

УДК [618.3–06:618.98:578.825.12]–076:577.175.632

DOI: 10.17238/PmJ1609-1175.2018.4.20–23

Прогестерон и его 5 β -метаболит – маркеры угрожающего течения беременности при цитомегаловирусной инфекции

И.В. Довжикова, И.А. Андриевская, К.К. Петрова, М.Т. Луценко

Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания (675000, г. Благовещенск, Калинина, 22)

Для оценки влияния обострения цитомегаловирусной (ЦМВ) инфекции на содержание прогестерона, его рецептора и метаболита 5 β -дигидропрогестерона обследованы ворсинчатые хорионы, взятые при самопроизвольных и медицинских абортах на сроке 9–11 недель от женщин с обострением ЦМВ-инфекции. Контроль: 35 ворсинчатых хорионов беременных с ЦМВ-инфекцией в латентной стадии, взятых при проведении медицинских аборт на сроке 9–11 недель. Обострение ЦМВ инфекции приводило к снижению продукции прогестерона, уменьшению содержания рецептора в плаценте, а также уменьшению активности превращения прогестерона в 5 β -дигидропрогестерон в трофобласте ворсинчатых хорионов. Таким образом, по мнению авторов, формируется угроза преждевременного прерывания беременности.

Ключевые слова: ворсинчатый хорион, прогестерон, рецептор прогестерона, 5 β -дигидропрогестерон

При цитомегаловирусной (ЦМВ) инфекции наиболее частым осложнением первого триместра гестации считается угроза прерывания беременности [2]. Ее следствием может быть спонтанный аборт или, в случае пролонгирования гравидарного периода, – развитие плацентарной недостаточности и внутриутробное страдание плода. Этиологическая структура угрозы прерывания беременности разнообразна, а в случае ЦМВ-инфекции полностью не установлена.

Общепризнано, что прогестерон поддерживает успешное течение беременности [6, 7]. Он необходим для облегчения имплантации (активация лизирующих ферментов), для поддержания беременности (стимуляция роста матки и маточно-плацентарного ангиогенеза, сохранение тонуса матки в состоянии покоя) и для обеспечения иммунной толерантности организма. Кроме этого, было показано, что для сохранения беременности необходим не только прогестерон, но и его метаболиты, особое значение среди которых имеет 5 β -дигидропрогестерон – самое мощное токолитическое соединение из всех стероидов [1]. Следует упомянуть и рецептор прогестерона, ведь именно его модуляция является причиной 70 % случаев невынашивания беременности [5].

Целью нашей работы была оценка влияния обострения ЦМВ-инфекции на содержание прогестерона, его рецептора и метаболита 5 β -дигидропрогестерона в ранней плаценте при различном течении беременности.

Материал и методы

Материалом для исследования послужили 30 ворсинчатых хорионов, взятых при выскабливании полости матки при начавшемся выкидыше в сроке 9–11 недель беременности при обострении ЦМВ-инфекции (основная группа), а также 30 ворсинчатых хорионов,

взятых при проведении медицинских аборт на том же сроке гестации от женщин с обострением хронической ЦМВ-инфекции (группа сравнения). Контрольную группу составили 35 ворсинчатых хорионов беременных с хронической латентной ЦМВ-инфекцией, взятых при медицинских аборт на сроке 9–11 недель.

Критериями включения в исследование стали хроническая ЦМВ-инфекция (обострение на первом триместре беременности или латентное течение) и стойкая клиническая ремиссия герпесвирусной инфекции. Критерии исключения: первичная ЦМВ-инфекция, обострение другой воспалительной экстрагенитальной патологии, наличие инфекций, передающихся половым путем, возраст старше 27 лет, аномалии половых путей, одна и более потеря плода при сроке более 10 недель беременности в анамнезе.

Для установления клинического диагноза обострения хронической ЦМВ-инфекции проводили комплексное лабораторное тестирование периферической крови, соскобов буккального эпителия и слизистой оболочки шейки матки на присутствие ДНК цитомегаловируса, иммуноглобулина (Ig) класса М, индекса avidности IgG (более 50 %).

При исследовании учитывались требования Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных исследований с участием человека» с поправками 2013 г. и правилами клинической практики, утвержденными приказом Министерства здравоохранения РФ № 200н от 1 апреля 2016 г. Работа одобрена комитетом по биомедицинской этике при ДНЦ ФПД, от всех обследуемых получено информированное согласие.

Определение ЦМВ, верификацию типоспецифических антител и индекса avidности осуществляли методами иммуноферментного анализа на спектрофотометре Stat Fax-2100 (США) с помощью тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск), ДНК ЦМВ выявляли методом полимеразной цепной реакции на аппарате ДТ-96 с использованием наборов НПО

«ДНК-технология» (Москва). Содержание прогестерона определяли на спектрофотометре Stat Fax-2100 (США) с помощью набора ООО «Хема-Медика» (Россия). Детекцию рецепторов прогестерона выполняли методом иммуноферментного анализа на спектрофотометре Stat Fax-2100 (США) с использованием наборов Cloud-Clone Corporation (США). Активность дегидрогеназы 5 β -дигидропрогестерона (5 β -прегнен-3,20-диона) определяли на криостатных срезах свежемороженой нефиксированной ткани гистохимическим методом по прописи Лойда [3]. Полученные данные анализировали с помощью программы Scion (США) на цифровом микроскопе MEIJI (Япония). Эхографическое обследование проводилось на аппарате SonoScape S6 в режиме импульсного и цветного доплеровского картирования.

Статистический анализ и обработка данных осуществлялись посредством пакета прикладных программ Statistica 6. Характеристика вариационных рядов: средняя арифметическая (M), стандартная ошибка (s), 95 %-ный коэффициент вариации, доверительный интервал для средних, где *t* определялось по таблице граничных значений критерия Стьюдента на уровне 95 % и числе степеней свободы $F = n_1 + n_2 - 2$. Для определения достоверности различий использовались непарный параметрический критерий Стьюдента и критерий Фишера. Принимались во внимание значения *p* менее 0,05, 0,01 и 0,001. Для определения достоверности различий в случае негауссовых распределений применяли непараметрические критерии Колмогорова–Смирнова.

Результаты исследования

У всех беременных основной группы уровень антител IgM к ЦМВ повышался до $2,0 \pm 0,7$ ЕД/мл. При этом титр антител IgG к ЦМВ держался на уровне 1:1600, что было значительно выше, чем в контрольной группе. Средние значения индекса avidности антител IgG к ЦМВ находились на уровне 88 ± 1 %, что указывало на реактивацию хронической ЦМВ-инфекции и возможные нарушения в созревании специфического по отношению к ЦМВ IgG, усиливавшие антигенную нагрузку. ДНК ЦМВ во всех случаях обнаруживался в содержимом цервикального канала, что увеличивало риск вертикального инфицирования провизорных и эмбриональных клеточных структур. Подтверждением этому стало выявление в 27 % случаев ДНК ЦМВ в ворсинчатом хорионе у представителей основной группы.

В группе сравнения уровень антител IgM к ЦМВ был значительно ниже, чем в основной группе – $0,7 \pm 0,2$ ЕД/мл. Значения титра антител IgG к ЦМВ в 85,7 % случаев были на уровне 1:800, у 14,3 % женщин составили – 1:1600. Индекс avidности антител IgG не превышал 96 ± 1 %. В 11,4 % случаев ДНК ЦМВ выявлялась в содержимом цервикального канала и в 88,6 % случаев – в буккальном соскобе, что значительно отличалось от основной группы и свидетельствовало об активации

хронической инфекции, но с более низким уровнем вирусной нагрузки.

В контрольной группе все беременные имели в крови только типоспецифические антитела IgG к ЦМВ с титром 1:400, что значительно ниже, чем в основной и группе сравнения. Индекс avidности значительно не отличался от показателя группы сравнения – $97 \pm 1,3$ % ($p > 0,05$). ДНК ЦМВ в биологическом материале женщин этой группы не выявлялся.

Характер течения беременности у всех представителей основной группы клинически характеризовался тянущими болями внизу живота и кровянистыми выделениями из половых путей. По данным ультразвукового исследования выявлены: гипертонус миометрия (у 80 % женщин), ретрохориальная гематома (у 68 % женщин) и предлежание хориона (у 70 % женщин).

В группе сравнения в 60 % случаев диагностирована угроза прерывания беременности, клинически сопровождавшаяся тянущими болями внизу живота (у 68 % женщин) и мажущими кровянистыми выделениями из половых путей (у 47 % женщин). По данным сонографии были диагностированы: гипертонус миометрия (у 41 % женщин), ретрохориальная гематома (у 24 % женщин) и предлежание хориона (у 48 % женщин).

Клинические признаки угрозы прерывания беременности в контрольной группе диагностированы у 18 % обследуемых, что иногда сопровождалось тянущими болями внизу живота (у 8 % женщин). Гипертонус миометрия выявлен в 8 %, предлежание хориона – в 5 % случаев.

При обострении ЦМВ-инфекции в периферической крови беременных концентрация прогестерона уменьшилась почти на 40 % по сравнению с контрольной группой (табл.). У женщин, чья беременность закончилась самопроизвольным абортom, регистрировалось более выраженное снижение концентрации гормона.

Плацента в период беременности играет роль железы внутренней секреции и синтезирует гормоны, используя материнские и плодовые предшественники. Поэтому оценка гормонального статуса непосредственно в самом органе полнее отразит процессы синтеза гормонов. По нашим данным, содержание

Таблица

Содержание прогестерона, 5 β -дигидропрогестерона, рецептора прогестерона при беременности, осложненной обострением ЦМВ-инфекции

Группа	Прогестерон, нмоль/л		Рецептор прогестерона, нмоль/л	5 β -дигидропрогестерон, усл. ед.
	в крови	в плаценте		
Контроль	103,7 \pm 3,2	53,4 \pm 3,7	18,5 \pm 0,9	41,3 \pm 3,0
Основная	44,6 \pm 2,2	12,8 \pm 0,9	11,3 \pm 0,9	24,8 \pm 2,1
Сравнения	63,3 \pm 2,0	21,5 \pm 2,7	14,0 \pm 0,8	30,9 \pm 2,6

Примечание: все показатели основной группы и группы сравнения статистически значимо отличались от контроля.



Рис. Активность дегидрогеназы 5β-дигидропрогестерона в ворсинчатом хорионе на 8–10-й неделях беременности: а – контроль, $41,3 \pm 3,0$ усл. ед.; б – снижение интенсивности реакции ($30,9 \pm 2,6$ усл. ед.) в группе сравнения; в – выраженное снижение интенсивности реакции ($24,8 \pm 2,1$ усл. ед.) в основной группе. Гистохимия, $\times 400$.

прогестерона непосредственно в самой плаценте также существенно изменялось (табл.). Концентрация стероида в гомогенате ворсинчатых хорионов, полученных в результате выкидыша, уменьшилась почти на 75 % по сравнению с показателями контрольной группы.

Следует отметить, что наличие в организме достаточного количества гормона не гарантирует того, что его эффекты будут исполняться, если прогестерон не сможет вступить в контакт со своими рецепторами. Обострение ЦМВ-инфекции в начале беременности оказывало влияние на содержание рецептора к прогестерону в ворсинчатом хорионе. Оно уменьшилось на 25 % по сравнению с контрольной группой при обострении ЦМВ-инфекции. В основной группе содержание рецепторов прогестерона снизилось почти на 40 % (табл.).

Существует мнение, что для реализации действия прогестерона через рецепторы необходимо адекватное количество одного из прогестероновых метаболитов – 5β-дигидропрогестерона. В случае его снижения, в А- и В-циклогексановых кольцах стероида происходят изменения, уменьшающие эффективность связывания этого гормона с рецепторами [4]. Кроме этого, 5β-дигидропрогестерон сохраняет тонус миометрия в состоянии покоя и совместно с прогестероном поддерживает адекватное кровообращение в плаценте, пупочных артериях и венах [8, 10]. Была проведена гистохимическая реакция, отражающая интенсивность превращения прогестерона в 5β-дигидропрогестерон в плаценте. Активность реакции в трофобласте ворсинчатого хориона при обострении ЦМВ-инфекции снижалась на 25 % в сопоставлении с контрольной группой. Наиболее выраженные изменения были отмечены в материале, полученном в результате самопроизвольного аборта, у беременных с реактивацией инфекционного процесса (рис.). Цитофотометрический показатель в основной группе исследования уменьшился почти на 40 % по сравнению с данными контрольной группы.

Обсуждение полученных данных

Обострение ЦМВ-инфекции во время беременности приводило к снижению продукции прогестерона и уменьшению содержания его рецептора в плаценте. Так как при низком уровне прогестерона и слабой

чувствительности рецепторов недостаточно вырабатывается индуцированный прогестероном блокирующий фактор. Последний регулирует переход иммунной системы на функционирование в условиях беременности и обладает существенной антиабортивной активностью. Вследствие этого в организме не меняется баланс цитокинов, вырабатываемых Т-хелперами 1-го и 2-го типов, поддерживается высокий уровень производства провоспалительных и цитотоксических цитокинов, а также снижается защита эмбриона от деструкции его НК-клетками [9]. Недостаточное производство 5β-дигидропрогестерона в плаценте, обнаруженное нами при обострении ЦМВ-инфекции во время беременности, наряду с недостатком прогестерона, может приводить к увеличению тонуса миометрия и к неадекватному уровню кровообращения в системе «мать–плацента–плод».

Выявленные факты способствуют, по нашему мнению, созданию условий для преждевременного прерывания беременности, которое и наблюдалось при обострении ЦМВ-инфекции. Если содержание 5β-дигидропрогестерона, прогестерона и его рецептора понижается значительно, беременность заканчивалась самопроизвольным абортom.

Литература / References

1. Довжикова И.В., Луценко М.Т. Метаболизм прогестерона в плаценте (обзор литературы) // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2017. Вып. 64. С. 101–107.
Dovzhikova I.V., Lutsenko M.T. Progesterone metabolism in placenta (review) // Bulletin physiology and pathology of respiration. 2017. No. 64. P. 101–107.
2. Ивахнишина Н.М., Кожарская О.В., Островская О.В. [и др.]. Инфицированность плаценты при невынашивании беременности // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2015. Вып. 56. С. 88–93.
Ivakhnishina N.M., Kozharskaya O.V., Ostrovskaya O.V. [et al.]. Placental infection in habitual miscarriage // Bulletin physiology and pathology of respiration. 2015. No. 56. P. 88–93.
3. Лойда З., Госсрау Р., Шиблер Т. Гистохимия ферментов: лабораторные методы / пер. с англ. М.: Мир, 1982. 272 с.
Lojda Z., Gossrau R., Schiebler T.H. Enzyme histochemistry: A laboratory manual. Moscow: Mir, 1982. 272 p.
4. Луценко М.Т., Андриевская И.А., Довжикова И.В. Способ оценки нарушения импрегнации зародыша в слизистую оболочку матки на первых неделях беременности при обострении цитомегаловирусной инфекции, подавляющей содержание прогестерона вследствие снижения активности 5β-прегнен-3,20-дион-дегидрогеназы: патент № 2541187 РФ; опубл. 10.02.2015. Бюл. № 4.

- Lutsenko M.T., Andrievskaya I.A., Dovzhikova I.V. A method for assessing impairment of embryonic impregnation in the uterine lining of the uterus during the first weeks of pregnancy with an exacerbation of cytomegalovirus infection that suppresses the progesterone content due to a decrease in the activity of 5 β -pregnene-3,20-dione dehydrogenase: Patent № 2541187 RF; published 10.02.2015. Bull. No. 4.
5. Репина М.А. Прогестерон и беременность // Журнал акушерства и женских болезней. 2011. Т. LX, № 3. С. 130–135. Repina M.A. Progesterone and pregnancy // Journal of Obstetrics and Women's Diseases. 2011. Vol. 60, No. 3. P. 130–135
 6. Da Fonseca E.B., Bittar R.E., Damião R., Zugaib M. Prematurity prevention: the role of progesterone // Curr. Opin. Obstet. Gynecol. 2009. Vol. 21, No. 2. P. 142–147.
 7. Graham J.D., Clarke C.L. Physiological action of progesterone in target tissues // Endocrine Reviews. 1997. Vol. 18, No. 4. P. 502–519.
 8. Hill M., Pařízek A., Kancheva R., Jirásek J. E. Reduced progesterone metabolites in human late pregnancy // Physiol. Res. 2011. Vol. 60, No. 2. P. 225–241.
 9. Lucenko M., Andrievskaya I., Dovzhikova I. Morphofunctional characteristics of the placenta in norm and cytomegalovirus infection pathology. NY: IMRDC, 2015. 160 p.
 10. Sheehan P.M. A possible role for progesterone metabolites in human parturition // Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol. 2006. Vol. 46, No. 2. P. 159–163.

Поступила в редакцию 29.05.2018.

PROGESTERONE AND ITS 5 β -METABOLITE ARE MARKERS OF THE THREATENING COURSE OF PREGNANCY IN CYTOMEGALOVIRUS INFECTION

I.V. Dovzhikova, I.A. Andrievskaya, K.K. Petrova, M.T. Lutsenko
Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration (22 Kalinina St. Blagoveshchensk 675000 Russian Federation)

Objective. The study objective is to assess the effect of recrudescence of cytomegalovirus (CMV) infection on the content of progesterone, its receptor and metabolite 5 β -dihydroprogesterone in the early placenta in various pregnancies.

Methods. The material for the study was 60 villous chorions, 30 of them were taken during the scraping of the uterine cavity in pregnant women with spontaneous abortion onset 9–11 weeks against the background of an recrudescence of CMV infection (the main group) and 30 with medical abortions on the same period and recrudescence of the infectious process (comparison group). The control group consisted of 35 villous chorions from pregnant women with CMV infection in the latent stage, taken with medical abortions for a period of 9–11 weeks. Determination of CMV DNA, verification of type specific antibodies, avidity index, progesterone receptor content, peripheral blood progesterone and villous chorion homogenate were performed with enzyme immunoassay. The activity of 5 β -dihydroprogesterone dehydrogenase was determined by a histochemical method followed by analysis with a Scion (USA) program using a digital microscope.

Results. Recrudescence of CMV infection during pregnancy led to a decrease in progesterone production to 63.3 \pm 2.0 nmol/L in peripheral blood, to 21.5.1 \pm 2.7 nmol/L – in villous chorion, a decrease in the content of the progesterone receptor up to 14.0 \pm 0.8 nmol/L, as well as a decrease in the activity of conversion of progesterone into 5 β -dihydroprogesterone in the trophoblast at the 8–10th week of pregnancy. In the case of spontaneous abortion against the background of an Recrudescence of CMV infection, there were more pronounced disruptions in the activity of conversion of progesterone into 5 β -dihydroprogesterone, as well as a decrease in the progesterone concentration to 44.6 \pm 2.2 nmol/L in peripheral blood, to 21.5 \pm 2.7 nmol/L – in villous chorions and receptor content in the placenta - up to 11.3 \pm 0.9 nmol/L.

Conclusions. These facts, in our opinion, reveal a possible mechanism for forming a threat of premature termination of pregnancy with recrudescence of CMV infection in the first trimester of gestation.

Keywords: villous chorion, progesterone, progesterone receptor, 5 β -dihydroprogesterone

Pacific Medical Journal, 2018, No. 4, p. 20–23.

УДК 579.842.14:57.063.8:519.237.8(571.1/.5+571.6)

DOI: 10.17238/PmJ1609-1175.2018.4.23–26

Кластерный анализ популяций *Salmonella* Enteritidis, выделенных в различных регионах Сибири и Дальнего Востока

А.В. Раков¹, Н.А. Кузнецова¹, А.С. Соловьева¹, А.А. Яковлев^{1,2}

¹ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова (690087, г. Владивосток, ул. Сельская, 1),

² Тихоокеанский государственный медицинский университет (690002, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2)

Проведен кластерный анализ основных плазмидных типов *Salmonella* Enteritidis, циркулирующих на территории Сибири и Дальнего Востока, на основе плазмидных свойств исследуемых штаммов. Выявлены кластеры микроба, соответствующие плазмидным типам. Не обнаружено различий в штаммах, выделенных в западных и восточных регионах РФ, по спектру обнаруженных в них плазмид и отношению к антибиотикам. Показано значение исследования устойчивости к налидиксовой кислоте и канамицину как значимых эпидемиологических фенотипических маркеров для *S. Enteritidis*. Подтверждена эффективность применения плазмидного анализа как метода определения популяций возбудителя. При кластерном анализе данных, полученных с помощью других методов, например, пульс-электрофореза, мультилокусного сиквенс-типирования, количественного определения чувствительности к антибиотикам и других, будут получены более точные выводы о структуре популяции *S. Enteritidis* и ее изменчивости.

Ключевые слова: сальмонеллы, плазмидный тип, кластеры

Сальмонеллезная инфекция – наиболее распространенная кишечная инфекция во всем мире [12]. Например, в США заболеваемость сальмонеллезом достигла

миллиона случаев в год, из них в 19 тыс. случаев потребовалась госпитализация и 380 закончились летальным исходом [9]. В Приморском крае на фоне существенного изменения структуры кишечной группы инфекций в сторону увеличения доли заболеваний ротавирусной и норовирусной этиологии и снижения

Раков Алексей Владимирович – канд. мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и экологии патогенных бактерий НИИЭМ; e-mail: alexeyrakov@mail.ru