

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

ЭСТРОГЕНЫ ПРИ ОСЛОЖНЕННОЙ ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИЕЙ БЕРЕМЕННОСТИ РАННИХ СРОКОВ

Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания СО РАМН (Благовещенск)

При обострении герпетической инфекции обнаружено снижение содержания эстриола и эстрадиола в ворсинчатых хорионах на ранних этапах гестации. Выявленное изменение являлось результатом недостатка базисного стероида — холестерина, а также нарушения процесса синтеза стероидных гормонов: низкой активностью фермента — 17 β -гидроксистероиддегидрогеназы в плаценте и неадекватностью регуляторных механизмов гормонообразования.

Ключевые слова: эстрогены, холестерин, плацента, герпес

ESTROGENE AT EARLY PREGNANCY WITH HERPES-VIRUS EXACERBATION

I.V. Dovzhikova, M.T. Lutsenko, I.A. Andrievskaya

Far Eastern Science Centre of Physiology and Pathology of Respiration SB RAMN, Blagoveshchensk

Decrease of estriol and estradiol concentration was found at herpes-viral infection exacerbation in placenta of pregnant at early stages of gestations. Revealed change was shown by result of defect of base steroid — cholesterol content, as well as distribution of the steroid hormone syntheses process: low activity of placental 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase and inadequacy steroidogenesis regulating mechanism.

Key words: estrogens, cholesterol, placenta, herpes

Эстрогены относятся к группе стероидных гормонов, имеющих большое значение для нормального течения беременности. Они приводят к развитию в миометрии ряда биохимических изменений, играющих важнейшую роль в сократительной активности мышцы матки. Рост миометрия, гиперплазия и гипертрофия мышечных клеток, увеличение синтеза РНК и белков актомиозинового комплекса, усиление синтеза и активности ферментных систем, участвующих в этих процессах, повышение энергетического обмена, накопление гликогена, АТФ, креатинфосфата, изменения мембранного потенциала клеток и другие изменения связаны преимущественно с влиянием эстрогеновых гормонов [1, 4, 5]. Эстрогены вызывают пролиферативные изменения в молочных железах в синергизме с прогестероном, подготавливая их к лактации. Кроме этого, гормоны оказывают общее влияние на обмен веществ в организме беременной женщины, регулируют формирование фетальной оси «гипофиз — кора надпочечников», контролируют уровень свободного кортизола в крови женщин и влияние прогестерона на матку [5, 8]. Под влиянием эстрогенов в печени усиливается синтез транскортина, тироксинсвязывающего глобулина и различных ферментов [6, 8]. Таким образом, для нормального прогрессирования беременности важно адекватное содержание эстрогенов, в том числе и на ранних ее этапах.

Цель работы — проанализировать содержание и синтез эстрогенов в плаценте при обострении герпетической инфекции во время беременности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили 98 образцов ворсинчатого хориона, взятого при

проведении медицинских аборт на сроке 5–10 недель беременности от практически здоровых женщин, которые составили контрольную группу и беременных с признаками клинического и лабораторно диагностированного обострения герпетической инфекции I типа. По значимым параметрам (возраст, акушерско-гинекологический анамнез, наличие других хронических соматических заболеваний) на момент обследования сравниваемые группы достоверно не различались. Работа была одобрена комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «ДНЦ ФПД» СО РАМН в соответствии с принципами конвенции о биомедицине и правах человека, а также общепризнанными нормами международного права. От всех здоровых и больных лиц было получено информированное согласие.

Диагностику герпетической инфекции I типа осуществляли путем определения антител класса М и G к вирусу простого герпеса иммуноферментным методом с помощью стандартных тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск) на аппарате спектрофотометр «Stat-Fax 2100» (USA).

Исследование стероидов (холестерин, эстриол, эстрадиол) в плацентарном гомогенате проводили методом иммуноферментного анализа, используя наборы «Новохол» ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия) и ЗАО «Алкор Био» (Санкт-Петербург, Россия) на спектрофотометре «Stat-Fax 2100» (США). Ворсинчатый хорион забирали сразу после проведения аборта. Кусочки ткани помещали в 200 мл физиологического раствора, отмывали от клеток крови, перемешивая 15 мин на магнитной мешалке. Для получения экстрактов, отмывые кусочки хориона слегка подсушивали на фильтровальной бумаге, взвешивали, растирали

пестиком в фарфоровой ступке и гомогенизировали до однородной кремообразной массы. К полученному гомогенату добавляли физиологический раствор в объеме, равном изначальной массе ткани (на 1 г — 1 мл физиологического раствора). Взвесь помещали в пластиковые пробирки Falcon и подвергали замораживанию при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение суток. Затем гомогенат размораживали и центрифугировали при 4000 об./мин при температуре $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Надосадочную жидкость разливали мелкими аликвотами и хранили при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ до проведения ИФА.

Выявление 17β -гидроксистероиддегидрогеназы производилось по методу З. Лойда с соавт. (1982) в модификации лаборатории «Механизмы этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при НЗЛ» ФГБУ ДНЦ ФПД СО РАМН. Субстратом для выявления являлись 2 мМ раствор 5андростен- 17β -ол- 17он (SERVA). Для определения локализации энзима в качестве акцептора применялась соль тетразолия фирмы ICN Biomedicals в конечной концентрации 5 мМ. Как кофактор использовали НАДФ в конечной концентрации 1 мМ. Инкубационный раствор готовился на основе 0,1М фосфатного буфера pH 7,4. Инкубацию проводили при $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 30 минут. По окончании инкубации срезы промывали дистиллированной водой, фиксировали в 10% нейтральном формалине и заключали в глицерин-желатин.

Количество образующихся продуктов реакции проводили путем подсчета на программе компьютерной цитофотометрии методом измерения на стандартную единицу площади 0,1 (зонд) в 100 различных точках объекта. Статистический анализ полученного материала проводился на основе стандартных методов вариационной статистики с оценкой достоверности различий по критерию Стьюдента (t). Принимались во внимание уровни значимости (p) 0,05; 0,01; 0,001. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Эстрогены, как и все стероидные гормоны синтезируются из холестерина. При беременности данный процесс происходит в фетоплацентарном комплексе. Количество холестерина в гомогенатах ворсинчатых хорионов женщин контрольной группы увеличивалось по мере нарастания срока беременности с $1,55 \pm 0,076$ ммоль/л при сроке 5 недель развития до $3,14 \pm 0,091$ ммоль/л на сроке 10 недель. Данный факт объясняется физиологическими причинами. Во время беременности инициируют разные адаптационные механизмы, усиливаются обменные процессы, возникает повышенная необходимость в холестерине. Обострение герпетической инфекции повлияло на содержание стероида негативным образом, причем это произошло в самом органе, где происходит основной процесс стероидогенеза во время беременности. При обострении герпетической инфекции наблюдалось достоверное снижение

количества холестерина в гомогенате ворсинчатых хорионов при сроке 5–6 недель беременности до $1,02 \pm 0,093$ ммоль/л по сравнению с контрольной группой ($1,55 \pm 0,076$ ммоль/л), при сроке 7–8 недель — до $1,97 \pm 0,075$ ммоль/л (в контрольной группе — $2,65 \pm 0,113$ ммоль/л ($p < 0,001$)) и в гомогенате хорионов 10 недель беременности до $1,46 \pm 0,096$ ммоль/л (в контрольной группе — $3,14 \pm 0,091$ ммоль/л ($p < 0,001$)). Снижение содержания холестерина при осложненной беременности, по нашему мнению, явилось следствием нарушения его синтеза [2].

Мы проанализировали непосредственно сам процесс образования эстрогенов из холестерина, который идет при последовательном действии ряда плацентарных и плодовых ферментов. Последнюю стадию биосинтеза катализирует 17β -гидроксистероиддегидрогеназа — уникальный по своей мультифункциональности энзим. Считается, что многообразие изоформ 17β -гидроксистероиддегидрогеназы составляет сложную систему, гарантирующую определенную адаптацию в клетках и регулирование уровней половых стероидных гормонов. Широкая и накладывающаяся субстратная специфичность предполагает взаимодействие 17β -гидроксистероиддегидрогеназы с другими метаболическими путями. За финальную стадию образования эстрогенов отвечает 17β -гидроксистероиддегидрогеназа I типа [7]. Фермент катализирует синтез эстриола и эстрадиола из эстрогена.

Мы провели гистохимическое выявление 17β -гидроксистероиддегидрогеназы в ворсинчатых хорионах I триместра беременности. Энзим локализовался в контрольной группе в хориальном эпителии ворсин — синцитио- и цитотрофобласте (рис. 1). Цитофотометрически его активность составила — $2,61 \pm 0,069$ усл. ед. на 5–6 неделях беременности; $3,43 \pm 0,071$ усл. ед. на 7–8 неделях и $4,73 \pm 0,091$ усл. ед. на 9–10 неделях беременности. Полученные результаты сходны с данными мировой литературы [7], согласно которых I тип 17β -гидроксистероиддегидрогеназы (отвечающий за синтез активных эстрогенов) локализуется именно в синцитио- и цитотрофобластах. В ворсинчатых хорионах женщин, перенесших герпес, наблюдалось снижение интенсивности продукта гистохимической реакции, выявляющей фермент 17β -гидроксистероиддегидрогеназу (рис. 2). Выраженность изменений находилась в прямой зависимости от степени агрессивности герпетической инфекции. Так, при росте титра антител класса IgG к вирусу простого герпеса до 1:12800 энзиматическая активность снизилась до $1,66 \pm 0,085$ усл. ед. на сроке беременности 5–6 недель; до $2,07 \pm 0,074$ усл. ед. на сроке 7–8 недель и до $2,71 \pm 0,071$ усл. ед. на сроке 9–10 недель.

Контролируется работа стероиддегидрогеназ в плаценте, в том числе и 17β -гидроксистероиддегидрогеназы, хорионическим гонадотропином и хорионическим лютеинизирующим гормоном. Действуют они через протеинкиназу A, запуска-

емую цАМФ. Данный же циклический нуклеотид образуется при расщеплении АТФ, катализируемом аденилатциклазой. При обострении герпетической инфекции нами было выявлено снижение активности аденилатциклазы [3], которое способствовало потере адекватного контроля процесса стероидогенеза.

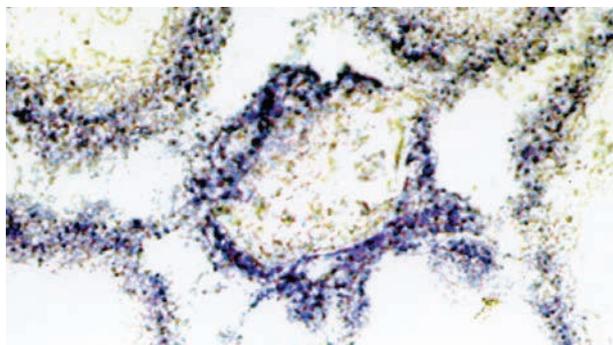


Рис. 1. Синцитиотрофобласт ворсинок хориона, женщин контрольной группы. Интенсивная гистохимическая реакция на 17β-гидроксистероиддегидрогеназу I типа. Реакция по З. Лойда. Увеличение 10×40.

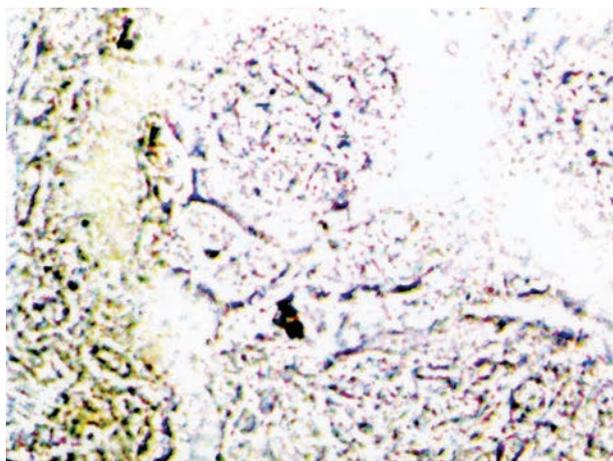


Рис. 2. Синцитиотрофобласт ворсинок хориона, женщин, перенесшей в обострение герпетической инфекции (титр антител класса IgG – 1:12800). Гистохимическая реакция на 17β-гидроксистероиддегидрогеназу I типа резко ослаблена. Реакция по З. Лойда. Увеличение 10×40.

Возникает вопрос, каковы будут последствия данных нарушений. Для того, чтобы оценить их, мы провели анализ изменений концентрации эстрогеновых гормонов при обострении герпетической инфекции во время беременности. Основным эстрогеном фетоплацентарного комплекса является эстриол. Уровень его в крови при беременности возрастает в 5–10 раз по сравнению с небеременными, что стимулирует рост матки. Эстриол, нейтрализуя действие эстрона и эстрадиола, снижает сократительную способность матки. Он же и является наиболее активным протектором роста матки [4, 9].

Концентрация эстриола в гомогенате ворсинчатых хорионов контрольной группы беременных возрастала в течение I триместра (с 5-й по 10-ю неделю). При обострении герпетической инфекции во время беременности содержание женских половых гормонов в гомогенате ворсинчатого хориона значительно уменьшилось (табл.).

Другим важнейшим эстрогеном при беременности является эстрадиол. Это второй вместе с прогестероном гормон, отвечающий за вынашивание плода. Он обеспечивает рост и развитие матки на протяжении всего срока, регулирует состояние сосудов матки и обеспечивает нормальное в них кровообращение. Вместе с тем эстрадиол повышает свертываемость крови, что необходимо для родов. В контрольной группе концентрация данного стероидного гормона увеличивалась по мере роста срока развития. Мы проследили динамику нарушений эстрадиола в гомогенате ворсинчатых хорионов при обострении герпетической инфекции (табл. 1). Его количество достоверно снизилось по сравнению с показателями при физиологической беременности.

Таким образом, мы выявили, что содержание эстрогенов значительно уменьшилось, что является собой серьезную опасность. Достаточный уровень гормонов необходим для сохранения гестации. В случае его падения, особенно в первом триместре, создаются предпосылки для развития фетоплацентарной недостаточности и преждевременного прерывания беременности.

Таблица 1
Содержание эстриола и эстрадиола в гомогенате плаценты при обострении герпетической инфекции (повышение титра антител класса IgG до 1:12800)

Течение беременности		Эстриол (нмоль/л)	Эстрадиол (пмоль/л)
Сроки гестации	Группа исследования		
Ворсинчатый хорион (5–6 недель)	контрольная группа	31,2 ± 0,95	21811,0 ± 129,54
	обострение герпеса	3,9 ± 0,91 <i>p</i> < 0,001	11145,3 ± 231,01 <i>p</i> < 0,001
Ворсинчатый хорион (7–8 недель)	контрольная группа	52,3 ± 1,15	24181,3 ± 134,45
	обострение герпеса	14,6 ± 1,19 <i>p</i> < 0,01	13415,8 ± 148,33 <i>p</i> < 0,001
Ворсинчатый хорион (9–10 недель)	контрольная группа	69,1 ± 3,48	26002,2 ± 102,37
	обострение герпеса	20,9 ± 2,12 <i>p</i> < 0,001	15567,2 ± 106,67 <i>p</i> < 0,001

Примечание: *p* – достоверность различий по сравнению с контрольной группой.

ВЫВОДЫ

1. Обострение герпетической инфекции существенно снижало содержание эстрогенов в плаценте на ранних сроках гестации.

2. Выявленное изменение является закономерным результатом, во-первых, нарастающего недостатка базисного стероида — холестерина, а во-вторых, нарушения самого процесса синтеза стероидных гормонов (низкой активностью фермента — 17β-гидроксистероиддегидрогеназы в плаценте).

ЛИТЕРАТУРА

1. Баграмян Э.Р. О гормональной регуляции гестационного процесса // Акушерство и гинекология. — 1984. — № 4. — С. 8–12.

2. Довжикова И.В. Гистохимическая характеристика этапов синтеза холестерина в плаценте беременных, перенесших обострение герпес-вирусной инфекции // Бюллетень физиологии и патологии дыхания СО РАМН. — 2008. — Вып. 28. — С. 17–20.

3. Довжикова И.В., Луценко М.Т. Изменение интенсивности работы вторичных мессенджеров и процессов гормонообразования в плаценте при беременности, осложненной герпес-вирусной инфекцией // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. — 2009. — № 14. — С. 74–76.

4. Подтетенев А.Д., Братчикова Т.В., Орлов Е.Н. Стероидные гормоны и их роль в течение беременности. — М.: «ВДВ Подмосковье», 2000. — 222 с.

5. Шмагель К.В., Черешнев В.А. Стероидные гормоны: физиологическая роль и диагностическое значение в период беременности // Успехи физиологических наук. — 2004. — Т. 35, № 3. — С. 61–71.

6. Belcher S.M., Zsarnovszky A. Estrogenic actions in the brain: Estrogen, phytoestrogens and rapid intracellular signaling mechanisms // J. Pharmacol. and Exp. Ther. — 2001. — Vol. 299, N 2. — P. 408–414.

7. Li Y., Isomaa V., Pulkka A. et al. Expression of 3β-hydroxysteroid dehydrogenase type 1, P450 aromatase, and 17β-hydroxysteroid dehydrogenase types 1, 2, 5 and 7 mRNAs in human early and mid-gestation placentas // Placenta. — 2004. — Vol. 26, Is. 5. — P. 387–392.

8. Murphy V.E., Smith R., Giles W.B. Endocrine Regulation of Human Fetal Growth: The Role of the Mother, Placenta, and Fetus // Endocr. Rev. — 2006. — Vol. 27, N 2. — P. 141–169.

9. Reves-Romero M.A. The physiological role of estriol during human fetal development is to act as antioxidant at lipophilic milieu of the central nervous system // Medical Hypotheses. — 2001. — Vol. 56, Is. 1. — P. 107–109.

Сведения об авторах

Довжикова Инна Викторовна — доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при НЗЛ ФГБУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» СО РАМН (675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22; тел.: 8 (4162) 33-12-27; e-mail: dov_kova100@rambler.ru)

Луценко Михаил Тимофеевич — академик РАМН, доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории (675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22; e-mail: Lucenkomt@mail.ru)

Андриевская Ирина Анатольевна — доктор биологических наук, старший научный сотрудник (675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22; e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru)