

И.В. Довжикова, И.А. Андриевская, К.К. Петрова

ИЗМЕНЕНИЕ ПРОГЕСТЕРОНСИНТЕТИЧЕСКОЙ ФУНКЦИИ ВОРСИНЧАТОГО ХОРИОНА ПРИ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ КАК ОДИН ИЗ ФАКТОРОВ РАЗВИТИЯ УГРОЗЫ ПРЕРЫВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ НА РАННИХ СРОКАХ

DOI 10.25789/YMJ.2020.70.02

УДК 577.175.632:618.36-06:616-076.5
(618.344+611-018.54):618.39]
578.825.12

С целью выявления взаимосвязи между показателями прогестеронсинтетической активности формируемого фетоплацентарного комплекса и характером клинко-эхографических проявлений угрозы выкидыша в группах женщин с различным течением цитомегаловирусной (ЦМВ) инфекции исследовано 100 ворсинчатых хорионов на сроке 9-12 недель беременности. Выявлена значимая зависимость частоты развития угрозы выкидыша и ее клинко-эхографических проявлений от обострения ЦМВ инфекции в первом триместре, что сочеталось с низкими значениями прогестерона и 3β -гидрокси-5-прегнен-20-он-дегидрогеназы в ворсинчатом хорионе по сравнению с группой с латентным течением инфекции.

Ключевые слова: прогестерон, 3β -гидрокси-5-прегнен-20-он, ворсинчатый хорион, цитомегаловирусная инфекция, беременность.

100 villous chorions at 9-12 weeks of pregnancy were studied in order to identify the relationship between the indicators of progesterone synthetic activity of the fetoplacental complex being formed and the nature of clinical and echographic manifestations of the threatened miscarriage in groups of women with different course of cytomegalovirus infection (CMV) infection. It was identified a significant dependence of the frequency of the threatened miscarriage and its clinical and echographic manifestations on the exacerbation of CMV infection in the first trimester of pregnancy, which was combined with low values of progesterone and 3β -hydroxy-5-pregnen-20-one-dehydrogenase in the villous chorion compared to the group with a latent course of infection.

Keywords: progesterone, 3β -hydroxy-5-pregnen-20-one, villous chorion, cytomegalovirus infection, pregnancy.

Введение. Среди важнейших проблем акушерства одно из первых мест занимает невынашивание беременности ранних сроков. Частота самопроизвольных выкидышей в первом триместре беременности на протяжении последних лет остается стабильно высокой и составляет 15-20% от всех беременностей [1].

В патогенезе самопроизвольных выкидышей непосредственное участие принимают такие факторы, как инфекционная и эндокринная патологии у женщин [4,7,11]. Среди инфекций, имеющих прямой абортотропный эффект, возникающий из-за токсичности вируса и его цитопатического действия на эмбриональные и провизорные органы, выделяют цитомегаловирусную (ЦМВ) инфекцию. К основным гормонам, участвующим в поддержании беременности, относят прогестерон

и его предшественника прегненолон (3β -гидрокси-5-прегнен-20-он) [8,10]. Для нормального течения гестации значимы токолитический, гестагенный и иммуномодулирующий эффекты [3]. Показано уменьшение системных показателей прогестерона при угрозе выкидыша и преждевременных родах, плацентарной недостаточности [2].

Однако отсутствует сравнительный анализ клинического течения первого триместра беременности у женщин с различной по форме ЦМВ инфекцией, эхографических маркеров угрозы выкидыша и их связь с состоянием прогестеронсинтетической функции формируемого фетоплацентарного комплекса.

Цель исследования - выявление взаимосвязи между показателями прогестеронсинтетической активности формируемого фетоплацентарного комплекса и характером клинко-эхографических проявлений угрозы выкидыша в группах женщин с различным течением ЦМВ инфекции.

Материалы и методы исследования. Проведено исследование 100 ворсинчатых хорионов в срок 9-12 недель беременности, из которых 30 получены при медицинском аборте от женщин с отсутствием в анамнезе ЦМВ инфекции (контрольная группа), 35 - от женщин с латентной ЦМВ инфекцией (группа сравнения) и 35 - при

инструментальной ревизии полости матки от женщин с обострением ЦМВ инфекции и самопроизвольным выкидышем (основная группа).

Гистохимический анализ криостатных срезов ворсинчатого хориона проводили методом Lojda для исследования фермента, катализирующего синтез прогестерона. В качестве субстрата использовали 2мМ раствор 3β -гидрокси-5-прегнен-20-она (Sigma-Aldrich). Для количественного измерения экспрессии фермента использовали систему компьютерного анализа микроскопических изображений, состоящую из микроскопа MEIJI (Япония), цифрового фотоаппарата Canon (Япония), программного обеспечения Scion Image (США).

Методом иммуноферментного анализа при помощи стандартных тест-наборов ООО «Хема-Медика» (Россия) в гомогенате ворсинчатых хорионов и сыворотке периферической крови, взятой утром натощак, определялся уровень прогестерона.

С целью обнаружения антител иммуноглобулинов (Ig) классов M и G к ЦМВ, а также avidности IgG-антител использовали иммуноферментный анализ и соответствующие тест-системы производства АО «Вектор-Бест» (Россия). Определение ЦМВ в периферической крови, соскобе буккального эпителия, содержимом

ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»: **ДОВЖИКОВА Инна Викторовна** – д.б.н., в.н.с., dov_kova100@rambler.ru, ORCID 0000-0001-8938-3594, **АНДРИЕВСКАЯ Ирина Анатольевна** – д.б.н., проф., зав. лаб., irina-andrievskaja@rambler.ru, ORCID 0000-0003-0212-0201, **ПЕТРОВА Ксения Константиновна** - врач акушер-гинеколог клиники ДНЦ ФПД, ksuha20031982@mail.ru, ORCID 0000-0002-6763-9744.

цервикального канала выполняли методом полимеразной цепной реакции. На основании лабораторных и клинико-анамнестических данных устанавливали диагноз обострения хронической ЦМВ-инфекции.

Эхографическое исследование выполнялось на аппарате ультразвуковой диагностики SonoScape S6 (Китай) в режиме импульсного и цветного доплеровского картирования.

Статистический анализ и обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoftInc., США) с соблюдением общих рекомендаций для медицинских и биологических исследований. Для оценки характера распределения в совокупности по выборочным данным использовали тесты Лиллиефорса и Колмогорова – Смирнова. С целью проверки равенства средних значений в выборках с нормальным распределением использовали t-критерий Стьюдента. Для оценки равенства дисперсий между независимыми выборками применяли критерий Фишера. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Анализ различия частоты в двух независимых исследуемых группах проводился с помощью критерия χ^2 Пирсона, при значении абсолютных частот в таблицах сопряженности меньше 10 использовался критерий с поправкой χ^2 Йейтса. Анализ относительных рисков (ОР) проводился с помощью четырехпольных таблиц сопряженности с 95%-ным доверительным интервалом (ДИ).

Результаты и обсуждение. Характер течения первого триместра беременности у женщин основной группы с обострением хронической ЦМВ инфекции определялся наличием у всех обследуемых выраженного болевого синдрома с тянущими болями внизу живота и кровянистыми выделениями разной степени выраженности. Среди эхографических критериев начавшегося самопроизвольного выкидыша наиболее часто встречались: гипертонус миометрия, предлежание хориона, увеличение его толщины, ретрохориальная гематома, деформация плодного яйца и низкое его расположение (таблица). Увеличение толщины хориона, по-видимому, является следствием инволютивно-экссудативной реакции, возникающей на фоне инфицирования, что подтверждалось данными ПЦР-анализа. В 28% случаев в тканях хориона выявлялось наличие ДНК ЦМВ.

В группе сравнения клинические признаки угрозы выкидыша диагно-

стированы у 10 (29%) женщин, что сопровождалось тянущими болями внизу живота у 6 (17%) и мажущими кровянистыми выделениями из половых путей у 2 (6%). Из признаков угрозы выкидыша эхографически часто встречались: гипертонус миометрия, предлежание хориона и ретрохориальная гематома (таблица).

При оценке системных и локальных показателей прогестерона в основной группе женщин с обострением ЦМВ инфекции выявлено их уменьшение в сыворотке крови до $63,70 \pm 2,33$ нмоль/л ($p < 0,001$), в ворсинчатом хорионе – до $82,49 \pm 1,01$ нмоль/л ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой ($102,11 \pm 3,34$ и $143,83 \pm 2,15$ нмоль/л соответственно). Обращало внимание выявляемое уменьшение цитофотометрических показателей β -гидрокси-5-прегнен-20-он-дегидрогеназы до $17,2 \pm 1,01$ пиксель/мкм² (контрольная группа – $28,3 \pm 1,97$ пиксель/мкм²) ($p < 0,001$) (рис.1-2). В группе сравнения концентрация прогестерона в сыворотке крови составила $87,50 \pm 3,11$ нмоль/л ($p < 0,001$), в ворсинчатом хорионе – $127,23 \pm 1,09$ нмоль/л ($p < 0,001$), цитофотометрические показатели β -гидрокси-5-прегнен-20-он-дегидрогеназы – $22,7 \pm 1,80$ пиксель/мкм² ($p < 0,01$) (рис. 3).

Дополнительно был проведен сравнительный анализ клинико-эхографических параметров и показателей прогестеронсинтетической активности формируемого фетоплацентарного комплекса с оценкой рисков по величине χ^2 в исследуемых группах.

По результатам анализа выявлена значимая зависимость частоты развития угрозы выкидыша в первом триместре от обострения ЦМВ инфекции ($\chi^2 = 31,386$, $p < 0,001$). Вероятность ее возникновения в группе женщин основной группы в 3,5 раза выше (ОР=3,500; 95% ДИ: 2,073 – 5,910), чем в группе сравнения. Зависимость частоты возникновения тянущих бо-

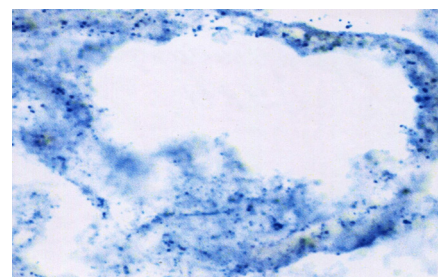


Рис. 1. Ворсинчатый хорион 10 недель беременности. Контрольная группа. Гистохимическая реакция на β -гидрокси-5-прегнен-20-он-дегидрогеназу. Интенсивность гистохимической реакции – $28,3 \pm 1,97$ пиксель/мкм². Увел. 40 x 15

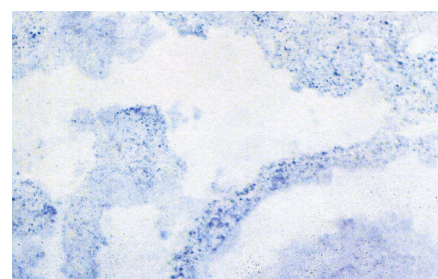


Рис. 2. Ворсинчатый хорион 10 недель беременности. Обострение цитомегаловирусной инфекции. Гистохимическая реакция на β -гидрокси-5-прегнен-20-он-дегидрогеназу. Отмечается снижение активности реакции до $17,2 \pm 1,01$ пиксель/мкм². Увел. 40 x 15

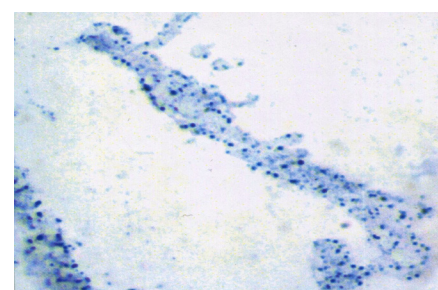


Рис. 3. Ворсинчатый хорион 10 недель беременности. Латентная цитомегаловирусная инфекция. Гистохимическая реакция на β -гидрокси-5-прегнен-20-он-дегидрогеназу. Отмечается снижение активности реакции до $22,7 \pm 1,80$ пиксель/мкм². Увел. 40 x 15

Эхографические признаки угрозы прерывания беременности на ранних сроках в исследуемых группах, абс.число (%)

Выявленное изменение	Основная группа (n=35)	Группа сравнения (n=35)	P
Увеличение толщины хориона	8 (27)	-	
Предлежание хориона	18 (60)	6 (17)	<0,001
Деформация плодного яйца	10 (33)	-	
Низкое расположение плодного яйца	3 (10)	-	
Ретрохориальная гематома	16 (53)	4 (11)	<0,001
Гипертонус миометрия	25 (83)	8 (23)	<0,001

Примечание: P – значимость различий при сравнении женщин с обострением ЦМВ инфекции и ее латентным течением.

лей внизу живота от обострения ЦМВ инфекции в ранние сроки беременности также статистически значима ($\chi^2=41,59$, $p<0,001$), и риск их развития составил 5,83 (ОР=5,833; 95% ДИ: 2,816 – 12,085). Кроме того, статистически значима зависимость появления мажущих кровянистых выделений из половых путей от обострения ЦМВ инфекции ($\chi^2=53,745$, $p<0,001$), их риск в основной группе составил 17,5 (ОР=17,500; 95% ДИ: 4,556 – 67,219) по сравнению с группой контроля.

При оценке ультразвуковых маркеров угрозы прерывания беременности была установлена значимая зависимость выявления гипертонуса миометрия от обострения ЦМВ инфекции в ранние сроки беременности ($\chi^2=21,28$, $p<0,001$). Риск развития данного нарушения в группе женщин основной группы составил 3,646 (ОР=3,646; 95% ДИ: 1,943 – 6,841). Также статистически значима зависимость частоты предлежания хориона от обострения ЦМВ инфекции ($\chi^2=10,966$, $p<0,001$). Вероятность предлежания хориона у беременных основной группы была в 3,5 раза (ОР=3,500; 95% ДИ: 1,597 – 7,672) выше, чем в группе сравнения. Кроме того, зависимость возникновения ретрохориальной гематомы от обострения ЦМВ инфекции также статистически значима ($\chi^2=11,422$, $p<0,001$). Риск возникновения данного маркера угрозы прерывания беременности у беременных основной группы в 4,667 раза выше (ОР=4,667; 95% ДИ: 1,749 – 12,449), чем у беременных контрольной группы.

У всех женщин основной группы выявлено значительное снижение уровня прогестерона и β -гидрокси-5-прегнен-20-он-дегидрогеназы, в подгруппе сравнения эти показатели изменились менее выражено. По результатам сравнительного анализа установлена сильная зависимость снижения уровня прогестерона и β -гидрокси-5-прегнен-20-он-де-гидрогеназы от обострения ЦМВ инфекции ($\chi^2=31,869$, $p<0,001$). Риск развития данных нарушений в группе женщин с обострением ЦМВ инфекции составил 3,5 (ОР=3,500; 95% ДИ: 2,073 – 5,910).

По результатам корреляционного анализа выявлена прямая сильная корреляция между прогестероном и β -гидрокси-5-прегнен-20-он-дегидрогеназой ($r=0,82$ и $r=0,75$,

$p<0,001$), что указывало на патогенетическую роль инфекции в метаболической дезактивации энзима, определяющей недостаточность синтеза прогестерона. Вместе с тем корреляции между системными и локальными показателями прогестерона выявлено не было, что указывало на специфику мест выработки и реализуемого гормонального эффекта на клетки-мишени слизистой матки и ворсинчатого хориона.

Причиной выявленных закономерностей, по-видимому, является вызываемое обострением ЦМВ инфекции в первом триместре беременности развитие воспалительных процессов в маточно-плацентарной зоне, что сопровождается нарушением имплантации и формирования фетоплацентарного комплекса [4, 6,9]. Возникающая на этом фоне функциональная и метаболическая дизадаптация, как показывают проведенные исследования, приводит к формированию энзиматической β -гидрокси-5-прегнен-20-он-дегидрогеназной недостаточности, что вызывает уменьшение продукции прогестерона трофобластом. Формируемый дефицит прогестерона усиливает проявления воспаления за счет модуляции цитокинового ответа по Th-1 типу, что инициирует апоптоз трофобласта, приводит к редукции маточно-плацентарного кровообращения и угрозе выкидыша [5].

Заключение. ЦМВ инфекция у женщин в анамнезе и нарушение прогестеронсинтетической активности трофобласта являются значимыми факторами риска угрожающего течения первого триместра беременности, исход которой, согласно полученным результатам исследования, зависит от активности вируса и уровня прогестерона.

Литература

1. Боровкова Е.И. Самопроизвольный выкидыш: состояние изученности вопроса / Боровкова Е.И., Мартынова И.В. // Исследования и практика в медицине. – 2014. – Т.1, №1. – С. 52-56.
2. Воскресенский С.Л. Содержание прогестерона в крови беременных в I и во II триместрах гестации при неблагоприятном завершении беременности / Воскресенский С.Л., Тришина В.Л. // Журнал акушерства и женских

болезней. – 2017. – Т. 66, № 4. – С. 32–39. doi: 10.17816/JOWD66432-39

Voskresenskiy S.L. The contents of progesterone in the blood of pregnant in I and II trimesters of gestation with an unfavorable outcome of the pregnancy / S.L. Voskresenskiy, V.L. Trishina // Journal of Obstetrics and Women's Diseases. – 2017. – Vol. 66, № 4. – P. 32–39. doi: 10.17816/JOWD66432-39

3. Довжикова И.В. Современные представления о роли прогестерона (обзор литературы) / Довжикова И.В., Луценко М.Т. // Бюл. физиологии и патологии дыхания. – 2016. – № 60. – С. 94-104. doi: 10.12737/20128

Dovzhikova I.V. Modern concepts of progesterone role (review) / I.V. Dovzhikova, M.T. Lutsenko // Bulletin of physiology and pathology of respiration. – 2016. – № 60. – P. 94-104. doi: 10.12737/20128

4. Потапов В.П. Факторы риска и цитоморфологическая характеристика хориона в генезе самопроизвольного прерывания беременности в первом триместре / Потапов В.П., Пекарев О.Г., Надеев А.П. // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2012. – Т.6, №3. – С.39-44.

Potapov V.P. Risk factors and cytomorphological characteristics of the chorion in the genesis of spontaneous abortion in first trimester / V.P. Potapov, O.G. Pekarev, A.P. Nadeev // Obstetrics, gynecology and reproduction. – 2012. – Vol.6, №3. – P. 39-44.

5. Andrievskaya I.A. Specific and non-specific factors of humoral immunity as markers for pregnancy loss in women with cytomegalovirus infection / I.A. Andrievskaya, M.T. Lucenko, O.P. Babenko // International Journal of Biomedicine. – 2015. – Vol. 5, № 4. – P. 184-187.

6. Antibody treatment promotes compensation for human cytomegalovirus-induced pathogenesis and a hypoxia-like condition in placenta with congenital infection / E. Maidji, G. Nigro, T. Tabata [et al.] // Am. J. Pathol. – 2010. – Vol. 177, №3. – P. 1298-1310. doi: 10.2353/ajpath.2010.091210.

7. Cheshik S.G. Human cytomegalovirus infection and spontaneous abortion in pregnant women of I and II trimester / S.G. Cheshik, L.B. Kisteneva // Vopr. Virusol. – 2016. – Vol. 61, №2. – P. 74-78.

8. Chatuphonprasert W. Physiology and pathophysiology of steroid biosynthesis, transport and metabolism in the human placenta / W. Chatuphonprasert, K. Jarukamjorn, I. Ellinger // Front. Pharmacol. 2018. – Vol. 9. – P.1027. doi: 10.3389/fphar.2018.01027.

9. Cytomegalovirus infection of trophoblast cells elicits an inflammatory response: a possible mechanism of placental dysfunction / D. Chou, Y. Ma, J. Zhang [et al.] // Am. J. Obstet. Gynecol. 2006. – Vol. 194, №2. – P.535-541. doi: 10.1016/j.ajog.2005.07.073

10. Placental production of progestins is fully effective in villous cytotrophoblasts and increases with the syncytiotrophoblast formation / C. Fraichard, F. Bonnet, A. Garnier [et al.] // Mol. Cell Endocrinol. – 2020. – Vol. 499. – P.110586. doi: 10.1016/j.mce.2019.110586.

11. Role of the infections in recurrent spontaneous abortion / G. Nigro, M. Mazzocco, E. Mattia [et al.] // J. Matern. Fetal. Neonatal. Med. – 2011. – Vol. 24, №8. – P. 983-989. doi: 10.3109/14767058.2010.547963.