

УДК 618.2/3-06:578.825.12]616-053.31:618.38:611.018.5:577.352.334

DOI: 10.12737/article\_5c126b6fc9a1d6.28434252

**ПРОЦЕССЫ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ И СИСТЕМА АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В КРОВИ ПУПОВИНЫ НОВОРОЖДЕННЫХ ПРИ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В ПЕРИОД БЕРЕМЕННОСТИ****Н.Н.Дорофиевко***Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22***РЕЗЮМЕ**

Цель работы – исследование активности процессов липопероксидации и системы антиоксидантной защиты в крови пуповины новорожденных от ЦМВ-серопозитивных женщин с обострением инфекции в третьем триместре беременности. Исследованы активность пероксидации липидов и антиоксидантный статус у 30 новорожденных детей от ЦМВ-серопозитивных женщин с обострением инфекции в третьем триместре беременности и у 25 – от ЦМВ-серонегативных женщин. Для определения продуктов окислительной модификации липидов использовали эритроциты, антиоксидантный статус оценивали в плазме крови вены пуповины. Содержание ТБК-активных продуктов определяли флуорометрическим методом, лизофосфатидилхолина – методом тонкослойной хроматографии, арахидоновой кислоты – методом газожидкостной хроматографии. Антиоксидантный статус оценивали по содержанию  $\alpha$ -токоферола и активности супероксиддисмутазы. Регистрацию оптических плотностей и флуоресценцию проводили с помощью спектрофлуориметра. В ходе исследования установлено увеличение содержания в эритроцитах крови пуповины новорожденных от ЦМВ-серопозитивных женщин с обострением инфекции в третьем триместре беременности ТБК-активных продуктов в 2,1 раза ( $p < 0,001$ ), лизофосфатидилхолина в 1,9 раза ( $p < 0,001$ ) и арахидоновой кислоты в 1,5 раза ( $p < 0,001$ ). Антиоксидантный статус крови пуповины характеризовался снижением содержания  $\alpha$ -токоферола в 1,5 раза ( $p < 0,01$ ) и активности супероксиддисмутазы в 1,3 раза ( $p < 0,001$ ) по сравнению с аналогичными показателями в группе новорожденных от ЦМВ-серонегативных женщин. Результаты проведенных исследований показывают, что обострение цитомегаловирусной инфекции в третьем триместре беременности сопровождается развитием окислительного стресса и напряжения в системе антиоксидантной защиты в крови пуповины новорожденных за счет повышенного расхода  $\alpha$ -токоферола и подавления активности супероксиддисмутазы.

*Ключевые слова:* цитомегаловирусная инфекция, новорожденные, кровь пуповины, пероксидация липидов, антиоксидантная защита.

**SUMMARY****PROCESSES OF LIPID PEROXIDATION AND SYSTEM OF ANTIOXIDANT PROTECTION IN****THE BLOOD OF THE UMBILICAL CORD OF INFANTS AT CYTOMEGALOVIRUS INFECTION IN PREGNANCY****N.N.Dorofienko***Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation*

The aim of the work is to study the activity of lipoperoxidation processes and antioxidant protection system in the umbilical cord blood of newborns from CMV-seropositive women with exacerbation of infection in the third trimester of pregnancy. Lipid peroxidation activity and antioxidant status in 30 newborns from CMV-seropositive women with exacerbation of infection in the third trimester of pregnancy and in 25 from CMV-seronegative women were studied. Erythrocytes were used to determine the products of oxidative modification of lipids; antioxidant status was evaluated in the blood plasma of the umbilical vein. The content of TBK-active products was determined by fluorometric method, lysophosphatidylcholine by thin-layer chromatography, arachidonic acid by gas-liquid chromatography. Antioxidant status was assessed by  $\alpha$ -tocopherol content and superoxide dismutase activity. Registration of optical densities and fluorescence was carried out using a spectrofluorometer. The study found an increase in the content of red blood cells of the umbilical cord of newborns from CMV-seropositive women with an exacerbation of infection in the third trimester of pregnancy of TAC-active products in 2.1 times ( $p < 0.001$ ), of lysophosphatidylcholine in 1.9 times ( $p < 0.001$ ) and of arachidonic acid in 1.5 times ( $p < 0.001$ ). The antioxidant status of umbilical cord blood was characterized by 1.5 times decrease in  $\alpha$ -tocopherol ( $p < 0.01$ ) and 1.3 times decrease in superoxide dismutase activity ( $p < 0.001$ ) compared with similar indices in the group of newborns from CMV-seronegative women. The results of the study show that the exacerbation of cytomegalovirus infection in the third trimester of pregnancy is accompanied by the development of oxidative stress and tension in the system of antioxidant protection in the blood of the umbilical cord of newborns due to increased consumption of  $\alpha$ -tocopherol and suppression of superoxide dismutase activity.

*Key words:* cytomegalovirus infection, newborns, umbilical cord blood, lipid peroxidation, antioxidant protection.

Обострение цитомегаловирусной (ЦМВ) инфекции во время беременности способствует изменению характера обменных и метаболических процессов в организме женщины, которые сопровождаются формированием новых порочных кругов в цепи причинно-следственных отношений, усугубляющих течение, как основного заболевания, так и патологий, предопределяющих скрытое неблагополучие развивающегося плода [7, 8, 10, 14]. Важным патогенетическим фактором таких нарушений является активация процессов перекисидации липидов на фоне низкой антиоксидантной активности различных компонентов системы антиоксидантной защиты [5, 7, 9]. Имеющиеся сведения о роли процессов перекисидации липидов и активности антиоксидантных систем при вирусных инфекциях в период беременности являются недостаточно раскрытыми. Приводимые в литературе данные не касаются проблемы изучения взаимоотношений между активностью ЦМВ в период беременности и состоянием системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» (ПОЛ-АОЗ) и их роли в патогенезе нарушений развития плода [2, 3]. Тем не менее, неоспорим тот факт, что ткани плода подвержены высокому риску окислительного повреждения из-за физиологического дисбаланса анти- и прооксидантов [13].

Целью исследования явилось исследование активности процессов липоперекисидации и системы антиоксидантной защиты в крови пуповины новорожденных от ЦМВ-серопозитивных женщин с обострением инфекции в третьем триместре беременности.

#### Материалы и методы исследования

Проводилось проспективное исследование по типу случай-контроль 55 новорожденных, рожденных в срок 37-38 недель, из них 30 детей (основная группа) от ЦМВ-серопозитивных женщин с обострением инфекции в третьем триместре беременности (28-34 неделя) и 25 детей – от ЦМВ-серонегативных женщин (контрольная группа).

Критериями включения в исследование явились обострение ЦМВ инфекции в третьем триместре беременности, стойкая клиническая ремиссия герпесвирусной инфекции.

Критерии исключения из исследования: первичная ЦМВ инфекция, обострение других воспалительных заболеваний экстрагенитальной патологии, наличие инфекций, передающихся половым путем.

Исследования проведены в соответствии с кодексом этических принципов Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации с поправками 2013 г. и правилами клинической практики в РФ, утвержденными приказом Минздрава РФ №200н от 1 апреля 2016 года. На проведение исследования от каждой женщины было получено информационное согласие.

Кровь из вены пуповины забирали в стандартные вакуумные пробирки объемом 5 мл. Для определения продуктов ПОЛ использовали эритроциты, антиокси-

дантный статус оценивали в плазме и эритроцитах крови вены пуповины. Содержание ТБК-активных продуктов (ТБК-АП) в мембране эритроцитов определяли спектрофотометрическим методом на спектрофотометре Appel UV-303 (Япония) [1], лизофосфатидидхолина – методом тонкослойной хроматографии [4], арахидоновой кислоты – методом газожидкостной хроматографии на хроматографе Хроматек Кристалл-2000М (Россия). Содержание в плазме крови пуповины  $\alpha$ -токоферола определяли на спектрофлуориметре Hitachi (Япония) [11] и активности в эритроцитах крови пуповины супероксиддисмутазы (СОД) спектрофотометрическим методом (наборы реагентов «RANDOX Laboratories Ltd.», Англия).

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программного пакета прикладных программ Statistica 6.0. Определение достоверности различий средних значений сравниваемых параметров между разными выборками ( $M \pm m$ ) проводилось с использованием непарного  $t$ -критерия Стьюдента ( $p$ ).

#### Результаты исследования и их обсуждение

В основной группе новорожденных было установлено достоверное увеличение в крови вены пуповины показателей ТБК-активных продуктов в 2,1 раза ( $p < 0,001$ ) по сравнению с новорожденными контрольной группы (таблица). На этом фоне отмечалось уменьшение активности внутриэритроцитарной супероксиддисмутазы в 1,3 раза ( $p < 0,01$ ), что усиливало образование пероксида водорода и ферментативный гидролиз мембранных фосфолипидов. Данный факт подтверждался увеличением показателей ацилированной фракции фосфатидилхолина – его лизоформы в 1,9 раза ( $p < 0,001$ ) по сравнению с новорожденными контрольной группы. Вместе с тем в мембране эритроцитов крови вены пуповины отмечалось увеличение содержания арахидоновой кислоты в 1,5 раза ( $p < 0,001$ ), обладающей мембранодестабилизирующими свойствами благодаря ее участию в процессах свободно-радикального окисления и перекисидации липидов. Также в крови вены пуповины новорожденных основной группы было установлено уменьшение содержания  $\alpha$ -токоферола в 1,4 раза ( $p < 0,01$ ) по сравнению с новорожденными контрольной группы.

Обострение ЦМВ инфекции в третьем триместре (28-34 недель) беременности оказывает неблагоприятное влияние на плод и новорожденного. Потенциальным механизмом токсичности и повреждения клеток и тканей плода является гиперпродукция свободных радикалов, которые генерируются активированными иммунокомпетентными клетками в организме матери и плаценты, при повреждении эндотелия плодовых сосудов и нарушении метаболизма ненасыщенных жирных кислот в плаценте [12].

Свободные радикалы и пероксиды липидов способствуют деструкции мембран и повреждению эритроидных клеток, их гемолизу, что вызывает развитие

внутриутробной гипоксии. Гипоксия, как известно, является фактором, индуцирующим генерацию свободных радикалов [6]. Плод и новорожденный подвержен повышенному риску оксидативного повреждения из-

за дисбаланса в системе антиокислительной защиты, вызванного дефицитом энзимных и неэнзимных антиоксидантов [6, 13].

Таблица

**Биохимические параметры, характеризующие процессы ПОЛ и АОЗ в крови вены пуповины новорожденных при обострении ЦМВ инфекции в третьем триместре беременности**

Показатели	Контрольная группа (n=30)	Основная группа (n=25)	p
ТБК-АП, ммоль/л	11,40±0,45	24,60±0,60	<0,001
Арахидоновая кислота,%	5,60±0,35	8,40±0,24	<0,001
Лизофосфатидилхолин,%	6,70±0,10	12,80±0,12	<0,001
α-токоферол, ммоль/л	1,84±0,04	1,35±0,03	<0,01
Супероксиддисмутаза, ЕД/г Нб	248,73±3,21	196,20±1,45	<0,01

Учитывая эти факты, было установлено снижение антиокислительной активности супероксиддисмутаза и содержания α-токоферола в крови вены пуповины новорожденных от ЦМВ-серопозитивных женщин с обострением инфекции в третьем триместре беременности. Дефицит антиоксидантов в крови пуповины был ассоциирован с гиперпродукцией ТБК-активных продуктов, лизофосфатидилхолина и арахидоновой кислоты, что, возможно, усиливало гемолиз эритроцитов и гипоксическое повреждение тканей.

Таким образом, обнаружено усиление процессов перекисидации липидов при дефиците антиокислительной активности в крови пуповины новорожденных от ЦМВ-серопозитивных женщин с обострением инфекции в третьем триместре беременности, что является патогенетическим фактором нарушения структуры эритроцитов и метаболизма кислорода и согласуется с ранними нашими исследованиями [6].

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Мажуль Л.М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой // Вопросы медицинской химии. 1987. Т. 33, №1. С.118–121.

2. Ишутина Н.А. Роль нарушений состава фосфолипидов в патогенезе цитомегаловирусной инфекции в период гестации // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского Отделения Российской Академии Медицинских Наук. 2015. №3(103). С.52–55.

3. Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография: в 2-х т. М.: Мир, 1981. Т.1. С.52–115.

4. Ковальчук-Ковалевская О.В., Прокопенко В.М., Арутюнян А.В. Особенности перекисного окисления липидов и антиокислительной системы тромбоцитов у детей с задержкой внутриутробного развития // Журнал акушерства и женских болезней. 2010. Т.59, № 4. С.46–50.

5. Кореновский Ю.В., Горбенко Е.В., О.В. Ремнева, Фадеева Н.И., Ельчанинова С.А. Оксидативный стресс и антиоксидантная способность у недоношенных новорожденных с перинатальной гипоксией при рождении и на седьмые сутки // Сибирский медицинский

журнал (Томск). 2007. Т.22, №1. С.19–22.

6. Луценко М.Т., Андриевская И.А., Ишутина Н.А., Мироненко А.Г. Механизмы формирования гипоксии в период беременности и нарушение кровоснабжения плода при цитомегаловирусной инфекции // Вестник Российской Академии Медицинских Наук. 2015. Т.70, №1. С.106–112. doi: 10.15690/vramn.v70i1.1239

7. Смирнова А.И., Россихина Е.В., Дюпина Н.С. Роль цитомегаловирусов в акушерской патологии и неонатологии // Вятский медицинский вестник. 2010. №4. С.41–47.

8. Титов В.Н., Лисицын Д.М. Жирные кислоты (физическая химия, биология и медицина). М.-Тверь: Триада, 2006. 670 с.

9. Cruz A., Padillo F.J., Tunez I., Muñoz C., Granados J., Pera-Madrado C., Montilla P. Melatonin protects against renal oxidative stress after obstructive jaundice in rats // Eur. J. Pharmacol. 2001. Vol.425, №2. P.135–139. doi: 10.1002/jnr.21436

10. Hansen L.G., Warwick W.J. Fluorometric micro method for serum tocoferol // Tech. Bull. Regist. Med. Technol. 1966. Vol.36, №6. P.131–136.

11. Jauniaux E., Burton G.J. The role of oxidative stress in placental-related diseases of pregnancy // J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. (Paris). 2016. Vol.45, №8. P.775–785. doi: 10.1016/j.jgyn.2016.02.012

12. Mishra O.P., Delivoria-Papadopoulos M. Cellular mechanisms of hypoxic injury in the developing brain // Brain. Res. Bull. 1999. Vol.48, №3. P.233–238.

13. Swanson E.C., Schleiss M.R. Congenital cytomegalovirus infection: new prospects for prevention and therapy // Pediatr. Clin. North Am. 2013. Vol.60, №2. P.335–349. doi: 10.1016/j.pcl.2012.12.008

**REFERENCES**

1. Gavrilov V.B., Gavrilova A.R., Mazhul' L.M. Analysis of methods for determining the products of lipid peroxidation in serum according to the test with thiobarbituric acid. *Voprosy meditsinskoy khimii* 1987; 33(1):118–121 (in Russian).

2. Ishutina N.A. Role of compositional disorders in phospholipids in the pathogenesis of cytomegalovirus infection in the gestation period. *Byulleten' Vostochno-*

*Sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo Otdeleniya Rossiyskoy Akademii Meditsinskikh Nauk* 2015; 3:52–55 (in Russian).

3. Kirchner J.G. Thin-layer chromatography. Moscow: Mir; 1981. Vol.1 (in Russian).

4. Kovalchuk-Kovalevskaya O.V., Prokopenko V.M., Arutjunyan A.V. Peculiarity of platelet lipid peroxidation and antioxidant system in newborn with intrauterine growth retardation. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney* 2010; 59(4):46–50 (in Russian).

5. Korenovski Yu.V., Gorbenu Ye.V., Remnyova O.V., Fadeyeva N.I., Yelchaninova S.A. Oxidative stress and antioxidant ability in premature newborns having perinatal hypoxia during delivery and on the 7-th day of life. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Tomsk)* 2007; 22(1):19–21 (in Russian).

6. Lutsenko M.T., Andrievskaya I.A., Ishutina N.A., Mironenko A.G. Mechanisms of hypoxia development during pregnancy and the disorder of fetus blood supply at cytomegalovirus infection. *Vestnik Rossiyskoy Akademii Meditsinskikh Nauk* 2015; 70(1):106–112 (in Russian). doi: 10.15690/vramn.v70i1.1239

7. Smirnova A.I., Rossikhina Ye.V., Dyupina N.S. Role of cytomegalovirus infections in obstetric and neonatal

pathology. *Vyatskiy meditsinskiy vestnik* 2010; 4:41–47 (in Russian).

8. Titov V.N., Lisitsyn D.M. Fatty acid (physical chemistry, biology and medicine). Moscow: Triada; 2006 (in Russian).

9. Cruz A., Padillo F.J., Tunez I., Muñoz C., Granados J., Pera-Madrado C., Montilla P. Melatonin protects against renal oxidative stress after obstructive jaundice in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2001; 425(2):135–139. doi: 10.1002/jnr.21436

10. Hansen L.G., Warwick W.J. Fluorometric micro method for serum tocoferol. *Tech. Bull. Regist. Med. Technol.* 1966; 36(6):131–136.

11. Jauniaux E., Burton G.J. The role of oxidative stress in placental-related diseases of pregnancy. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. (Paris)* 2016; 45(8):775–785. doi: 10.1016/j.jgyn.2016.02.012

12. Mishra O.P., Delivoria-Papadopoulos M. Cellular mechanisms of hypoxic injury in the developing brain. *Brain. Res. Bull.* 1999; 48(3):233–238.

13. Swanson E.C., Schleiss M.R. Congenital cytomegalovirus infection: new prospects for prevention and therapy. *Pediatr. Clin. North Am.* 2013; 60(2):335–349. doi: 10.1016/j.pcl.2012.12.008

Поступила 06.11.2018

Контактная информация

Николай Николаевич Дорофиевко,

кандидат медицинских наук,

старший научный сотрудник лаборатории механизмов этиопатогенеза

и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких,

Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания,

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

E-mail: dorofienko-nn@mail.ru

Correspondence should be addressed to

Nikolay N. Dorofienko,

MD, PhD, Senior Staff Scientist of Laboratory of Etiopathogenesis of Mechanisms and Recovery

Processes of the Respiratory System at Nonspecific Lung Diseases,

Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration,

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

E-mail: dorofienko-nn@mail.ru