

ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЯ СТЕПЕНИ СРОДСТВА ЭРИТРОЦИТОВ К КИСЛОРОДУ ПРИ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У БЕРЕМЕННЫХ НА РАЗНЫХ СРОКАХ ГЕСТАЦИИ

О.Л.Кутепова

Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания Сибирского отделения РАН, 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

РЕЗЮМЕ

В работе представлен новый подход к оценке состояния кислородтранспортной функции крови по степени сродства эритроцитов к кислороду у беременных при цитомегаловирусной инфекции, который основан на применении поглощающего кислород реагента с последующим фотометрированием и расчетом коэффициента оксигенации эритроцитов. Обследовано в динамике на сроке 9-12, 18-22 и 30-34 недели 60 серопозитивных к цитомегаловирусу беременных (основная группа) и 60 серонегативных беременных (контрольная группа). В ходе исследования установлено взаимообусловленное активностью цитомегаловирусной инфекции в период гестации увеличение коэффициента сродства эритроцитов к кислороду. При рецидиве цитомегаловирусной инфекции на сроке 9-12 недель коэффициент сродства эритроцитов к кислороду составил $5,62 \pm 0,03$ отн. ед. (контроль – $3,05 \pm 0,05$ отн. ед., $p < 0,05$), при персистенции заболевания на сроке 18-22 недели – $4,51 \pm 0,03$ отн. ед. (контроль – $3,11 \pm 0,07$ отн. ед., $p < 0,05$), а при латентном течении инфекции на сроке 30-34 недели – $4,27 \pm 0,2$ отн. ед. (контроль – $3,32 \pm 0,3$ отн. ед., $p < 0,05$). Полученные результаты указывают на влияние активной цитомегаловирусной инфекции на повышение сродства эритроцитов к кислороду, что свидетельствует о нарушении процессов оксигенации и может послужить причиной развития гемической гипоксии беременных, создающей угрозу общему метаболизму в системе «мать–плацента–плод».

Ключевые слова: цитомегаловирусная инфекция, беременность, периферическая кровь, коэффициент сродства эритроцитов к кислороду.

SUMMARY

ASSESSMENT OF CHANGE OF ERYTHROCYTES AFFINITY TO OXYGEN UNDER CYTOMEGALOVIRUS INFECTION IN PREGNANT WOMEN AT VARIOUS PERIODS OF GESTATION

O.L.Kutepova

Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration of Siberian Branch RAMS, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

This paper presents a new approach to the assessment of blood oxygen transport function by the degree of erythrocytes affinity to oxygen in pregnant women with cytomegalovirus infection, which is based on the

use of oxygen absorbing reagent followed by photometry and calculation of the coefficient of oxygenation of erythrocytes. 60 antibody-positive to cytomegalovirus pregnant women at 9-12, 18-22 and 30-34 weeks of gestation (the main group) and 60 antibody-negative pregnant women (the control group) were studied in dynamics. The study found the increase of the coefficient for erythrocyte affinity to oxygen was due to activity of cytomegalovirus infection during gestation. At the relapse of cytomegalovirus infection at 9-12 weeks the coefficient for erythrocytes affinity to oxygen was 5.62 ± 0.03 relative units (the control – 3.05 ± 0.05 relative units, $p < 0.05$), at the persistence of the disease at 18-22 weeks it was 4.51 ± 0.03 relative units (control – 3.11 ± 0.07 relative units, $p < 0.05$), and when there was latent infection during the gestation of 30-34 weeks it was 4.27 ± 0.2 relative units (control – 3.32 ± 0.3 relative units, $p < 0.05$). The results suggest the influence of active cytomegalovirus infection on the increase of erythrocytes affinity to oxygen, which constitutes a violation of oxygenation processes and can cause the development of hemic hypoxia in pregnant women, which endangers the general metabolism in the «mother-placenta-fetus» system.

Key words: cytomegalovirus infection, pregnancy, peripheral blood, coefficient of erythrocytes affinity to oxygen.

Актуальность проблемы цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ) в патологии беременности, плода и новорожденных в последние годы в значительной степени возросла в связи с увеличением риска инфицирования женщин репродуктивного возраста, что подтверждается высокой частотой циркуляции антител к вирусу класса IgG (до 90%), не имеющей тенденции к снижению [10, 13]. У беременных проявления ЦМВИ большей частью характеризуются «стертой» клинической картиной, заболевание часто протекает в виде острой респираторной вирусной инфекции, ларингита, риносинусита, трахеита [1, 4, 6]. Поэтому своевременная диагностика ЦМВИ затруднена.

Перенесенная на ранних сроках гестации ЦМВИ приводит к спонтанному прерыванию беременности. При рецидиве во втором и третьем триместрах наблюдается развитие хронической плацентарной недостаточности, внутриутробной гипоксии и задержки внутриутробного роста плода, несвоевременное излитие околоплодных вод и преждевременные роды [4, 12]. Цитомегаловирус (ЦМВ) поражает разнообразные клетки, в том числе и гемопоэтические [11]. Имеются данные и о влиянии активной герпесвирусной инфекции на ухудшение реологических свойств крови, процессов оксигенации и трофики тканей матери и плода

[2, 3, 7, 8, 9]. Однако мало что известно о влиянии ЦМВИ на кислородтранспортные свойства эритроцитов периферической крови беременных.

Цель исследования – оценка состояния кислородтранспортной функции крови по степени сродства эритроцитов к кислороду у беременных при ЦМВИ.

Материалы и методы исследования

Работа была выполнена в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2008 г.) и одобрена комитетом по биомедицинской этике при 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. В динамике на сроке 9-12, 18-22 и 30-34 недели было обследовано 60 серопозитивных к ЦМВ беременных (основная группа) и 60 серонегативных беременных (контрольная группа). У пациенток на сроке 9-12 недель симптоматически ЦМВИ проявлялась в виде острой респираторной вирусной инфекции, которая сопровождалась ринофарингитом. Клинический диагноз обострения ЦМВИ устанавливался при комплексном исследовании периферической крови на наличие IgM или четырехкратного и более нарастания титра антител IgG в парных сыворотках в динамике через 10 дней, индекса авидности более 65%, а также ДНК ЦМВ в буккальном эпителии или содержимом цервикального канала. Дальнейшее обследование этих же беременных проводилось на сроке 18-22 недели на стадии персистенции заболевания (наличие маркеров репликации ЦМВ, титр антител IgG к ЦМВ 1:1600) и на сроке 30-34 недели при латентном течении ЦМВИ (отсутствие маркеров репликации ЦМВ, титр антител

IgG к ЦМВ 1:800).

Верификация ЦМВ, определение типоспецифических антител, индекса авидности осуществлялись методами иммуноферментного анализа на спектрофотометре Stat Fax-2100 (США) с использованием тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Выявление ДНК ЦМВ проводили методом ПЦР на аппарате ДТ-96 с использованием наборов НПО «ДНК-технология» (Москва).

Определение коэффициента сродства эритроцитов к кислороду выполняли по прописи О.В.Каплан с использованием кислород поглощающего реагента – 0,4 М тиосульфата натрия [5]. Коэффициент сродства эритроцитов к кислороду (К) рассчитывали по формуле: $K=(C/Ee) \times 10$, где С – молярная концентрация раствора тиосульфата натрия в плазме в момент полной деоксигенации, Ee – сумма амплитуд зубцов деоксигенации.

Все расчеты проводили с использованием программного обеспечения Statistica 6.0. Проверку нормальности распределения проводили по критерию Колмогорова-Смирнова, гипотезы о статистической значимости различий двух выборок – с помощью t-критерия Стьюдента. Показатели считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В ходе исследования выявлено, что при ЦМВИ процесс деоксигенации гемоглобина эритроцитов периферической крови беременных на протяжении всего гестационного срока протекает неоднозначно. Это видно при оценке изменений сродства эритроцитов к кислороду, которые находятся в обратной зависимости от их чувствительности к понижению рО₂ в крови (рис. 1-3).

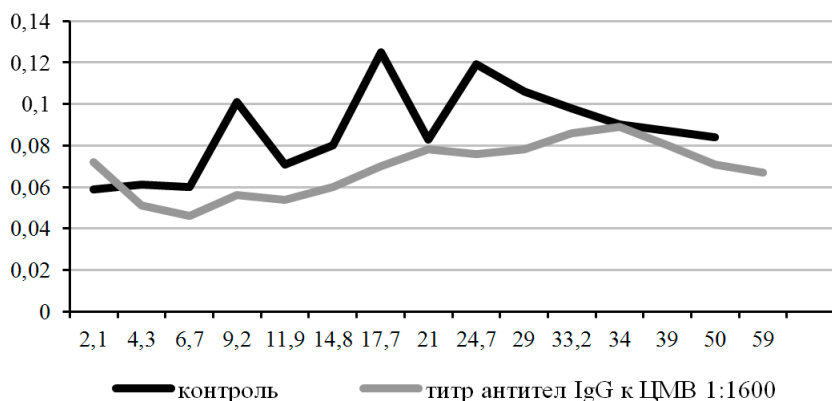


Рис. 1. Кривые деоксигенации эритроцитов периферической крови беременных с рецидивом ЦМВИ на сроке гестации 9-11 недель.

Примечание: здесь и далее по оси ординат – оптическая плотность гемолизата эритроцитов (отн. ед.), по оси абсцисс – молярная концентрация раствора тиосульфата натрия (ммоль/л).

При анализе данных кривых деоксигенации установлено, что эритроциты периферической крови беременных при ЦМВИ обладают неодинаковой чувствительностью к снижению рО₂, то есть неодинаковым сродством к кислороду. Первый отрицательный зубец будет соответствовать деоксигенации фракции эритроцитов, легко освобождающей кислород. Последующие зубцы в таком случае возникают при восстановлении оксигемоглобина в эритроцитах с повышенным сродством к кислороду, а потому – деоксигенирующихся при более высокой концентрации

раствора тиосульфата натрия. Концентрация, при которой появляется последний отрицательный зубец, будет соответствовать степени снижения рО₂ в крови, вызывающей полную деоксигенацию эритроцитов. Так, при рецидиве ЦМВИ на сроке 9-11 недель (рис. 1) и персистенции заболевания на сроке 18-22 недели (рис. 2) кривые деоксигенации имеют более низкую амплитуду зубцов, по сравнению с контролем и латентным течением ЦМВИ на сроке 30-34 недели (рис. 3), что свидетельствует об уменьшении насыщения гемоглобина кислородом.

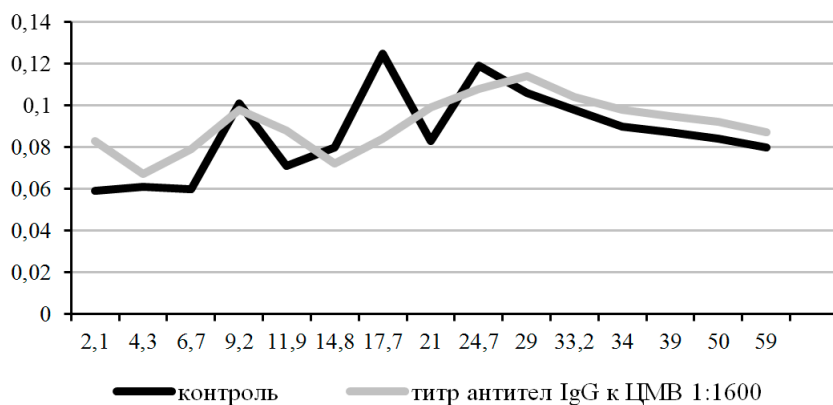


Рис. 2. Кривые деоксигенации эритроцитов периферической крови беременных с персистенцией заболевания на сроке гестации 18-22 недели.

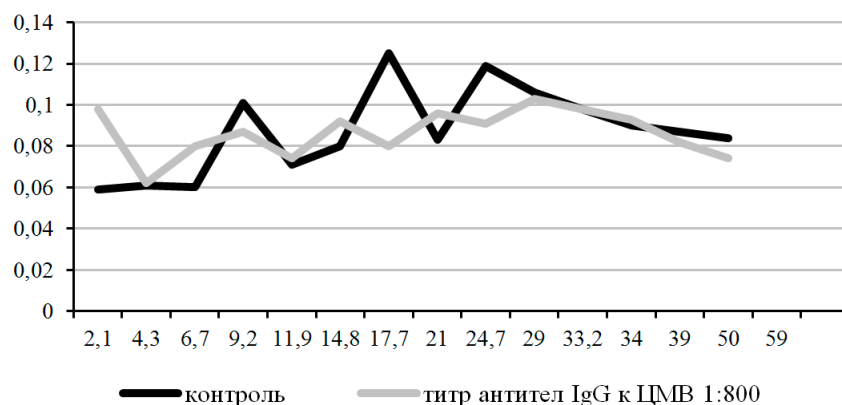


Рис. 3. Кривые деоксигенации эритроцитов периферической крови беременных с латентным течением заболевания на сроке гестации 30-34 недели.

Более того, кривые спектра поглощения, соответствующие последнему отрицательному зубцу, как показано в исследованиях О.В.Каплан [5], будут соответствовать метгемоглобину. Метгемоглобинообразование – следствие сопряженного окисления гемоглобина и восстановителя – тиосульфата натрия. Поэтому нарастание оптической плотности гемолизата периферической крови беременных при ЦМВИ будет являться следствием усиленного образования метгемоглобина. Наиболее выражено этот процесс проявлялся при персистенции заболевания на сроке 18-22 недели (рис. 3).

Количественным критерием состояния кислород-транспортных свойств эритроцитов периферической крови служит коэффициент оксигенации эритроцитов. При его расчете выявлено увеличение показателей, соответственно, при обострении ЦМВИ на сроке 9-12 недель до $5,62 \pm 0,03$ отн. ед. (контроль – $3,05 \pm 0,05$ отн. ед., $p < 0,05$), на сроке 18-22 недели при персистенции ЦМВ и наличии маркеров репликации ЦМВ до $4,51 \pm 0,03$ отн. ед. (контроль – $3,11 \pm 0,07$ отн. ед., $p < 0,05$) и на сроке 30-34 недели при латентном течении инфекции – до $4,27 \pm 0,2$ отн. ед. (контроль – $3,32 \pm 0,3$ отн. ед., $p < 0,05$), что, по-видимому, свидетельствовало о замедлении процессов деоксигенации, вследствие недостаточности образования оксигемоглобина.

Полученные результаты указывают на влияние активной ЦМВИ на повышение сроства эритроцитов к кислороду, что свидетельствует о нарушении процессов оксигенации и может послужить критерием развития гемической гипоксии у беременных, создающей угрозу общему метаболизму в системе «мать-плацента-плод».

ЛИТЕРАТУРА

1. Выявление прямых маркеров цитомегаловирусов и противовирусных антител у детей раннего возраста / Г.А.Алямовская [и др.] // Вопр. вирусол. 2005. Т.50, №1. С.14–19.
2. Андриевская И.А. Газотранспортная функция крови рожениц при обострении герпесвирусной инфекции во время беременности // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2008. Вып.30. С.36–41.
3. Андриевская И.А., Луценко М.Т. Структурно-функциональное состояние гемоглобина у рожениц при герпесной инфекции во время беременности // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2011. Вып.39. С.17–19.
4. Цитомегаловирусная инфекция: учебное пособие для врачей / И.П.Баранова [и др.]. Пенза, 2008. 82 с.
5. Каплан О.В. Оценка состояния газотранспортной функции крови по степени сроства эритроцитов к кислороду при острой и хронической анемической гипоксии // Гематол. и трансфузиол. 1995. Т.40, №1. С.30–32.
6. Луценко М.Т. Цитомегаловирусная инфекция // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2012. Вып.44. С.131–136.
7. Луценко М.Т., Андриевская И.А. Состояние фетоплацентарного барьера при герпес-вирусной инфекции у беременных // Бюл. СО РАМН. 2008. №5. С.142–147.
8. Особенности кислородного обмена между матерью и плодом при рецидиве герпес-вирусной инфекции в третьем триместре гестации / М.Т.Луценко [и др.] // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2014. Вып.51. С.86–91.

9. Салов И.А., Паршин А.В., Глухова Т.Н. Гемостатический потенциал крови пациенток с угрозой прерывания беременности герпетической этиологии // *Фундаментальные исследования*. 2011. №9. С.124–125.

10. Чешик С.Г., Малышев Н.А., Досев С.Д. Цитомегаловирусная инфекция у рожениц и внутриутробное инфицирование плода // *Педиатрия*. 1995. №3. С.33–36.

11. Natural killer cells are required for extramedullary hematopoiesis following murine cytomegalovirus infection / S.Jordan [et al.] // *Cell Host & Microbe*. 2013. Vol.13, №5. P.535–545.

12. Revello M.G., Gerna G. Diagnosis and management of human cytomegalovirus Infection in the mother, fetus, and newborn infant // *Clin. Microbiol. Rev.* 2002. Vol.15, №4. P.680–715.

13. Cytomegalovirus infection in pregnancy / L.Z.Wen [et al.] // *Int. J. Gynecol. Obstet.* 2002. Vol.79, №2. P.111–116.

REFERENCES

1. Alyamovskaya G.A., Keshishchyan E.S.; Abueva S.M., Medzhidova A.A., Fedorova N.E., Pustowoit B., Malakhova M.V., Il'ina E.N., Govorun V.M.; Kushch A.A. *Voprosy virusologii* 2005; 50(1):14–19.

2. Andrievskaya I.A. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniyâ* 2008; 30:36–41.

3. Andrievskaya I.A., Lutsenko M.T. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniyâ* 2011; 39:17–19.

4. Baranova I.P., Konnova O.A., Kerimova Zh.N.,

Lesina O.N., Nikol'skaya M.V., Krasnova L.I. *Tsitomegalovirusnaya infektsiya* [Cytomegalovirus infection]. Penza; 2008.

5. Kaplan O.V. *Gematologiya i transfuziologiya* 1995; 40(1):30–32.

6. Lutsenko M.T. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniyâ* 2012; 44:131–136.

7. Lutsenko M.T., Andrievskaya I.A. *Bulleten' Sibirskogo Otdeleniya RAMN* 2008; 5:142–147.

8. Lutsenko M.T., Andrievskaya I.A., Ishutina N.A., Mironenko A.G. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniyâ* 2014; 51:86–91.

9. Salov I.A., Parshin A.V., Glukhova T.N. *Fundamental'nye issledovaniya* 2011; 9:124–125.

10. Cheshik S.G., Malyshev N.A., Dosev S.D. *Pediatriya* 1995; 3:33–36.

11. Jordan S., Ruzsics Z., Mitrović M., Baranek T., Arapović J., Krmpotić A., Vivier E., Dalod M., Jonjić S., Dölken L., Koszinowski U.H. Natural killer cells are required for extramedullary hematopoiesis following murine cytomegalovirus infection. *Cell Host & Microbe* 2013; 13(5):535–545.

12. Revello M.G., Gerna G. Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant. *Clin. Microbiol. Rev.* 2002; 15(4):680–715.

13. Wen L.Z., Xing W., Liu L.Q., Ao L.M., Chen S.H., Zeng W.J. Cytomegalovirus infection in pregnancy. *Int. J. Gynecol. Obstet.* 2002; 79(2):111–116.

Поступила 12.05.2014

Контактная информация

Ольга Леонидовна Кутепова,

аспирант лаборатории механизмов этиопатогенеза и

восстановительных процессов дыхательной системы при НЗЛ,

Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания Сибирского отделения РАМН,

675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22.

E-mail: helga1509_84@mail.ru

Correspondence should be addressed to

Ol'ga L. Kutepova,

MD, 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 SB RAMS,

22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation.

E-mail: helga1509_84@mail.ru