

УДК 571.27:618.2-07

ВЛИЯНИЕ АНТИТЕЛ К НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫМ КСЕНО- И ЭНДОБИОТИКАМ НА СОДЕРЖАНИЕ ЭСТРАДИОЛА И ПРОГЕСТЕРОНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН

© 2014 А.Н. Глушков¹, К.С. Красильникова¹, Е.Г. Поленок¹, М.В. Костянко²

¹ Институт экологии человека СО РАН, г. Кемерово

² Кемеровский государственный университет

Поступила в редакцию 30.09.2014

Изучены специфические иммунные реакции на низкомолекулярные тератогены окружающей среды и стероидные гормоны при физиологическом течении беременности. Содержание стероидных гормонов в сыворотке крови соответствовало нормам II триместра беременности. Был выявлен неодинаковый характер распределения высоких и низких концентраций эстрадиола и прогестерона в зависимости от уровня антител к ним. При повышении уровней антител увеличивается концентрация эстрадиола и снижается концентрация прогестерона в сыворотке. Выявлено, что влияние антител к бенз(а)пирену на содержание стероидных гормонов опосредовано взаимосвязью иммунных реакций на низкомолекулярные ксено- и эндобактерии схожей химической структуры.

Ключевые слова: антитела, бенз(а)пирен, эстрадиол, прогестерон, беременность

Проблемы иммунологии беременности остаются актуальными в связи с широким распространением врождённых пороков развития плода, привычного невынашивания беременности и других патологических состояний у женщин [1]. Особый интерес представляют специфические иммунные реакции на половые гормоны. В многочисленных экспериментах показано существенное влияние активной и пассивной иммунизации различных видов животных против эстрадиола (ЭС) и прогестерона (ПГ) не только на содержание этих, но и других гормонов в сыворотке крови, яичниках и матке (лютеинизирующего, фолликулостимулирующего, гонадотропина и др.), а также на саму беременность [2-9]. Лишь в одиночных клинических исследованиях показана роль антител (АТ) против стероидных гормонов у женщин при беременности [10-12]. Предполагается, что образование АТ к эндогенным стероидам взаимосвязано со специфическими иммунными реакциями на низкомолекулярные генотоксиканты окружающей среды [13]. Выявлены особенности образования АТ

против бенз(а)пирена (БП), ЭС и ПГ у женщин с привычным невынашиванием беременности и врождёнными пороками развития плода [14-17]. Обнаружены взаимосвязи между АТ к БП и АТ к ЭС и ПГ у беременных женщин [18]. Однако до сих пор не исследовано влияние АТ к экзогенным генотоксикантам (химическим канцерогенам / тератогенам) и эндогенным стероидам на содержание половых гормонов у человека.

Цель исследования: выявить возможные взаимосвязи между уровнями АТ к БП, ЭС и ПГ с количеством эстрадиола и прогестерона в сыворотке крови беременных женщин.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили 103 образца сывороток крови женщин на 13-27 неделях беременности (II триместр). По результатам УЗИ все женщины являлись условно здоровыми, не имели каких-либо патологий беременности. Средний возраст – 28,5(±4,3) лет. УЗИ (скрининговое при сроке 10-13 и 20-24 недель) проводилось на базах лечебно-профилактических учреждений II и III типов: Городская клиническая больница №1 г. Кемерово, Городского и Областного перинатальных центров г. Кемерово. АТ к БП, ЭС и ПГ определяли методом неконкурентного ИФА в собственной модификации с использованием конъюгатов БП, ЭС и ПГ с бычьим сывороточным альбумином (БСА) [19]. Уровень АТ, специфичных к Бп и стероидным гормонам, определяли по формуле:

Глушков Андрей Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, директор. E-mail: ihe@list.ru
Красильникова Ксения Сергеевна, научный сотрудник лаборатории иммунохимии

Поленок Елена Геннадьевна, кандидат фармацевтических наук, заведующая лабораторией иммунохимии

Костянко Михаил Владимирович, ассистент кафедры органической химии

$$AT-X = (OD_{X-БСА} - OD_{БСА}) / OD_{БСА},$$

где OD – значение оптической плотности в соответствующих лунках, X- БП, ЭС или ПГ.

Определение концентрации ЭС и ПГ в сыворотках крови проводилось при помощи коммерческих наборов ИФА («Иммунотех», г. Москва) согласно инструкции по применению. Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета прикладных программ Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение. Содержание ЭС (Me=3,87 нмоль/л) и ПГ (Me=119,07 нмоль/л) в исследуемых образцах соответствовало нормальным показателям для второго триместра беременности. Медиана соотношения ПГ/ЭС составила 22,18. Расчёт количества случаев с повышенным (>Me) или пониженным (≤Me) содержанием гормонов в сыворотке крови у женщин с высокими (>2) или низкими (≤2) уровнями АТ к ЭС, ПГ и БП показал следующее (табл. 1).

Таблица 1. Распределение случаев с повышенным (>Me) и пониженным (≤Me) содержанием ЭС и ПГ, а также соотношения ПГ/ЭС у беременных женщин с высокими (>2) и низкими (≤2) уровнями антител к ЭС, ПГ и БП

Гормоны Антитела	Эстрадиол (нмоль/л)		Прогестерон (нмоль/л)		Прогестерон / Эстрадиол	
	>3,87 N (%)	≤3,87 N (%)	>119,07 N (%)	≤119,07 N (%)	>22,18 N (%)	≤22,18 N (%)
IgG-Эс >2	35 (36,8)	12 (12,6)	12 (11,6)	36 (34,9)	12 (12,6)	35 (36,8)
IgG-Эс ≤2	13 (13,7)	35 (63)	39 (37,8)	16 (15,7)	36 (37,5)	12 (12,7)
	X ² =19,48; p=0,00001		X ² =19,81; p=0,00001		X ² =21,31; p=0,00001	
IgG-Пг >2	14 (14,7)	5 (5,3)	4 (3,9)	16 (15,5)	4 (4,2)	15 (15,8)
IgG-Пг ≤2	34 (35,8)	42 (44,8)	47 (45,6)	36 (35)	44 (46,3)	32 (33,7)
	X ² =4,0; p=0,045		X ² =7,25; p=0,0071		X ² =6,85; p=0,0089	
IgG-Бп >2	31 (32,6)	13 (13,7)	15 (14,6)	31 (30,1)	13 (13,7)	31 (32,6)
IgG-Бп ≤2	17 (17,9)	34 (35,8)	36 (35)	21 (20,3)	35 (36,8)	16 (16,9)
	X ² =11,58; p=0,0007		X ² =8,32; p=0,0039		X ² =12,91; p=0,0003	

При высоких уровнях АТ ко всем трём соединениям (>2) число случаев с повышенным (>Me) содержанием ЭС значительно больше, чем с пониженным (≤Me). Если уровни АТ низкие (≤2), число случаев с повышенным содержанием Эс меньше, чем с пониженным. Обратная ситуация обнаружена при анализе ПГ. Высоким уровням АТ к ЭС, ПГ и БП соответствовало большее, а с низкими уровнями АТ – меньшее число случаев с пониженным количеством ПГ в сыворотках крови. Соответственно, высокие значения соотношения ПГ/ЭС ассоциированы с

низкими уровнями АТ и наоборот, при высоких уровнях АТ чаще встречаются низкие значения соотношений ПГ/ЭС.

Все выявленные особенности содержания гормонов в сыворотке крови беременных женщин статистически достоверны. Это послужило основанием для проведения корреляционного анализа между эндокринологическими и иммунологическими показателями. В табл.2 приведены рассчитанные коэффициенты корреляции и уравнения регрессии, описывающие взаимосвязи между ними.

Таблица 2. Взаимосвязь между содержанием ЭС и ПГ (y) и уровнями антител к ЭС, ПГ и БП (x) в сыворотке крови беременных женщин

y x	Эстрадиол (нмоль/л)		Прогестерон (нмоль/л)		Прогестерон/Эстрадиол	
	R (p)	y=b+a×ln(x)	R (p)	y=b+a×ln(x)	R (p)	y=b+a×ln(x)
IgG-ЭС	0,32 (0,001)	y=5,9-0,5ln(x)	-0,39 (0,00003)	y=143,1-15,2ln(x)	-0,37 (0,0001)	y=93,7-29,9ln(x)
IgG-ПГ	0,3 (0,003)	y=6,4+1,5ln(x)	-0,28 (0,004)	y=136,2-9,6ln(x)	-0,34 (0,0007)	y=76,6-37,6ln(x)
IgG-БП	0,31 (0,002)	y=5,8+0,7ln(x)	-0,35 (0,0002)	y=147,7-20,6ln(x)	-0,35 (0,0004)	y=102,6-40,4ln(x)

Обнаружили статистически достоверные корреляционные связи между содержанием ЭС и ПГ с одной стороны, и уровнями АТ к ЭС, ПГ и БП с другой. Однако с повышением уровней АТ количество ЭС в сыворотке крови повышается, а ПГ понижается, о чём говорят положительные и отрицательные значения коэффициентов корреляции. Соответственно, с повышением уровней АТ снижается значение соотношения ПГ/ЭС. Выявленные взаимосвязи описываются уравнениями нелинейной полулогарифмической

регрессии. Это означает, что повышение уровней АТ до 2-3 сопровождается значительным ростом содержания ЭС и снижением ПГ. При дальнейшем повышении уровней АТ рост ЭС и снижение ПГ существенно замедляется и почти выходит на изолинию. Наглядная демонстрация выявленных взаимосвязей представлена на рис. 1 и 2. Аналогичным образом при повышении уровней исследуемых АТ происходит снижение соотношения ПГ/ЭС более, чем в 10 раз (рис. 3).

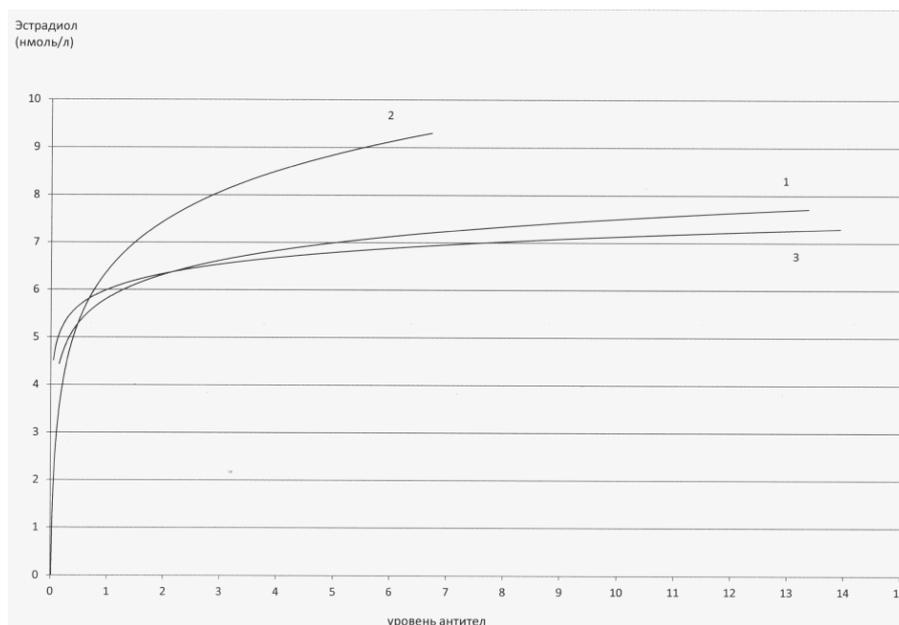


Рис. 1. Зависимость концентрации ЭС (y) от уровней АТ к ЭС (1), ПГ (2) и БП (3) в сыворотке крови при физиологической беременности

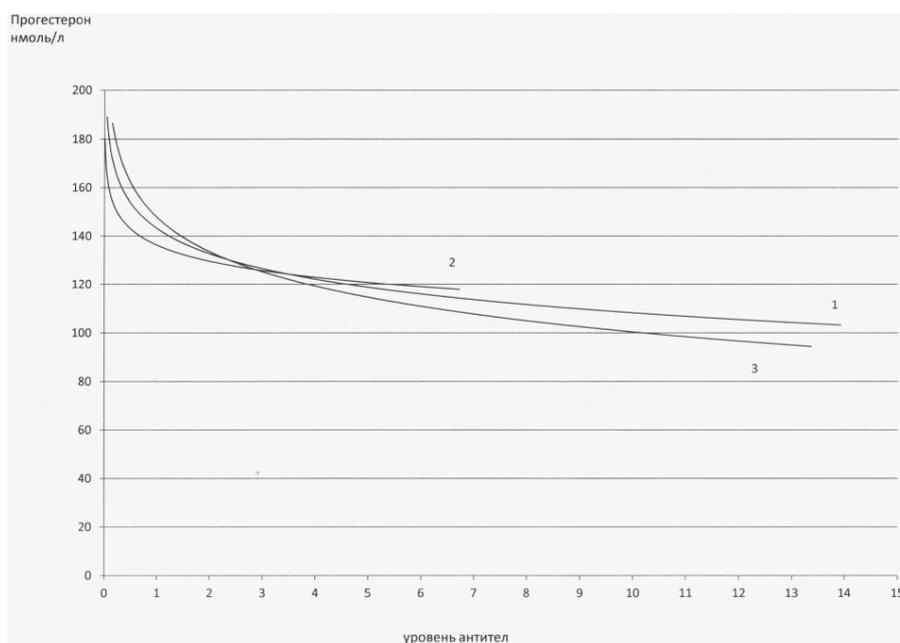


Рис. 2. Зависимость концентрации ПГ (y) от уровней АТ к ЭС (1), ПГ (2) и БП (3) в сыворотке крови при физиологической беременности

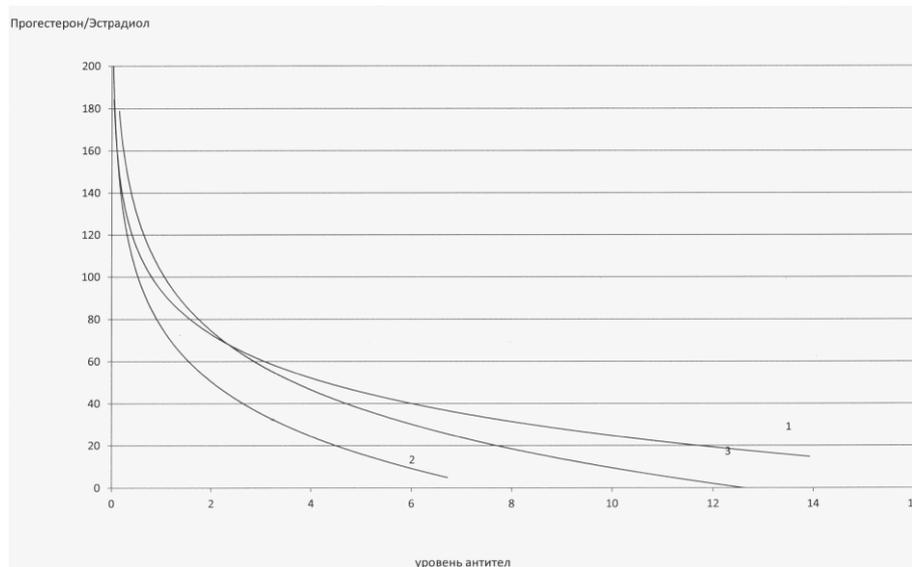


Рис. 3. Зависимость соотношения концентраций ПГ/ЭС (y) от уровней АТ к ЭС (1), ПГ (2) и БП (3) в сыворотке крови при физиологической беременности

Экспериментально доказано, что иммунизация животных конъюгатами ЭС и ПГ с белками приводит к появлению соответствующих специфических АТ и к повышению количества этих гормонов в сыворотке крови [3-7]. В настоящей работе обнаружено, что в естественных условиях у беременных женщин повышение уровней АТ к ЭС и к ПГ сопровождается увеличением количества только ЭС. Содержание ПГ при этом снижается. Вместе с тем, заметные изменения содержания ЭС и ПГ имеют место при повышении уровня АТ до 2-3. При дальнейшем повышении уровней АТ изменения количества ЭС и ПГ не столь значительны. Очевидно, функция АТ к ЭС и ПГ состоит в поддержании количества этих гормонов и их соотношения на определенном физиологическом уровне.

Выводы: нами впервые выявлено участие АТ против низкомолекулярного ксенобиотика тератогенного действия в процессах гормональной регуляции беременности. По-видимому, влияние АТ к БП на содержание ЭС и ПГ опосредовано взаимосвязью механизмов иммунных реакций на низкомолекулярные ксено- и эндобиотики схожей химической структуры, основой которых являются схожие биохимические процессы их метаболизма [20, 21]. Это подтверждается ранее обнаруженными взаимосвязями образования АТ к БП с АТ к ЭС и ПГ у человека, в том числе, при беременности у женщин [22]. Для дальнейшего раскрытия роли АТ к канцерогенам-тератогенам окружающей среды и эндогенным стероидам в эндокринном гомеостазе целесообразно исследовать их взаимосвязи при гормонально зависимых заболеваниях, в том числе при врождённых пороках развития плода и привычном невынашивании беременности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Сухих, Г.Т. Иммунология беременности / Г.Т. Сухих, Л.В. Ванько. – М.: ПАМН, 2003. 400 с.
2. Pathiraja, N. Concentration of gonadotrophins in the plasma of sheep given gonadal steroid antisera to raise ovulation rate / N. Pathiraja, W.R. Carr, Marjorie Fordyce et al. // Journals of Reproduction and Fertility. 1984. №72. P. 93-100.
3. Schwartz, U. A comparison of the effects of active immunization of female rhesus monkeys to estradiol-17 or progesterone-20-protein conjugates / U. Schwartz, I. Dyrenfurth, S. Khalaf et al. // Journal of Steroid Biochemistry. 1975. V.6. № 3-4. P. 541-545
4. Kanshansky, A. Endocrine and reproductive repercussion of immunization against progesterone and oestradiol in female rats / A. Kanshansky, S. Bauminger, Y. Koch, H.R. Lindner // Acta Endocrinol. 1977. №84(4). P. 795-803.
5. Elsaesser, F. Effects of active immunization against oestradiol-17 beta, testosterone or progesterone on receptivity in the female rabbit and evaluation of specificity // Journal reproduction fertility. 1980. №58(1). P. 213-218.
6. Hillier, S.G. Effects of active immunization against steroids upon circulating hormone concentrations / S.G. Hillier, G.V. Groom, A.R. Boyns, E.H.D. Cameron // Journal of Steroid Biochemistry. 1975. V.6. P. 529-535.
7. Rosenberg, M. The effects of active immunization against progesterone on plasma concentrations of total and free progesterone, estradiol-17beta and LH in the cyclic ewe / M. Rosenberg, D. Amir, Y. Folman // Theriogenology. 1987. №28(4). P. 417-426.
8. Wang, M.W. Abnormal maternal behavior in mice previously immunized against progesterone / M.W. Wang, R.B. Heap, M.J. Taussing // The Journal of endocrinology. 1992. №134(2). P. 257-267.
9. Nowak, R.A. Effect of passive immunization against progesterone on its distribution in circulation and tissues of mice / R.A. Nowak, M.-W. Wang, M.H. Hamon et al. // Journal of Reproduction and Fertility. 1990. №89. P. 671-679.

10. *Гладкова, К.А.* Роль сенсibilизации к прогестерону в клинике привычного невынашивания беременности / *К.А. Гладкова, И.В. Менжинская, Г.Т. Сухих, В.М. Сидельникова* // Проблемы репродукции. 2007. №6. С. 95-98.
11. *Менжинская, И.В.* Антипрогестероновые антитела в клинике первичной потери беременности / *И.В. Менжинская, К.А. Гладкова, В.М. Сидельникова, Г.Т. Сухих* // Иммунология. 2008. №1. С. 34-37.
12. *Itsekson, A.M.* Recurrent pregnancy loss inappropriate local immune response to sex hormones / *A.M. Itsekson, D.S. Seadman, M. Zolti, H.J. Carp* // Am. J. Reprod. Immunol. 2007. №57(2). P. 160-165.
13. *Glushkov, A.N.* Immunological mechanisms of adaptation to the low-weight chemical compounds on ontogenesis // Medical Hypotheses. 2003. №61(3). P. 405-411.
14. *Поленок, Е.Г.* Антитела к ксено- и эндобиотикам у женщин с привычным невынашиванием беременности / *Е.Г. Поленок, К.С. Красильникова, Т.П. Аносова* и др. // Известия Самарского научного центра РАН. 2009. Т. 11. №5(2). С. 475-477.
15. *Красильникова, К.С.* Ассоциации иммунного ответа на ксено- и эндобиотики и полиморфизма генов ферментов их биотрансформации с возникновением врождённых пороков развития плода / *К.С. Красильникова, Е.Г. Поленок, Т.П. Аносова* и др. // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2012. №3(85). Часть 2. С. 96-99.
16. *Глушков, А.Н.* Антитела к бензо[а]пирену, эстрадиолу и прогестерону и генетический полиморфизм CYP1A2*1F, GSTT1и GSTM1 у беременных женщин с врождёнными пороками развития плода / *А.Н. Глушков, К.С. Красильникова, Е.Г. Поленок* и др. // Российский иммунологический журнал. 2012. Т.6(15). №2. С. 162-169.
17. *Красильникова, К.С.* Особенности образования антител к ксено- и эндобиотикам у женщин с врождёнными пороками развития плода / *К.С. Красильникова, Е.Г. Поленок, Т.П. Аносова* и др. // Клиническая лабораторная диагностика. 2012. №4. С.24-25.
18. *Глушков, А.Н.* Взаимосвязи специфических иммунных реакций на химические канцерогены и стероидные гормоны у беременных женщин / *А.Н. Глушков, К.С. Красильникова, Е.Г. Поленок, Л.А. Гордеева* // Российский иммунологический журнал. 2014. (в печати)
19. *Глушков, А.Н.* Сывороточные антитела к бензо[а]пирену и хромосомные aberrации в лимфоцитах периферической крови у рабочих углеперерабатывающего предприятия / *А.Н. Глушков, Е.Г. Поленок, Т.П. Аносова* и др. // Российский иммунологический журнал. 2011. №5(14). Т. 1. С. 39-44.
20. *Глушков, А.Н.* Клиническая иммунохимия канцерогенеза: новые задачи и перспективы // Российский иммунологический журнал. 2013. Т. 7(16). С. 27-34.
21. *Ковалёв, И.Е.* Биохимические основы иммунитета к низкомолекулярным соединениям / *И.Е. Ковалёв, О.Ю. Полевая*. – М.: Наука, 1985. 304 с.
22. *Глушков, А.Н.* Изотипические особенности образования антител к химическим канцерогенам и стероидным гормонам у беременных женщин с врождёнными пороками развития плода / *А.Н. Глушков, К.С. Красильникова, Е.Г. Поленок, Л.А. Гордеева* // Фундаментальные исследования. 2014. №8. С. 1581-1585.

INFLUENCE OF ANTIBODIES TO LOW-MOLECULAR XENO- AND ENDOBIOTICS ON ESTRADIOL AND PROGESTERONE MAINTENANCE IN BLOOD SERUM OF PREGNANT WOMEN

© 2014 A.N. Glushkov¹, K.S. Krasilnikova¹, E.G. Polenok¹, M.V. Kostyanko²

¹Institute of Human Ecology SB RAS, Kemerovo

²Kemerovo State University

Specific immune reactions to low-molecular teratogens of environment and steroid hormones at the physiological course of pregnancy are studied. The maintenance of steroid hormones in blood serum met standards of the II trimester of pregnancy. Unequal nature of distribution of high and low concentration of estradiol and progesterone depending on the level of antibodies to them was revealed. At increase the levels of antibodies concentration of estradiol increases and concentration of progesterone in serum decreases. It is revealed that influence of antibodies to benzo(a)pyrene on the maintenance of steroid hormones is mediated by interrelation of immune reactions to low-molecular xeno-and endobiotics of similar chemical structure.

Key words: *antibodies, benzo(a)pyrene, estradiol, progesterone, pregnancy*

Andrey Glushkov, Doctor of Medicine, Professor, Director. E-mail: ihe@list.ru

Kseniya Krasilnikova, Research Fellow at the Immunochemistry Laboratory

Elena Polenok, Candidate of Pharmacy, Chief of the Immunochemistry Laboratory

Mikhail Kostyanko, Assistant at the Organic Chemistry Department