

УДК 618.2/3:616.523:612.111.6:577.352

Н.А.Ишутина, Н.Н.Дорофиевко, И.А.Андриевская, И.В.Довжикова, С.М.Болелова

**ИЗМЕНЕНИЕ МИКРОВЯЗКОСТИ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ
КРОВИ У БЕРЕМЕННЫХ, ИНФИЦИРОВАННЫХ ВИРУСОМ ГЕРПЕСА***ГУ Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания СО РАМН***РЕЗЮМЕ**

Изучена относительная микровязкость мембран эритроцитов в липидном бислое и зоне липид-белковых контактов методом латеральной диффузии гидрофобного флуоресцентного зонда пирена у беременных с обострением герпес-вирусной инфекции. Обнаружено снижение текучести (увеличение микровязкости) мембран клеток крови при беременности, осложненной герпес-вирусной инфекцией. В наибольшей степени увеличивалась микровязкость эритроцитов в липидном бислое при высоком титре антител к вирусу простого герпеса в I и во II триместрах.

SUMMARYN.A.Ishutina, N.N.Dorofienko, I.A.Andrievskaya,
I.V.Dovgikova, S.M.Bolelova**BLOOD ERYTHROCYTE MEMBRANE
MICROVISCOSITY ALTERATIONS
IN PREGNANT PATIENTS
WITH HERPETIC INFECTION**

Method of lateral diffusion of hydrophobe fluorescent probe piren was used to study relative microviscosity of erythrocyte membranes in lipid bi-layer within lipid-protein contacts in pregnant patients with acute herpetic infection.

It was found that microviscosity of blood cells in pregnant women with acute herpetic infection increased. The most significant microviscosity increase occurred in lipid bi-layer with high titer of antibodies to simple herpes during the I and II trimester.

Механизмы возникновения и развития многих патологических состояний связаны с нарушением структуры и свойств биологических мембран. Ключевая роль в регуляции всех процессов, происходящих в мембранах, принадлежит их текучести. Этот комплексный показатель отражает как структуру, так и диффузные аспекты липидной составляющей мембран и легко реагирует на метаболические изменения и внешние воздействия [1, 2].

В настоящее время в генезе развития многих заболеваний важное значение придается мембранопатологическим процессам. Является установленным фактором, что при осложненном течении беременности имеются выраженные нарушения липидного состава клеточных мембран, которые заключаются в изменении соотношения фосфолипидов, холестерина, нарушения соотношения жирных кислот [5, 6, 8]. Эти структурные изменения могут косвенно свидетельствовать о нарушении микровязкости мембран. На фоне массы работ, посвященных описанию количественных изменений липидного обмена при пато-

логическом течении беременности, вопросам изучения структурно-функциональных свойств биологических мембран (микровязкости) при герпес-вирусной инфекции уделяется незначительное внимание. Поэтому целью данного исследования явилось изучение микровязкости мембран эритроцитов у беременных с герпес-вирусной инфекцией.

Материал и методы исследования

На базе ГУ ДНЦ ФПД СО РАМН проведено исследование относительной микровязкости мембран эритроцитов беременных. Изучаемую группу составили 45 женщин, перенесших во время беременности обострение герпесной инфекции (титр антител 1:6400, 1:12800) в разные сроки. В качестве группы сравнения обследованы практически здоровые беременные на тех же сроках гестации.

Измерение микровязкости мембран эритроцитов проводили методом латеральной диффузии гидрофобного флуоресцентного зонда пирена. Определение микровязкости основано на образовании эксимеров (активных димеров) пирена в липидном окружении [3]. Флуоресценцию пирена измеряли на спектрофлуориметре «Hitachi». Для определения микровязкости липидного бислоя находили интенсивность флуоресценции или свечение пирена при длине волны возбуждения 334 нм, длина волны мономеров 395 нм, длина волны эксимеров 470 нм. Для определения микровязкости зоны липид-белковых контактов длина волны возбуждения 286 нм, длина волны мономеров 395 нм, длина волны эксимеров 470 нм. Оценка микровязкости основывается на вычислении коэффициента эксимеризации пирена ($K_{\text{экс.}} = F_{470}/F_{395}$), который равен отношению интенсивности флуоресценции эксимеров к интенсивности флуоресценции мономеров. Коэффициент эксимеризации находится в обратной зависимости от микровязкости. Математическую обработку полученных результатов проводили на персональном компьютере. Достоверность различия определяли по критерию Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

В таблице представлены коэффициенты эксимеризации пирена, отражающие текучесть мембран эритроцитов в группе контроля и у беременных с герпес-вирусной инфекцией. Как видно из таблицы, у беременных с герпес-вирусной инфекцией наблюдалось снижение текучести (т.е. увеличение микровязкости) мембран эритроцитов по сравнению с контрольной группой. Так, при обострении герпес-вирусной инфекции в I триместре беременности текучесть мембран эритроцитов в липидном бислое была снижена на 43%, в зоне белок-липидных контактов – на 21%, по сравнению со здоровыми беременными (табл.). При обострении герпес-вирусной инфекции

Таблица
Показатели микровязкости мембран эритроцитов здоровых и беременных с герпес-вирусной инфекцией

Группа	Эритроциты, F α /F μ	
	Липидный бислои	Белок-липидные контакты
<i>I триместр</i>		
Обострение Контроль	0,56 \pm 0,05	0,79 \pm 0,06
	0,98 \pm 0,09 p<0,001	1,0 \pm 0,07 p<0,05
<i>II триместр</i>		
Обострение Контроль	0,47 \pm 0,08	0,67 \pm 0,07
	0,68 \pm 0,05 p<0,05	1,29 \pm 0,05 p<0,001
<i>III триместр</i>		
Обострение Контроль	0,60 \pm 0,05	0,86 \pm 0,08
	0,82 \pm 0,07 p<0,05	1,13 \pm 0,04 p<0,01

во II триместре (титр антител к вирусу простого герпеса 1:12800) текучесть в липидном бислое была снижена на 31%, а в зоне белок-липидных контактов мембран эритроцитов на 48%. В III триместре при активации вируса герпеса снижение текучести мембран наблюдалось в липидном бислое на 27%, а в зоне липид-белковых контактов на 24%. Представленные данные свидетельствуют о том, что у беременных с герпес-вирусной инфекцией имеет место увеличение микровязкости мембран эритроцитов, особенно выражены эти изменения в липидном бислое в I и во II триместрах.

Текучесть или микровязкость мембран является интегральным показателем, зависящим от нескольких компонентов: ненасыщенности липидов, содержания холестерина в мембранах, фосфолипидного состава и количества белка, введенного в мембрану [1, 2, 4, 7]. Важнейшим регулятором текучести мембран является холестерин [9]. Увеличением уровня холестерина в мембранах эритроцитов, объясняют повышение относительной микровязкости липидного бислоя мембран при атеросклерозе, ишемической болезни сердца и инфаркте миокарда. Увеличение молярного соотношения холестерин/фосфолипиды обнаружено как при экспериментальном канцерогенезе, так и у онкологических больных [2].

Важное значение в изменении структурно-функциональных свойств мембраны придается также увеличению сфингомиелина, способствующего наряду с холестерином увеличению микровязкости липидной фазы мембран [4]. Увеличение ненасыщенности липидов (повышение числа двойных связей) ведет к повышению текучести мембран. При этом особенно значимым является появление первой двойной связи в липидной молекуле, с увеличением степени ненасыщенности эффект прогрессивно снижается [1, 2].

Результаты предыдущих исследований выявили изменения количества холестерина и фосфолипидов в мембранах эритроцитов [5, 6, 8], что возможно и являлось одной из причин нарушений структурно-функционального состояния эритроцитов, а именно увеличения относительной микровязкости. Повышение микровязкости мембран сопровождается функциональными нарушениями клеток крови. Ухудшаются их вязкоэластические и реологические свойства, нарушается микроциркуляция, снижается активность мембраносвязанных ферментов, тормозятся такие функционально важные мембранные процессы как связывание рецепторов с вторичными мессенджерами и лигандами [2].

Таким образом, беременность, осложненная герпес-вирусной инфекцией, сопровождалась нарушением структурно-функционального состояния клеточных мембран, что выражалось повышением микровязкости как липидного бислоя, так и зоны липид-белковых контактов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Структурно-функциональные изменения мембран лимфоцитов и эритроцитов под воздействием переменного магнитного поля [Текст]/Бордюшков Ю.Н. [и др.]//Вопр. мед. химии.-2000.-Т.46, №1.-С.72-79.
2. Изменение микровязкости мембран лимфоцитов и эритроцитов крови у онкологических больных [Текст]/Горшинская И.А. [и др.]//Вопр. мед. химии.-1999.-Т.45, №1.-С.53-57.
3. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов [Текст]/Г.Е.Добрецов -М.: Наука, 1989.-С.191-206.
4. Липидный состав и структурно-функциональные свойства мембран эритроцитов разного возраста [Текст]/Ли В.С. [и др.]//Вопр. мед. химии.-1982.-Т.28, Вып.6.-С.66-71.
5. Фетоплацентарная система при ОРВИ [Текст]/Луценко М.Т. [и др.]-Благовещенск, 2000.-С.16-31.
6. Состояние процессов перекисного окисления липидов, антиоксидантной системы и липидного обмена сыворотки крови беременных, больных хронической герпес-вирусной инфекцией [Текст]/Ю.А.Попова//Бюл. физиол. и патол. дыхания.-2003.-Вып.14.-С.19-21.
7. Изменения физико-химических свойств биологических мембран при развитии толерантности к этанолу [Текст]/Сторожок С.А. [и др.]//Вопр. мед. химии.-2001.-Т.47, №2.-С.198-207.
8. Состояние липидного обмена у женщин на разных сроках беременности при заболеваниях органов дыхания [Текст]/А.С.Соловьева, А.А.Попов//Бюл. физиол. и патол. дыхания.-2000.-Вып.7.-С.90-93.
9. Структурно-функциональный анализ мембран эритроцитов с различным содержанием холестерина [Текст]/Халилов Э.М. [и др.]//Вопр. мед. химии.-1982.-Т.27, Вып.1.-С.81-86.