

УДК 616.152.21/.155.1(618.3+616.523):57.083

И.А.Андриевская, М.Т.Луценко

ДИАГНОСТИКА РЕЗИСТЕНТНОСТИ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ К ОКИСЛИТЕЛЬНОМУ СТРЕССУ У БЕРЕМЕННЫХ С ГЕРПЕСНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ*Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания Сибирского отделения РАМН, Благовещенск***РЕЗЮМЕ**

В работе представлены результаты исследования системы ПОЛ-АОА у беременных, пораженных вирусом герпеса. Установлена прямая корреляционная зависимость между активностью вируса герпеса во время беременности, уровнем окислительно-восстановительных процессов и деформацией эритроцитов периферической крови. Разработан способ диагностики резистентности мембран эритроцитов к окислительному стрессу у беременных с герпесной инфекцией.

Ключевые слова: вирус герпеса, беременность, периферическая кровь, эритроциты, перекисное окисление липидов, антиокислительная активность.

SUMMARY

I.A.Andriyevskaya, M.T.Lutsenko

DIAGNOSTICS OF ERYTHROCYTES MEMBRANES RESISTENCY TO OXIDIZING STRESS IN PREGNANT WOMEN WITH HERPES PATHOLOGY

The results of system POL-AOA research at pregnant women with herpes virus are presented in the work. Direct correlation dependence among herpes virus activity during pregnancy, the level of oxidation-reduction processes and erythrocytes deformation in the peripheral blood has been established. The diagnostics method of erythrocytes membranes resistance to oxidizing stress at pregnant women with herpes infection has been developed.

Key words: herpes virus, pregnancy, peripheral blood, erythrocytes, lipids peroxidation, antioxidation activity.

Анемия у беременных остается одной из актуальных проблем, поскольку характеризуется высоким уровнем гестационных осложнений и перинатальных патологий. Одной из вероятных причин является нарушение гомеостаза в системе перекисное окисление липидов-антиоксидантная активность (ПОЛ-АОА), возникающее при персистирующих инфекциях и ассоциирующееся со структурно-функциональной перестройкой мембранного аппарата фетоплацентарного комплекса в целом [3, 4, 5, 6]. Особый интерес в этом отношении может иметь оценка состояния окислительных процессов в периферическом звене эритрона беременной с герпесной инфекцией, поскольку изменения структуры мембран и метаболизма эритроцитов периферической крови, как правило, предшествуют кли-

нически подтверждаемым изменениям количественных показателей красной крови при анемии. Вместе с тем, генерация общей прооксидантной активности приводит к нарушению структуры мембран, проницаемости для ионов, что сопровождается в дальнейшем изменением формы эритроцитов, их деформабельности, вызывая преждевременный гемолиз клеток [1]. Такой структурно-метаболический статус эритроидных клеток беременной при вирусемии лежит в основе сложного процесса изменения микрореологических свойств крови, что неизбежно влияет на качество снабжения кислородом органов и тканей плода, усугубляет перинатальную гипоксию, способствуя изменению адаптивных возможностей новорожденных [7].

Для решения данной проблемы предлагается способ диагностики резистентности мембран эритроцитов при окислительном стрессе у женщин с обострением герпесной инфекции во время беременности, по результатам исследования конечных продуктов липопероксидации жирных кислот (МДА) и активности противорадикальных ферментативных систем (супероксиддисмутаза).

Материал и методы исследования

Исследовалась венозная кровь рожениц с неосложненной беременностью (n=30) – контрольная группа, с тяжелым течением герпесной инфекции во время беременности (титр антител IgG к ВПГ-1 1:12800) (n=30) и легкой формой заболевания (титр антител IgG к ВПГ-1 1:3200) (n=30).

Оценку активности супероксиддисмутазы (СОД) проводили спектрофотометрическим методом с использованием наборов «RANDOX Laboratories Ltd.», Англия. Глутатионпероксидазу определяли, используя наборы «SENTINEL DIAGNOSTICS», Италия. Концентрацию МДА определяли общепринятым методом с применением тиобарбитуровой кислоты по методу Гаврилова В.Б. и соавт. [2]. Содержание сывороточного α -токоферола оценивали флюорометрическим методом по прописи Hansen L.G. et al. [11]. Подсчет эритроцитов проводился общепринятым способом. Морфологический анализ эритроцитов проводили на мазках крови, окрашенных по Романовскому-Гимзе, с помощью фотометрической установки «Mekos» (Россия).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием автоматизированной системы для научных исследований в области физиологии и патологии дыхания человека по t-критерию Стьюдента [9]. Различия сравниваемых результатов считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Как известно, успех лечения анемических состояний у беременных зависит, с одной стороны, от знания патогенеза заболевания и фактора, индуцирующего его развитие, в данном случае, вируса герпеса, и, с другой, применения современных способов выявления маркеров анемии на доклиническом этапе ее развития. Отсюда оправдан поиск новых методов диагностики резистентности мембран эритроцитов, поскольку усиленное образование продуктов липопероксидации приводит к нарушению морфофункционального статуса и метаболизма клеток красной крови, что является этиологическим маркером развития ранних форм анемии не только у самой женщины, но и у плода. Особенно отчетливо это проявляется, если женщина перенесла во время беременности вирусную инфекцию, в том числе и герпесную, степень выраженности которой будет определять тяжесть течения анемии. Данное высказывание оправдано, поскольку генерализация герпес-вирусной инфекции во время беременности способствует индукции свободнорадикального гипоксического повреждения мембран клеток красной крови женщины. Причем, чем активнее вирус герпеса, тем интенсивнее изменения в системе ПОЛ-АОА у беременных. Последнее подтверждалось результатами выполненного исследования периферической крови 60 беременных женщин на сроке гестации 36-40 недель. Так, у женщин с высоким титром антител IgG к ВПГ-1 1:12800 во время гестации наблюдался статистически достоверный рост показателей продуктов деградации жирных кислот (МДА) в периферической крови до 1,22±0,008 мкмоль/мл (0,89±0,005 мкмоль/мл – в контрольной группе) (табл. 1). При этом величины антиоксидантных энзимов были снижены. Подавлялась активность внутриэритроцитарной супероксиддисмутазы до 230,37±2,51 Ед/г Нб (402,73±5,87 Ед/г Нб – в контрольной группе) и глутатионпероксидазы (ГП) до 5,82±0,13 Ед/г Нб (15,68±0,16 Ед/г Нб – в контрольной группе). Содержание α-токоферола в периферической крови также оказалось сниженным до 1,63±0,11 ммоль/л (1,96±0,09 ммоль/л – в контрольной группе).

Снижение титра антител IgG к ВПГ-1 1:3200 во время беременности уменьшало выраженность про-

явлений окислительного стресса. Содержание МДА в периферической крови женщин данной группы уменьшалось на 27%, по сравнению с предыдущей группой, и составило 0,96±0,007 мкмоль/мл. Отмечался рост метаболической активности ферментов антиокислительной системы эритроцитов: супероксиддисмутазы на 25%, что составило 289,5±3,12 Ед/г Нб, и глутатионпероксидазы на 48%, соответственно, 8,62±0,12 Ед/г Нб. Достоверного увеличения уровня сывороточного α-токоферола у женщин с низкой активностью герпесной инфекции во время беременности не наблюдалось. Показатели антиоксиданта увеличивались на 5% и составили 1,72±0,1 ммоль/л, по сравнению с предыдущей группой.

Следовательно, перенесенная во время беременности герпес-вирусная инфекция проявлялась повышенной генерацией оксирадикалов и продуктов липопероксидации (МДА), а также появляющимся дефицитом ключевых внутри- и внеклеточных антиоксидантов – СОД, ГП и α-токоферола.

Вместе с тем, проведенный корреляционно-регрессивный анализ позволил выявить ряд закономерностей. Обнаружена обратная корреляционная зависимость между выраженностью изменений показателей МДА и СОД у беременных с герпесной инфекцией легкого (r=-0,91; p<0,001) и тяжелого течения (r=-0,98; p<0,001). Между тем, взаимосвязанных сочетаний между МДА и ГП как при легком (r=-0,80; p<0,05), так и при тяжелом течении заболевания у беременных (r=-0,85; p<0,05) выявлено не было. В наименьшей мере проявлялась ассоциация исследуемых величин МДА и α-токоферола (r=0,16 (p<0,05) – тяжелое течение; r=-0,07 (p<0,05) – легкое течение герпесной инфекции во время беременности).

Результаты приведенных исследований, характерных особенностей проявлений взаимодействий указанных величин окислительного стресса и противорадикальной защиты у беременных с герпесной инфекцией во время беременности, указывают на существенную роль выявленных сочетаний измененных функциональных состояний системы ПОЛ-АОА на состояние мембранного аппарата эритроидных клеток. Наиболее информативными в этом отношении явились отклонения от «нормы» МДА и СОД в случае тяжелого течения герпесной инфекции у беременных.

Таблица 1

Динамика показателей активности супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, МДА и токоферола в крови женщин при различной степени выраженности герпесной инфекции во время беременности

Показатели	Практически здоровые беременные	Беременные с титром антител IgG к ВПГ-1	
		1:12800	1:3200
СОД, Ед/г Нб	402,73±5,87	230,37±2,51 p<0,001	289,51±3,12 p<0,001
ГП, Ед/г Нб	15,68±0,16	5,82±0,13 p<0,001	8,62±0,12 p<0,001
МДА, мкмоль/мл	0,89±0,005	1,22±0,008 p<0,001	0,96±0,007 p<0,001
Токоферол, ммоль/л	1,96±0,09	1,63±0,11 p<0,01	1,72±0,13 p<0,01

Примечание: здесь и далее p – достоверность по сравнению с контролем.

Таблица 2

Реологические показатели крови женщин при герпесной инфекции во время беременности

Показатели	Практически здоровые беременные	Беременные с титром антител IgG к ВПГ-1	
		1:12800	1:3200
Эритроциты, $\cdot 10^{12}/л$	3,6 \pm 0,12	3,2 \pm 0,15 p<0,001	3,4 \pm 0,09 p<0,001
Дискоциты, %	81,3 \pm 1,1	68,2 \pm 1,7 p<0,001	74,0 \pm 0,7 p<0,001
Эхиноциты, %	1,74 \pm 0,06	6,6 \pm 0,08 p<0,001	3,4 \pm 0,3 p<0,001
Дегенеративные, %	6,75 \pm 0,04	13,7 \pm 0,9 p<0,001	9,0 \pm 0,6 p<0,001

Действительно, установленные ассоциативные взаимосвязи между рассматриваемыми параметрами не лишены оснований с позиций патогенеза оксидативного стресса, который имеет локальный мембраноспецифический характер и определяется функционированием систем противорадикальной защиты на уровне периферического звена эритрона. Как известно, СОД является первоначальным звеном в димутации активных форм кислорода до гидроперекисей [10]. Именно этот фермент, совместно с каталазой, регулирует кислородтранспортную функцию гемоглобина за счет изменения своей активности и соотношения окисленных и восстановленных форм гемоглобина [8]. Отсюда, при наблюдаемой нами блокаде, либо снижении активности СОД при накоплении МДА логично следует ожидать снижения барьерной и обменной функций эритроцитов, способствующих деформации мембраны с последующим гемолизом клеток. Данный факт является клинически диагностируемым критерием и выражается в изменении количественного и качественного состава эритроцитов периферической крови у беременных с герпесной инфекцией (табл. 2).

Проведенное морфологическое исследование показало, что у женщин с тяжелой формой заболевания (титр антител к ВПГ-1 IgG 1:12800) отмечалось статистически достоверное снижение общего количества циркулирующих в крови эритроцитов, которое составило 3,2 \pm 0,15 (3,6 \pm 0,12 – в контрольной группе, p<0,001). Одновременно выявлялось снижение содержания дискоцитов в крови до 68,2 \pm 1,7% (81,3 \pm 1,1% – в контрольной группе, p<0,001), тогда как показатели дегенеративных форм статистически достоверно увеличивались до 13,7 \pm 0,9% (6,75 \pm 0,04% – в контрольной группе, p<0,001), из которых 6,6 \pm 0,08% приходилось на эхиноциты (1,74 \pm 0,06% – в контрольной группе, p<0,001).

Легкое течение герпесной инфекции в период беременности (титр антител к ВПГ-1 IgG 1:3200) сопровождалось повышением резистентности мембран эритроцитов к окислительному стрессу, что проявлялось увеличением числа циркулирующих в крови эритроцитов до 3,4 \pm 0,09. Параллельно выявлялось повышение числа дискоцитов в крови до 74,0 \pm 0,7%. При этом средние значения общих дегенеративных форм эритроидных клеток, соответственно, снижались и составили 9,0 \pm 0,6%. Количество эхиноцитов

уменьшалось до 3,4 \pm 0,3%.

Исходя из вышеизложенного, можно заключить, что изучение системных процессов ПОЛ-АОА является одним из основных направлений в исследовании патогенеза развития гипоксических повреждений мембран эритроцитов при вирусемии у беременных и эффективности проводимой терапии. При этом комплексная оценка, построенная на показателях МДА и СОД, может служить критерием морфофункциональной целостности и адаптивных возможностей периферического звена эритрона, направленных на поддержание гомеостаза фетоплацентарного комплекса в целом. С этой целью используют разработанный способ диагностики резистентности мембран эритроцитов к окислительному стрессу у беременных с герпесной патологией, который заключается в вычислении значения дискриминантного уравнения с использованием измеренных величин МДА и СОД:

$$D = -544,508 \cdot \text{МДА} - 9,058 \cdot \text{СОД},$$

где D – дискриминантная функция, граничное значение которой составляет -2933,43.

Высокую степень активности ПОЛ, а, следовательно, риск развития мембранодеструктивных процессов, диагностируют при D, равной или больше -2933,43, а при D, меньше граничного значения диагностируют низкий уровень окислительных процессов.

Результаты проверки заявленного способа показали его эффективность. Правильный прогноз развития гипоксических повреждений мембран эритроцитов определялся в 89,9% случаев обследуемых женщин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бурмистров С.О., Дубинина Е.Е., Арутюнян А.В. Перекисное окисление липидов, белков и активность антиоксидантной системы сыворотки крови новорожденных и взрослых // Акуш. и гин. 1997. №6. С. 35–39.
2. Гаврилов В.Г., Гаврилова А.Р., Мажуль Л.М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой // Вопр. мед. химии. 1987. №1. С.118–121.
3. Фетоплацентарная система при герпесной инфекции / М.Т.Луценко [и др.]. Благовещенск: Амурской гос. ун-т, 2003. 200 с.
4. Мамедалиева М.Н., Исенова С.Ш. Алгоритм

ведения пациенток с инфекционным генезом невынашивания // Материалы III Рос. форума «Мать и дитя». М., 2001. С.116–117.

5. Попова Ю.А. Состояние процессов перекисного окисления липидов, антиоксидантной системы и липидного обмена сыворотки крови беременных, больных хронической герпес-вирусной инфекцией // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2003. Вып.14. С.19–21.

6. Влияние изменений реактивности организма женщины на формирование адаптивных реакций у беременной и у новорожденного в неонатальном периоде / Н.В.Протопопова [и др.] // Материалы VII Российского форума «Мать и дитя». М., 2005. С.210–211.

7. Ранние сроки беременности / под ред. проф. В.Е.Радзинского, А.А.Оразмурадова. М., 2005. 448 с.

8. Сторожук П.К., Сторожук А.П. Образование и устранение оксигенных радикалов в эритроцитах и их биологическая роль // Вест. интенсивной терапии. 1998. №4. С.17–21.

9. Ульянычев Н.В. Автоматизированная система для научных исследований в области физиологии и патологии дыхания человека. Новосибирск: Наука, 1993. 246 с.

10. Роль нарушений перекисного окисления липидов и антиокислительной системы в развитии синдрома эндогенной интоксикации в раннем послеоперационном периоде на модели перитонита / Л.Г.Шикунова [и др.] // Материалы междунар. науч.-практ. конф. Пенза, 1999. С.37–41.

11. Hansen L.G., Warwich W.I. Flurometric micro-method for serum tocoferol // Amer. J. Chen. Patol. 1966. Vol.46, №1. P.137–138.

Поступила 31.08.2009

*Ирина Анатольевна Андриевская, старший научный сотрудник,
675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22;*

*Irina A. Andrievskay,
22 Kalinin Str., Blagoveschensk, 675000;
E-mail: cfpd@amur.ru*



УДК 618.3(612.118.24+612.018):616.233-002-008.6-036.66

И.Н.Гориков, Л.Г.Нахамчен

**СОСТОЯНИЕ ДЕТОКСИКАЦИОННОЙ И ГОРМОНАЛЬНОЙ СИСТЕМ В РАННИЕ СРОКИ
БЕРЕМЕННОСТИ У ЖЕНЩИН С ХРОНИЧЕСКИМ НЕОБСТРУКТИВНЫМ И ОБСТРУКТИВНЫМ
БРОНХИТОМ В СТАДИИ РЕМИССИИ**

*Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания Сибирского отделения РАМН,
Благовещенск*

РЕЗЮМЕ

Изучены биохимические и гормональные показатели у женщин в I триместре беременности при хроническом необструктивном и обструктивном бронхите в стадии ремиссии. Установлено, что у больных с обструктивной формой хронического бронхита отмечается более выраженная дисфункция органов детоксикации, характеризующаяся повышением концентрации среднемолекулярных пептидов и падением общего холестерина, на фоне которой изменяется функциональная активность щитовидной железы, характеризующаяся снижением уровня трийодтиронина. Вне обострения при хроническом бронхите наблюдается более высокое содержание прогестерона и плацентарного лактогена в периферической крови, чем у женщин с физиологической беременностью.

Ключевые слова: беременность, хронический необструктивный бронхит, хронический обструктивный бронхит, ремиссия, система детоксикации, гормоны.

SUMMARY

I.N.Gorikov, L.G.Nakhamchen

**THE STATE OF DETOXICATION
AND HORMONAL SYSTEMS IN THE EARLY
PREGNANCY IN WOMEN WITH CHRONIC
OBSTRUCTIVE AND NON-OBSTRUCTIVE
BRONCHITIS IN THE REMISSION STAGE**

Biochemical and hormonal values were studied in women in the first trimester of pregnancy at chronic obstructive and non-obstructive bronchitis in the remission stage. It was established that patients with obstructive form of chronic bronchitis had a more apparent dysfunction of detoxication organs that was characterized by mean molecular peptides concentration rise and the whole cholesterol drop. Against this dysfunction the functional activity of thyroid gland changed and had a decreased level of triiodothyronine. When there was no acute condition at chronic bronchitis there was a high level of progesterone and placental lactogen in the periph-