

М.Т. Луценко, И.А. Андриевская, Н.А. Ишутина

ФГБУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» СО РАМН, Благовещенск

## Кислородтранспортная функция крови у беременных, перенесших обострение герпесвирусной инфекции

*Изучены факторы, действующие на эритроциты периферической крови при обострении герпесвирусной инфекции в период беременности. Получены данные, свидетельствующие о том, что вирусная инфекция изменяет количественное содержание белков стромы эритроцитов. В клеточных мембранах эритроцитов нарастает интенсивность пероксидного окисления липидов, что приводит к повышению микровязкости мембран.*

*Отмечается нарушение связи гемоглобина с 2, 3-дифосфоглицератфосфатазой. Это приводит к снижению оксигенации гемоглобина. Изменяется форма эритроцитов, происходит их деформация. Полученные данные свидетельствуют о том, что герпесвирусная инфекция при обострении в период беременности является причиной формирования у женщин гипоксического состояния.*

**Ключевые слова:** беременность, микровязкость, эритроциты, клеточные мембраны.

66

### Введение

Кислородтранспортная функция периферической крови зависит от многих факторов, среди которых особого внимания заслуживает морфофункциональное состояние мембран эритроцитов, определяющих деформируемость клетки, участвующей в доставке кислорода к тканям организма. Деформируемость эритроцитов обеспечивает поток крови на уровне микроциркуляторного русла и тем самым способствует насыщению тканей кислородом.

Ключевая роль в формировании газотранспортной функции принадлежит эритроцитам, которые имеют двояковогнутую дисковидную форму, за счет чего их общая площадь увеличивается на 20% по сравнению со сферой того же объема. Механические свойства эритроцита обусловлены их деформируемостью, что позволяет им изменять форму и проникать в мелкие капилляры кровеносного русла. При этом эритроцит не меняет своего объема и площади поверхности [1].

При сохранении свойств к деформации эритроциты повышают перенос в ткани кислорода [2], а при ухудшении этих свойств снижается тканевое парциальное

давление кислорода ( $pO_2$ ). Способность эритроцитов к деформации определяется внутренней вязкостью, вязко-эластическими свойствами мембраны и отношением площади клетки к ее объему [1, 3].

**Цель исследования:** изучить морфофункциональное состояние эритроцитов периферической крови у беременных, перенесших обострение герпесвирусной инфекции (ГВИ), включая состояние белковой стромы, а также изменение характера микровязкости мембран и оксигенации гемоглобина. Наряду с этим комплексным подходом была разработана формула, позволяющая определять в клинических условиях степень деформабельности эритроцитов, что имеет значение в оценке характера тканевого кровоснабжения, т.к. нарушение эластичности мембран эритроцитов не позволяет им проникать в концевые отделы микроциркуляторного русла.

### Материалы и методы

Исследовали периферическую кровь 20 беременных с обострением герпесвирусной инфекции 1-го (ВПГ-1) типа в III триместре беременности. Подтверждением

M.T. Lutsenco, I.A. Andrievskaja, N.A. Ishutina

Far Eastern Research Center for Physiology and Respiratory Pathology of SB RAMS, Blagoveshchensk

## Oxygen-transport function of blood at pregnant, transferred the aggravation of the herpesvirus infection

*Factors which may influence on erythrocytes in peripheral blood while exacerbation of herpes infection are studied. The data showed that herpes infection changed quantitative spectrum of proteins in erythrocytes. In cellular membranes of erythrocytes lipid peroxidation increases that results in increase of microviscosity of membranes.*

*Disconnection of hemoglobin with 2, 3-DPhG was defined. This results in decreased hemoglobin oxygenation and change of erythrocytes form. The data showed that herpes virus in exacerbation leads to tissue hypoxia in pregnant women.*

**Key words:** pregnancy, micro viscosity, erythrocytes, deformation, membrane.

обострения считали нарастание в парных сыворотках (в 4 раза и более) титра антител IgG к ВПГ-1 от 1:3200 до 1:12 800 за 2-недельный период. В некоторых случаях отмечался прирост титра IgM. Исследования проводили на базе акушерского отделения клиники ФГБУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» СО РАМН. Все исследования были выполнены с учетом требований Хельсинской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 226.

Содержание  $HbO_2$  в эритроцитах периферической крови беременных определяли на спектрофотометре «Stat-Fax-1900+» (США) [4]. Содержание 2, 3-дифосфоглицератфосфатазы (2, 3-ДФГ) в эритроцитах периферической крови беременных определяли на том же приборе [5]. Периферическую кровь для исследования кислотно-щелочного равновесия и газов крови забирали из локтевой вены и проводили исследования на биохимическом анализаторе «IRMA TruPoit» (США). Морфологию, площадь поверхности и средний диаметр эритроцитов оценивали компьютерно-цитометрическим методом на аппарате «Mekos» (Россия), регистрационное удостоверение МЗ РФ 29/100 10198/1282-01 обязательной сертификации. Титр антител к ВПГ определяли иммуноферментным методом на спектрофотометре «Stat-Fax-1900+» (США) с использованием наборов ЗАО «Вектор-Бест» (Россия). Индекс деформируемости эритроцитов (ID) рассчитывали согласно математической формуле  $S/V$ , разработанной А.Л. Чижевским (1959) [2]. Фосфолипиды изучали методом тонкослойной хроматографии по G. Rouser [6]. Белки мембран эритроцитов исследовали посредством гель-электрофореза в полиакриламидном геле на аппарате «Biometra» (Германия), перекиси жирных кислот — по методу И.Д. Стальной и Т.Г. Гаришвили [7]. Липидно-белковые комплексы в мембранах эритроцитов изучали при помощи компьютерной программы Biovision (Version 2, West Medica GmbH, Австрия) с камерой Pixera (model PVC 100c, США) [8].

Измерение микровязкости мембран эритроцитов выполняли методом латеральной диффузии гидрофобного флуоресцентного зонда пирена. Определение микровязкости основано на образовании эксимеров (активных димеров) пирена в липидном окружении [9]. Флуоресценцию пирена измеряли на спектрофлуориметре «Hitachi» (Япония).

Статистическую обработку и анализ данных проводили с помощью стандартных статистических и прикладных программ различными методами параметрической статистики (вычисление среднего арифметического (M), стандартной ошибки (m), достоверности различий средних величин по t-критерию Стьюдента, F-критерию Фишера). Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Эластические свойства мембраны зависят от состава и количества белка скелета эритроцита. В норме у здоровых беременных в мембранах эритроцитов определяется (при разгонке с помощью гель-электрофореза) 7,89±0,08% α-спектрина; 8,74±0,09% β-спектрина; 3,41±0,7% анкирина; 17,34±0,78% белка полосы 3;

4,38±0,34% белка полосы 4.1; 7,25±0,12% белка полосы 4.2; 10,34±0,55% белка полосы 4.5; 9,19±0,57% белка полосы 4.9; 8,87±0,24% актина; 8,34±0,04% белка полосы 6,7; 0,2±0,4% белка полосы 7 и 5,64±0,5% гликофорина (табл. 1).

Основными мембранными белками, от которых зависит построение цитоскелета эритроцита, являются спектрин, анкирин, протеин 4.1 и протеин 4.9. На долю спектрина приходится 25% от числа всех мембранных белков. Структурно-функциональной единицей спектрина является тетраметрическая форма. Гемоглобин может содействовать олигомеризации спектрина и стабилизировать его тетрамеры. Гемин обладает противоположным эффектом.

Молекулы α- и β-спектрина переплетаются между собой и составляют основу цитоскелета эритроцита. Спектрин связывается с белком анкирином и белком полосы 4.1. Функция спектрина заключается в сохранении формы эритроцита и регуляции подвижности белков, удерживая равновесие двойного слоя липидов.

Белок полосы 3 — трансмембранный протеин. Роль белка полосы 3 заключается в участии в переносе хлоридов и бикарбонатов, а также в обеспечении связи с анкирином, белком полосы 4.1, 4.2, и спектрином. Этим самым формируется единый цитоскелетный блок [1, 8, 10].

Цитоскелет эритроцита играет важную роль в его способности к деформации и прохождению в капилляры, диаметр которых меньше диаметра эритроцита.

На количественный состав белков стромы эритроцитов могут оказывать повреждающее влияние многие факторы: изменение кислотно-щелочного равновесия крови, гормональные и иммунные процессы. При инфекционных процессах циркулирующие иммунные комплексы оказывают на мембраны эритроцитов сильное повреждающее действие [11].

Исследуя белковый состав мембран эритроцитов методом гель-электрофореза при обострении ГВИ в III триместре беременности, мы установили, что количественное содержание белков мембран резко изменяется. Так, при герпесвирусной инфекции с высокой активностью (титр антител 1:12 800), количество α-спектрина

**Таблица 1.** Показатели фракций белков стромы эритроцитов периферической крови беременных, перенесших в III триместре беременности обострение герпесвирусной инфекции (титр антител к вирусу простого герпеса в период обострения — 1:12 800)

Белковые фракции, %	Герпес	Контроль
1 (α-спектрин)	6,9±0,11*	7,89±0,08
2 (β-спектрин)	7,67±0,1*	8,74±0,09
2.1 (анкирин)	3,1±0,15*	3,41±0,7
Полоса 3	15,25±0,18*	17,34±0,78
Полоса 4.1	3,43±0,17*	4,38±1,04
Полоса 4.2	7,97±0,43*	7,25±0,12
Полоса 4.5	11,66±0,2*	10,34±0,55
Полоса 4.9	9,23±0,4*	10,79±0,57
5 (анкирин)	9,59±0,16*	8,87±0,24
Полоса 6	9,13±0,19*	8,34±0,04
Полоса 7	8,34±0,2*	7,02±0,4
8 (гликофорин)	7,73±0,31*	5,64±0,5

*Примечание\** — различия статистически значимы при  $p(t) < 0,05$ ;  $p(F) < 0,05$ .

снижается до  $6,9 \pm 0,1\%$ ;  $\beta$ -спектрина — до  $7,67 \pm 0,1\%$ ; белка полосы 3 — до  $15,25 \pm 0,18\%$ ; белка полосы 4.1 — до  $3,43 \pm 0,17\%$  (см. табл. 1).

Полученные данные свидетельствуют о том, что активное воздействие вирусов герпеса на эритроциты уменьшает содержание белков стромы эритроцитов, что может привести к нарушению деформационных способностей этих клеток.

Исследуя параллельно кровь тех же беременных на автоматизированной цитофотометрической установке «Mekos», мы обнаружили, что в периферической крови при обострении ГВИ резко изменяется профиль эритроцитов: снижается процентное содержание дискоцитов, но нарастает число эхиноцитов и дегенеративных форм (табл. 2), что подтверждается снижением деформирующей способности эритроцитов такой крови.

Белки и липиды в мембранах клеток, в том числе и эритроцитов, тесно взаимодействуют. Липиды определяют подвижность белков и отвечают за пластичность мембран и их деформационную способность [8].

При обострении ГВИ воздействие интерлейкинов фактора некроза опухоли  $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) и ИЛ-8, а также серотонина на мембраны эритроцитов инициирует повышение интенсивности образования перекисей жирных кислот.

Изменение липидного спектра мембран эритроцитов у беременных с ГВИ происходит на фоне усиления перекисидного окисления липидов (ПОЛ) [12]. Содержание малонового диальдегида (МДА) в плазме периферической крови увеличивается до  $7,16 \pm 0,38$  ммоль/л (в контроле —  $2,89 \pm 0,14$  ммоль/л;  $p(t) < 0,05$ ;  $p(F) < 0,05$ ). В мембранах эритроцитов количество МДА составило  $28,15 \pm 0,97$  ммоль/л (в контроле —  $20,55 \pm 0,31$  ммоль/л;  $p(t) < 0,05$ ;  $p(F) < 0,05$ ). Вероятно, увеличению содержания жирных кислот в мембранах эритроцитов способствует образование большого количества метилфосфатидилэтаноламина, приводящее к локальной перестройке фосфолипидного слоя мембран.

Как известно, уровень фосфолипидов (ФЛ) мембран эритроцитов мало подвержен изменениям, поскольку ФЛ обеспечивают целостность морфологической структуры эритроцита и прочно удерживаются эритроцитарной мембраной. В то же время даже незначительные структурные перераспределения, приводящие к утрате асимметрии мембранных ФЛ клетками, в значительной степени могут сказаться на нарушении функций биомембран, ее проницаемости, вязкоэластических свойствах, что влечет за собой снижение стабильности мембран клеток крови и тканей.

Анализ полученных данных показал, что беременность, осложненная ГВИ, сопровождалась перераспределением мембранных ФЛ. Преобладающими измене-

ниями при обострении ГВИ в период беременности стали уменьшение относительного содержания фосфатидилэтаноламина и фосфатидилхолина, увеличение количества фосфатидилсерина, лизофосфатидилхолина и сфингомиелина.

Так, в III триместре количество фосфатидилхолина в фосфолипидах периферической крови беременных, перенесших обострение ГВИ, снижалось до  $27,6 \pm 1,3\%$  (в контроле —  $33,1 \pm 2,2\%$ ;  $p(t) < 0,05$ ;  $p(F) < 0,05$ ). Обеднение эритроцитов фосфатидилхолином, формирующим внешнюю оболочку липидного матрикса клетки, свидетельствует о дезинтеграции мембранных структур, завершающейся их деструкцией.

При высоком титре антител к ВПГ содержание фосфатидилсерина в III триместре достоверно увеличилось и составило  $7,48 \pm 0,90\%$  (в контроле —  $4,0 \pm 0,20\%$ ;  $p(t) < 0,05$ ;  $p(F) < 0,05$ ). Обогащение плазматических мембран фосфатидилсеринном может быть опосредовано повышением занятости сквенджер-рецепторов, вследствие чего осложняется выведение из кровотока поврежденных клеток и модифицированных липопротеидов, приводящее к возникновению воспалительных процессов в организме. С другой стороны, накопление фосфатидилсерина в мембранах эритроцитов способствует стимуляции электрокинетических и снижению тромбопластических свойств клеток, предотвращает агрегацию и агглютинацию эритроцитов, что можно рассматривать как проявление адаптационно-компенсаторных эффектов в структуре и функции биомембран.

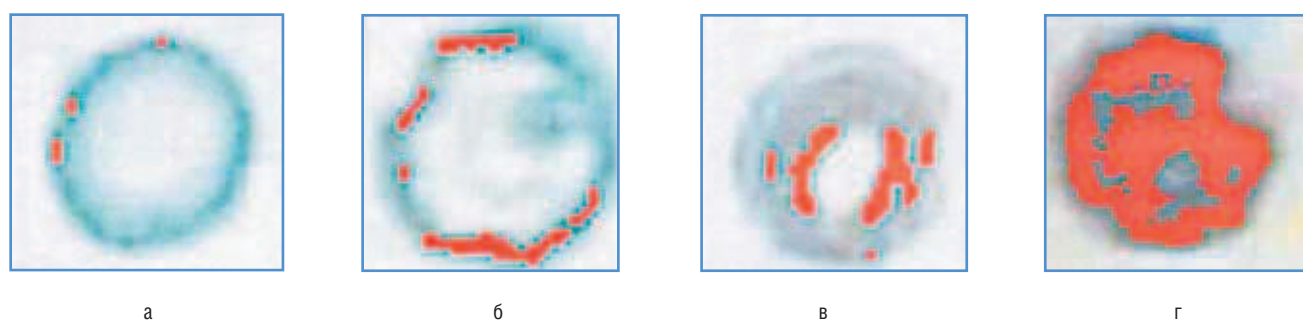
При обострении ГВИ в период беременности наблюдалось увеличение процентного содержания сфингомиелина. В III триместре содержание данного ФЛ увеличивалось до  $25,3 \pm 1,3\%$  по сравнению с показателями группы контроля. Как известно, сфингомиелин не подвергается действию фосфолипаз и, возможно, замещает фосфатидилхолин, что в какой-то мере направлено на сохранение структурной целостности эритроцитарной мембраны.

Нарушение нормального количественного соотношения отдельных фракций ФЛ приводит к дестабилизации липидных структур клеточных мембран. Одним из механизмов подобных изменений может быть активация эндогенной фосфолипазы  $A_2$ . Доказательством активизации этого процесса является накопление специфического маркера мембранодеструкции лизофосфатидилхолина. В эритроцитах периферической крови процентное содержание лизофосфатидилхолина имело тенденцию к увеличению при обострении ГВИ. В III триместре содержание лизофосфатидилхолина в периферической крови беременных, перенесших обострение ГВИ, составило  $9,90 \pm 0,58\%$  (в контроле —  $7,2 \pm 1,2\%$ ;  $p(t) < 0,05$ ;  $p(F) < 0,05$ ). Увеличение количества лизофосфатидилхолина, обладающего мембранотоксиче-

**Таблица 2.** Формула морфологического состояния эритроцитов периферической крови беременных, перенесших в III триместре беременности герпесвирусную инфекцию (титр антител — 1:12 800)

Тип клеток	Обострение герпесвирусной инфекции				Без обострения герпесвирусной инфекции			
	Микроформа	Нормоформа	Макроформа	Всего	Микроформа	Нормоформа	Макроформа	Всего
Дискоциты	0,0	$50,0 \pm 1,2^*$	0,0	$50,0 \pm 1,2^*$	0,0	$86,2 \pm 2,0$	0,0	$86,2 \pm 2,0$
Эхиноциты	0,0	$4,2 \pm 0,5^*$	0,0	$4,2 \pm 0,5^*$	0,0	0,0	0,0	0,0
Укушенные	0,0	—	0,0	0,0	0,0	$3,4 \pm 0,6$	0,0	$3,4 \pm 0,6$
Мишеневидные	0,0	$25,0 \pm 1,4^*$	0,0	$25,0 \pm 1,4^*$	0,0	0,0	0,0	0,0
Дегенераты	$8,1^*$	$12,7 \pm 1,2^*$	0,0	$20,8 \pm 1,2^*$	0,0	$8,6 \pm 0,9$	$1,7 \pm 0,2$	$10,4 \pm 0,9$

Примечание\* — различия статистически значимы при  $p(t) < 0,05$ ;  $p(F) < 0,05$ .



**Рис. 1.** Морфологическое строение эритроцитов периферической крови при различном содержании в мембранах белково-липидных комплексов.

а — дискоциты, б — эхиноциты, в — мишеневидные эритроциты, г — дегенеративные формы. Мазок крови при обработке по программе Biovision. Ранж плотности — 60 пикселей.

ским действием [13], способствует разрыхлению гидрофобной области липидного слоя мембран эритроцитов.

Количество фосфатидилинозитола мембран эритроцитов при беременности, осложненной ГВИ, изменялось незначительно.

Неудивительно, что на этом фоне происходит перегруппировка белково-липидного комплекса мембран эритроцитов. Укрупняются белково-липидные комплексы (рис. 1), которые можно определить с помощью программы «Biovision» [8], что приводит к снижению деформационных свойств эритроцитов и нарастанию в периферической крови числа эхиноцитов и дегенеративных форм эритроцитов, сокращая, тем самым, общую площадь поверхности эритроцитов периферической крови.

При беременности, осложненной ГВИ, происходит активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) клеточных мембран на фоне снижения антиоксидантной активности [12]. Весьма вероятна связь усиления процесса ПОЛ с ускорением метаболизма арахидоновой кислоты. Активация фосфолипазы  $A_2$  ведет к генерированию супероксидрадикалов, образующихся под влиянием высвобожденной арахидоновой кислоты. Возникающие при этом свободные радикалы нарушают проницаемость клеточных мембран, увеличивают вязкость липидного бислоя и уменьшают синтез эндогенных ФЛ.

Установленная модификация фосфолипидного бислоя эритроцитарной мембраны может стать существенным усугубляющим фактором в нарушении процессов, связанных с явлениями деструкции мембраны, ее барьерных функций, проницаемости, процессов активного переноса веществ, трансмембранных градиентов. В клинической практике такое состояние называют жесткостью клетки, для эритроцита оно означает уменьшение или утрату деформируемости. Ослабление гидрофобных связей, нарушение физико-химических свойств мембраны оказывает влияние на функции интегральных белков, вызывает дестабилизацию липид-липидных и белок-липидных взаимодействий в мембране [8, 9].

Текущая или микровязкость мембран является интегральным показателем, зависящим от нескольких компонентов: ненасыщенности липидов, содержания холестерина в мембранах, фосфолипидного состава и количества белка, введенного в мембрану [14, 15].

Важнейший регулятор текучести мембран — холестерин. Увеличением содержания холестерина в мембранах эритроцитов объясняется повышение относительной микровязкости липидного бислоя мембран при атеросклерозе, ишемической болезни сердца и инфаркте миокарда. Увеличение молярного соотношения холе-

стерин/фосфолипиды обнаружено как при экспериментальном канцерогенезе, так и у онкологических больных.

Важное значение в изменении структурно-функциональных свойств мембраны придают также увеличению количества сфингомиелина, способствующего наряду с холестерином повышению микровязкости липидной фазы мембран.

Повышение содержания ненасыщенных липидов (увеличение 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.

При обострении ГВИ в III триместре беременности в мембранах эритроцитов у исследуемых женщин отмечалось увеличение микровязкости до  $0,82 \pm 0,07$  Фэ/Фм (в контроле —  $0,60 \pm 0,07$  Фэ/Фм;  $p(t) < 0,05$ ;  $p(F) < 0,05$ ), а в зоне липид-белковых контактов — до  $1,13 \pm 0,04$  Фэ/Фм (в контроле —  $0,86 \pm 0,08$  Фэ/Фм;  $p(t) < 0,05$ ;  $p(F) < 0,05$ ).

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 [9]. Изменения в фосфолипидном слое приводят к формированию большого количества арахидоновой кислоты, что способствует увеличению биосинтеза лейкотриенов.

Таким образом, герпетический инфекционный процесс приводит к развитию глубоких структурно-функциональных нарушений в мембранах эритроцитов периферической крови. Особенно эти изменения опасны при обострении ГВИ в период беременности, т.к. в эритроцитах наряду с морфофункциональными повреждениями мембран развиваются нарушения и в гемоглиновой системе. Наши наблюдения показали, что в период обострения ГВИ в эритроцитах периферической крови беременных увеличивается содержание термолabileного гемоглобина до  $25,86 \pm 0,78\%$  ( $p(t) < 0,05$ ;  $p(F) < 0,05$ , по отношению к контролю). У практически здоровых беременных содержание термолabileного гемоглобина не превышало  $12,78 \pm 0,23\%$ . По всей вероятности, такого рода изменения происходят под влиянием нарастающего содержания в периферической крови беременных при ГВИ малонового диальдегида, а также в результате изменения активности свободнорадикальных процессов в эритроцитах беременных, перенесших в III триместре обострение



ГВИ. Активность супероксиддисмутазы, участвующей в дисмутации активных форм кислорода в эритроцитах в III триместре беременности, снизилась до  $230,37 \pm 2,5$  Ед/г Hb (в контроле —  $402,73 \pm 5,87$  Ед/г;  $p(t) < 0,05$ ;  $p(F) < 0,05$ ).

Нарастание свободнорадикальных групп кислорода влияло на состояние конформационной системы гемоглобина и его связи с 2, 3-дифосфоглицератфосфатазой (2, 3-ДФГ). В физиологических условиях 2, 3-ДФГ находится в эквимолярном соотношении с гемоглобином, обеспечивая адекватное присоединение и отдачу кислорода в системе эритрона.

Увеличение количества 2, 3-ДФГ, связанной с гемоглобином (особенно при обострении герпесвирусной инфекции), блокирует присоединение кислорода к гемоглобину, т.е. снижает формирование оксигемоглобина, что отражается на процессе обмена кислородом между лакунарной кровью матери и пуповинной кровью плода.

Так, при обострении ГВИ в III триместре беременности в эритроцитах периферической крови при титре антител к ВПГ 1:12800 количество 2, 3-ДФГ в эритроцитах повысилось до  $6,82$  мкмоль/мл (в контроле —  $5,01 \pm 0,25$  мкмоль/мл;  $p(t) < 0,05$ ;  $p(F) < 0,05$ ). Это послужило причиной снижения оксигенации гемоглобина у беременных, перенесших обострение ГВИ, до  $90,2 \pm 0,47\%$  (в контроле —  $97,8 \pm 0,37\%$ ;  $p(t) < 0,05$ ;  $p(F) < 0,05$ ) [16].

Таким образом, под влиянием герпетической инфекции в организме беременных происходило снижение скорости кислородного обмена, что приводило к формированию в их периферической крови гипоксического состояния.

Степень связывания кислорода с гемоглобином зависит от кислотно-щелочного баланса крови. Отмечено, что при обострении ГВИ в крови беременных происходит снижение истинных и общих бикарбонатов и накопление лактата до  $0,50 \pm 0,06$  мг/100 мл (в контроле —  $0,24$  мг/100 мл).

Увеличивается содержание буферных оснований крови до значений  $8,0 \pm 0,85$  ммоль/л (в контроле —  $2,8 \pm 0,65$  ммоль/л;  $p(t) < 0,05$ ;  $p(F) < 0,05$ ) при снижении  $pCO_2$  до  $33,8 \pm 0,5$  мм рт.ст. (в контроле —  $42,16 \pm 0,9$  мм рт.ст.;  $p(t) < 0,05$ ;  $p(F) < 0,05$ ).

Помимо уменьшения концентрации оксигемоглобина в периферической крови беременных при обострении ГВИ эритроциты теряют свою эластичность, что приводит к снижению их деформирующих способностей, нарушению свободного проникновения в микроциркуляторное русло тканей, формируя тем самым тканевую гипоксию.

В своих исследованиях мы, используя математический метод расчета деформационных свойств эритроцитов [2], определяли индекс деформирования эритроцитов (ID) по формуле:

$$ID = \frac{NS}{NS}$$

В развернутом виде формулу можно представить следующим образом:

$$ID = \frac{NS}{Nm (Dcp)^3 \times (I + 3k^2)}$$

где N — количество исследуемых эритроцитов, S — среднее значение площади одного эритроцита, m — стандартное отклонение, Dcp — средний диаметр эритроцита, k — коэффициент вариации диаметра эритроцитов.

При этом V (объем эритроцита) рассчитывается по следующей формуле:

$$V = Nm (Dcp)^3 \times (I + 3k^2),$$

а k (коэффициент вариации диаметра эритроцитов) можно определить по формуле:

$$k = \frac{m}{Dcp}$$

Все указанные параметры можно получить, если прибегнуть к обработке мазка крови с помощью автоматизированной фотометрической установки «Mekos» (регистрационное удостоверение МЗ РФ 29/100101198/1282-01).

По программе «Mekos» происходит сканирование эритроцитов и автоматически выдаются необходимые параметры, включая средний диаметр сканированных эритроцитов (Dcp), среднее отклонение (m), площадь поверхности исследованных эритроцитов (S).

Таким образом, с помощью математических расчетов можем определить индекс деформируемости эритроцитов на отобранном аппарате числе эритроцитов по формуле:

$$ID = \frac{NS}{NS}$$

Одновременно можно проверить достоверность этих результатов, поскольку аппарат также выдает формулу морфологического состояния эритроцитов. При плохом ID в формуле большая доля эритроцитов приходится на эхиноциты, мишеневидные и дегенеративные формы, что увеличивает в исследованном объеме эритроцитов число клеток с ригидной клеточной мембраной, т.е. с низкой деформируемостью.

При обострении ГВИ в период беременности отмечается снижение деформируемости эритроцитов периферической крови.

Показано, что при обострении ГВИ число дискоцитов снижалось до 50%, но значительно увеличивалось содержание дегенеративных (20,8%) и мишеневидных форм (25,0%) (см. табл. 2). Площадь объекта обчисленных эритроцитов составила  $80 \times 46,78 = 3742,2$  мкм<sup>2</sup> (табл. 3). Средний диаметр эритроцитов в данном примере равен  $6,77$  мкм<sup>2</sup> (табл. 4).

Объем сканированных эритроцитов, исходя из полученных данных, составляет  $80 \times 3,7 \times 310,0 \times 1,93$ , где N = 80, m = 3,70.

$$k = \frac{m}{Dcp}$$

$$Dcp = 6,77$$

Таким образом,

$$ID = \frac{3742,4}{176096,8} = 0,02 \text{ усл. ед.}$$

Рассчитывая аналогичным путем ID у женщин, не болевших во время беременности, мы получаем:

$$ID = \frac{10686}{137 \times 4,74 \times 76,91 \times 1,1} = 0,19 \text{ усл. ед.}$$

**Таблица 3.** Показатели среднего значения площади сканированных эритроцитов периферической крови у женщин, перенесших обострение герпесвирусной инфекции в III триместре беременности; данные получены с помощью автоматизированной цитофотометрической установки «Mekos» (мкм<sup>2</sup>)

Характеристика объекта	Средние показатели площади сканированных эритроцитов у женщин, перенесших обострение герпесвирусной инфекции во время беременности	Контроль
Число объектов	80	137
Среднее значение площади	46,78±1,20*	78,05±1,60
Стандартное отклонение	49,10±0,95*	95,12±2,30
Минимальное значение	2,12±0,30*	2,48±0,10
Максимальное значение	317,88±12,00*	670,27±18,0
Скошенность	2,68±0,33*	3,86±0,12

Примечание\* — различия статистически значимы при p(t) < 0,05; p(F) < 0,05.

**Таблица 4.** Показатели среднего диаметра эритроцитов периферической крови беременных, перенесших обострение герпесвирусной инфекции, подсчитанные с помощью автоматизированной цитофотометрической установки «Mekos» (мкм<sup>2</sup>)

Характеристика объекта	Средний диаметр эритроцитов у беременных, перенесших обострение герпесвирусной инфекции	Контроль
Число объектов	80	137
Среднее значение диаметра эритроцитов	6,77±0,65*	8,77±0,71
Стандартное отклонение	3,70±0,15*	4,74±0,2
Минимальное значение	1,64±0,1*	1,78±0,03
Максимальное значение	20,12±0,95*	29,21±0,8
Скошенность	0,63±0,01*	1,30±0,02

Примечание\* — различия статистически значимы при p(t) < 0,05; p(F) < 0,05.

Исследования показывают, что у здоровых беременных индекс деформируемости эритроцитов значительно выше по сравнению с беременными, находящимися в стадии обострения ГВИ.

### Заключение

Таким образом, вирус простого герпеса, постоянно присутствующий в организме человека, становится опасным при нарушении гомеостаза. Во время беременности метаболические сдвиги, обусловленные нейрогормональными изменениями, стимулируют активизацию герпетической инфекции. В зависимости от степени ее агрессивности, интенсивность признаков интоксикации может быть для беременной весьма угрожающей. Герпетическая инфекция проявляет себя не только образованием на поверхности слизистых оболочек и кожном покрове пузырьковых высыпаний, но и тяжелыми изменениями тканевых систем организма [11]. Нарушается гормональная функция плаценты, угнетается местный иммунитет, происходят ощутимые сдвиги в эритропоэтической функции, отражающиеся на морфофункциональном состоянии эритроцитов периферической крови. Увеличивающееся содержание интерлейкинов ФНО-α, ИЛ-8, ИЛ-1 оказывает на мембраны эритроцитов повреждающее воздействие. Прежде всего нарушается фосфолипидное строение мембраны эритроцитов, приводящее к нарастанию в них содержания арахидоновой кислоты и формированию перекисей жирных кислот [3]. Как следствие этого процесса, в мембранах эритроцитов снижается текучесть. Появление признаков перестройки фосфолипидного слоя и нарастание интенсивности ПОЛ приводит к резкому нарушению взаимоотношений между липидами и белковыми структурами в мембранах эритроцитов. В этом скрывается причина нарушения состава стромальных белков

эритроцитов, выражающееся в снижении количества α- и β-спектрина, белков полосы 3 и полос 1–4 [11]. Мембрана эритроцитов становится ригидной, и деформирующие свойства их резко снижаются. Следовательно, транспорт эритроцитов через узкие капилляры кровеносной системы, снабжающие ткани организма кислородом, нарушается [13].

Одновременно токсические продукты, образующиеся при ГВИ, повреждают и гемоглобиновую систему эритроцитов. При обострении ГВИ увеличивается концентрация термолabileного гемоглобина и нарушаются конформационные свойства гемоглобина, что приводит к нарушению его связей с молекулами 2, 3-ДФГ. Число молекул 2, 3-ДФГ, связанных с гемоглобином, резко увеличивается, что блокирует связь гема с кислородом [10, 11]. Отсутствие достаточного количества оксигемоглобина усугубляет гипоксическое состояние беременной в силу снижения деформирующих свойств эритроцитов и недостаточной доставки оксигенированного гемоглобина в микроциркуляторное русло [17].

ГВИ, обостряющаяся в период беременности, становится сильным повреждающим фактором прежде всего для нормального снабжения тканевых систем организма кислородом в силу тяжелых изменений в структуре мембраны эритроцитов периферической крови и отдаче кислорода тканевым системам организма. Проявление гипоксии при обострении ГВИ во время беременности создает возможность прогнозировать степень насыщения оксигемоглобином эритроцитов пуповинной крови новорожденных. Рассчитывая коэффициент дискриминантной функции по формуле:

$$D_{\phi} = 1,858 \times HbO_2 + (+13,097 \times 2, 3-ДФГ),$$

можно прогнозировать снижение степени насыщения кислородом эритроцитов артериальной крови у новорожденных (Патент № 2415428).

## REFERENCES

1. Andrievskaya I.A. Gazotransportnaya funkciya krovi rozhenic pri obostrenii herpesvirusnoj infekcii vo vremya beremennosti. *Byull. fiziologii i patologii dyhaniya SO RAMN. Blagoveschensk.* 2008; 30: 36-41.
2. Andrievskaya I.A. Charakter dyhatel'noj aktivnosti krovi u beremennyh s herpesvirusnoj infekciej. *V kn.: Fundamental'nye aspekty ocenki fetoplacentalnoj nedostatochnosti pri virusnyh zabolevaniyah vo vremya beremennosti. Blagoveschensk.* 2008. 54-72.
3. Vinogradova I.A., Bagryanceva S.Yu., Deviz G.V. Metod odnovernennogo opredeleniya 2, 3-DFG i ATF v `eritrocitah. *Laboratornoe delo.* 1980; 7: 424-426.
4. Goroshinskaya I.A. Izmeneniya mikrovyazkosti membran limfocitov i `eritrocitov krovi u onkologicheskikh bol'nyh. *Voprosy med. himii.* 1999; 45 (1): 53-57.
5. Dobrecov G.E. Fluorescentnye zondy v issledovanii kletok, membran i lipoproteinov. *M.: Nauka.* 1989.
6. Zinchuk V.V. Metodika izmereniya deformiruемости `eritrocitov. *Zdravoohranenie Belorussii.* 1989; 12: 97-98.
7. Ishutina N.A. Zavisimost' mikrovyazkosti membran `eritrocitov ot fosfolipidnogo sostava pri beremennosti, oslozhennoj herpesvirusnoj infekciej. *Byull. fiziologii i patologii dyhaniya SO RAMN. Blagoveschensk.* 2008;28: 25-28.
8. Kushakovskij M.S. Klinicheskie formy povrezhdeniya gemoglobina. *M.: Medicina.* 1968.
9. Lucenko M.T., Andrievskaya I.A. Sposob prognozirovaniya ustojchivosti membran `eritrocitov perifericheskoy krovi pri obostrenii herpesvirusnoj infekcii. *Pat. № 2344423. Zaregistririvan v Gosudarstvennom reestre izobretenij RF 20.01.2009.*
10. Lucenko M.T. Sposob opredeleniya uplotnennyh belkovolipidnyh uchastkov v membranah `eritrocitov razlichnoj stepeni zrelosti s pomosh'yu komp'yuternoj programmy Biovision. *Pat. № 2390020. Zaregistririvan v Gosudarstvennom reestre izobretenij RF 20.05.2010.*
11. Lucenko M.T., Ishutina N.A., Andrievskaya I.A. Sposob ocenki strukturno-funkcional'nogo sostoyaniya membran `eritrocitov perifericheskoy krovi u beremennyh pri obostrenii herpesvirusnoj infekcii. *Pat. № 2389021. Zaregistririvan v Gosudarstvennom reestre izobretenij RF 10.05.2010.*
12. Lucenko M.T., Andrievskaya I.A. Sposob prognozirovaniya aktivnosti glikoforina membran `eritrocitov v perifericheskoy krovi beremennyh pri obostrenii herpesvirusnoj infekcii i sodержanii perekisej zhirnyh kislot v perifericheskoy krovi. *Pat. № 2405154. Zaregistririvan v Gosudarstvennom reestre izobretenij RF 27.11.2010.*
13. Lucenko M.T., Andrievskaya I.A. Sposob prognozirovaniya ustojchivosti membran `eritrocitov pri narastanii v nih perekisej zhirnyh kislot i obostrenii vo vremya gestacii herpesvirusnoj infekcii. *Reshenie o vydache patenta na izobretenie 29.03.2012 po zayavke 2011118264.*
14. Stal'naya I.D., Garishvili T.G. Metod opredeleniya malonovogo dial'degida s pomosh'yu tiobarbiturovoj kisloty. *Sovremennye metody v biohimii. M.: Medicina.* 1987.
15. Chizhevskij A.L. Strukturnyj analiz dvizhushchegoya krovi. *M: Izd. ANSSSR.* 1959.
16. Nakache M., Caprani A., Dimicoli J. Relationship between deformability of red blood cells and oxygen transfer: a modelized investigation. *Clin. Hemoheol.* 1983; 3 (2): 177-189.
17. Nilsson J. Arteriosclerosis. *Thrombosostant. Vasc. Bid.* 1982; 18 (1): 13-19.
18. Rouser G. Quantitative analysis of phospholipids by thin layer chromatography and phosphorus analysis of sports. *Lipids.* 1996; 1 (1): 89-96.

## КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Луценко Михаил Тимофеевич**, академик РАМН, заведующий лабораторией «Механизмы этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких» ФГБУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» СО РАМН.

**Адрес:** 675000, Благовещенск, ул. Горького, д. 95 А

**Тел.:** 8 (4162) 52-59-22

**Факс:** 8 (4162) 52-59-57

**E-mail:** Lucenkomt@mail.ru

**Андреевская Ирина Анатольевна**, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории «Механизмы этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких» ФГБУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» СО РАМН.

**Адрес:** 675000, Благовещенск, ул. Горького, д. 95 А

**Тел./факс:** 8 (4162) 52-59-57

**E-mail:** irina-andrievskaja@rambler.ru

**Ишутина Наталья Александровна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории «Механизмы этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких» ФГБУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» СО РАМН

**Адрес:** 675000, Благовещенск, ул. Горького, д. 95 А

**Тел./факс:** 8 (4162) 52-59-57

**E-mail:** ishutina-na@mail.ru