

УДК 618.3-06:616.523:615.357:616.152.72

И.А.Андриевская, Н.А.Ишутина

ОСНОВНЫЕ АСПЕКТЫ ФОРМИРОВАНИЯ ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОГО ЭРИТРОПОЭЗА У НОВОРОЖДЕННЫХ С ГЕРПЕС-ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ*ГУ Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания СО РАМН***РЕЗЮМЕ**

Проводилось комплексное изучение патогенетических механизмов регуляции эритропоэза на уровне метаболизма железа в фетальной крови новорожденных от матерей, чья беременность осложнялась герпес-вирусной инфекцией (титр антител к вирусу простого герпеса 1:12800). Установлена прямая зависимость между низким уровнем эритропоэтической активности сыворотки крови пуповины новорожденных, сниженными показателями общего количества эритроцитов, ретикулоцитов, гемоглобина, железа и выраженностью проявлений вируса герпеса у женщин в период гестации.

Ключевые слова: новорожденные, эритропоэз.

SUMMARY

I.A.Andrievskaya, N.A.Ishutina

THE BASIC ASPECTS OF IRON-DEFICIENT ERYTHROPOIESIS IN NEW-BORN WITH HERPES VIRAL INFECTION

The complex study of pathogenetic regulating mechanisms of erythropoiesis against iron metabolism in the fetal blood of newborn of mothers whose pregnancy was complicated with herpes viral infection (antibody titer to herpes simplex virus is 1:12800) was done. The direct correlation of a low level of erythropoietic activity of umbilical blood serum of newborn, dropped indices of the whole number of erythrocytes, reticulocytes, hemoglobin, iron and the evident herpes virus in women in the period of gestation was found out.

Проблема анемий у детей остается одной из актуальных в мировой и отечественной перинатологии. И это закономерно, так как частота рождения детей с различного рода патологиями на протяжении последних лет, остается достаточно высокой и не имеет тенденции к снижению, а сам контингент характеризуется высокими показателями заболеваемости и смертности [1]. Это обусловлено высокой чувствительностью новорожденных к родовому стрессу, сложностью и своеобразием у них процессов адаптации к новым условиям существования, особенностью последующего развития и формирования заболевания. Склонность недоношенных детей с различными патологиями к развитию ранней анемии отмечена во многих работах [2, 3, 4, 5]. Причем определенное значение при анализе патогенеза анемии в данных исследованиях придается дефициту железа, участвующего в гемоглобинообразовании и эритропоэзе [9, 10]. При этом недостаточность гемопоэтических факторов зачастую сопоставляется с повышенным гемолизом эритроцитов новорожденного, сменой

типов гемоглобина, недостаточностью эритропоэтина, отвечающего за эритропоэз в организме. Наряду с этим, достоверной информация о причинах формирования анемии у новорожденных, чьи матери перенесли во время беременности обострение герпесной инфекции, нет. Поэтому целью нашей работы явилось комплексное изучение патогенетических механизмов регуляции эритропоэза на уровне метаболизма железа в фетальной крови новорожденных от матерей, чья беременность осложнялась агрессивной по степени тяжести герпес-вирусной инфекцией (титр антител к ВПГ 1:12800).

Материал и методы исследования

Было проведено исследование пуповинной крови новорожденных, рожденных от матерей, инфицированных вирусом герпеса (титр антител к ВПГ 1:12800) (n=40) и без таковой патологии, составивших контрольную группу (n=40).

Оценку эритропоэтической функции проводили с помощью стандартных тест систем для выявления эритропоэтина в образцах крови методом ИФА (ООО «Протеиновый контур», Санкт-Петербург). Подсчет эритроцитов осуществляли в камере Горяева. Содержание гемоглобина определяли гемихромным методом с использованием наборов «Гемоглобин-ново» ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Для определения сывороточного железа применялся атомно-абсорбционный спектрофотометрический анализ. Обработку сыворотки для анализа проводили по методу Т.И. Мжельской [7]. Анализ образцов производился на атомно-абсорбционном спектрофотометре «Квант» (Россия). Обработку сыворотки для определения общей железо-связывающей способности сыворотки (ОЖСС) проводили с помощью коммерческих наборов фирмы Lachema (Чехия) с последующим атомно-абсорбционным анализом. Коэффициент насыщения трансферрина железом (Кт) производили расчетным методом [8]. Содержание ферритина в периферической крови определяли иммуноферментным методом с использованием реагентов ЗАО «Алкор Био» (Санкт-Петербург).

Результаты исследования и их обсуждение

Как известно, фетоплацентарный барьер является непроницаемым ни для эритроцитов, ни для эритропоэтина. Плод в такой ситуации, также как и мать, будет иметь автономное специфическое регулирование эритропоэза, в определенной мере зависящее от состояния гемопоэтических факторов, а, именно, уровня депонированного железа и механизмов, отвечающих за его включение в состав гемоглобина в процессе образования эритроидных клеток. Рассматривая вопрос поступления железа от матери к плоду необходимо заметить, что транспорт биоэлемента является активным процессом, который идет против

градиента концентрации в пользу последнего без обратной передачи. Вместе с тем, количество депонированного железа в тканях плаценты и фетальных органах (печень, красный костный мозг) к концу гестационного периода остается достаточным для образования того количества гемоглобина, которое необходимо для поддержания кислородного гомеостаза в равновесном состоянии. Данное высказывание подтверждалось результатами исследования, когда в крови пуповины доношенных новорожденных от матерей с физиологической беременностью были обнаружены значительные величины сывороточного железа на уровне $22,46 \pm 0,72$ мкмоль/мл, превышающие таковые у матерей (табл.). Уровень антенатального ферритина также был выше, чем у матери, и составил $125,63 \pm 2,71$ нг/мл. Выявленный положительный баланс железа в пуповинной крови обеспечивал более высокой способностью фетального трансферина насыщаться железом, о чем свидетельствовали относительно высокие показатели Кт пуповинной крови доношенных новорожденных, значения которых не снижались ниже $19,30 \pm 1,90\%$. ОЖСС находилась на уровне $48,20 \pm 3,80$ мкмоль/мл.

Следовательно, на протяжении всей физиологической беременности формировались условия, способствующие поддержанию такой концентрации железа в гемопоэтических клетках, которая являлась оптимальной для становления эритропоэза плода и новорожденного.

Главным регулятором эритропоэза на всех стади-

ях внутриутробного развития и последующей жизни является эритропоэтин. Его уровень при физиологической беременности повышается соответственно гестационному возрасту плода, коррелируя с количеством эритроцитов, гемоглобина и гематокрита. И, действительно, в крови пуповины у практически здоровых новорожденных обнаруживались довольно высокие, по сравнению с матерью, показатели гормона – $46,3 \pm 0,71$ мМЕ/мл, которые способствовали поддержанию объема эритроцитарных клеток на достаточном для нормального газообмена уровне. Количество эритроцитов в крови пуповины здоровых доношенных детей составило $5,7 \pm 0,15$. При этом количество ретикулоцитов в крови также оставалось повышенным $2,3 \pm 0,18\%$, что указывало на стимуляцию эритропоэза и увеличение скорости обменных процессов. Показатели гематокрита в фетальной крови доношенных новорожденных составили $64 \pm 0,65\%$. Вместе с тем, высокую активность эритропоэза отражал повышенный уровень гемоглобина, который в пуповинной крови достигал значений $169 \pm 1,81$ г/л, что значительно выше показателей у матерей. Одновременно отмечалось увеличение среднего объема эритроцитов, значения которого составили $10,13 \pm 0,11$ мм. Что касается среднего содержания гемоглобина в эритроците, то этот индекс в неонатальном периоде практически не отличался от величин материнской крови и составил $30,21 \pm 0,26$ пг. Повышение объема эритроцитов крови в ранний неонатальный период способствовало снижению сред-

Таблица

Динамика показателей обмена железа и эритропоэза в пуповинной крови новорожденных при герпес-вирусной инфекции (титр антител к ВПГ во время беременности 1:12800)

Показатели	ГВИ	Практически здоровые новорожденные	Практически здоровые роженицы
Эритропоэтин, мМЕ/мл	$13,23 \pm 1,21$ $p < 0,001$	$46,3 \pm 0,98$ $p < 0,001$	$25,3 \pm 1,87$
Эритроциты, $\cdot 10^{12}/л$	$5,23 \pm 0,14$ $p < 0,001$	$5,7 \pm 0,15$ $p < 0,001$	$3,7 \pm 0,07$
Ретикулоциты, %	$1,3 \pm 0,07$	$2,3 \pm 0,18$ $p < 0,001$	$1,2 \pm 0,09$
Нб, г/л	$156 \pm 1,70$ $p < 0,001$	$169 \pm 1,81$ $p < 0,001$	$111 \pm 1,11$
Среднее содержание Нб, пг	$29,8 \pm 0,63$	$30,21 \pm 0,26$	$30 \pm 0,47$
Средняя концентрация Нб, %	$32,5 \pm 0,31$	$33,5 \pm 0,74$	$34,7 \pm 0,52$
Средний объем эритроцитов, мм	$9,11 \pm 0,1$ $p < 0,01$	$10,13 \pm 0,11$ $p < 0,01$	$8,6 \pm 0,09$
Нт, %	$48 \pm 1,12$ $p < 0,001$	$64 \pm 0,65$ $p < 0,001$	$32 \pm 0,78$
Fe, мкмоль/л	$18,23 \pm 0,54$ $p < 0,01$	$22,46 \pm 0,72$ $p < 0,01$	$16,4 \pm 1,10$
Ферритин, нг/мл	$18,34 \pm 0,86$ $p < 0,001$	$125,63 \pm 2,71$ $p < 0,01$	$37,42 \pm 0,90$
ОЖСС, мкмоль/мл	$54,6 \pm 5,01$ $p < 0,01$	$48,20 \pm 3,80$ $p < 0,01$	$63,50 \pm 1,40$
Кт, %	$16,7 \pm 1,20$ $p < 0,01$	$19,30 \pm 1,90$ $p < 0,01$	$24,0 \pm 1,80$

ней концентрации гемоглобина до $33,5 \pm 0,74\%$.

Полученные результаты позволили заключить, что при физиологической беременности, к концу которой у женщин зачастую появлялись признаки скрытого дефицита железа, плод и новорожденный способен компенсировать анемию повышенной продукцией эритропоэтина, способствующей увеличению объема циркулирующих эритроцитов, усилению процессов гемоглобинообразования при адекватном метаболическом уровне депонированного железа (ферритин) и механизмов, отвечающих за его доставку к эритроидным предшественникам (трансферрин). У новорожденных, рожденных от матерей, перенесших обострение герпесной инфекции во время беременности, этот механизм не реализовался за счет ограничения компенсаторных возможностей в виду общей незрелости организма, с одной стороны. С другой, развитием у матери латентного железодефицита, обусловленного полным истощением запасов депонированного железа к концу беременности, описанного нами ранее [6]. В результате к концу гестационного периода в организме плода формировались признаки нарушения метаболизма железа, способствующие появлению риска развития ранней анемии у новорожденных, что подтверждалось результатами исследования (табл.). В крови пуповины новорожденных от матерей с агрессивным по тяжести течением герпесной инфекции во время беременности (титр антител к ВПГ 1:12800) обнаруживалось достоверное снижение концентрации сывороточного железа до $18,23 \pm 0,54$ мкмоль/л. При этом уровень запасного фонда железа, определяемого содержанием ферритина, также оставался критически низким – $18,34 \pm 0,86$ нг/мл. Истощение запасов железа в пуповинной крови новорожденных с герпесной патологией приводило к снижению процента насыщения трансферрина железом до $16,7 \pm 2,20\%$, то есть уровня, при котором возможно появление структурных нарушений в молекуле гемоглобина. Параллельно снижению концентрации алиментарного и депонированного железа в пуповинной крови инфицированных вирусом герпеса новорожденных повышалась ОЖСС, которая составила $54,60 \pm 5,01$ мкмоль/л.

Анализ результатов обмена железа в фетальной крови при герпесной инфекции показал, что в организме новорожденных формировались условия, способствующие развитию железодефицитного эритропоэза, выраженность которого определялась уровнем сывороточного эритропоэтина. В ходе исследования пуповинной крови новорожденных с герпесной инфекцией было выявлено значительное снижение концентрации гормона до $13,23 \pm 1,21$ мМЕ/мл. Результатом уменьшения эритропоэтического стимула при герпесной патологии явилось снижение общего количества циркулирующих в крови пуповины эритроцитов до $5,23 \pm 0,14$ и ретикулоцитов до $1,3 \pm 0,07\%$. Количество общего гемоглобина в фетальной крови инфицированных новорожденных также оставалось сниженным и составило $156 \pm 1,70$ г/л. Регистрируемое снижение среднего объема фетальных эритроцитов до $9,11 \pm 0,1$ мм способствовало уменьшению среднего содержания гемоглобина в них ($28,9 \pm 0,11$

пг), что может расцениваться как гипохромия эритроцитов и, наряду с увеличением средней концентрации гемоглобина ($32,5 \pm 0,315\%$), позволяет прогнозировать появление ранних форм железодефицитной анемии у новорожденных, инфицированных вирусом герпеса.

Таким образом, результаты данного исследования позволили говорить о мультифакторности анемии у детей с герпесной патологией. Ее патогенетические механизмы развития тесно связаны с особенностями перестройки эритропоэза в перинатальном периоде и являются результатом сложных взаимосвязанных процессов. Неэффективный эритропоэз, в результате сниженной продукции эритропоэтина, в совокупности с дефицитом гемопоэтических факторов являются триггерами в развитии ранней анемии новорожденных, инфицированных вирусом герпеса.

Выводы

1. Обострение герпесной инфекции во время беременности способствует истощению алиментарного и запасного железа в организме плода и новорожденных, что выражается нарушением феррокинетики фетальной крови в сторону уменьшения концентрации сывороточного железа, ферритина и коэффициента насыщения трансферрина железом.
2. Формирование стойкого железодефицита у новорожденных с герпесной патологией при сниженной эритропоэтической стимуляции приводит к подавлению выработки эритроцитов и гемоглобинообразования (уменьшение общего гемоглобина, его среднего содержания и концентрации в эритроците).
3. Агрессивная по степени тяжести герпес-вирусная инфекция у матерей во время беременности (титр антител к ВПГ 1:12800) приводит к развитию ранней анемизации организма плода, а в последующем, новорожденного.

ЛИТЕРАТУРА

1. Клинико-иммунологические особенности герпес-вирусной инфекции у новорожденных детей [Текст]/А.В.Александровский, Н.И.Кудашов, Л.В.Ванько//Рос. вестн. перинатологии и педиатрии.-1999.-№5.-С.19-22.
2. Железодефицитная анемия у детей грудного и младшего возраста [Текст]/Л.А.Анастасевич, А.В.Малкоч//Леч. врач.-2006.-№7.-С.66-72.
3. Латентная форма железодефицитной анемии беременных женщин и состояние здоровья их детей [Текст]/Вахрамеева С.Н. [и др.]//Рос. вестн. перинатологии и педиатрии.-1996.-№3.-С.26-29.
4. Показатели обмена железа у новорожденных, родившихся у матерей с различной степенью дефицита железа [Текст]/И.В.Гущин//Вопр. охр. материнства и детства.-1985.-Т.30, №1.-С.43-45.
5. Влияние сидеропинии у матери на гематологические показатели и запасы железа у новорожденных [Текст]/И.В.Гущин//Акуш. и гин.-1990.-№12.-С.38-41.
6. Метод диагностики железодефицитных состояний у беременных с герпес-вирусной инфекцией: пособие для врачей [Текст]/М.Т.Луценко, Н.А.Ишутина.-Благовещенск: ГУ ДНЦ ФПД СО

РАМН, 2007.-16 с.

7. Определение содержания меди, железа и цинка в сыворотке крови с помощью атомно-абсорбционного спектрофотометра "Спектр" [Текст]/Т.И.Мжельская// Лаб. дело.-1976.-№4.-С.229-232.

8. Клиническая оценка лабораторных тестов: пер. с англ. [Текст]/под ред. Н.У.Тица.-М.: Медици-

на, 1986.-480 с.

9. Anemia and iron deficiency: effects on pregnancy outcome [Text]/L.H.Allen//J. Clin. Nutr.-2000.-Vol.71.-P.1280-1284.

10. Iron deficiency anemia [Text]/A.K.Leung, K.W.Chan//Advances in Pediatrics.-2001.-Vol.48.-P.385-408.

Поступила 22.02.2008

УДК 577.125.53/352:618.2/3:616.523

Н.А.Ишутина

ЗАВИСИМОСТЬ МИКРОВЯЗКОСТИ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ОТ ФОСФОЛИПИДНОГО СОСТАВА ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ, ОСЛОЖНЕННОЙ ГЕРПЕС-ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

ГУ Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания СО РАМН

РЕЗЮМЕ

Изучен фосфолипидный спектр и микровязкость мембран эритроцитов при беременности, осложненной герпес-вирусной инфекцией. Установлено, что клеточная дисрегуляция у беременных с герпес-вирусной инфекцией, сопровождалась уменьшением относительного содержания фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина и увеличением лизофосфатидилхолина, фосфатидилсерина и сфингомиелина, приводящее к нарушению структурно-функциональных свойств мембран эритроцитов, а именно увеличению относительной микровязкости.

Ключевые слова: беременность, фосфолипиды, герпес.

SUMMARY

N.A.Ishutina

THE DEPENDANCE OF MICRO VISCOSITY OF ERYTHROCYTE MEMBRANES ON PHOSPHOLIPID COMPOSITION AT PREGNANCY COMPLICATED WITH HERPES VIRAL INFECTION

The phospholipid composition and micro viscosity of erythrocyte membranes at pregnancy complicated with herpes-viral infection was studied. It was found out that cell deregulation in pregnant women with herpes viral infection was accompanied by the fall of the phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine values and by the rise of lysophosphatidylcholine, phosphatidylserine and sphingomyelin values, which led to the failure of structure functional properties of erythrocyte membranes, namely to the rise of micro viscosity.

Целый ряд патологических состояний приводит к той или иной форме повреждения клетки, которое практически всегда подразумевает нарушение целостности как плазматической мембраны, так и мембран клеточных оргanelл.

Как известно, основными структурными компо-

нентами клеток являются фосфолипиды, а патологически протекающая беременность сопровождается нарушением фосфолипидного состава не только сыворотки крови и эритроцитарных мембран, но тканей плаценты [6, 10].

Изменение соотношения фосфолипидов, холестерина, жирных кислот могут косвенно свидетельствовать о нарушении микровязкости мембран. В свою очередь, изменение 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 [4].

В связи с этим можно сказать, что характеристика плазматической мембраны может служить тестом для определения состояния функционального аппарата клетки.

Цель данного исследования – выявить зависимость микровязкости мембран эритроцитов от фосфолипидного состава при беременности, протекающей на фоне герпес-вирусной инфекции.

Материал и методы исследования

В условиях специализированного отделения ДНЦ ФПД СО РАМН проведено исследование фосфолипидного состава и относительной микровязкости мембран эритроцитов у женщин, беременность которых сопровождалась обострением хронической герпес-вирусной инфекции (ХГВИ). Изучаемую группу составили 60 женщин, перенесших во время гестации обострение ХГВИ (титр антител к вирусу простого герпеса 1:12800) в разные сроки. В качестве группы сравнения обследованы 30 практически здоровых беременных.

Определяли количественный состав отдельных фосфолипидов (ФЛ), результаты выражали в процентах от общей суммы. Липиды экстрагировали по методу Фолча [17]. Готовые экстракты разделяли на индивидуальные фракции ФЛ на пластинках с тонким слоем силикагеля (Woelm, Германия). Двухмерную тонкослойную хроматографию и идентифика-