

УДК 618.344-06:577.175.632]578.825.12:616-036.65

DOI: 10.12737/article\_59acba4a9aebc9.37532870

## НАРУШЕНИЕ АКТИВНОСТИ 20 $\alpha$ -ГИДРОКСИСТЕРОИДДЕГИДРОГЕНАЗЫ В СИНЦИТИОТРОФОБЛАСТЕ ВОРСИНЧАТОГО ХОРИОНА ПРИ ОБОСТРЕНИИ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ

И.В.Довжикова<sup>1</sup>, М.Т.Луценко<sup>1</sup>, К.К.Петрова<sup>1</sup>, Л.Ф.Шолохов<sup>2</sup><sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16

## РЕЗЮМЕ

Цель работы – оценка характера влияния цитомегаловирусной инфекции на активность 20 $\alpha$ -гидроксистероиддегидрогеназы в синциотиотрофобласте ворсинчатого хориона в первом триместре беременности. Материалом для исследования послужили 48 ворсинчатых хорионов, взятых при самопроизвольных абортах в срок 8-10 недель от женщин с реактивацией хронической цитомегаловирусной инфекции во время беременности (основная группа). Контрольную группу составили 35 ворсинчатых хорионов беременных с хронической цитомегаловирусной инфекцией в латентной стадии, взятых при проведении медицинских аборт на том же сроке гестации. Результаты обследования беременных женщин анализировали с позиции активности цитомегаловирусной инфекции иммуноферментным методом по наличию антител IgM или по величине четырехкратного и более нарастания титра антител IgG в парных сыворотках в динамике через 10 дней. Активность 20 $\alpha$ -гидроксистероиддегидрогеназы оценивали гистохимическим методом. Количественная оценка продуктов реакции на срезах проводилась под микроскопом МТ (Япония), связанным с программно-аппаратным комплексом SCION Corporation (США). На гистохимических препаратах ворсинчатого хориона беременных основной группы, перенесших обострение хронической цитомегаловирусной инфекции, отмечалось снижение цитопотометрического показателя активности 20 $\alpha$ -гидроксипрогестерондегидрогеназы до 30,1 $\pm$ 2,12 пикселей/мкм<sup>2</sup> (p<0,001) по сравнению с контрольной группой. Снижение активности реакции в синциотиотрофобласте ворсинок плаценты указывало на уменьшение содержания 20 $\alpha$ -дигидропрогестерона в плаценте, что способствовало, по нашему мнению, прерыванию беременности.

*Ключевые слова:* цитомегаловирус, ворсинчатый хорион, беременность, прогестерон, 20 $\alpha$ -дигидропрогестерон.

## SUMMARY

### DISTURBANCE OF 20 $\alpha$ -HYDROXYSTEROID DEHYDROGENASE ACTIVITY IN VILLOUS CHORION SYNCYTIOTROPHOBLAST AT REACTIVATION OF CYTOMEGALOVIRUS INFECTION DURING PREGNANCY

I.V.Dovzhikova<sup>1</sup>, M.T.Lutsenko<sup>1</sup>, K.K.Petrova<sup>1</sup>, L.F.Sholokhov<sup>2</sup><sup>1</sup>Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation<sup>2</sup>Scientific Center of Family Health Problems and Human Reproduction, 16 Timiryazeva Str., Irkutsk, 664003, Russian Federation

The aim of the work is to assess the effects of cytomegalovirus infection on the 20 $\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase activity in the villous chorion syncytiotrophoblast in the first trimester of pregnancy. The materials for the study included 48 villous chorions samples taken during spontaneous abortions at 8th–10th weeks of gestation from women with reactivation of cytomegalovirus infection (the main group). The control group included 35 villous chorions samples from pregnant women with chronic cytomegalovirus infection in the latent stage taken at medical abortions at the same stage of gestation. The results of women's examination were studied taken into account the activity of cytomegalovirus infection by immunoassay by detection of IgM antibodies or by 4 times and more increase of IgG antibody titers in the paired serums in dynamics in 10 days. The activity of 20 $\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase was assessed by the histochemical method. Quantitative evaluation of the reaction products was carried out on sections under the microscope MT (Japan) connected to software-hardware complex «SCION Corporation» (USA). At histochemical specimen of villous chorion of pregnant women who had a reactivation of cytomegalovirus infection during pregnancy (main group), there was a decrease of cytophotometric parameter of 20 $\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase activity till 30.1 $\pm$ 2.12 pixels/ $\mu$ m<sup>2</sup> (p<0.001) compared with the control group. The decrease in the reaction activity in syncytiotrophoblast indicated a decrease in the contents of 20 $\alpha$ -dihydroprogesterone in placenta, which contributed, in our opinion, to spontaneous abortion.

*Key words:* cytomegalovirus, villous chorion, pregnancy, progesterone, 20 $\alpha$ -hydroxyprogesterone.

В последние годы возросла значимость проблемы цитомегаловирусной инфекции в связи с широким распространением ее возбудителя, обусловленным снижением иммунологической резистентности у населения, ухудшением социально-экономических условий жизни

людей, широким применением в клинической практике антибиотиков, гормонов, иммунодепрессантов. Период беременности характеризуется наличием неспецифической депрессии иммунной системы, что способствует обострению хронической инфекции. В большинстве случаев цитомегаловирусная инфекция протекает бессимптомно или в виде субклинической, инаппарантной, хронической формы, которая не вызывает никаких субъективных или объективных клинических проявлений. Об активизации хронического процесса в этом случае свидетельствуют высокие показатели титров антител [3].

Приблизительно у 15% женщин с обострением цитомегаловирусной инфекции на ранней стадии беременности регистрируется самопроизвольный аборт [6]. При этом наличие инфекции регистрируется в плаценте, но не у плода, что привело к выводу о важной роли этого органа для исходов беременности при обострении цитомегаловирусной инфекции. Одной из функций плаценты является синтез стероидных гормонов для поддержания беременности. Большое значение имеют гестагены: прогестерон и его метаболиты. Основным метаболитом прогестерона в плаценте является 20 $\alpha$ -дигидропрогестерон [2], который обладает токолитическим эффектом [8], заключающимся в поддержании миометрия в состоянии покоя [7]. Реакция превращения прогестерона в 20 $\alpha$ -дигидропрогестерон катализируется 20 $\alpha$ -гидроксистероиддегидрогеназой [1].

Целью нашего исследования была оценка характера влияния цитомегаловирусной инфекции на активность 20 $\alpha$ -гидроксипрогестерондегидрогеназы в синцитиотрофобласте ворсинчатого хориона в первом триместре беременности.

#### Материалы и методы исследования

Материалом для исследования послужили 38 ворсинчатых хорионов, взятых при самопроизвольных абортах в срок 8-10 недель от женщин с диагнозом обострение хронической цитомегаловирусной инфекции (основная группа), а также 32 ворсинчатых хориона, взятых при проведении медицинских абортотом на том же сроке гестации от женщин с обострением хронической цитомегаловирусной инфекции (группа сравнения). Контрольную группу составили 35 ворсинчатых хорионов беременных с хронической цитомегаловирусной инфекцией в латентной стадии, взятых при проведении медицинских абортотом в срок 8-10 недель.

Исследования проводили с учетом требований Хельсинской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2008 г. и нормативных документов «Правила надлежащей клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом №200 от 01.04.2016 МЗ РФ.

Клинический диагноз обострения хронической цитомегаловирусной инфекции устанавливался по результатам комплексного исследования периферической крови на наличие ДНК цитомегаловируса, IgM или увеличение титра антител IgG в парных сыворотках (в

4 раза и более) в динамике через 10 суток, а также индекса avidности (более 65%).

Верификацию ЦМВ, определение типоспецифических антител, индекса avidности осуществляли методами ИФА на спектрофотометре Stat Fax-2100 с использованием тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск), ДНК ЦМВ выявляли методами ПЦР на аппарате ДТ-96 с использованием наборов НПО «ДНК-технология» (Москва).

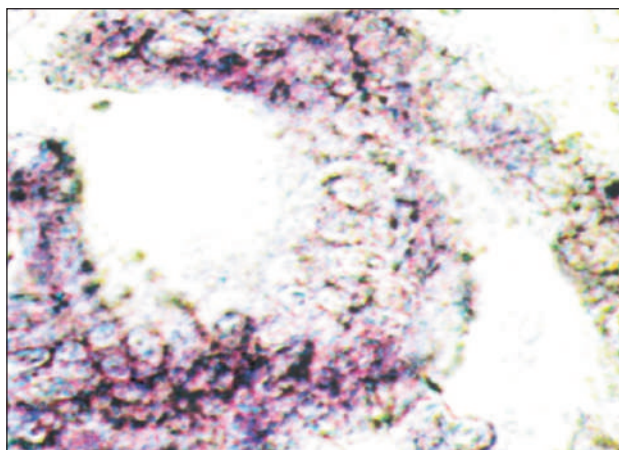
Активность 20 $\alpha$ -гидроксистероиддегидрогеназы определяли на криостатных срезах свежемороженой нефиксированной ткани гистохимическим методом по прописи Лойда [4]. Полученные данные анализировали с помощью программы Scion (США) на цифровом микроскопе MEIJI (Япония).

Статистическая обработка и анализ данных осуществлялась с использованием стандартного пакета прикладных программ Statistica 6.1. Анализируемые в работе количественные данные имели нормальное распределение, поэтому рассчитывалась достоверность различий значений по Стьюденту – вычисление средней арифметической ( $M$ ), средней ошибки ( $m$ ). Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы принимался равным 0,05.

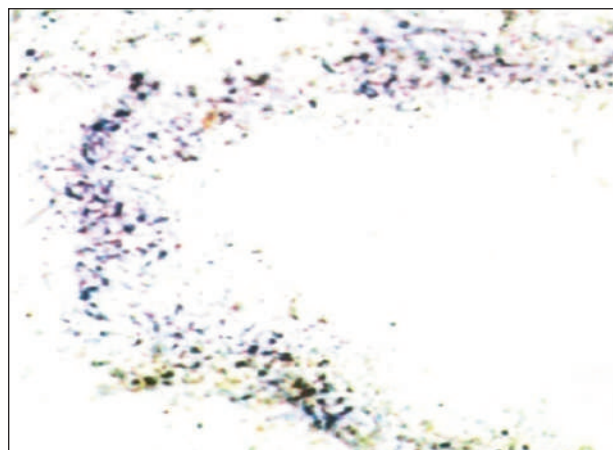
#### Результаты исследования и их обсуждение

На гистохимических препаратах ворсинчатого хориона беременных основной группы, перенесших обострение хронической цитомегаловирусной инфекции отмечалось снижение цитофотометрического показателя активности 20 $\alpha$ -гидроксипрогестерондегидрогеназы до  $30,1 \pm 2,12$  пикселей/мкм<sup>2</sup> ( $p < 0,001$ ) по сравнению с группой сравнения, в которой средние значения составляли  $39,9 \pm 3,01$  пикселей/мкм<sup>2</sup>. В контрольной группе активность фермента была значительно выше –  $47,1 \pm 2,57$  пикселей/мкм<sup>2</sup> (рис.). Данный факт свидетельствовал об уменьшении интенсивности преобразования прогестерона при начавшемся самопроизвольном аборте на фоне обострения цитомегаловирусной инфекции.

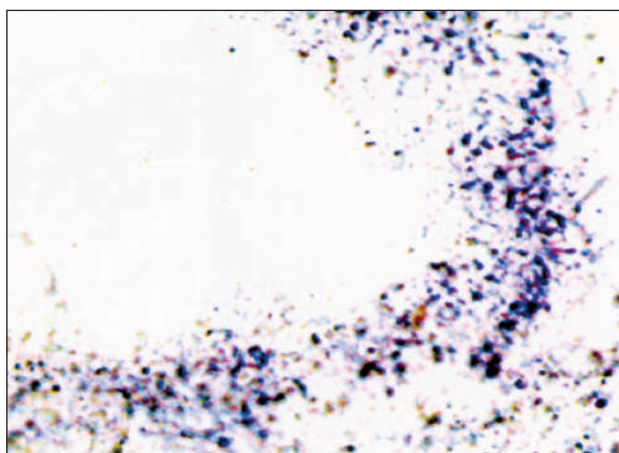
Реакция преобразования прогестерона имеет значение для сохранения и поддержания беременности, так как 20 $\alpha$ -дигидропрогестерон, наряду с другими гестагенами, обладает токолитическим эффектом. Изучение влияния других метаболитов прогестерона при обострении цитомегаловирусной инфекции позволило сделать тот же вывод [5]. Токолитический эффект гестагенов осуществляется посредством влияния на концентрацию внутриклеточного кальция и уровень простагландинов, блокирования действия окситоцина и  $\alpha$ -адренергической стимуляции. Под влиянием гестагенов замедляется передача нервного возбуждения с одного мышечного волокна на другое, в результате снижается активность нервно-мышечного аппарата матки [7, 8]. Обнаруженное нами снижение интенсивности преобразования прогестерона в 20 $\alpha$ -дигидропрогестерон раскрывает возможный механизм возникновения выкидыша в первом триместре гестации.



А



Б



В

Таким образом, снижение активности гистохимической реакции на 20 $\alpha$ -гидроксипрогестерондегидрогеназу в синцитиотрофобласте ворсинок плаценты указывало на уменьшение содержания 20 $\alpha$ -гидроксипрогестерондегидрогеназы в плаценте, что способствовало прерыванию беременности.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Довжикова И.В. Ферменты стероидогенеза (обзор литературы) // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2010. Вып.37. С.60–64.
2. Довжикова И.В., Луценко М.Т. Современные представления о роли прогестерона (обзор литературы) // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2016. Вып.60. С.94–104. doi: 10.12737/20128
3. Кузьмин В.Н. Цитомегаловирусная инфекция у беременных и новорожденных // Лечащий врач. 2001. №10. С.55–58.
4. Лойда З., Госсрау Р., Шиблер Т. Гистохимия ферментов. Лабораторные методы: пер. с англ. М.: Мир, 1982. 272 с.
5. Луценко М.Т., Довжикова И.В. Гормональная функция плаценты при обострении цитомегаловирусной инфекции в период гестации // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2014. Вып.52. С.62–67.
6. Fisher S., Genbacev O., Maidji E., Pereira L. Human cytomegalovirus infection of placental cytotrophoblasts in vitro and in utero: implications for transmission and patho-

*Рис.* Синцитиотрофобласт ворсинчатого хориона. 10 недель беременности. Гистохимическая реакция на 20 $\alpha$ -гидроксипрогестерондегидрогеназу. Увеличение: 15 $\times$ 40.

А – контрольная группа. Интенсивная гистохимическая реакция (47,1 $\pm$ 2,57 пикселей/мкм<sup>2</sup>).

Б – основная группа. Гистохимическая реакция резко ослаблена (30,1 $\pm$ 2,12 пикселей/мкм<sup>2</sup>).

В – группа сравнения. Гистохимическая реакция ослаблена (39,9 $\pm$ 3,01 пикселей/мкм<sup>2</sup>).

genesis // J. Virol. 2000. Vol.74, №15. P.6808–6820.

7. Graham J.D., Clarke C.L. Physiological action of progesterone in target tissues // Endocrine Reviews. 1997. Vol.18, №4. P.502–519.

8. Perusquía M. Nongenomic action of steroids in myometrial contractility // Endocrine. 2001. Vol.15, №1. P.63–72.

#### REFERENCES

1. Dovzhikova I.V. Steroidogenesis enzymes (review). *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2010; 37:60–64 (in Russian).
2. Dovzhikova I.V., Lutsenko M.T. Modern concepts of progesterone role (review). *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2016; 60: 94–104 (in Russian). doi: 10.12737/20128
3. Kuz'min V.N. Cytomegalovirus infection in pregnant and newborns. *Lechashchiy vrach* 2001; 10:55–58 (in Russian).
4. Lojda Z., Gossrau R., Schiebler T. Enzyme histochemistry: a laboratory manual. Moscow: Mir; 1982 (in Russian).
5. Lutsenko M.T., Dovzhikova I.V. Hormonal function of placenta at the exacerbation of cytomegalovirus infection in the gestation period. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2014; 52:62–67 (in Russian).
6. Fisher S., Genbacev O., Maidji E., Pereira L. Human cytomegalovirus infection of placental cytotrophoblasts in

vitro and in utero: implications for transmission and pathogenesis. *J. Virol.* 2000; 74(15):6808–6820.

7. Graham J.D., Clarke C.L. Physiological action of progesterone in target tissues. *Endocrine Reviews* 1997;

18(4):502–519.

8. Perusquía M. Nongenomic action of steroids in myometrial contractility. *Endocrine* 2001; 15(1):63–72.

*Поступила 25.04.2017*

*Контактная информация*

*Инна Викторовна Довжикова,*

*доктор биологических наук,*

*ведущий 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: dov\_kova100@rambler.ru*

*Correspondence should be addressed to*

*Inna V. Dovzhikova,*

*PhD, DSc, Leading 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: dov\_kova100@rambler.ru*