

## БИОХИМИЯ BIOCHEMISTRY

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.2.2

### Взаимосвязь окислительного стресса, дисбаланса жирных кислот в реализации апоптоза в плаценте при цитомегаловирусной инфекции в первом триместре

Ишутина Н.А., Андриевская И.А., Довжикова И.В., Дорофиенко Н.Н., Гориков И.Н.

ФГБНУ «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

#### Резюме

**Обоснование.** Обострение цитомегаловирусной инфекции в период беременности сопровождается манифестацией признаков окислительного стресса как в периферической крови матери, так и в тканях плаценты. Одним из последствий окислительного стресса является нарушение метаболизма жирных кислот, которое приводит к инициации апоптотического каскада, гибели клеток трофобласта и, как следствие, к дисфункции ткани, или органа, приводящей к развитию патологического состояния. Однако анализ современной литературы свидетельствует о недостаточности сведений по данной проблеме в ворсинчатом хорионе плаценты при цитомегаловирусной инфекции.

**Цель исследования:** изучить взаимосвязь развития окислительного стресса, дисбаланса жирных кислот в реализации апоптоза клеток трофобласта при обострении цитомегаловирусной инфекции в первом триместре.

**Методы.** Обследовано 35 беременных женщин с обострением цитомегаловирусной инфекции на сроке 9–11 недель беременности и 30 беременных без таковой патологии, сопоставимые по возрасту и сроку. Материалом для исследования явились периферическая кровь, моча, гомогенат ворсинчатого хориона плаценты. Изучалось: содержание фосфолипазы A2, уровень антител IgM и G к цитомегаловирусу, низкоавидных антител IgG к цитомегаловирусу (индекс авидности) – иммуноферментным методом анализа; содержание жирных кислот – методом газовой хроматографии; гидроперекиси липидов и каталаза – гистохимическим методом; апоптоз клеток трофобласта – иммуногистохимическим методом.

**Результаты.** Обострение цитомегаловирусной инфекции в первом триместре беременности приводило к увеличению содержания в ворсинчатом хорионе фосфолипазы A2 в 2,5 раза ( $p < 0,001$ ), арахидоновой кислоты – в 1,5 раза ( $p < 0,001$ ), пальмитиновой кислоты – в 1,3 раза ( $p < 0,001$ ), на гистологических срезах – интенсивности реакции на гидроперекиси липидов, числа клеток трофобласта в апоптозе в 4,7 раза ( $p < 0,001$ ), а также к уменьшению цитофотометрических показателей каталазы в 1,44 раза ( $p < 0,001$ ).

**Заключение.** В результате проведенного исследования установлены цитомегаловирус-зависимая индукция окислительного стресса и дисбаланс жирных кислот, запускающих апоптоз клеток трофобласта. Увеличение апоптоза иницирует воспаление и деструктивные процессы в ранней плаценте.

**Ключевые слова:** окислительный стресс, жирные кислоты, апоптоз, плацента, цитомегаловирусная инфекция

**Для цитирования:** Ишутина Н.А., Андриевская И.А., Довжикова И.В., Дорофиенко Н.Н., Гориков И.Н. Взаимосвязь окислительного стресса, дисбаланса жирных кислот в реализации апоптоза в плаценте при цитомегаловирусной инфекции в первом триместре. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(2): 18-24. doi: 10.29413/ABS.2019-4.2.2

### Effect of Oxidative Stress and Fatty Acids Disbalance on the Development of Apoptosis in the Placenta with Cytomegalovirus Infection in the First Trimester

Ishutina N.A., Andrievskaya I.A., Dovzhikova I.V., Dorofienko N.N., Gorikov N.N.

Far Eastern Scientific Centre of Physiology and Pathology of Respiration (ul. Kalinina 22, Blagoveshchensk 675000, Russian Federation)

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

#### Abstract

**Background.** Reactivation of cytomegalovirus infection (CMV) during pregnancy is associated with manifestation of oxidative stress, both in the maternal peripheral blood and in the placental tissues. One of the effects of oxidative stress is a disturbance of the metabolism of fatty acids, which leads to the initiation of the apoptotic cascade, the death of trophoblast cells and, as a result, tissue or organ dysfunction, promoting to the development of a pathological condition.

However, an analysis of the current literature indicates insufficient information on this problem in the villous chorion of the placenta in CMV infection.

**Aims.** To study the relationship between the oxidative stress development and fatty acid imbalance in apoptosis of trophoblast cells during reactivation of CMV in the first trimester.

**Material and methods.** We examined peripheral blood, urine, a homogenate of the villous chorions from 35 pregnant women with CMV reactivation within 9–11 weeks of pregnancy and from 30 pregnant women without CMV of the same gestation period. We studied levels of IgM and IgG for cytomegalovirus, low-avid IgG antibodies to cytomegalovirus (avidity index), phospholipase A2 content, fatty acid content, number of apoptotic trophoblast cells, fatty acid peroxide content and catalase activity. Sampling and analysis of material from pregnant women was conducted in 2016–2018.

**Results.** The reactivation of CMV in the first trimester of pregnancy led to an increase content in the phospholipase A2 in villous chorion by 2.5 times, by 1.5 times of fatty acid peroxides, 1.5 times arachidonic acid, palmitic acid by 1.3 times, number of trophoblast cells in a state of apoptosis by 4.7 times and decrease catalase activity by 1.44 times.

**Conclusion.** As a result of the study, cytomegalovirus-dependent induction of oxidative stress and imbalance of fatty acids triggering apoptosis of trophoblast cells was identified. Increased apoptosis initiates inflammation and destructive processes in the early placenta.

**Key words:** oxidative stress, fatty acids, apoptosis, placenta, cytomegalovirus infection

**For citation:** Ishutina N.A., Andrievskaya I.A., Dovzhikova I.V., Dorofienko N.N., Gorikov N.N. Effect of Oxidative Stress and Fatty Acids Disbalance on the Development of Apoptosis in the Placenta with Cytomegalovirus Infection in the First Trimester. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(2): 18-24. doi: 10.29413/ABS.2019-4.2.2

## ОБОСНОВАНИЕ

В настоящее время установлено, что неотъемлемым звеном патогенетической цепи развития многочисленных осложнений беременности является окислительный стресс [1]. Беременность сама по себе ассоциирована с окислительным стрессом и даже при её физиологическом течении повышает нагрузку на антиоксидантные системы. При нормальном течении беременности сохраняется равновесие между окислительной агрессией и антиоксидантной защитой (АОЗ) [2]. Дезадаптация антиоксидантных ресурсов с дисбалансом между прооксидантами и антиоксидантами наблюдается при беременности, осложнённой цитомегаловирусной (ЦМВ) инфекцией [3]. Кроме того, окислительный стресс может быть причиной возникновения апоптоза в различных тканях, в том числе клеток трофобласта [4]. При этом клетки, имеющие дефекты АОЗ, наиболее чувствительны к воздействиям, вызывающим их запрограммированную гибель [5]. Показано, что жирные кислоты могут выступать как индукторами апоптоза, в случае высокого содержания во внеклеточном пространстве [6], так и ингибировать данный процесс в плаценте [7]. При исследовании зрелых плацент женщин с ЦМВ-инфекцией было установлено увеличение уровня апоптоза по сравнению с нормой на фоне изменения содержания пальмитиновой кислоты [8, 9]. Однако анализ современной литературы свидетельствует о недостаточности сведений по данной проблеме в ворсинчатом хорионе плаценты при ЦМВ-инфекции.

Таким образом, актуальным является исследование взаимосвязи развития оксидативного стресса, дисбаланса жирных кислот в реализации апоптоза клеток плаценты у беременных женщин с обострением ЦМВ-инфекции в первом триместре гестации.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить взаимосвязь развития окислительного стресса, дисбаланса жирных кислот в реализации апоптоза клеток трофобласта при обострении ЦМВ-инфекции в первом триместре.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Дизайн исследования

Проспективное исследование по типу случай-контроль.

## Критерии соответствия

Критериями включения в исследование явились лабораторно подтверждённое обострение ЦМВ-инфекции на сроке 9–11 недель беременности, стойкая клиническая ремиссия герпесвирусной инфекции.

Критерии исключения из исследования: первичная ЦМВ-инфекция, обострение других воспалительных заболеваний экстрагенитальной патологии, наличие инфекций, передающихся половым путём.

Клинический диагноз первичной ЦМВ-инфекции устанавливали по наличию в периферической крови антител IgM к ЦМВ, низкоавидных IgG (индекс авидности < 50 %), а также ДНК ЦМВ, выявляемой методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в крови или моче; обострение хронической ЦМВ-инфекции – по наличию IgM к ЦМВ, высокоавидных IgG (индекс авидности > 65 %), а также ДНК ЦМВ в соскобах с буккального эпителия и слизистой оболочки шейки матки.

## Условия проведения

Обследование беременных и набор материала проводилось на базе Государственного автономного учреждения здравоохранения Амурской области «Городская клиническая больница» (г. Благовещенск). Биохимические и гистохимические исследования были выполнены на базе лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях лёгких ДНЦ ФПД. Каких-либо специфических факторов, способных повлиять на внешнюю обобщаемость выводов, не выявлено.

## Продолжительность исследования

Обследование беременных женщин и набор материала проводились в период 2016–2018 гг.

## Описание медицинского вмешательства

Забор периферической крови осуществляли из локтевой вены утром натощак в стандартные вакуумные пробирки с коагулянтом и без него в количестве 5 мл.

Забор плацентарного материала для приготовления гомогената проводился в течение 10–15 минут после проведения медицинских аборт на сроке 9–11 недель беременности.

Для исследования использовали соскобы с буккального эпителия, содержимое цервикального канала, мочу.

**Исходы исследования****Основной исход исследования**

В результате обработки крови получены результаты исследования уровня антител IgM и G к ЦМВ, низкоавидных антител IgG к ЦМВ (индекс авидности).

При исследовании гомогената ворсинчатого хориона получены результаты содержания фосфолипазы A2; пальмитиновой и арахидоновой кислот, гидроперекисей липидов, каталазы, уровень апоптоза клеток трофобласта.

Кроме того, в результате обработки крови, мочи, соскобов с буккального эпителия и содержимого цервикального канала получены результаты на наличие ДНК ЦМВ.

**Дополнительных исходов исследования нет.****Методы регистрации исходов**

Антитела IgM и G к ЦМВ, низкоавидные IgG (индекс авидности) определялись методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов ЗАО «Вектор-Бест» (Россия). Измерение содержания фосфолипазы A2 с использованием наборов реактивов фирмы «Сауман chemical», (США). ДНК ЦМВ выявляли методом ПЦР-анализа в режиме реал-тайм на аппарате ДТ-96 с использованием наборов «НПО ДНК-технология» (Россия).

Выделение мононуклеарных клеток крови проводили с использованием раствора фиколл-урографина (плотность 1,077 г/мл) (ООО «НПО ДНК-технология», Россия) согласно рекомендациям фирмы-производителя. Полученные мононуклеарные клетки хранили в течение 1 месяца при температуре минус 20 °С.

Утренняя порция мочи собиралась в стерильный контейнер объемом 60 мл. Забор буккального эпителия и содержимого цервикального канала производили стерильным тупфером в стандартные пластиковые пробирки с физиологическим раствором объемом 0,5 мл.

Гидроперекиси липидов в ворсинчатом хорионе выявляли по методу Винклера – Шульца с использованием в качестве субстрата *p*-амино-*N,N*-диметилфенилендиамин на парафиновый срез после фиксации 4%-ным раствором параформальдегида на фосфатном буфере (рН 7,4) [10], каталазу – по Леггу и Вуду [11]. Гистологические препараты анализировали с помощью программы Scion (США) на цифровом микроскопе MEIJI (Япония).

Забор плацентарного материала для приготовления гомогената проводился в течение 10–15 минут после проведения медицинских аборт на сроке 9–11 недель беременности. Кусочки ткани помещали в 200 мл физиологического раствора, отмывали от клеток крови, перемешивая 15 мин на магнитной мешалке. Для получения экстрактов, отмые кусочки плаценты слегка подсушивали на фильтровальной бумаге, взвешивали, растирали пестиком в фарфоровой ступке и гомогенизировали до однородной 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 °С в течение суток. Затем гомогенат размораживали и центрифугировали при 4000 г при температуре +4 °С. Надосадочную жидкость разливали мелкими аликвотами и хранили при –20 °С.

Для приготовления криостатных срезов кусочки тканей ворсинчатого хориона замораживали и изготавляли на криостате.

Пальмитиновую и арахидоновую жирные кислоты изучали методом газожидкостной хроматографии по Carren [12]. Уровень апоптоза оценивали на гистологических препаратах по метке концов фрагментов ДНК по ISEL-методу (*in situ* end-labeling) в клетках трофобласта. Подсчёт проводили на 2000 ядер.

**Этическая экспертиза**

Получение информированного согласия на участие в проводимом исследовании являлось обязательной процедурой при включении пациентов в одну из групп исследования. Обследование проводили с учётом требований Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных исследований с участием человека» с поправками 2013 г. и правилам клинической практики в РФ, утверждёнными приказом Министерства РФ № 200н от 1 апреля 2016 года. Работа одобрена комитетом по биомедицинской этике при ДНЦ ФПД, протокол № 132 от 11.01.2019 г.

**Статистический анализ**

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программного пакета «Statistica 6.0» (США). Размер выборки предварительно не рассчитывался. Проверку гипотезы о соответствии совокупностей количественных признаков закону нормального распределения осуществляли с использованием критерия Шапиро – Уилка. В случае подчинения распределения признака закону нормального распределения данные представляли в виде средней величины (*M*) и стандартной ошибки (*m*). Для определения значимости различий использовался непарный параметрический критерий Стьюдента. Принимались во внимание  $p < 0,05$ ; 0,01; 0,001. В том случае, когда нулевая гипотеза о соответствии распределения признака закону нормального распределения отвергалась, использовались непараметрические критерии Колмагорова – Смирнова и Манна – Уитни.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ****Участники исследования**

Обследовано 35 беременных женщин с обострением ЦМВ-инфекции на сроке 9–11 недель беременности (средний возраст –  $25,2 \pm 0,21$  года) и беременные без таковой патологии на тех же сроках гестации ( $n = 30$ ), (возраст –  $24,8 \pm 0,30$  года, составившие группу контроля).

**Основные результаты исследования**

Общеизвестно, что окислительный стресс играет важную роль в развитии эмбриона, имплантации, процессах плацентации, развитии плода и родового акта. Ранее мы установили, что ЦМВ-инфекция ассоциирована с окислительным стрессом в период беременности [3]. Логично предположить, что в данных условиях будет наблюдаться активация процессов свободно-радикального окисления и липопероксидации в ранней плаценте, пролонгирующих окислительный стресс.

Триггерным компонентом окислительного стресса в клетках является увеличение фосфолипазной активности, вызывающей гидролиз фосфолипидов мембран и образование свободной арахидоновой кислоты – эндогенного активатора процессов липопероксидации. В ходе исследования в гомогенате ворсинчатого хориона установлено увеличение в основной группе содержания фосфолипазы A2 в 2,5 раза ( $p < 0,001$ ) и арахидоновой кислоты в 1,5 раза ( $p < 0,001$ ) по сравнению с контрольной группой (табл. 1).

Показатели содержания фосфолипазы A2, пальмитиновой и арахидоновой кислот, каталазы, число клеток трофобласта в апоптозе в основной и контрольной группах ( $M \pm m$ )

Таблица 1

The content of phospholipase A2, palmitic and arachidonic acids, catalase, the number of trophoblast cells in apoptosis in the main and control groups ( $M \pm m$ )

Table 1

Показатель	Контрольная группа ( $n = 30$ )	Основная группа ( $n = 35$ )
Фосфолипаза A2, нг/мл	$0,26 \pm 0,05$	$0,64 \pm 0,04; p < 0,001$
Арахидоновая кислота, %	$3,80 \pm 0,28$	$5,50 \pm 0,18; p < 0,001$
Пальмитиновая кислота, %	$26,3 \pm 0,30$	$34,50 \pm 0,46; p < 0,001$
Каталаза, усл. ед.	$35,8 \pm 2,12$	$24,9 \pm 2,01; p < 0,001$
Число клеток трофобласта в апоптозе	$1,5 \pm 0,09$	$7,0 \pm 0,002; p < 0,001$

Примечание.  $n$  – число наблюдений;  $p$  – статистическая значимость различий по сравнению с контрольной группой.

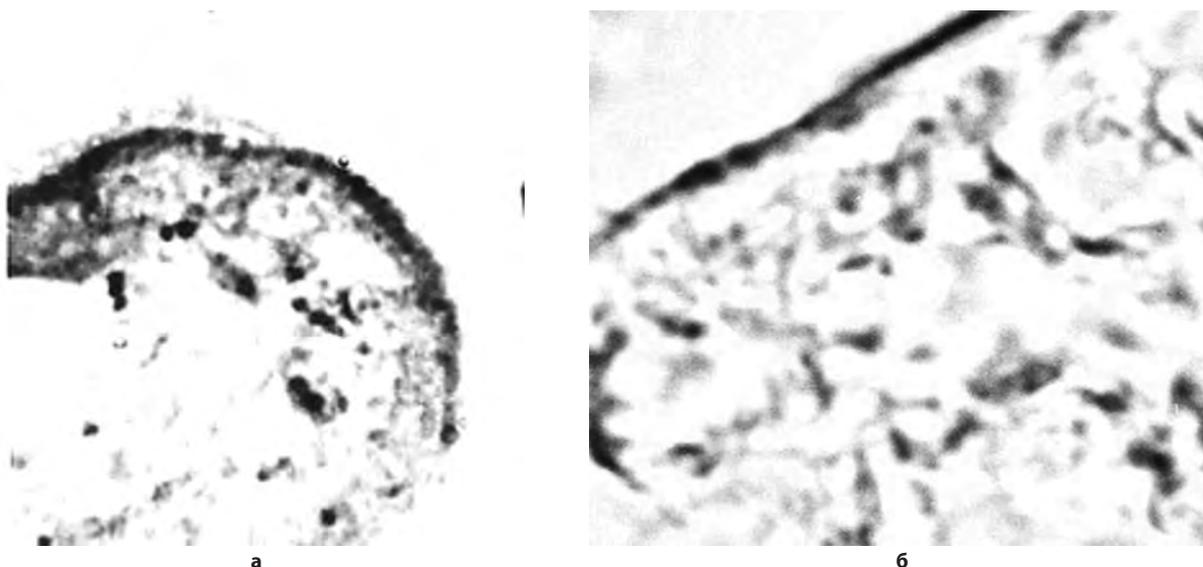


Рис. 1. Ворсинчатый хорион (9 недель беременности). Реакция по Винклеру – Шульце. Увеличение  $15 \times 20$ . **а** – обострение ЦМВ-инфекции на сроке беременности 7 недель, интенсивная реакция на гидроперекиси липидов; **б** – контрольная группа, реакция на гидроперекиси липидов выражена слабо.

Fig. 1. Villous chorion (9 weeks of pregnancy). Winkler – Schulz reaction. Magnification  $15 \times 20$ . **a** – exacerbation of CMV-infection at gestational age of 7 weeks, intensive reaction to lipid hydroperoxides; **b** – control group, the reaction to lipid hydroperoxides is weak.

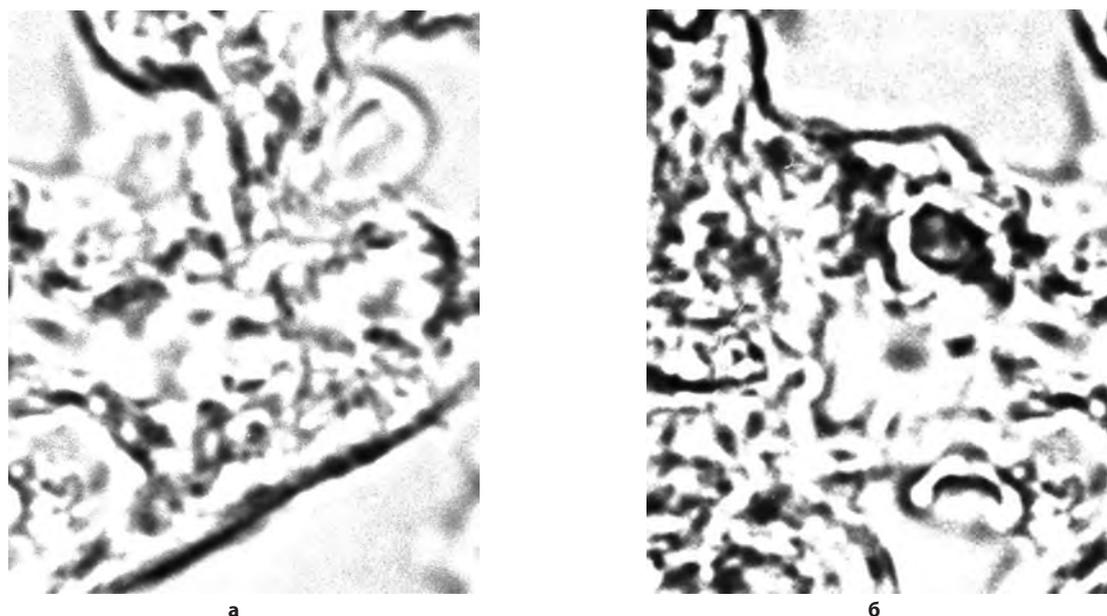


Рис. 2. Ворсинчатый хорион (9 недель беременности). Реакция по Леггу и Вуду. Увеличение  $15 \times 20$ . **а** – обострение ЦМВ-инфекции на сроке беременности 7 недель, гистохимическая реакция на каталазу; **б** – контрольная группа, гистохимическая реакция на каталазу.

Fig. 2. Villous chorion (9 weeks of pregnancy). Legg – Wood reaction. Magnification  $15 \times 20$ . **a** – exacerbation of CMV-infection at gestational age of 6 weeks, histochemical reaction to catalase; **b** – control group, histochemical reaction to catalase.

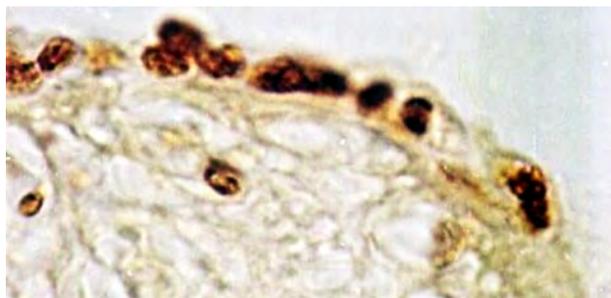
На гистологических препаратах ворсинчатого хориона основной группы выявлено увеличение интенсивности реакции на гидроперекиси липидов (рис. 1а), продукты которых преимущественно локализовались на наружной мембране трофобласта, по сравнению с контрольной группой (рис. 1б), что свидетельствовало об активации процессов липопероксидации и генерации активных форм кислорода, изменяющих мембранные свойства тканей плаценты.

На дисбаланс в системе ПОЛ–АОЗ в формируемой плаценте основной группы указывало уменьшение интенсивности гистохимической реакции на каталазу (рис. 2а) по сравнению с контрольной группой (рис. 2б). При расчёте цитофотометрических показателей уровень каталазы в основной группе был снижен в 1,44 раза ( $p < 0,001$ ) по сравнению с контрольной группой (табл. 1).

При исследовании содержания в гомогенате ворсинчатого хориона основной группы пальмитиновой кислоты, которая обладает высокой липотоксичностью и через промежуточные продукты поддерживает каскад окислительных реакций, выявлено увеличение её содержания в 1,3 раза ( $p < 0,001$ ) по сравнению с контрольной группой (табл. 1).

Следовательно, обострение ЦМВ-инфекции на сроке гестации 9–11 недель характеризуется нарушением баланса в плаценте системы ПОЛ–АОЗ и накоплением в клетках трофобласта эндогенных арахидоновой и пальмитиновой кислот, опосредующих сигналинг каспазного пути апоптоза.

Данный факт подтверждался иммуногистохимическим исследованием парафиновых срезов ворсинчатого хориона по ISEL-методу, в ходе которого в основной группе выявлялся высокий уровень апоптоза (рис. 3). При этом в большинстве случаев была отмечена конденсация хроматина в плотный, примыкающий к оболочке ядра полукруг. В отдельных наблюдениях отмечалась более выраженная конденсация хроматина, тем самым практически всё ядро окрашивалось продуктом гистохимической реакции.



**Рис. 3.** Ворсинчатый хорион (9 недель беременности). Обострение ЦМВ-инфекции на сроке беременности 7 недель. Клетки трофобласта находятся в состоянии апоптоза. Иммуногистохимическая реакция. Увеличение 40×100.

**Fig. 3.** Villous chorion (9 weeks of pregnancy). Exacerbation of CMV-infection at gestational age of 7 weeks. Trophoblast cells are in a state of apoptosis. Immunohistochemical reaction. Magnification 40×100.

Цитофотометрические показатели уровня апоптоза клеток трофобласта в основной группе превышали таковые значения в контрольной группе 4,7 раза ( $p < 0,001$ ) (табл. 1).

#### Нежелательные явления

В ходе проведения исследования какие-либо нежелательные явления отсутствовали.

## ОБСУЖДЕНИЕ

### Резюме основного результата исследования

В условиях обострения ЦМВ-инфекции на сроке 9–11 недель беременности окислительный стресс и дисбаланс жирных кислот в ранней плаценте инициируют апоптоз, воспаление и деструктивные процессы в плаценте.

### Обсуждение основного результата исследования

Развитие окислительного стресса в плаценте при обострении ЦМВ-инфекции на сроке гестации 9–11 недель беременности связано с усилением процессов липопероксидации, фосфолипазной активности и дефицитом антиокислительных ферментов, что проявляется увеличением содержания эндогенных арахидоновой и пальмитиновой кислот, усиливающих окислительный стресс и продукцию активных форм кислорода. Согласно исследованиям В.М. Прокопенко [13], увеличение содержания гидроперекисей липидов изменяет метаболизм арахидоновой кислоты по циклооксигеназному пути, что уменьшает продукцию простагландина и увеличивает отношение тромбоксан  $A_2$ /простагландин  $I_2$ . Изменение доли тромбоксана  $A_2$  способно провоцировать вазоспазм с нарастанием плацентарной ишемии, увеличением клеточных повреждений и усилением окислительного стресса. Наши исследования показали, что инициация окислительных процессов в ранней плаценте при обострении ЦМВ-инфекции поддерживается низким уровнем каталазной активности [14], что приводит к гиперпродукции гидроперекисей липидов, трансформирующих поверхность фетоплацентарного барьера.

Следует указать, что молекулярные механизмы реализации апоптоза клеток определяются не только действием свободно-радикальных молекул, но и сигнальной передающей системой липидной природы, включающей арахидоновую и пальмитиновую кислоты.

Установленное нами увеличение уровня апоптоза ранней плаценты при обострении ЦМВ-инфекции, по-видимому, является результатом действия пальмитиновой кислоты на мембрану эндоплазматического ретикулума (ЭР), что вызывает, как показывают исследования [15], модуляцию липидных компонентов и создаёт неблагоприятную среду для правильной ориентации белка. Согласно W. Guo et al. [16], пальмитиновая кислота может вызывать ЭР-стресс, связанный с повышенной экспрессией проапоптотического транскрипционного фактора СНОР и активацией Akt. По данным Zhang Y. et al. [17], пальмитиновая кислота индуцирует каспазу-3 и апоптоз, что подтверждается более ранними нашими исследованиями [8]. Механизм, с помощью которого пальмитиновая кислота вызывает ЭР-стресс, может быть связан с TNF-индуцированным апоптозом, реализуемым через активацию ядерного фактора транскрипции NK-kB [16].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведённого исследования установлена ЦМВ-зависимая индукция окислительного стресса и дисбаланс жирных кислот, запускающих апоптоз клеток трофобласта. Увеличение уровня апоптоза в ранней плаценте инициирует воспаление и деструктивные процессы.

### Источник финансирования

Исследование выполнено за счёт средств Федерального агентства научных организаций.

**Конфликт интересов**

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

**ЛИТЕРАТУРА**

- Duhig K, Chapell LC, Shennan AH. Oxidative stress in pregnancy and reproduction. *Obstet Med*. 2016; 9(3): 113-116. doi: 10.1177/1753495X16648495
- Успенская Ю.Б., Шептулин А.А., Кузнецова И.В., Гончаренко Н.В., Герасимов А.Н. Роль нарушений антиоксидантной защиты в течении внутрипеченочного холестаза беременных и развитии гестационных осложнений. *Медицинский алфавит*. 2018; 2(13): 26-30.
- Ишутина Н.А., Дорофиев Н.Н. Пероксидация липидов при беременности, осложненной цитомегаловирусной инфекцией. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2014; 54: 66-69.
- Murata M, Fukushima K, Takao N, Seki H, Takeda S, Wake N. Oxidative stress produced by xanthine oxidase induces apoptosis in human extravillous trophoblast cells. *J Reprod Der*. 2013; 59(1): 7-13. doi: 10.1262/jrd.2012-053
- Ховхаева П.А., Красный А.М., Тютюнник Н.В., Сергунина О.А., Ганичкина М.Б., Амираслов Э.Ю. и др. Апоптоз в плаценте при преэклампсии. *Медицинский совет*. 2016; 2: 102-103.
- Listenberg LL., Han X, Lewis SE, Cases S. Triglyceride accumulation protects against fatty acid-induced lipotoxicity. *PNAS*. 2003; 100: 3077-3082. doi: 10.1073/pnas.0630588100
- Wietrak E, Kamiński K, Leszczyńska-Gorzela B, Oleszczuk J. Effect of Docosahexaenoic acid on apoptosis and proliferation in the placenta: preliminary report. *Biomed Res Int*. 2015; 2015: 482875. doi:10.1155/2015/482875
- Луценко М.Т., Андриевская И.А. Степень выраженности апоптоза в ядрах синцитиотрофобласта ворсин плаценты при герпес-вирусной инфекции. *Морфология*. 2009; 135(1): 45-48.
- Ишутина Н.А., Луценко М.Т., Дорофиев Н.Н. Роль пальмитиновой кислоты в реализации апоптоза при цитомегаловирусной инфекции. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2017; 1: 11-14.
- Лилли Р. *Патогистологическая техника и практическая гистохимия*. М.: Мир; 1969.
- Гайер Г. *Электронная гистохимия*. М.: Мир; 1973.
- Carren JP, Dubacq JP-J. Adaptation of a macro-scale method to the micro-scale for fatty acid methyl transesterification of biological lipid extracts. *Chromatography*. 1978; 151(3): 384-390.
- Прокопенко В.М. Роль окислительного стресса в патогенезе гестоза. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2004; 4: 31-36.
- Rahal A, Kumar A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S, et al. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *Biomed Res Int Hindawi*. 2014; 2014: 761264. doi: 10.1155/2014/761264
- Ota T, Gayet C, Ginsberg H.N. Inhibition of apolipoprotein B100 secretion by lipid-induced hepatic endoplasmic reticulum stress in rodents. *J Clin Invest*. 2008; 118(1): 316-332. doi: 10.1172/JCI32752
- Guo W, Wong S, Xie W, Lei T, Luo Z. Palmitate modulates intracellular signaling, induced endoplasmic reticulum stress, and causes apoptosis in mouse 3T3-L-1 and rat primary preadipocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007; 293(2): E576-586. doi: 10.1152/ajpendo.00523.2006
- Zhang Y, Yang X, Shi H, Dong L, Bai J. Effect of  $\alpha$ -linolenic acid on endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis of

palmitic acid lipotoxicity in primary rat hepatocytes. *Lipids Health Dis*. 2011; 10: 122-127. doi: 10.1186/1476-511X-10-122

**REFERENCES**

- Duhig K, Chapell LC, Shennan AH. Oxidative stress in pregnancy and reproduction. *Obstet Med*, 2016; 9(3): 113-116. doi: 10.1177/1753495X16648495
- Uspenskaya YuB, Sheptulin AA, Kuznetsova IV, Goncharenko NV, Gerasimov AN. Role of antioxidant defense disorders during intrahepatic cholestasis of pregnant women and development of gestational complications. *Meditsinskiy alfavit*. 2018; 2(13): 26-30. (In Russ.)
- Ishutina NA, Dorofienko NN. Lipid peroxidation in pregnancy complicated by cytomegalovirus infection. *Bulleten fiziologii i patologii dykhaniya*. 2014; 54: 66-69. (In Russian)
- Murata M, Fukushima K, Takao N, Seki H, Takeda S, Wake N. Oxidative stress produced by xanthine oxidase induces apoptosis in human extravillous trophoblast cells. *J Reprod Der*. 2013; 59(1): 7-13. doi: 10.1262/jrd.2012-053
- Khovkhaeva PA, Krasnyy AM, Tyutyunik NV, Sergunina OA, Ganichkina MB, Amiraslov EYu, et al. Apoptosis in the placenta with preeclampsia. *Meditsinskiy sovet*. 2016; 2: 102-103 (In Russ.)
- Listenberg LL., Han X, Lewis SE, Cases S. Triglyceride accumulation protects against fatty acid-induced lipotoxicity. *PNAS*. 2003; 100: 3077-3082. doi: 10.1073/pnas.0630588100
- Wietrak E, Kamiński K, Leszczyńska-Gorzela B, Oleszczuk J. Effect of Docosahexaenoic acid on apoptosis and proliferation in the placenta: preliminary report. *Biomed Res Int*. 2015; 2015: 482875. doi:10.1155/2015/482875
- Lutsenko MT, Andrievskaya IA. The degree of apoptosis in syncytiotrophoblast nuclei placental villi with herpes viral infections. *Morfologiya*. 2009; 135(1): 45-48. (In Russ.)
- Ishutina NA, Lutsenko MT, Dorofienko NN. The role of palmitic acid in implementation of apoptosis in cytomegalovirus infection in the gestation period. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)*. 2014; 1: 11-14 (In Russ.)
- Lilli P. *Pathohistological technique and practical histochemistry*. M.: Mir; 1969 (In Russ.)
- Gayer G. *Electronic histochemistry*. M.: Mir; 1973. (In Russ.)
- Carren JP, Dubacq JPJ. Adaptation of a macro-scale method to the micro-scale for fatty acid methyl transesterification of biological lipid extracts. *Chromatography*. 1978; 151: 384-390.
- Prokopenko VM. Role of oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney*. 2004; 4: 31-36 (In Russ.)
- Rahal A, Kumar A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S, et al. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *Biomed Res Int Hindawi*. 2014; 2014: 761264. doi: 10.1155/2014/761264
- Ota T, Gayet C, Ginsberg HN. Inhibition of apolipoprotein B100 secretion by lipid-induced hepatic endoplasmic reticulum stress in rodents. *J Clin Invest*. 2008; 118(1): 316-332. doi: 10.1172/JCI32752
- Guo W, Wong S, Xie W, Lei T, Luo Z. Palmitate modulates intracellular signaling, induced endoplasmic reticulum stress, and causes apoptosis in mouse 3T3-L-1 and rat primary preadipocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007; 293(2): E576-586. doi: 10.1152/ajpendo.00523.2006
- Zhang Y, Yang X, Shi H, Dong L, Bai J. Effect of  $\alpha$ -linolenic acid on endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis of palmitic acid lipotoxicity in primary rat hepatocytes. *Lipids Health Dis*. 2011; 10: 122-127. doi: 10.1186/1476-511X-10-122

**Сведения об авторах**

**Ишутина Наталия Александровна** – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при НЗЛ, ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», тел. (4162) 77-28-15, e-mail: ishutina-na@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-1024-1532

**Андреевская Ирина Анатольевна** – доктор биологических наук, заведующий лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при НЗЛ, ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0212-0201>

**Довжикова Инна Викторовна** – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при НЗЛ, ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», e-mail: dov\_kova100@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8938-3594>

**Дорофиевко Николай Николаевич** – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при НЗЛ, ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», e-mail: dorofienko-nn@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7467-4652>

**Гориков Игорь Николаевич** – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при НЗЛ, ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», e-mail: gia\_5908@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7645-0719>

#### Information about the authors

**Natalia A. Ishutina** – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer of the Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Centre of Physiology and Pathology of Respiration, tel.: (4162) 77-28-15, e-mail: ishutina-na@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1024-1532>

**Irina A. Andrievskaya** – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Centre of Physiology and Pathology of Respiration, e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0212-0201>

**Inna V. Dovzhikova** – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer of the Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Centre of Physiology and Pathology of Respiration, e-mail: dov\_kova100@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8938-3594>

**Nikolay N. Dorofienko** – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer of the Laboratory of Etiopathogenesis Mechanisms and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Centre of Physiology and Pathology of Respiration, e-mail: dorofienko-nn@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7467-4652>

**Igor N. Gorikov** – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer of the Laboratory of Etiopathogenesis Mechanisms and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Centre of Physiology and Pathology of Respiration, e-mail: gia\_5908@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7645-0719>

#### Информация о вкладе авторов:

Ишутина Н.А. – концепция и дизайн исследования, анализ и интерпретация данных, написание текста

Андреевская И.А. – концепция и дизайн исследования, анализ и интерпретация данных, редактирование

Довжикова И.В. – сбор и обработка материала, анализ и интерпретация данных

Гориков И.Н. – сбор и обработка материала

Дорофиевко Н.Н. – сбор и обработка материала

Статья получена: 23.01.2019. Статья принята: 06.03.2019. Статья опубликована: 26.04.2019.

Received: 23.01.2019. Accepted: 06.03.2019. Published: 26.04.2019.