

УДК 616.36:577.175.622]578.825.12:616-036.65

DOI: 10.12737/21459

**НАРУШЕНИЕ ПРЕОБРАЗОВАНИЯ АНДРОСТЕНДИОЛА В ПЛАЦЕНТЕ ПРИ
БЕРЕМЕННОСТИ, ОСЛОЖНЕННОЙ РЕАКТИВАЦИЕЙ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ
ИНФЕКЦИИ В ПЕРВОМ ТРИМЕСТРЕ****И.А.Андриевская¹, Л.Ф.Шолохов²**¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16**РЕЗЮМЕ**

Цель работы – анализ преобразования андростендиола в ворсинчатых хорионах при гестации, протекающей на фоне активации цитомегаловирусной инфекции в первом триместре. Материалом для исследования послужили 48 ворсинчатых хорионов, взятых при проведении медицинских аборт в срок 8-10 недель от женщин с реактивацией хронической цитомегаловирусной инфекции во время беременности, 35 ворсинчатых хорионов составили контрольную группу. Результаты обследования беременных женщин анализировали с позиции активности цитомегаловирусной инфекции иммуоферментным методом по наличию антител IgM или по величине четырехкратного и более нарастания титра антител IgG в парных сыворотках в динамике через 10 дней. У всех женщин индекс avidности IgG к цитомегаловирусу был более 75%. Преобразование андростендиола оценивалось гистохимическим методом. Количественная оценка продуктов реакции на срезах проводилась под микроскопом МТ (Япония), связанным с программно-аппаратным комплексом «SCION Corporation» (США). Продукт гистохимической реакции на андростендиолдегидрогеназу хорошо выявлялся в синцитиотрофобласте и цитотрофобласте хориальных ворсин. Активность реакции в материале от женщин, перенесших реактивацию цитомегаловирусной инфекции во время первого триместра беременности, была снижена, что свидетельствовало об уменьшении резерва для синтеза эстрогенов. Содержание эстриола и эстрадиола в ворсинчатых хорионах при реактивации цитомегаловирусной инфекции снизилось до $24,9 \pm 2,01$ нмоль/л и $15765,1 \pm 107,77$ пмоль/л, соответственно.

Ключевые слова: цитомегаловирус, ворсинчатый хорион, андростендиол, эстрадиол, эстриол.

SUMMARY**DISTURBANCE OF ANDROSTENEDIOL
CONVERTING IN PLACENTA DURING
REACTIVATION OF CYTOMEGALOVIRUS
INFECTION IN THE FIRST TRIMESTER OF
PREGNANCY****I.A.Andrievskaya¹, L.F.Sholokhov²**¹Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str.,*Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation*²Scientific Center of Family Health Problems and Human Reproduction, 16 Timiryazeva Str., Irkutsk, 664003, Russian Federation

The aim is to analyze androstenediol converting in villous chorions at gestation against cytomegalovirus infection activation during the first trimester of pregnancy. 48 villous chorions samples taken during medical abortion at 8-10th weeks of gestation of women with chronic cytomegalovirus reactivation during pregnancy became the material for study, and 35 villous chorions samples were taken as the control. The results of pregnant women examination were analyzed from the point of cytomegalovirus infection activity with immune-enzyme method by the presence of IgM antibodies or by the value of 4-times and more growth of IgG antibodies titer in paired sera in dynamics in 10 days. IgG avidity index to cytomegalovirus was more than 75% in all women. Androstenediol converting was assessed with histochemical methods. Quantitative evaluation of the reaction products was carried out on sections under the microscope MT (Japan) associated with software-hardware complex «SCION Corporation» (USA). Histochemical reaction product of the androstenediol dehydrogenase was well detected in cyto- and syncytiotrophoblast of chorionic villi. Reaction activity in the material from women with reactivation of cytomegalovirus infection during pregnancy was low, which indicated a reduction in the reserve for the synthesis of estrogen. The concentration of estriol and estradiol in villous chorions during reactivation of cytomegalovirus infection decreased till 24.9 ± 2.01 nmol/l and 15765.1 ± 107.77 pmol/l, respectively.

Key words: cytomegalovirus, villous chorion, androstenediol, estradiol, estriol.

Цитомегаловирусная инфекция оказывает негативное влияние на развитие беременности [7–9], приводя к различным нарушениям метаболизма плаценты, особое внимание среди которых заслуживает дисбаланс стероидных гормонов [4, 6]. В первом триместре гестации эстрогены стимулируют ряд факторов, осуществляющих дифференцировку в плаценте и матке. Так, эстрогены являются одним из главных промоуторов ангиогенеза и васкулогенеза, необходимых для обеспечения развивающегося плода строительным материалом и кислородом [13, 14, 16]. Примечательно, что предшественниками эстрогенов являются мужские половые

гормоны – андрогены [5]. От их содержания зависит адекватность продукции эстрогенов. Известны исследования лишь некоторых андрогеновых прекурсоров при обострении персистирующей вирусной инфекции в период беременности [2, 4]. В настоящем сообщении предполагается рассмотреть влияние вирусного процесса на андростендиол. Он интересен тем, что в отличие от большинства андрогеновых метаболитов может служить источником для синтеза эстрогенов [15].

Цель работы – анализ преобразования андростендиола в ворсинчатом хорионе при гестации, протекающей на фоне реактивации цитомегаловирусной инфекции в первом триместре.

Материалы и методы исследования

Проанализировано 48 ворсинчатых хорионов, взятых при проведении медицинских аборт в срок 8-10 недель от женщин с реактивацией хронической цитомегаловирусной инфекции во время беременности, а также 35 ворсинчатых хорионов беременных с хронической цитомегаловирусной инфекцией в латентной стадии (они составили контрольную группу). По значимым параметрам (возраст, индекс массы тела, соматический и акушерско-гинекологический анамнез) на момент обследования сравниваемые группы достоверно не различались. Критерием включения в основную группу являлся лабораторно подтвержденный молекулярно-биологическими и серологическими методами исследования рецидив цитомегаловирусной инфекции во время I триместра беременности, наличие в периферической крови женщины на момент исследования титра антител класса IgG к цитомегаловирусу 1:1600, стойкая клиническая ремиссия герпесвирусной инфекции. К критериям исключения относили первичную цитомегаловирусную инфекцию, обострение других воспалительных заболеваний экстрагенитальной патологии и инфекций, передающихся половым путем. Рецидив цитомегаловирусной инфекции устанавливали на основании результатов комплексного исследования периферической крови: при наличии антител класса M или четырехкратного и более нарастания титра антител класса G к цитомегаловирусу в парных сыворотках в динамике через 10 суток; при индексе avidности антител класса IgG к цитомегаловирусу более 75%, а также в случае выявления ДНК цитомегаловируса методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в крови, моче, в соскобах с буккального эпителия и слизистой оболочки шейки матки. В соответствии с положениями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации последнего пересмотра от всех здоровых и больных лиц было получено информированное согласие на использование биологического материала в научных целях, проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом.

Определение антител классов G и M к цитомегаловирусу, их титрование в парных сыворотках в динамике через 10 дней, а также индекса avidности проводили, используя коммерческие наборы для иммуноферментного анализа ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия). Верификацию ДНК ЦМВ выявляли

методами ПЦР с использованием наборов НПО «ДНК-технология» (Москва, Россия) на аппарате ДТ-96.

Исследование эстрадиола и эстриола в приготовленном нами гомогенате ворсинчатых хорионов [1, 3] проводили методом иммуноферментного анализа, используя наборы ЗАО «Алкор Био» (Санкт-Петербург, Россия) на спектрофотометре Stat Fax 2100 (США).

Для изучения преобразования андростендиола был применен метод с солями тетразолия прописи З.Лойда и соавт., специально модифицированный в лаборатории «Механизмы этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при НЗЛ» ДНЦ ФПД на криостатных срезах свежемороженой плаценты. Субстратом для его выявления стал 2мМ Δ^5 -андростен-3 β ,17 β -диол (SIGMA, США). Для определения локализации энзима в качестве акцептора применялась соль тетразолия фирмы ICN Biomedicals (США) в конечной концентрации 5мМ. Как кофактор использовали НАДФ фирмы AppliChem (Германия) в конечной концентрации 1мМ. Инкубационный раствор готовился на основе 0,1М фосфатного буфера pH 7,4. Инкубацию проводили при 37°C в течение 30 минут. По окончании инкубации срезы промывали дистиллированной водой, фиксировали в 10%-м нейтральном формалине и заключали в глицерин-желатин. Количественная оценка продуктов реакции на срезах проводилась под микроскопом МТ (Япония), связанным с программно-аппаратным комплексом «SCION Corporation» (США).

Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием программного пакета «Statistica 6.0» (США). Проверку гипотезы о соответствии совокупностей количественных признаков закону нормального распределения осуществляли с использованием критерия Шапиро-Уилка (Shapiro-Wilk's W-test). В случае подчинения распределения признака закону нормального распределения данные представляли в виде средней величины (M) и стандартной ошибки (m). Для определения достоверности различий использовался непарный параметрический критерий Стьюдента. Принимались во внимание $p < 0,05$; $0,01$; $0,001$.

Результаты исследования и обсуждение

Для оценки активности конвертирования андростендиола была применена гистохимическая реакция на выявление андростендиолдегидрогеназы. Фермент хорошо определялся в цито- и синцитиотрофобласте ворсинчатого хориона контрольной группы, при этом цитофотометрическая оценка определялась на уровне $55,9 \pm 3,53$ пикселей/мкм² (рис. 1). В материале от женщин, перенесших реактивацию хронической цитомегаловирусной инфекции, активность превращений андростендиола была снижена, цитофотометрический показатель составлял $34,1 \pm 2,22$ пикселей/мкм² (рис. 2). Данное обстоятельство указывало на понижение метаболизма андрогена, а, следовательно, и на уменьшение содержания гормона в плаценте. Снижение же содержания андростендиола свидетельствовало об уменьшении дополнительного резерва для синтеза эстрогенов, крайне необходимых для беременности.

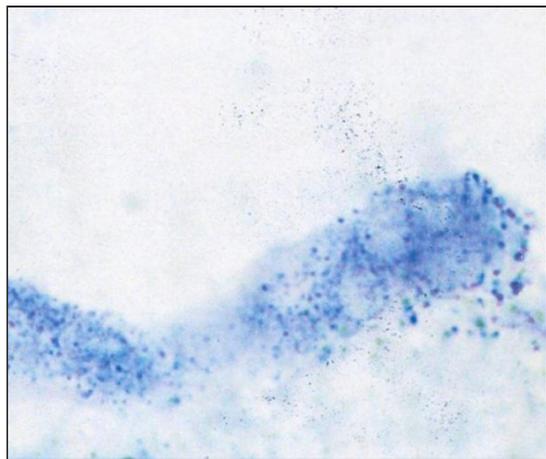


Рис. 1. Ворсинчатый хорион женщины контрольной группы. Гистохимическая реакция на андростендиолдегидрогеназу интенсивная. Реакция по З.Лойда. Увеличение: 15×40.

Действительно, количество эстрадиола при реактивации цитомегаловирусной инфекции в ворсинчатом хорионе существенно уменьшилось до 15765,1±107,77 пмоль/л по сравнению с контрольной группой – 27011,5±101,49 пмоль/л ($p < 0,001$). Количество эстриола уменьшилось до 24,9±2,01 нмоль/л по сравнению с контрольной группой – 67,2±3,76 нмоль/л ($p < 0,001$).

Достаточный уровень гормонов необходим для сохранения гестации. Эстрогены нужны для запуска программы морфогенеза тканей в плаценте и матке [13, 14]. Уменьшение содержания эстрогенов является серьезной опасностью, оно может привести к нарушению формирования плаценты, ангиогенеза, а, следовательно, маточно-плацентарного кровообращения. Интенсивность маточно-плацентарного кровотока служит основным фактором, определяющим поступление кислорода и питательных веществ к плоду. Вышеупомянутые нарушения приводят к задержке внутриутробного созревания, гипотрофии и гипоксии плода [10–12].

ЛИТЕРАТУРА

1. Андриевская И.А. Морфофункциональная характеристика плаценты при нарушении обмена гормонов и биогенноактивных веществ у беременных с герпесвирусной инфекцией: дис. ... канд. биол. наук. Благовещенск, 2004. 187 с.
2. Довжикова И.В. Дегидроэпиандростерон и кортизол в плаценте при обострении герпес-вирусной инфекции // Дальневосточный медицинский журнал. 2009. №1. С.52–55.
3. Довжикова И.В. Нарушение гормонообразовательных процессов в плаценте при беременности, осложненной обострением герпес-вирусной инфекции // Якутский медицинский журнал. 2009. №1(25). С.41–44.
4. Довжикова И.В. Нарушение преобразования дегидроэпиандростерона в плаценте при беременности, осложненной реактивацией цитомегаловирусной ин-

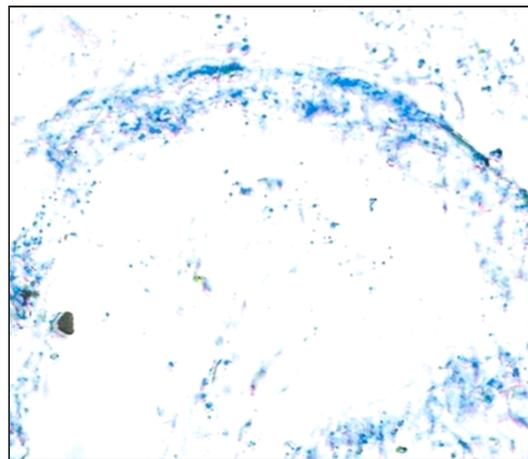


Рис. 2. Ворсинчатый хорион женщины, перенесшей реактивацию цитомегаловирусной инфекции. Гистохимическая реакция на андростендиолдегидрогеназу снижена. Реакция по З.Лойда. Увеличение: 15×40.

фекции // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2015. Вып.57. С.97–99.

5. Довжикова И.В. Ферменты стероидогенеза (обзор литературы) // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2010. Вып.37. С.60–64.

6. Довжикова И.В., Луценко М.Т., Андриевская И.А., Шолохов Л.Ф. Нарушение содержания эстрадиола в плаценте ранних сроков беременности при реактивации цитомегаловирусной инфекции // Международный научно-исследовательский журнал. 2015. №5-4(36). С.62–64.

7. Дорофиев Н.Н., Ишутина Н.А. Выявление ионизированного кальция в ворсинчатом хорионе у беременных с герпесвирусной инфекцией // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2007. Вып.24. С.20–23.

8. Луценко М.Т. Цитомегаловирусная инфекция // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2012. Вып.44. С.131–136.

9. Луценко М.Т., Андриевская И.А. Морфометрические исследования фетоплацентарного барьера ворсинок плаценты при герпесной и цитомегаловирусной инфекциях // Сибирский научный медицинский журнал. 2010. Т.30. №3. С.137–140.

10. Луценко М.Т., Андриевская И.А., Довжикова И.В. Морфофункциональная характеристика фетоплацентарного комплекса у беременных, перенесших обострение герпес-вирусной инфекции, и патоморфологические изменения в органах плода // Архив патологии. 2010. Т.72. №4. С.47–49.

11. Луценко М.Т., Андриевская И.А., Довжикова И.В., Соловьева А.С. Фетоплацентарная система при обострении герпес-вирусной инфекции во время беременности. Благовещенск, 2010.

12. Луценко М.Т., Андриевская И.А., Ишутина Н.А., Мироненко А.Г. Механизмы формирования гипоксии в период беременности и нарушение кровоснабжения плода при цитомегаловирусной инфекции // Вестник Российской академии медицинских наук. 2015. №1. С.106–112. DOI:10.15690/vramn.v70i1.1239

13. Albrecht E.D., Pepe G.J. Estrogen regulation of placental angiogenesis and fetal ovarian development during primate pregnancy // *Int. J. Dev. Biol.* 2010. Vol.54, №2-3. P.397–407.

14. Cronier L., Guibourdenche J., Niger C., Malassine A. Oestradiol stimulates morphological and functional differentiation of human villous cytotrophoblast // *Placenta.* 1999. Vol.20, Iss.8. P.669–676.

15. Makieva S., Saunders P.T.K., Norman J.E. Androgens in pregnancy: roles in parturition // *Hum. Reprod. Update.* 2014. Vol.20, №4. P.542–559.

16. Maliqueo M., Echiburú B., Crisosto N. Sex steroids modulate uterine-placental vasculature: implications for obstetrics and neonatal outcomes // *Front. Physiol.* 2016. Vol.26, №7. P.152.

REFERENCES

1. Andrievskaya I.A. Morphofunctional characteristics of the placenta in disturbance of hormones and biogenic active substances metabolism in pregnant women with herpes virus infection: PhD thesis. Blagoveshensk; 2004 (in Russian).

2. Dovzhikova I.V. Dehydroepiandrosterone and cortisol in the placenta at the time of acute condition of herpetic infection. *Dal'nevostochnyy meditsinskiy zhurnal* 2009; 1:52–55 (in Russian).

3. Dovzhikova I.V. Disturbance hormone educational processes in the placenta during pregnancy complicated with acute herpes virus infection. *Yakutskiy meditsinskiy zhurnal* 2009; 1(25):41–44 (in Russian).

4. Dovzhikova I.V. Disturbance of dehydroepiandrosterone conversion in placenta during reactivation of cytomegalovirus infection at pregnancy. *Bülleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2015; 57:97–99 (in Russian).

5. Dovzhikova I.V. Steroidogenesis enzymes (review). *Bülleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2010; 37:60–64 (in Russian).

6. Dovzhikova I.V., Lutsenko M.T., Andrievskaya I.A., Sholokhov L.F. Disturbance of estradiol conversion in villous chorion at reactivation of cytomegalovirus infection during pregnancy. *Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal.* 2015; 5-4:62–64 (in Russian).

7. Dorofienko N.N., Ishutina N.A. Ionized calcium detection in villous chorion in pregnant patients with herpesvirus infection. *Bülleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2007; 24:20–23 (in Russian).

8. Lutsenko M.T. Cytomegalovirus infection. *Bülleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2012; 44:131–136 (in Russian).

9. Lutsenko M.T., Andrievskaya I.A. Morphometric researches of the fetoplacental barrier of villus of the placenta at herpes and cytomegalovirus infections. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal* 2010; 30(3):137–140.

10. Lutsenko M.T., Andrievskaya I.A., Dovzhikova I.V. Morphofunctional characteristic of the fetoplacental complex in pregnant women with an exacerbation of herpesvirus infections and pathomorphological changes in fetal organs. *Arkhiv patologii* 2010; 72(4):47–49 (in Russian).

11. Lutsenko M.T., Andrievskaya I.A., Dovzhikova I.V., Solov'eva A.S. Fetoplacental system during exacerbation of herpes virus infection during pregnancy. Novosibirsk-Blagoveshensk; 2010 (in Russian).

12. Lutsenko M.T., Andrievskaya I.A., Ishutina N.A., Mironenko A.G. Mechanisms of hypoxia development during pregnancy and the disorder of fetus blood supply at cytomegalovirus infection. *Annals of the Russian academy of medical sciences.* 2015; 1:106–112 (in Russian). DOI:10.15690/vramn.v70i1.1239

13. Albrecht E.D., Pepe G.J. Estrogen regulation of placental angiogenesis and fetal ovarian development during primate pregnancy. *Int. J. Dev. Biol.* 2010; 54(2-3):397–407.

14. Cronier L., Guibourdenche J., Niger C., Malassine A. Oestradiol stimulates morphological and functional differentiation of human villous cytotrophoblast. *Placenta* 1999; 20(8):669–676.

15. Makieva S., Saunders P.T.K., Norman J.E. Androgens in pregnancy: roles in parturition. *Hum. Reprod. Update* 2014; 20(4):542–559.

16. Maliqueo M., Echiburú B., Crisosto N. Sex steroids modulate uterine-placental vasculature: implications for obstetrics and neonatal outcomes. *Front. Physiol.* 2016; 26(7):152.

Поступила 12.07.2016

Контактная информация

Ирина Анатольевна Андриевская,

доктор биологических наук,

главный научный сотрудник лаборатории механизмов

этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы

при неспецифических заболеваниях легких,

Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания,

675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22.

E-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru

Correspondence should be addressed to

Irina A. Andrievskaya,

PhD, DSc, Main staff scientist 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,

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

E-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru