НОВЫЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ РЕПРОДУКТИВНЫХ ПОТЕРЬ ПЕРВОГО ТРИМЕСТРА БЕРЕМЕННОСТИ

Ишутина Н.А.,
Андриевская И.А.,
Приходько Н.Г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» (675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22, Россия)

Автор, ответственный за переписку: **Ишутина Наталия Александровна**, e-mail: ishutina-na@mail.ru

Статья поступила: 12.04.2021
Статья принята: 02.07.2021
Статья опубликована: 13.08.2021

РЕЗЮМЕ

Обоснование: *В настоящее время очевидна роль цитомегаловирусной инфекции в нарушении формирования плаценты и связанных с ним патологических состояний плода, в основе которых лежат окислительные и воспалительные реакции, вызывающие нарушение миграции и инвазии трофобластов, ангиогенную модуляцию плацентарных и маточных сосудов.*

Цель исследования: *Провести анализ количественных показателей гипоксией индуцируемого фактора 1α, α-токоферола и докозагексаеновой кислоты в периферической крови в сопоставлении с морфологическими изменениями в плаценте и слизистой оболочке матки у серопозитивных женщин с самопроизвольным абортом, ассоциированным с реактивацией цитомегаловирусной инфекции.*

Методы: *Исследования проводили на сроке беременности 7–9 недель. Проанализировано 67 наблюдений, включающих 35 серопозитивных женщин в первом триместре с самопроизвольным абортом, ассоциированным с реактивацией цитомегаловирусной инфекции и 32 здоровых серонеративных женщины с добровольным прерыванием беременности. В качестве исследуемого материала использовали стабилизированную кровь из вены, эпителий внутренней поверхности щеки, цервикального канала, мочу, ворсинчатый хорион, слизистую оболочку матки. Метод иммуноферментного анализа использовали для выявления серологических маркеров цитомегаловирусной инфекции (ЦМВ-IgG/IgM-антител, авидность ЦМВ-IgG), содержания гипоксией индуцируемого фактора 1α, α-токоферол – флюорометрическим методом, ПЦР (полимеразную цепную реакцию) в режиме реального времени – ДНК ЦМВ, метод газожидкостной хроматографии – докозагексаеновой кислоты, гистологические методы – общий план строения ворсинчатого хориона и слизистой оболочки матки.*

Результаты: *У серопозитивных женщин с самопроизвольным абортом, ассоциированным с реактивацией цитомегаловирусной инфекции, средние показатели гипоксией индуцируемого фактора 1α были выше в 1,54 раза, α-токоферола и докозагексаеновой кислоты ниже в 1,71 раза и в 1,40 раза (p <0,001 соответственно), чем в группе серонегативных женщин. Выявлены сильные обратные корреляции. Морфологически выявлялись признаки задержки формирования ворсин, децидуализации стромы эндометрия и образования маточно-плацентарных сосудов.*

Заключение. *У серопозитивных женщин с самопроизвольным абортом, ассоциированным с реактивацией цитомегаловирусной инфекции выявлена сильная связь высоких показателей HIF-1α со снижением α-токоферола и ДГК в периферической крови, что может рассматриваться как неблагоприятный фактор нарушения формирования плаценты.*

Ключевые слова: *беременность, цитомегаловирусная инфекция, гипоксией индуцируемый фактор 1α, α-токоферол, докозагексаеновая кислота.*

Для цитирования: Ишутина Н.А., Андриевская И.А., Приходько Н.Г. Новый подход к оценке репродуктивных потерь первого триместра беременности. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6 (3): 43–52. doi: 10.29413/ABS. 2021-6.3.4

A NEW APPROACH TO ASSESSMENT OF REPRODUCTIVE LOSSES OF THE FIRST TRIMESTER OF PREGNANCY

Ishutina N.A.,
Andrievskaya I.A.,
Prikhodko N.G.

Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences
(Kalinina str. 22, Blagoveshchensk 675000, Russian Federation)

Corresponding author:
Natalia A. Ishutina,
e-mail: ishutina-na@mail.ru

ABSTRACT

Background. *At present, the role of cytomegalovirus infection in the disruption of acental formation and associated pathological conditions of the fetus is bvious, which are based on oxidative and inflammatory reactions that cause disruption of igration and invasion of trophoblasts, angiogenic modulation of placental and uterine vessels.*

Objective: *To analyze the quantitative indicators of hypoxia-inducible factor 1α, α-tocopherol and docosahexaenoic acid in the peripheral blood in comparison with morphological changes in the placenta and uterine mucosa in seropositive women with spontaneous abortion associated with reactivation of ytomegaloviral infection.*

Methods: *Studies were carried out at 7-9 weeks of gestation. 67 observations were analyzed, including 35 seropositive women in the first trimester with spontaneous abortion associated with reactivation of cytomegaloviral infection and 32 healthy seronerative women with voluntary termination of pregnancy. Stabilized blood from vein, epithelium of the inner surface of the cheek, cervical canal, urine, villous chorion, and uterine mucosa were used as the test material. Enzyme immunoassay was used to detect serological markers of cytomegaloviral infection (CMV-IgG/IgM antibodies, CMV-IgG avidity), hypoxia-induced factor 1α, α-tocopherol – by fluorometric method, PCR (polymerase chain reaction) in real time – DNA CMV, the method of gas-liquid chromatography – docosahexaenoic acid, histological methods – the general plan of the structure of the chorionic villus and the mucous membrane of the uterus.*

Results: *In seropositive women with spontaneous abortion associated with reactivation of cytomegaloviral infection, the average of hypoxia-induced factor 1α was 1.54 times higher, α-tocopherol and docosahexaenoic acid were 1.71 times lower and 1.40 times lower ($p < 0.001$, respectively) than in the group of eronegative women. Strong inverse correlations were revealed. Morphologically, there were signs of delayed formation of villi, decidualization of the endometrial stroma and the formation of uteroplacental vessels.*

Conclusion. *In seropositive women with spontaneous abortion associated with reactivation of cytomegaloviral infection, a strong association of high HIF-1α values with decrease in α-tocopherol and docosahexaenoic acid in the peripheral blood was revealed, which can be considered as an unfavorable factor in the disruption of placenta formation.*

Key words: *pregnancy, cytomegalovirus infection, hypoxia-inducible factor 1α, α-tocopherol, docosahexaenoic acid.*

For citation: Ishutina N.A., Andrievskaya I.A., Prikhodko N.G. A new approach to ssessment of reproductive losses of the first trimester of pregnancy. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6 (3): 43-52. doi: 10.29413/ABS. 2021-6.3.4

Received: 12.04.2021
Accepted: 02.07.2021
Published: 13.08.2021

ОБОСНОВАНИЕ

Многочисленные исследования доказали роль цитомегаловирусной (ЦМВ) инфекции в нарушении формирования плаценты и связанных с ним патологических состояний плода [1–3]. При этом показано, что активация ЦМВ инфекции на ранних сроках беременности, рассматривается как потенциальная причина внутриутробных инфекций и неблагоприятных исходов беременности, включая самопроизвольный выкидыш [2, 4], задержку внутриутробного роста плода [5], врожденные дефекты или пороки развития [6], тяжелые неврологические осложнения, а также антенатальная гибель плода [7], в основе которых лежит поражение плаценты и сосудистой сети пуповины [2].

Среди факторов, участвующих в регуляции формирования плаценты и маточно-плацентарного сосудистого русла особое значение имеют такие ростовые факторы, как сосудисто-эндотелиальный (VEGF) и плацентарный (PLGF) [8], а также фактор транскрипции HIF-1α [9]. Показано, что HIF-1α играет решающую роль в регуляции дифференцировки и инвазии трофобластов, а также трансформации артерий матки [10–12].

В настоящее время ряд ученых доказали участие в процессах ангиогенеза веществ, обладающих антиоксидантными свойствами (α-токоферол, ω-3 полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК)) [13], баланс которых во многом определяет уровень VEGF и его рецептора, а также экспрессию гена HIF-1α в плаценте [14]. Также установлена роль ω-3 ПНЖК в повышении продукции HIF1α в условиях гипоксии [15] и обеспечении оптимального уровня мРНК VEGF и HIF-1α в условиях дефицита цианокобаламина [16].

В связи с этим можно заключить, что HIF-1α, α-токоферол, ПНЖК ω-3 семейства являются важными участниками процессов формирования плаценты и маточно-плацентарного ангиогенеза. Вместе с тем сведений, позволяющих оценить количество и взаимосвязи между данными показателями в периферической крови в сопоставлении с морфологическими изменениями плаценты у серопозитивных беременных женщин с самопроизвольным абортом, ассоциированным с реактивацией ЦМВ инфекции, в мировой литературе нет.

Цель исследования – провести анализ количественных показателей гипоксией индуцируемого фактора 1α, α-токоферола и докозагексаеновой кислоты в периферической крови в сопоставлении с морфологическими изменениями в плаценте и слизистой оболочке матки у серопозитивных женщин с самопроизвольным абортом, ассоциированным с реактивацией ЦМВ инфекции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено ретроспективное исследование.

Критерии соответствия

Все женщины основной группы имели лабораторно диагностированные маркеры активной ЦМВ инфекции и клинические проявления угрозы прерывания беременности (боли внизу живота, мажущие кровянистые выделения из половых путей). В дальнейшем их беременность завершилась самопроизвольным абортом (О03). Первичная ЦМВ инфекция, обострение других воспалительных заболеваний и инфекций были исключением из основной группы.

Условия проведения

Первый этап исследовательской работы включал обследование беременных женщин и набор материала в гинекологическом отделении и женской консультации №2 ГАУЗ АО «Благовещенская городская клиническая больница». Второй этап исследовательской работы осуществлялся в лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких ДНЦ ФПД, где проводилось формирование групп исследования, клиническая верификация диагноза, измерение уровней биохимических факторов, морфологические исследования плаценты и слизистой оболочки матки.

Продолжительность исследования

Обследование пациентов и набор материала проводили в 2017–2018 гг.

Описание медицинского вмешательства

В качестве исследуемого материала использовали венозную кровь, стабилизированную ЭДТА (плазма, мононуклеарные клетки), эпителий с внутренней поверхности щеки, слизистой цервикального канала, моча, ворсинчатый хорион и слизистую оболочку матки, полученные при инструментальной ревизии полости матки.

РЕЗУЛЬТАТ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основным результатом исследования была оценка количественного содержания в периферической крови беременных женщин гипоксического фактора HIF-1α, α-токоферола, ДГК; серологических маркеров ЦМВ инфекции (ЦМВ-IgG/IgM-антител, авидность ЦМВ-IgG); выявление ДНК ЦМВ в мононуклеарах, эпителий с внутренней поверхности щеки и слизистой цервикального канала; исследование морфологических изменений ворсинчатого хориона и слизистой оболочки матки.

Дополнительных исходов исследования нет.

Методы регистрации исходов

В образцах плазмы крови с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) определяли серологические маркеры ЦМВ инфекции, используя диагностические наборы «ВектоЦМВ-IgG», «ВектоЦМВ-IgM», «ВектоЦМВ-IgG-авидность» производства ЗАО «Вектор-Бест» (Россия), определяя ЦМВ-IgG/IgM-антител и авидность ЦМВ-IgG. На основании выявления IgM и IgG с авидностью менее 50% выставляли первичную форму ЦМВ инфекции. Реактивацию ЦМВ инфекции диагностировали, основываясь на выявлении IgM и обнаружении IgG с авидностью 65% и более.

Обнаружение ДНК ЦМВ проводили методом полимеразной цепной реакции в режиме реал-тайм (наборы реагентов для выделения и амплификации ДНК ЦМВ «НПО ДНК-технология» (Россия).

Исследование содержания HIF-1α (нг/мл) проводили методом ИФА с использованием наборов «BCM Diagnostics» (Австрия), α-токоферола (мкг/мл) флюорометрическим методом по прописи L.G. Hansen и W.I. Warwich (1966) [17], ДГК (%) методом газожидкостной хроматографии с пламенно-ионизационным детектированием (хроматограф «Кристалл 2000 м», Россия).

Для получения плазмы крови проводили венопункцию с последующим центрифугированием при 1000g в течение 15 минут.

Для получения осадка и выделения ДНК ЦМВ мочу центрифугировали при 1000g в течение 20 минут.

Выделение мононуклеарных клеток выполняли методом центрифугирования (1000g, 15 минут) в градиенте плотности фиколл-урографина (ρ = 1,077 г/см^3) «НПО ДНК-технология» (Россия).

Абортивный материал (ворсинчатый хорион, слизистая оболочка матки), получали в течение 10–15 минут после инструментальной ревизии матки. Для морфологических исследований материал фиксировали в 10% нейтральном формалине, обезвоживали в спиртах и заливали в парафин по общепринятой методике. Для оценки общего плана строения парафиновые срезы окрашивали альциановым синим. Фотографирование и анализ срезов проводили с помощью программы Scion (США) на цифровом микроскопе MEIJI (Япония).

Этическая экспертиза

Данное исследование проводилось с учетом рекомендаций и одобрения этического комитета (протокол №138 от 30.10.2020 г.), с соблюдением международных этических норм проведения клинических исследований. Все пациенты подписывали информированное согласие на участие в исследовании.

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки

Размер выборки предварительно не рассчитывался

МЕТОДЫ СТАТИСТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДАННЫХ

Статистическая обработка данных с применением стандартной компьютерной программы IBM SPSS Statistics 18.0 (Statistical Package for the Social Sciences, США). Для проверки гипотезы о принадлежности наблюдаемой выборки нормальному закону использовали методы Колмогорова-Смирнова. Данные представлены как среднее значение (M) ± средняя ошибка (m). Во всех случаях распределение признаков соответствовало закону нормального распределения, поэтому для сравнения независимых групп использовали t-критерий Стьюдента. Взаимозависимость и силу связи признаков определяли методом Пирсона. Величину уровня значимости p принимали равной 0,05, что соответствует критериям, принятым в медико-биологических исследованиях.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

УЧАСТНИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проанализировано 67 беременных женщин на сроке 7–9 недель беременности, включающих 35 случаев серопозитивных беременных женщин с самопроизвольным абортом (O03), ассоциированным с реактивацией ЦМВ инфекции, и 32 здоровых серонегативных женщины с добровольным прерыванием беременности. Все женщины были сопоставимы по возрасту и сроку беременности: в группе серопозитивных беременных женщин – 23,9±0,50 года и 8,46±0,257 недель, в группе серонегативных беременных женщин – 24,4±0,60 года и 8,74±0,267 недель (p>0,05, соответственно).

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эффективность маточно-плацентарного ангиогенеза определяется адекватной поставкой питательных субстратов и кислорода к тканям эмбриона. Трофобласт имеет свою систему детекции кислорода, которая в данный момент недостаточно изучена. В настоящее время идентифицированы кислород-зависимые сигнальные пути, предполагающие участие HIF-1 и активных форм кислорода (АФК) в адаптации к физиологической гипоксемии во время беременности [9]. Гипоксический фактор HIF-1 согласно потребностям

ТАБЛИЦА 1

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ HIF-1A, A-ТОКОФЕРОЛА, ДГК У СЕРОПОЗИТИВНЫХ ЖЕНЩИН В ПЕРВОМ ТРИМЕСТРЕ С УГРОЗОЙ ПРЕРЫВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ, АССОЦИИРОВАННОЙ С РЕАКТИВАЦИЕЙ ЦМВ ИНФЕКЦИИ

TABLE 1

VARIABILITY OF HIF-1A, A-TOCOPHEROL, DHA INDICES IN SEROPOSITIVE WOMEN IN THE FIRST TRIMESTER WITH THE THREAT OF TERMINATION OF PREGNANCY ASSOCIATED WITH REACTIVATION OF CMV INFECTION

Показатель	Серопозитивные женщины	Серонегативные женщины
HIF-1α, нг/мл	6,80±0,015*	4,42±0,021
α-токоферол, мкг/мл	0,90±0,015*	1,54±0,018
ДГК, %	6,07±0,005*	8,51±0,020

Примечание: * – статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой (p <0,001).

в кислороде, соответствующих сроку беременности, регулирует VEGF-зависимые ангиогенные процессы в матке и плаценте [18] путем усиления пролиферации, дифференцировки и миграции трофобласта, а также эндотелиальных клеток [19, 20]. Инфекции у женщин могут усиливать процессы пероксидации и воспалительных реакций в организме женщин, что приводит к гипоксии, изменяющей адаптивные механизмы регуляции формирования плаценты и ее сосудистого русла, угрожающе действующие на беременность.

По нашим данным, которые представлены в таблице, у серопозитивных беременных женщин с самопроизвольным абортом, ассоциированным с реактивацией инфекции, выявлено статистически достоверное увеличение в периферической крови концентрации HIF-1α в 1,54 раза (p <0,001). Показатели антиокислительного α-токоферола и ДГК были снижены по отношению к группе серонегативных беременных женщин с добровольным прерыванием беременности в 1,71 раза и в 1,40 раза (p <0,001, соответственно).

В ходе корреляционного анализа выявлены обратные сильные связи высоких показателей HIF-1α с низкими значениями α-токоферолом и ДГК (r = –0,81 и r = –0,79, p <0,01, соответственно), свидетельствующие о возможном дисбалансе в системе регуляции процессов пероксидации и воспалительных реакций, поддерживаемых фактором транкрипции HIF.

При морфологическом исследовании в группе серопозитивных женщин с самопроизвольным абортом, ассоциированным с реактивацией ЦМВ инфекции, отмечался очаговый отек и фокальный некроз стромы эндометрия и ворсин хориона (рис. 1). Замедлялась децидуализация стромы. Спиральные артерии эндометриальных сегментов были сужены с зонами выбухания эндотелия в просвет сосуда и его слущивания (рис. 2). Интерстициальная цитотрофобластическая инвазия обнаруживалась в 53% случаев только в поверхностных отделах функционального слоя (рис. 1). Инвазивный цитотрофобласт, расположенный субэндотелиально, выявлялся в 44,5% случаев (рис. 2).

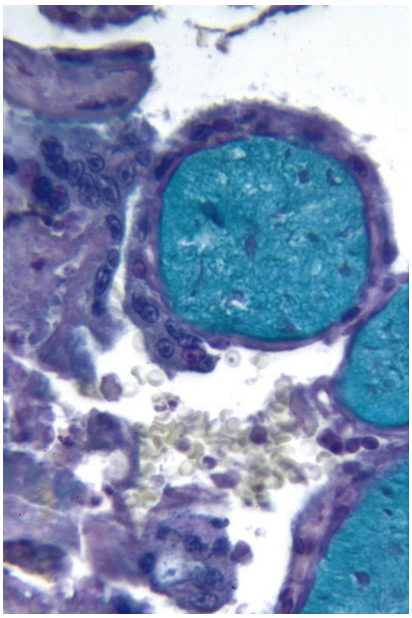

РИС. 1.
Морфоструктура эндометрия и ворсинчатого хориона. ЦМВ инфекция. Самопроизвольный аборт (9 нед.). Интерстициальная цитотрофобластическая инвазия. Мезенхимальные ворсины. Некроз стромы. Гематоксилин-эозин. Ув. ×100.

FIG. 1.
Morphostructure of the endometrium and villous chorion. CMV infection. Spontaneous abortion (9 weeks). Interstitial cytotrophoblastic invasion. Mesenchymal villi. Stromal necrosis. Hematoxylin-eosin. Uv. × 100.

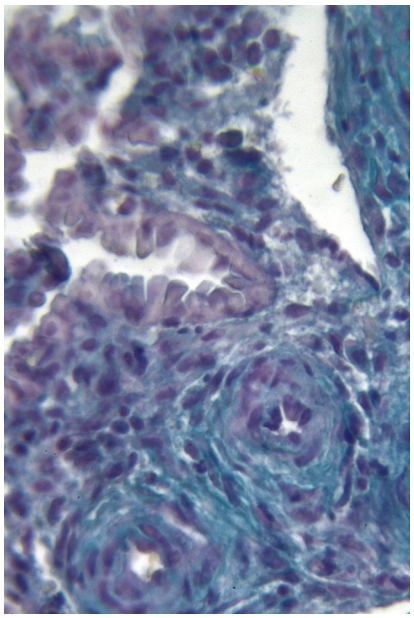

РИС. 2.
Морфоструктура эндометрия. ЦМВ инфекция. Самопроизвольный аборт (9 нед.). Миометральные сегменты спиральной артерии с выбухающим и местами слущенным в просвет сосуда эндотелием. Парафиновый срез. Альциановый синий. Ув. ×100.

FIG. 2.
Morphostructure of the endometrium. CMV infection. Spontaneous abortion (9 weeks). Myometral segments of the spiral artery with bulging and in places desquamated into the lumen of the vessel endothelium. Paraffin cut. Alcian blue. Uv. × 100.

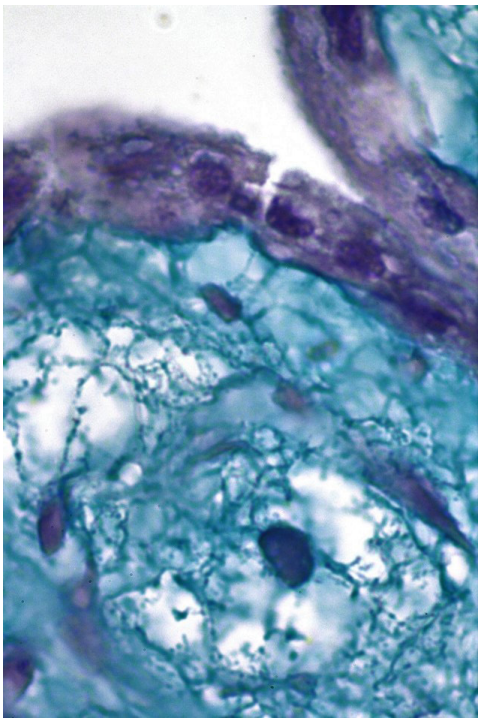

РИС. 3.
Морфоструктура эндометрия и ворсинчатого хориона. ЦМВ инфекция. Самопроизвольный аборт (9 нед.). Аваскулярная ворсина. Отек и некроз стромы. Парафиновый срез. Альциановый синий. Ув. ×400.

FIG. 3.
Morphostructure of the endometrium and villous chorion. CMV infection. Spontaneous abortion (9 weeks). Avascular villus. Edema and necrosis of the stroma. Paraffin cut. Alcian blue. Uv. × 400.

Ворсинчатый хорион был представлен ворсинами мезенхимального типа без признаков дифференцировки в эндотелиальные клетки. Встречались аваскулярные некротизированные инвазивные ворсины (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

Резюме основного результата исследования

Полученные в ходе проведенного исследования данные указывают о возможной роли высоких показателей HIF-1α, низких – α-токоферола и ДГК в формировании нарушений плаценты и маточно-плацентарного ангиогенеза у серопозитивных женщин с самопроизвольным абортом, ассоциированным реактивацией ЦМВ, что вносит значимый вклад в патогенез самопроизвольного аборта.

Обсуждение основного результата исследования

Фактор транскрипции HIF-1 содержит регулируемую кислородом субъединицу α и стабильную субъединицу β, которая при образовании комплекса активирует транскрипцию многих генов, участвующих в пролиферации, ангиогенезе [10, 21]. Экспрессия субъединицы, регулируемой кислородом (HIF-1α), увеличивается либо за счет повышения синтеза и стабильности белка HIF-1α, либо за счет увеличения уровней мРНК, и сопровождается транслокацией субъединицы α в ядро и ее димеризацией с субъединицей β, транскрипцией генов-мишеней, способствующих продукции белков-регуляторов морфогенеза и ангиогенеза плаценты (PLGF, VEGF), эритропоэза (эритропоэтин) [9], регуляции сосудистого тонуса, развития воспаления (цитокины) [22].

Литературные данные убедительно показывают, что в период беременности мРНК HIF-1α экспрессируется в трофобласте ворсин плаценты. При этом самый высокий уровень данного транскрипционного фактора выявляется в период с 7 по 11 недели беременности, что особенно важно для регуляции процессов инвазии трофобласта и маточно-плацентарного ангиогенеза. Однако изменение экспрессии HIF-1α уменьшает способность трофобластических клеток к инвазии и является причиной нарушения формирования плаценты, невынашивания беременности [10, 23].

В периферической крови серопозитивных женщин с самопроизвольным абортом, ассоциированным с реактивацией ЦМВ инфекции, регистрировался высокий уровень HIF-1α. Данные, полученные в ходе работы, коррелируют с результатами других авторов, которые выявили высокую экспрессию HIF-1α в плацентах у пациенток с хронической плацентарной недостаточностью [24].

Исходя из того, что HIF-1α является кислород-чувствительной субъединицей, можно полагать, что высокая концентрация HIF-1α отражает выраженность гипоксического влияния на ткани плаценты.

Тем не менее, в некоторых сообщениях указывается, что HIF-1α может индуцироваться негипоксическими стимулами. Так, Zhao H. et al (2020) отмечают, что повышенный уровень мРНК HIF-1α в развивающейся плаценте может быть связан не только с гипоксией, но и с присутствием АФК, провоспалительных цитокинов [21], которые при активной форме ЦМВ инфекции находятся на достаточно высоком уровне [25].

Гиперэкспрессия HIF-1α в условиях ЦМВ инфекции приводит к обширным повреждениям сосудов развивающейся плаценты, включая тромбозы, инфаркты, способствуя задержке роста плода [26]. Более поздние исследования показывают, что на ранних сроках бере-

менности, накопление HIF-1α ингибирует экспрессию стероидного рецептора p160 (SRC) SRC-3, который нарушает инвазию и миграцию вневорсинчатого трофобласта, напрямую взаимодействуя с протеинкиназой AKT через путь активации AKT/mTOR, что, в свою очередь, приводит к недостаточному ремоделированию спиральных артерий матки и гипоперфузии плаценты [27]. По другим данным высокий уровень HIF-1α является участником Ca2+-зависимой инициации специфического ионотропного канала SK3 и высвобождению sFlt-1, который связывает циркулирующий в плазме VEGF и изменяет его биологический эффект [32].

В отличие от высоких показателей HIF-1α недостаток α-токоферола и ДГК у серопозитивных беременных с реактивацией ЦМВ инфекции может свидетельствовать о нарушении механизмов регуляции процессов пероксидации, поддерживающих окислительный стресс и воспаление [28].

Следовательно, инициация АФК-HIF-1α-VEGF зависимого пути [33], может способствовать уменьшению проангиогенной стимуляции, вызывающей задержку формирования и васкуляризации ворсин плаценты, трансформации маточных артерий, что подтверждалось результатами морфологического исследования.

В настоящее время доказано, что α-токоферол участвует в развитии плаценты, индуцируя процессы ангиогенеза путем увеличения экспрессии VEGF [29], мРНК PLGF, NO-синтазы и HIF-1α [30], тогда как ДГК опосредует ангиогенез в клетках плаценты первого триместра не только через стимуляцию экспрессии генов VEGF и ангиопоэтина 4, но и других проангиогенных медиаторов (белки, связывающие жирные кислоты, эйкозаноиды, циклооксигеназа 2) [31].

Следовательно, увеличение содержания HIF-1α и уменьшение концентрации α-токоферола и ДГК в периферической крови серопозитивных женщин с самопроизвольным абортом, ассоциированным с реактивацией ЦМВ инфекции может свидетельствовать о формирующемся дисбалансе в системе регуляции процессов пероксидации и воспалительных реакций, поддерживаемых транскрипционным фактором HIF, что определяет нарушение формирования плаценты и маточно-плацентарного сосудистого русла [9], оказывающих неблагоприятное действие на эмбрион и исход беременности [10, 23].

Нежелательные явления

Нежелательные явления при проведении исследования в обеих группах отсутствовали.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У серопозитивных женщин с самопроизвольным абортом, ассоциированным с реактивацией ЦМВ инфекции на ранних сроках беременности выявлена сильная связь высоких показателей HIF-1α со снижением α-токоферола и ДГК в периферической крови, что может рассматриваться как неблагоприятный фактор нарушения формирования плаценты.

Источник финансирования

Исследование проводилось за счет средств федерального бюджета в рамках государственного задания ФНИ (тема 061, № госрегистрации AAAA-A18-118020790064-4).

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Макаров И.О., Воеводин С.М., Шеманаева Т.В. Особенности плацентарной недостаточности при наличии внутриутробной инфекции. *Врач-аспирант.* 2012; 1. 2 (50): 253–258

2. Надеев А.П., Травин М.А., Дробинская А.Н., Карпов М.А., Телятникова Н.В., Жукова В.А. и др. Особенности инфицирования плаценты цитомегаловирусом и вирусом простого герпеса второго типа при доношенной беременности. *Journal of Siberian Medical Sciences.* 2015; 3: 83

3. Андриевская И.А., Луценко М.Т., Петрова К.К., Кочегарова Е.Ю., Приходько Н.Г. Плацентарный фактор роста как маркер угрозы ранних самопроизвольных выкидышей при цитомегаловирусной инфекции. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2017; 64: 55–59. doi: 10.12737/article_59360cc93f6447.76641762

4. Charostad J, Mokhtari-Azad DV, Mph MT, Ph D, Yavarian J, Ghavami N, et al. Detection of human herpes viruses 1–5 in miscarriage: A case-control study. *Int J Reprod Biomed*. 2020; 18 (7): 501–508. doi: 10.18502/ijrm. v13i7.7367

5. Li JM, Zhang HF, Zhang XQ, Huang GL, Huang HZ, Yu WW. Genetic mechanism associated with congenital cytomegalovirus infection and analysis of effects of the infection on pregnancy outcome. *Genet Mol Res.* 2015; 14 (4): 13247–13257. doi: 10.4238/2015. October. 26.21

6. Njue A, Coyne C, Margulis AV, Wang D, Marks MA, Russell K, et al. The Role of Congenital Cytomegalovirus Infection in Adverse Birth Outcomes: A Review of the Potential Mechanisms. *Viruses*. 2020; 13 (1): 20. doi: 10.3390/v13010020

7. Pass RF, Arav-Boger R. Maternal and fetal cytomegalovirus infection: diagnosis, management, and prevention. *F1000Res.* 2018; 7: 255. doi: 10.12688/f1000research. 12517.1

8. Стрижаков А.Н., Кушлинский Н.Е., Тимохина Е.В., Тарабрина Т.В. Роль ангиогенных факторов роста в прогнозировании плацентарной недостаточности. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии*. 2009; 8 (4): 5–11

9. Михайлин Е.С., Толибова Г.Х., Траль Т.Г. Морфофункциональные особенности последов у несовершеннолетних женщин. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2016; 65 (5): 41–48. doi.org/10.17816/JOWD65541-48

10. Большакова М.В., Беженарь В.Ф., Павлова Н.Г., Пастушенков В.Л., Габаева М.М. Современные представления о патогенезе гипоксии плода и роли в нем гипоксия-индуцируемого фактора (HIF). *Акушерство и гинекология Санкт-Петербурга*. 2019; 1: 19–24.

11. Macklin PS, McAuliffe J, Pugh CW, Yamamoto A. Hypoxia and HIF pathway in cancer and the placenta. *Placenta.* 2017; 56: 8–13. doi: 10.1016/j. placenta. 2017.03.010

12. Yu N, Wu JL, Xiao J, Fan L, Chen SH, Li W. HIF-1α regulates angiogenesis via Notch1/STAT3/ETBR pathway in trophoblastic cells. *Cell Cycle.* 2019; 18 (24): 3502–3512. doi: 10.1080/15384101.2019.1689481

13. Pandya AD, Das MK, Sarkar A, Vilasagaram S, Basak S, Duttaroy AK. Tube formation in the first trimester placental trophoblast cells: Differential effects of angiogenic growth factors and fatty acid. *Cell. Biol. Int*. 2016; 40 (6): 652–661. doi: 10.1002/cbin. 10601

14. Kasture V, Sundrani D, Dalvi S, Swamy M, Kale A, Joshi S. Maternal omega-3 fatty acids and vitamin E improve placental angiogenesis in late-onset but not early-onset preeclampsia. *Mol. Cell. Biochem*. 2019; 461 (1-2): 159–170. doi:10 .1007/s11010-019-03599-4

15. Taneda S, Honda K, Tomidokoro K, Uto K, Nitta K, Oda H. Eicosapentaenoic acid restores diabetic tubular injury through regulating oxidative stress and mitochondrial apoptosis. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2010; 299 (6): F1451-F1461. doi:10.1152/ajprenal. 00637.2009

16. Rathod RS, Khaire AA, Kale AA, Joshi SR. Maternal omega-3 fatty acid supplementation to a vitamin B12 deficient diet normalizes angiogenic markers in the pup brain at birth. *Int. J. Dev Neurosci.* 2015; 43 (1): 43–49. doi:10.1016/j. ijdevneu. 2015.04.006

17. Hansen LG, Warwich WI. Flurometric micromethod for serum tocoferol. *Am. J. Chen Pathology.* 1966; 36 (1): 137–138.

18. Морозова О.Л., Мальцева Л.Д., Макарова В.Д. VEGF – маркер гипоксии при повреждении почек различного генеза. *Патогенез.* 2018; 16 (2): 62–69. doi: 10.25557/2310–0435.2018.0262–69

19. Azliana AF, Zainul-Rashid MR, Chandramaya SF, Farouk WI, Nurwardah A, Wong YP, Tan GC. Vascular endothelial growth factor expression in placenta of hypertensive disorder in pregnancy. *Indian J Pathol Microbiol.* 2017; 60 (4): 515–520. doi: 10.4103/IJPM. IJPM_376_16

20. Макаров О.В., Волкова Е.В., Лысюк Е.Ю., Копылова Ю.В. Фетоплацентарный ангиогенез у беременных с плацентарной недостаточностью. *Акушерство, гинекология, репродукция*. 2013; 7 (3): 13–19

21. Zhao H, Narasimhan P, Kalish F, Wong RJ, Stevenson DK. Dysregulation of hypoxia-inducible factor-1α (Hif1α) expression in the Hmox1-deficient placenta. *Placenta.* 2020; 99: 108–116. doi: 10.1016/j. placenta. 2020.07.015

22. Левченкова О.С., Новиков В.Е. Индукторы регуляторного фактора адаптации к гипоксии. *Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова.* 2014; 2: 135–145

23. Мельник А.А. Гипоксией индуцированный фактор для лечения анемии при хронической болезни почек. *Почки*. 2018; 7 (4): 311–321. doi: 10.22141/2307–1257.7.4.2018.148522

24. Беженарь В.Ф., Павлова Н.Г., Большакова М.В., Пастушенков В.Л., Карев В.Е. Экспрессия гипоксия-индуцированого фактора (HIF1α) в плацентах при хронической плацентарной недостаточности в конце беременности. *Уральский медицинский журнал.* 2020; 5 (188): 141–145. doi: 10.25694/URMJ. 2020.05.29

25. Ишутина Н.А., Андриевская И.А., Дорофиенко Н.Н. Малоновый диальдегид и фактор некроза опухолей α в периферической крови беременных с цитомегаловирусной инфекцией. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания.* 2015; 55: 78–81

26. de Wit RH, Mujić-Delić A, van Senten JR, Fraile-Ramos A, Siderius M, Smit MJ. Human cytomegalovirus encoded chemokine receptor US28 activates the HIF-1α/PKM2 axis in glioblastoma cells. *Oncotarget.* 2016; 7 (42): 67966–67985. doi: 10.18632/oncotarget. 11817

27. He C, Shan N, Xu P, Ge H, Yuan Y, Liu Y, et al. Hypoxia-induced Downregulation of SRC-3 Suppresses Trophoblastic Invasion and Migration Through Inhibition of the AKT/mTOR Pathway: Implications for the Pathogenesis of Preeclampsia. *Sci Rep*. 2019; 9 (1): 10349. doi: 10.1038/s41598-019-46699-3

28. Ишутина Н.А., Дорофиенко Н.Н. Пероксидация липидов при беременности, осложненной цитомегаловирусной инфекцией. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания.* 2014; 54: 56–59

29. Kasimanickam RK, Kasimanickam VR, Haldorson GJ, Tibary A. Effect of tocopherol supplementation during last trimester of pregnancy on mRNA abundances of interleukins and angiogenesis in ovine placenta and uterus. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2012; 10:4. doi: 10.1186/1477-7827-10-4

30. Kasimanickam RK, Kasimanickam VR, Rodriguez JS, Pelzer KD, Sponenberg PD, Thatcher CD. Tocopherol induced angiogenesis in placental vascular network in late pregnant ewes. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2010; 8: 86. doi.org/10.1186/1477-7827-8-86

31. Basak S, Das MK, Duttaroy AK. Fatty acid-induced angiogenesis in first trimester placental trophoblast cells: possible roles of cellular fatty acid-binding proteins. *Life Sci.* 2013; 93 (21): 755–762. doi: 10.1016/j. lfs. 2013.09.024

32. Rada CC, Murray G, England SK. The SK3 channel promotes placental vascularization by enhancing secretion of angiogenic factors. *American Journal of physiology, endocrinology and metabolism.* 2014; 307 (10): E935–943. doi: 10.1152/ajpendo. 00319.2014

33. Irwin DC, McCord JM, Nozik-Grayck E, Beckly G, Foreman B, Sullivan T, White M, T Crossno JJr, Bailey D, Flores SC, Majka S, Klemm D, van Patot MC. A potential role for reactive oxygen species and the HIF-1alpha-VEGF pathway in hypoxia-induced pulmonary vascular leak. *Free Radic Biol Med.* 2009; 47 (1): 55–61. doi: 10.1016/j. freeradbiomed. 2009.03.027

REFERENCES

1. Makarov IO, Voyevodin SM, Shemanayeva TV. Features of placental insufficiency in the presence of intrauterine infection. *Vrach-aspirant*. 2012; 1. 2 (50): 253–258. (In Russian)

2. Nadeyev AP, Travin MA, Drobinskaya AN, Karpov MA, Telyatnikova NV, Zhukova VA., et al. Features of placenta infection with cytomegalovirus and virus of herpes simplex of the second type at the full-term pregnancy. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2015; 3: 83. (In Russian)

3. Andriyevskaya IA, Lutsenko MT, Petrova KK, Kochegarova EYu, Prikhod»ko NG. Placental growth factor as a marker of the threatened early miscarriage in women with cytomegalovirus infection. *Byulleten» fiziologii i patologii dykhaniya.* 2017; 64: 55–59. doi: 10.12737/article_59360cc93f64 47.76641762 (In Russian)

4. Charostad J, Mokhtari-Azad DV, Mph MT, Ph D, Yavarian J, Ghavami N, et al. Detection of human herpes viruses 1–5 in iscarriage: A case-control study. *Int J Reprod Biomed.* 2020; 18 (7): 501–508. doi: 10.18502/ijrm. v13i7.7367

5. Li JM, Zhang HF, Zhang XQ, Huang GL, Huang HZ, Yu WW. Genetic mechanism associated with congenital cytomegalovirus infection and analysis of effects of the infection on pregnancy outcome. *Genet Mol Res.* 2015; 14 (4): 13247–13257. doi: 10.4238/2015. October. 26.21

6. Njue A, Coyne C, Margulis AV, Wang D, Marks MA, Russell K, et al. The Role of Congenital Cytomegalovirus Infection in Adverse Birth Outcomes: A Review of the Potential Mechanisms. *Viruses.* 2020; 13 (1): 20. doi: 10.3390/v13010020

7. Pass RF, Arav-Boger R. Maternal and fetal cytomegalovirus infection: diagnosis, management, and prevention. *F1000Res.* 2018; 7: 255. doi: 10.12688/f1000research. 12517.1

8. Strizhakov AN, Kushlinskiy NE, Timokhina EV, Tarabrina TV. The role of angiogenic growth factors in predicting placental insufficiency. *Voprosy ginekologii, akusherstva i perinatologii.* 2009; 8 (4): C. 5–11. (In Russian)

9. Mikhaylin ES, Tolibova GKh, Tral» TG. Morfological and functional features of placentas in minor women. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney.* 2016; 65 (5): 41–48. doi.org/10.17816/JOWD65541-48. (In Russian)

10. Bol»shakova MV, Bezhenar» VF, Pavlova NG, Pastushenkov VL, Gabayeva MM. Modern ideas about the pathogenesis of fetal hypoxia and the role of hypoxia-inducible factor (HIF) in it. *Akusherstvo i ginekologiya Sankt-Peterburga.* 2019; 1: 19–24. (In Russian)

11. Macklin PS, McAuliffe J, Pugh CW, Yamamoto A. Hypoxia and HIF pathway in cancer and the placenta. *Placenta.* 2017; 56: 8–13. doi: 10.1016/j. placenta. 2017.03.010

12. Yu N, Wu JL, Xiao J, Fan L, Chen SH, Li W. HIF-1α regulates angiogenesis via Notch1/STAT3/ETBR pathway in rophoblastic cells. *Cell Cycle.* 2019; 18 (24): 3502–3512. doi: 10.1080/15384101.2019.1689481

13. Pandya AD, Das MK, Sarkar A, Vilasagaram S, Basak S, Duttaroy AK. Tube formation in the first trimester placental trophoblast cells: Differential effects of angiogenic growth factors and fatty acid. *Cell. Biol. Int.* 2016; 40 (6): 652–661. doi: 10.1002/cbin. 10601

14. Kasture V, Sundrani D, Dalvi S, Swamy M, Kale A, Joshi S. Maternal omega-3 fatty acids and vitamin E improve placental angiogenesis in late-onset but not early-onset preeclampsia. *Mol. Cell. Biochem.* 2019; 461 (1-2): 159–170. doi: 10.1007/s11010-019-03599-4

15. Taneda S, Honda K, Tomidokoro K., Uto K, Nitta K, Oda H. Eicosapentaenoic acid restores diabetic tubular injury through regulating oxidative stress and mitochondrial apoptosis. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2010; 299 (6): F1451-F1461. doi:10.1152/ajprenal. 00637.2009

16. Rathod RS, Khaire AA, Kale AA, Joshi SR. Maternal omega-3 fatty acid supplementation to a vitamin B12 deficient diet normalizes angiogenic markers in the pup brain at birth. *Int. J. Dev Neurosci.* 2015; 43 (1): 43–49. doi:10.1016/j. ijdevneu. 2015.04.006

17. Hansen LG, Warwich WI. Flurometric micromethod for serum tocoferol. *Am. J. Chen Pathology.* 1966; 36 (1): 137–138.

18. Morozova OL, Mal»tseva LD, Makarova VD. VEGF asa biomarker for hypoxia in kidney injury of different origins. *Patogenez.* 2018; 16 (2): 62–69. doi: 10.25557/2310–0435.2018.0262–69 (In Russian)

19. Azliana AF, Zainul-Rashid MR, Chandramaya SF, Farouk WI, Nurwardah A, Wong YP, Tan GC. Vascular endothelial growth factor expression in placenta of hypertensive disorder in pregnancy. *Indian J Pathol Microbiol.* 2017; 60 (4): 515–520. doi: 10.4103/IJPM. IJPM_376_16

20. Makarov OV, Volkova EV, Lysyuk EYu, Kopylova YuV. Fetoplacental angiogenesis in pregnant women with placental insufficiency. *Akusherstvo, ginekologiya, reproduktsiya.* 2013; 7 (3): 13–19. (In Russian)

21. Zhao H, Narasimhan P, Kalish F, Wong RJ, Stevenson DK. Dysregulation of hypoxia-inducible factor-1α (Hif1α) expression in the Hmox1-deficient placenta. *Placenta.* 2020; 99: 108–116. doi: 10.1016/j. placenta. 2020.07.015

22. Levchenkova OS, Novikov VE. Inducers of the regulatory factor to hypoxia adaptation. *Rossiyskiy mediko-biologicheskikh vestnik im. akad. I. P. Pavlova.* 2014; 2: 135–145. (In Russian)

23. Mel»nik AA. Hypoxia-inducible factor for the treatment of anemia in chronic kidney disease. *Pochki.* 2018; 7 (4): 311–321. doi: 10.22141/2307-1257.7.4.2018.148522 (In Russian)

24. Bezhenar» VF, Pavlova NG, Bol»shakova MV, Pastushenkov VL, Karev VE. Expression of hypoxia-induced factor (HIF1α) in placentas with chronic placental insufficiency at the end of pregnancy. *Ural»skiy meditsinskiy zhurnal.* 2020; 5 (188): 141–145. doi: 10.25694/URMJ. 2020.05.29 (In Russian)

25. Ishutina NA, Andrievskaya IA, Dorofienko NN. Malon dialdehyde and tumor necrosis factor alpha at cytomegalovirus infection during pregnancy. *Byulleten» fiziologii i patologii dykhaniya.* 2015; 55: 78–81. (in Russian)

26. de Wit RH, Mujić-Delić A, van Senten JR, Fraile-Ramos A, Siderius M, Smit MJ. Human cytomegalovirus encoded chemokine receptor US28 activates the HIF-1α/PKM2 axis in glioblastoma cells. *Oncotarget.* 2016; 7 (42): 67966–67985.

doi: 10.18632/oncotarget. 11817

27. He C, Shan N, Xu P, Ge H, Yuan Y, Liu Y, et al. Hypoxia-induced Downregulation of SRC-3 Suppresses Trophoblastic Invasion and Migration Through Inhibition of the AKT/mTOR Pathway: Implications for the Pathogenesis of Preeclampsia. *Sci Rep*. 2019; 9 (1): 10349. doi: 10.1038/s41598-019-46699-3

28. Ishutina NA, Dorofienko NN. Lipid peroxidation in regnancy complicated by cytomegalovirus infection. *Byulleten» fiziologii i patologii dykhaniya*. 2014; 54: 56–59. (In Russian)

29. Kasimanickam RK, Kasimanickam VR, Haldorson GJ, Tibary A. Effect of tocopherol supplementation during last trimester of pregnancy on mRNA abundances of interleukins and angiogenesis in ovine placenta and uterus. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2012; 10: 4. doi: 10.1186/1477-7827-10-4

30. Kasimanickam RK, Kasimanickam VR, Rodriguez JS, Pelzer KD, Sponenberg PD, Thatcher CD. Tocopherol induced angiogenesis in placental vascular network in late pregnant ewes. *Reprod. Biol. Endocrinol*. 2010; 8: 86. doi.org/10.1186/1477-7827-8-86

31. Basak S, Das MK, Duttaroy AK. Fatty acid-induced angiogenesis in first trimester placental trophoblast cells: possible roles of cellular fatty acid-binding proteins. *Life Sci.* 2013; 93 (21): 755–762. doi: 10.1016/j. lfs. 2013.09.024

32. Rada CC, Murray G, England SK. The SK3 channel promotes placental vascularization by enhancing secretion of angiogenic factors. *American Journal of physiology, endocrinology and metabolism*. 2014; 307 (10): E935–943. doi: 10.1152/ajpendo. 00319.2014

33. Irwin DC, McCord JM, Nozik-Grayck E, Beckly G, Foreman B, Sullivan T, White M, T Crossno JJr, Bailey D, Flores SC, Majka S, Klemm D, van Patot MC. A potential role for reactive oxygen species and the HIF-1alpha-VEGF pathway in hypoxia-induced pulmonary vascular leak. *Free Radic Biol Med.* 2009; 47 (1): 55–61. doi: 10.1016/j. freeradbiomed. 2009.03.027

Сведения об авторах

Ишутина Наталия Александровна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при НЗЛ, Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания. Адрес: 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22; тел.: (4162) 772815, e-mail: ishutina-na@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-1024-1532; мобильный телефон: 89145549764

Андриевская Ирина Анатольевна – доктор биологических наук, заведующая лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при НЗЛ, Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания. Адрес: 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22; тел. (4162) 772815, e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru. https://orcid.org/0000-0003-0212-0201

Приходько Николай Геннадьевич – аспирант лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при НЗЛ, Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания. Адрес: 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22; тел.: (4162) 772815, e-mail: nikprih@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-8411-0543

Information about the authors

Natalia A. Ishutina – ScD, PhD, 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. Address: 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. Tel.: (4162) 772815, e-mail: ishutina-na@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-1024-1532

Irina A. Andrievskaya – DSc, PhD, 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. Address: 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. Tel.: (4162) 772815, e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru. https://orcid.org/0000-0003-0212-0201

Nikolay G. Prikhodko – postgraduate student 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. Address: 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. Tel.: (4162) 772815, e-mail: nikprih@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-8411-0543