выражаются неполной дифференцировкой эпителия слизистой оболочки матки. Недостаточность децидуализации приводит к слабой трофобластической инвазии в прилежащий эндометрий, что вызывает уменьшение объема гестационных изменений в маточно-плацентарных артериях

и задержку формирования эмбриотрофа. Подобные морфологические изменения характеризуются нарушением иммунного ответа беременной, которое сопровождается ростом показателей провоспалительных цитокинов (TNF α , IL-1, IFN γ), серотонина и недоста-

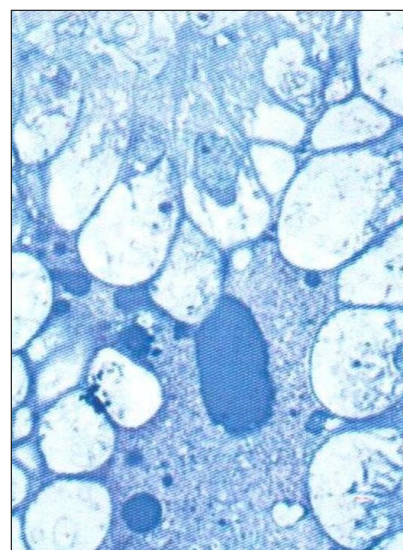
точности α -фетопротеина, что усиливает воспалительные реакции, вызывает спазм маточно-плацентарных сосудов, приводя к глубоким расстройствам микроциркуляции и развитию угрозы раннего самопроизвольного аборта.



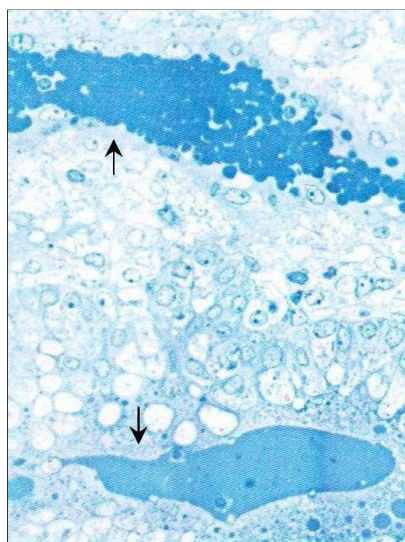
а



б



в



г

Рис. 2. Слизистая оболочка матки беременной при сроке 6-7 недель.
а – разрушение капилляров и формирование лакун. Контроль. Окраска толуидиновым синим. Обработка по программе Bio Vision. Увеличение: 10 $\times$ 40.

б – высокая секретирующая способность эпителия слизистой матки. Контроль. Окраска толуидиновым синим. Обработка по программе Bio Vision. Увеличение: 10 $\times$ 90.

в – выделение тканевой жидкости. Контроль. Окраска толуидиновым синим. Увеличение: 10 $\times$ 100.

г – формирование кровеносных сосудов (↑) и лакун (↓) из тканевой жидкости, расположенных отдельно и на большом расстоянии друг от друга. ЦМВИ в стадии обострения (титр антител IgG к ЦМВ 1:1600). Окраска толуидиновым синим. Увеличение: 15 $\times$ 40.

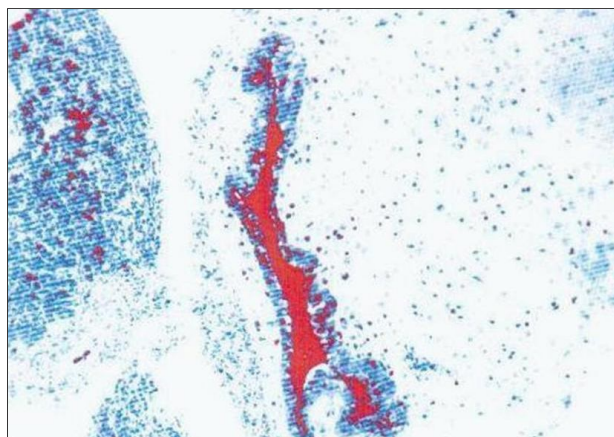
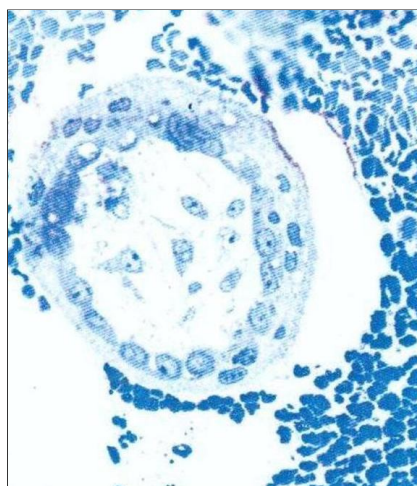
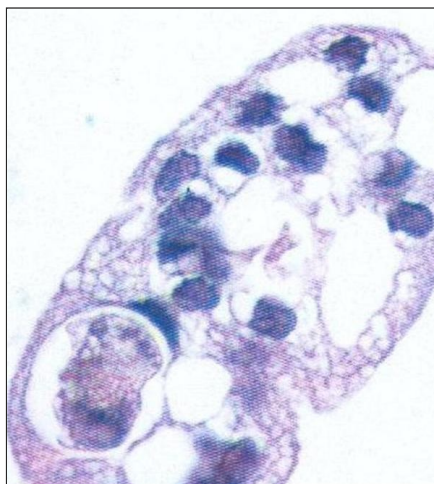


Рис. 3. Слизистая оболочка матки беременной при сроке 6-7 недель. ЦМВИ в стадии обострения (титр антител IgG к ЦМВ 1:1600). Уменьшение кровоснабжения слизистой оболочки матки и формирования эмбриотрофа. Обработка по программе Bio Vision. Увеличение: 10 $\times$ 40.



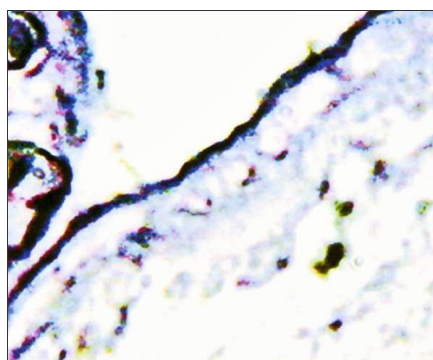
а



б



в



г

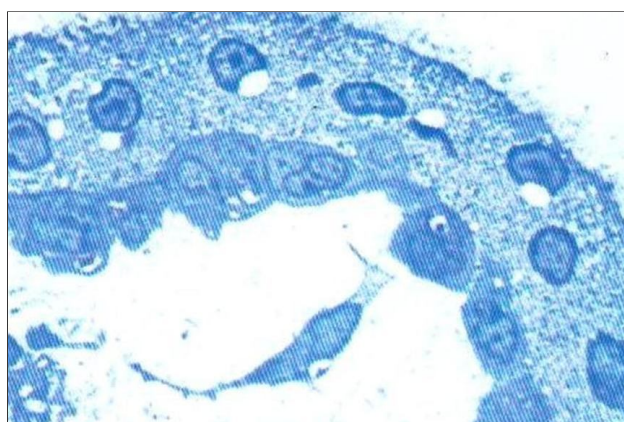
Рис. 4. Плацента беременной при сроке 6-7 недель. ЦМВИ в стадии обострения (титр антител IgG к ЦМВ 1:1600).

а – ворсинка хориона с развитой мезенхимальной основой, не имея признаков формирования сосудов. Окраска толуидиновым синим. Увеличение: 10×40.

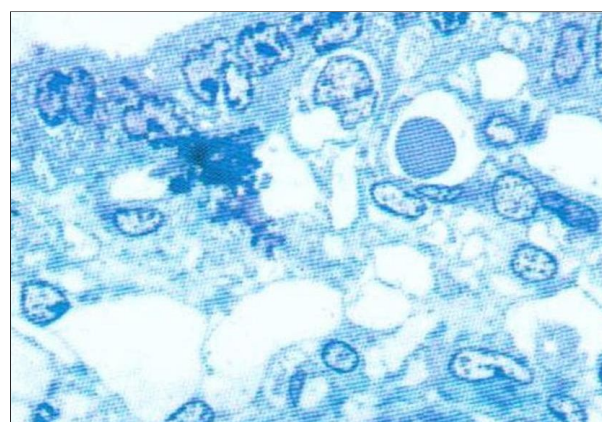
б – ворсинка с задержкой дифференцировки трофобластических элементов. Реакция по Ван Дуйну. Увеличение: 10×40.

в – гибель ворсинки. Реакция по Ван Дуйну. Увеличение: 10×40.

г – активная реакция на перекиси жирных кислот в наружной мембране синцитиотрофобласта ворсинки. Реакция по Винклеру-Шульце. Увеличение: 10×40.



а



б

Рис. 5. Плацента беременной при сроке 7-8 недель.

а – ЦМВИ в стадии обострения (титр антител IgG к ЦМВ 1:1600). Задержка дифференцировки структурных элементов трофобласта. Полутонкие срезы. Окраска толуидиновым синим. Увеличение: 15×90.

б – контроль. Дифференцировка трофобласта на синцитиотрофобласт и цитотрофобласт. Полутонкие срезы. Окраска толуидиновым синим. Увеличение 15×90.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ковалева Т.А. Факторы риска инфицирования цитомегаловирусом плода, новорожденных и детей первого года жизни // Сиб. мед. журн. 1998. Т.13, №1-2. С.36–38.
2. Лещинская И.В., Мартыненко И.Н., Демидова С.А. Поражение центральной нервной системы у детей при цитомегалии // Вопр. охр. мат. и дет. 1985. №5. С.61–65.
3. Фетоплацентарная система при обострении гер-

пес-вирусной инфекции во время беременности / М.Т.Луценко [и др.]. Новосибирск-Благовещенск, 2010. 245 с.

4. Луценко М.Т. Влияние цитомегаловирусной инфекции на характер течения беременности. Благовещенск, 2012. 173 с.

5. Клинико-иммунологические особенности активной цитомегаловирусной и смешанной с ней инфекции у детей грудного возраста / С.В.Мальцев [и др.] // Казанский мед. журн. 1998. Т.79, №6. С.411–415.

6. Молдогазиева Н.Т., Терентьев А.А. Альфа-фето-

протеин и факторы роста. Структурно-функциональные взаимоотношения и аналогии // Успехи биол. химии. 2006. Т.46. С.99–148.

7. Приходько В.Б. Маточно-плацентарное кровообращение у беременных с герпес-вирусной инфекцией // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2008. Вып.30. С.29–32.

8. Строева О.Г., Панова И.Г. Особенности клеточной пролиферации в период роста и становления специфической дифференцировки пигментного эпителия сетчатки (на модели животных) // Рос. педиатр. офтальмол. 2007. № 4. С.53–55.

REFERENCES

1. Kovaleva T.A. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal* 1998; 13(1-2):36–38.
2. Leshchinskaya I.V., Martynenko I.N., Demidova S.A. *Voprosy okhrany materinstva i detstva* 1985; 5:61–65.
3. Lutsenko M.T., Andrievskaya I.A., Dovzhikova I.V.,

Solov'eva A.S. *Fetoplatsentarnaya sistema pri obostrenii herpes-virusnoy infektsii vo vremya beremennosti* [Feto-placental system at the exacerbation of herpesvirus infection during pregnancy]. Novosibirsk-Blagoveshchensk; 2010.

4. Lutsenko M.T. *Vliyaniye tsitomegalovirusnoy infektsii na kharakter techeniya beremennosti* [The influence of cytomegalovirus infection on the character of gestation course]. Blagoveshchensk; 2012.

5. Mal'tsev S.V., Ozhegov A.M., Myakisheva L.S., Shakirova E.M. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal* 1998; 79(6):411–415.

6. Moldogazieva N.T., Terent'ev A.A. *Uspekhi biologicheskoy khimii* 2006; 46:99–148.

7. Prikhodko V.B. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniya* 2008; 30:29–32.

8. Stroeveva O.G., Panova I.G. *Rossiyskaya pediatricheskaya ofial'mologiya* 2007; 4:53–55.

Поступила 20.09.2013

Контактная информация

Михаил Тимофеевич Луценко,

доктор медицинских наук, профессор, академик РАМН, руководитель лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при НЗЛ,

Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания Сибирского отделения РАМН, 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22.

E-mail: Lucenkomt@mail.ru

Correspondence should be addressed to

Mikhail T. Lutsenko,

MD, PhD, Professor, Academician RAMS, Head of Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery

Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases,

Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration SB RAMS,

22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation.

E-mail: Lucenkomt@mail.ru