

УДК 577.125.36(616-053.31:618.48)]578.825.12

DOI: 10.12737/20125

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИНОЛЕВОЙ И АРАХИДОНОВОЙ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В КРОВИ ПУПОВИНЫ НОВОРОЖДЕННЫХ ОТ МАТЕРЕЙ С ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ**Н.Н.Дорофиев**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»,
675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

РЕЗЮМЕ

В связи с широким спектром действия полиненасыщенных жирных кислот семейства ω -6 на развитие плода и новорожденного ребенка проведено исследование состава арахидоновой и ее предшественника линолевой жирных кислот в крови пуповины новорожденных от матерей с реактивацией хронической цитомегаловирусной инфекцией. Обследовано 82 новорожденных ребенка, из них 42 – от матерей, перенесших в III триместре гестации цитомегаловирусную инфекцию (титр антител IgG к цитомегаловирусу 1:1600), составившие основную группу. В контрольную группу вошли 42 новорожденных от практически здоровых женщин. В крови пуповины новорожденных определяли содержание арахидоновой и линолевой полиненасыщенных жирных кислот методом газожидкостной хроматографии. В результате проведенного исследования установлено, что реактивация цитомегаловирусной инфекции у матери (титр антител IgG к цитомегаловирусу 1:1600) приводит к увеличению содержания линолевой на 56% ($p<0,001$) и предшественника провоспалительных эйкозаноидов – арахидоновой кислоты на 34% ($p<0,001$) в крови пуповины новорожденных, и является одной из причин нарушения структурно-функциональной организации артерии сосудов пуповины. Выявленные изменения в крови пуповины и в эндотелии артерии пуповины могут явиться причиной нарушений эластических свойств сосудов, застойных явлений и тромбоза сосудов, а, следовательно, нарушений кровотока между матерью и плодом, что в дальнейшем может служить фактором развития внутриутробной гипоксии.

Ключевые слова: кровь пуповины, цитомегаловирусная инфекция, арахидоновая и линолевая жирные кислоты.

SUMMARY**DYNAMICS OF INDICES OF LINOLEIC AND ARACHIDONIC FATTY ACIDS IN CORD BLOOD OF NEWBORNS FROM MOTHERS WITH CYTOMEGALOVIRUS INFECTION****N.N.Dorofienko**

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

Due to the broad spectrum of influence of polyunsaturated fatty acids of ω -6 family on the development

of the fetus and newborn child, the composition of arachidonic fatty acid and its predecessor linoleic fatty acid were studied in blood of the umbilical cord blood of newborns from mothers with chronic reactivation of cytomegalovirus infection. 82 newborns were examined; among them there were 42 infants (the main group) from mothers who had cytomegalovirus infection (titer of IgG antibodies to cytomegalovirus was 1:1600) in the III trimester. The control group included 42 newborns from healthy women. In the umbilical cord blood of newborns the contents of arachidonic and linoleic fatty acids were identified with gas-liquid chromatography. The study found out that the reactivation of cytomegalovirus infection in the mother (titer of IgG antibodies to cytomegalovirus 1:1600) leads to an increase in the content of linoleic acid by 56% ($p<0.001$) and of the predecessor of pro-inflammatory eicosanoids – arachidonic acid by 34% ($p<0.001$) in the cord blood of newborns; it is one of the causes of disturbance of the structural and functional organization of the umbilical artery vessels. Identified changes in umbilical cord blood and umbilical artery endothelium can cause disturbances of the elastic properties of vessels, stagnation and thrombosis of blood vessels and, consequently, disturbances of blood flow between mother and fetus, which can then serve as a factor in the development of fetal hypoxia.

Key words: umbilical cord blood, cytomegalovirus infection, arachidonic fatty acid, linoleic fatty acid.

Проблема инфекционных заболеваний в неонатологии является одной из актуальных, так как в последние годы отмечается неуклонный рост данной патологии [2]. Плод развивается в сложных условиях взаимоотношений матери, поэтому наличие у беременной очагов инфекции служит фактором риска развития различных патологических состояний плода и новорожденного. Внутриматочная инфекция является причиной всего спектра антенатальной патологии: инфекционных заболеваний плода, пороков его развития, мертворождений, недонашиваний, развития плацентарной недостаточности и задержки внутриутробного развития плода. Наряду с острым течением инфекции, у плода может наблюдаться длительная персистенция возбудителя с формированием латентного или медленно текущего хронического инфекционного процесса. За такими диагнозами, как внутриутробная гипоксия, асфиксия, внутричерепная травма, часто скрывается инфекционная патология [6].

Исследования, проведенные в нашей лаборатории, показывают, что одним из важных компонентов пато-

генеза вирусной инфекции в период гестации является оксидативный стресс, представляющий собой избыток свободных радикалов кислорода на фоне истощения антиоксидантной защиты организма [7, 12, 13]. Это проявляется активацией перекисного окисления липидов в мембранах клеток и повышением его токсических продуктов (таких, как малоновый диальдегид) в крови беременных с цитомегаловирусной инфекцией (ЦМВИ) [8]. Продукты перекисного окисления липидов оказывают токсическое действие, в первую очередь, на эндотелий сосудов матери и плаценту [3, 11].

Следует отметить, что среди различных биологических факторов системы мать–плацента–плод длинноцепочечные полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) – арахидоновая, докозагексаеновая – имеют большое значение для развития и течения беременности [18]. Арахидоновая и ее метаболит линолевая кислота служат основным субстратом для ферментов циклооксигеназы и липоксигеназы, которые синтезируют простагландины и эйкозаноиды. Эти вещества имеют разнообразные биологические функции, участвующие в процессах клеточного роста и развития, а также воспаления. Простагландин E₂, например, важен для нормального развития многих клеток и органов, особенно центральной нервной системы, простагландин F₂ является антагонистом прогестерона [17]. Помимо этого арахидоновая кислота является основным субстратом перекисного окисления липидов и ее избыток, также как и недостаток, является неблагоприятным фактором течения беременности.

Особая роль ПНЖК выражается различными позитивными эффектами в организме в результате инкорпорирования в фосфолипидном матриксе клеточных мембран или их непосредственного влияния на ряд метаболических процессов. Так, по последним сообщениям, арахидоновая кислота способна активно или пассивно влиять на внутриклеточную передачу сигнала посредством стимуляции выхода ионов кальция из внутриклеточного депо, который в условиях вирусной инфекции определяется на достаточно высоком уровне [4], и модулировать активность ряда важных ферментативных систем организма [5].

В связи с вышеизложенным целью данного исследования явилось изучение состава арахидоновой и ее предшественника линолевой ω -6 ПНЖК в крови пуповины новорожденных от матерей, перенесших в III триместре гестации реактивацию хронической ЦМВИ.

Материалы и методы исследования

Обследовано 82 новорожденных ребенка. Основную группу составили 42 новорожденных от матерей, перенесших в III триместре гестации ЦМВИ (титр антител IgG к ЦМВ 1:1600). В контрольную группу вошли 42 новорожденных от практически здоровых женщин.

Клинический диагноз обострения хронической ЦМВИ у матери 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 avidности более 65%, а также ДНК ЦМВ.

Верификация ЦМВ, определение типоспецифических антител, индекса avidности осуществлялись методами иммуноферментного анализа на спектрофотометре Stat Fax 2100 с использованием тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск), выявление ДНК ЦМВ методами ПЦР проводилось на детектирующем амплификаторе ДТ-96 с использованием наборов НПО «ДНК-технология» (Москва).

В крови пуповины новорожденных определяли содержание арахидоновой и линолевой ПНЖК методом газожидкостной хроматографии на хроматографе Кристалл 2000М (Россия) с пламенно-ионизационным детектором. Метилирование жирных кислот осуществляли по методу J.P.Carreau, J.P.Dubacq [16]. Обсчет и идентификацию пиков выполняли с помощью программно-аппаратного комплекса Хроматэк Аналитик 2.5 по временам удерживания с использованием стандартов фирмы «Supelco» (США). Количественный расчет хроматограмм проводили методом внутренней нормализации путем определения площадей пиков анализируемых компонентов и их доли (в относительных %) в общей сумме площадей пиков метилированных продуктов высших жирных кислот.

Все исследования были проведены с учетом требований Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2008 г.) и одобрена комитетом по биомедицинской этике при ДНЦ ФПД в соответствии с принципами конвенции о биомедицине и правах человека, а также общепризнанными нормами международного права. У всех женщин было получено информированное согласие на использование данных обследования в научных целях.

Все расчеты проводились с использованием программного обеспечения Statistika 6.0. Проверку нормальности распределения проводили по критерию Колмогорова-Смирнова. Анализируемые в статье данные имели нормальное распределение, поэтому проводился расчет средней арифметической (M) и ошибки средней арифметической (m). Проверку гипотезы о статистической значимости различных двух выборок проводили с помощью t-критерия Стьюдента и считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ результатов исследования показал, что при активации ЦМВИ у матери состав кислот ω -6 семейства изменялся в крови пуповины новорожденных. Так, концентрация линолевой кислоты в мембране эритроцитов крови пуповины новорожденных основной группы повышалась на 56% ($p < 0,001$) по сравнению с данным показателем группы контроля (табл.). Аналогичная динамика изменений наблюдалась и для другой кислоты ω -6 семейства – арахидоновой: ее концентрация превышала значения в группе контроля на 34% ($p < 0,001$).

В последнее время все больше исследований по-является в области изучения влияния ПНЖК на си-

стему гемостаза. Среди производных ПНЖК наиболее заметную роль в обеспечении нормального функционирования системы гемостаза играют метаболиты арахидоновой кислоты (оксипирины или эйкозаноиды), их образование может идти по двум энзиматическим путям: циклооксигеназному, с образованием простагландина I₂ и тромбоксана A₂, и липоксигеназному, приводящему к синтезу гидроксикоизотетраеновых кислот. До настоящего времени наибольшее внимание уделялось циклооксигеназному пути, по которому арахидоновая кислота преобразуется в нестабильный промежуточный простаноид H₂ под действием цитозольной простагландин-G/H-синтазы, обладающей как циклооксигеназной, так и гидропероксидазной активностью. Эту синтазу и принято называть циклооксигеназой [19]. Под действием специфических для разных тканей изомеров простагландин H₂ превращается в многочисленные простаноиды, которые активируют специфические рецепторы на мембранах клеток, принадлежащие к суперсемейству рецепторов, сопряженных с G-протеинами [1].

Таблица
Концентрация линолевой и арахидоновой кислот
в крови пуповины новорожденных от матерей с
ЦМВИ (M±m)

Показатели	Контрольная группа	Основная группа	p
Линолевая кислота, %	4,30±0,25	5,60±0,28	<0,001
Арахидоновая кислота, %	5,60±0,72	7,50±0,64	<0,001

Существует три первичных изоформы циклооксигеназы: циклооксигеназа-1 (конститутивная), циклооксигеназа-2 (индуцибельная), циклооксигеназа-3 (которая обнаруживается, главным образом, в центральной нервной системе) [15]. Изоформы циклооксигеназы кодируются разными генами с различной интенсивностью экспрессии в тканях. Ген циклооксигеназы-1 экспрессируется постоянно, практически во всех тканях. В клетках эндотелия сосудов циклооксигеназа-1 обеспечивает превращение арахидоновой кислоты в простагландин I₂, в тромбоцитах – в тромбоксан A₂, в стенках желудка и кишечника является источником защищающих слизистую оболочку цитопротективных простагландинов [1]. Все метаболиты арахидоновой кислоты принимают участие в регуляции практически всех звеньев свертывающей системы крови, в том числе способствуют проявлению тромборезистентных и прокоагуляционных свойств сосудистой стенки, модулируют процессы агрегации и адгезии, вмешиваются в плазменное звено гемостаза, изменяют фибринолитический потенциал крови и влияют на гемодинамические условия [14]. В здоровом организме образование простагландина I₂ сосудистым эндотелием и тромбоксана A₂ тромбоцитами происходит таким образом, что оно обеспечивает некоторое локальное преобладание концентрации простагландина

I₂, что предотвращает физиологически необоснованную агрегацию тромбоцитов, тромбообразование, спазм сосудов и осуществляет свободный ток крови в сосудах. Однако, простагландин-тромбоксановый коэффициент в определенных ситуациях может быть сдвинут в сторону тромбоксана A₂ со всеми вытекающими последствиями для гемостаза [1].

Действительно, в нормально функционирующих клетках, гидролиз мембранных липидов с высвобождением арахидоновой кислоты, происходит на довольно низком уровне, что обеспечивает небольшой уровень синтеза эйкозаноидов, которые локально регулируют функцию эндотелия [20]. В условиях же вирусной инфекции, на фоне активации процессов перекисного окисления липидов и угнетения антиоксидантной защиты, под действием циклооксигеназы образуются циклические эндоперекиси, повреждающие эндотелий кровеносных сосудов, в том числе пуповины. Ранее нами было показано, что высокая концентрация арахидоновой кислоты в периферической крови беременных с вирусной инфекцией оказывает повреждающее действие на эндотелий сосудов пуповины. При этом выявляются нарушения структурно-функциональной организации эндотелия и подэндотелиального слоя, что выражается увеличением разнородности эндотелиоцитов, снижением их упорядоченности расположения в монослой, увеличением числа клеток, находящихся в апоптотном состоянии, повышается уровень слущивания клеточных элементов в просвет сосуда [3, 9, 10].

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что реактивация ЦМВИ у матери приводит к увеличению содержания линолевой и предшественника провоспалительных эйкозаноидов – арахидоновой кислоты в крови пуповины новорожденных, и является одной из причин нарушения структурно-функциональной организации артерии сосудов пуповины. Выявленные изменения в крови пуповины и в эндотелии артерии пуповины могут явиться причиной нарушений эластических свойств сосудов, застойных явлений и тромбоза сосудов, а, следовательно, нарушений кровотока между матерью и плодом, что в дальнейшем может служить фактором развития внутриутробной гипоксии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бережанская С.Б., Тодорова А.С., Лукьянова Е.А. Роль оксипиринов в формировании эндотелиальной дисфункции и нарушении гемостаза при перинатальной патологии // Педиатрия. 2011. Т.90, №1. С.137–141.
2. Бочарова И.И. Клинико-иммунологические варианты патологических состояний у новорожденных, родившихся у матерей с урогенитальной инфекцией (диагностика, прогнозирование, технологии ведения): автореф. ... д-ра мед. наук. М., 2008. 44 с.
3. Дорофиев Н.Н. Ультраструктурные изменения эндотелиального слоя сосудов пуповины при цитомегаловирусной инфекции // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2013. Вып.50. С.82–88.

4. Дорофиев Н.Н., Ишутина Н.А. Выявление ионизированного кальция в ворсинчатом хорионе у беременных с герпес-вирусной инфекцией // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2007. Вып.24. С.20–23.

5. Запорожская Л.И., Гаммель И.В. Характеристика и биологическая роль эссенциальных полиненасыщенных жирных кислот // Медицинский совет. 2012. №12. С.134–137.

6. Исмаилов К.И., Юсупова М.А., Хафизов А.Х., Мухитдинова З.А. Состояние клеточного и гуморального иммунитета у новорожденных при внутриутробных инфекциях // Вестник Авиценны. 2013. №3. С.82–85.

7. Ишутина Н.А. Липидный состав крови пуповины новорожденных от матерей с патологическим течением беременности // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2008. Вып.30. С.56–58.

8. Ишутина Н.А., Дорофиев Н.Н. Пероксидация липидов при беременности, осложненной цитомегаловирусной инфекцией // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2014. Вып.54. С.66–69.

9. Ишутина Н.А., Дорофиев Н.Н. Интенсивность процессов перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантной системы в крови пуповины новорожденных от матерей с цитомегаловирусной инфекцией // Успехи современного естествознания. 2014. №9. С.11–13.

10. Ишутина Н.А., Дорофиев Н.Н. Роль арахидоновой кислоты в повреждении эндотелия сосудов при цитомегаловирусной инфекции // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2014. Вып.52. С.78–82.

11. Криворучко М.Ю., Квачко А.Н., Криворучко А.Ю. Показатели оксидативного стресса в плаценте при позднем гестозе // Экология человека. 2006. №4 S2. С.151–154.

12. Луценко М.Т. Цитомегаловирусная инфекция // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2012. Вып.44. С.131–136.

13. Луценко М.Т., Андриевская И.А., Ишутина Н.А. Морфофункциональная характеристика мембран эритроцитов у беременных, перенесших обострение герпес-вирусной инфекции // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2012. Т.154, №7. С.126–129.

14. Петрухина Г.Н., Макаров В.А. Природные эйкозаноиды в регуляции свертывания крови // Биохимия. 1998. Т.63, № 1. С. 111–121.

15. Burdan F., Chalas A., Szumilo J. Cyclooxygenase and prostanoids – biological implications // Postepy Hig. Med. Dosw. 2006. Vol.60. P.129–141.

16. Carreau J.P., Dubacq J.P. Adaptation of a macro-scale method to the micro-scale for fatty acid methyl transesterification of biological lipid extract // J. Chromatogr. 1978. Vol.151, Iss.3. P.384–390.

17. Cha Y.I., Solnica-Kresel L., DuBois R.N. Fishing for prostanoids: deciphering the developmental functions of cyclooxygenase-derived prostaglandins // Dev. Biol. 2006. Vol.289, №2. P.263–272.

18. Dutta-Roy A.K. Fatty acid transport and metabolism in the feto-placental unit and the role of fatty-acid-binding proteins // J. Nutr. Biochem. 1997. Vol.8, №10. P.548–557.

19. FitzGerald G.A., Patrono C. The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2 // N. Engl. J. Med. 2001. Vol.345, №6. P.433–442.

20. Yli-Jama P., Seljeflot I., Meyer H.E., Hjerkin E.M., Arnesen H., Pedersen J.I. Serum non-esterified very long-chain PUFA are associated with markers of endothelial dysfunction // Atherosclerosis. 2002. Vol.164, № 2. P.275–281.

REFERENCES

1. Berezhanskaya S.B., Todorova A.S., Luk'yanova E.A. Oxylipins role in the formation of endothelial dysfunction and hemostasis disturbance of perinatal pathology. *Pediatrics* 2011; 90(1):137–141 (in Russian).

2. Bocharova I.I. Clinical and immunological variants of pathological conditions in infants born to mothers with urogenital infection (diagnosis, prognosis, conducting technology): abstract of PhD thesis. Moscow; 2009 (in Russian).

3. Dorofienko N.N. Ultrastructural changes of endothelial layer of umbilical cord vessels at Cytomegalovirus infection. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2013; 50: 82–88 (in Russian).

4. Dorofienko N.N., Ishutina N.A. Ionized calcium detection in villous chorion in pregnant patients with herpesvirus infection. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2007; 24:20–23 (in Russian).

5. Zaporozhskaya L.I., Gammel' I.V. Characteristics and biological role of essential fatty acids. *Meditinskiy sovet* 2012; 12:134–137 (in Russian).

6. Ismaylov K.I., Yusupova M.A., Khafizov A.Kh., Mukhitdinova Z.A. Cellular and humoral immunity condition in infants with intrauterine infection. *Vestnik Avitsenny* 2013; 3:82–85 (in Russian).

7. Ishutina N.A. Lipid structure of umbilical blood of newborn from mothers with pathological pregnancy. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2008; 30:56–58 (in Russian).

8. Ishutina N.A., Dorofienko N.N. Lipid peroxidation in pregnancy complicated by Cytomegalovirus infection. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2014; 54:66–69 (in Russian).

9. Ishutina N.A., Dorofienko N.N. Intensity of lipid peroxidation and antioxidant system cord blood of newborns from mothers with Cytomegalovirus infection. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya* 2014; 9:11–13 (in Russian).

10. Ishutina N.A., Dorofienko N.N. The role of arachidonic acid in the damage of vessels endothelium in the umbilical cord at Cytomegalovirus infection. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2014; 52:78–82 (in Russian).

11. Krivoruchko M.Yu., Kvachko A.N., Krivoruchko A.Yu. Indicators of oxidative stress in placenta during late gestosis. *Ekologiya cheloveka* 2006; 4(Suppl.2):151–154 (in Russian).

12. Lutsenko M.T. Cytomegalovirus infection. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2014; 44:131–136 (in Russian).
13. Lutsenko M.T., Andrievskaya I. A., Ishutina N.A. Morphofunctional characteristics of erythrocyte membranes in pregnant women who have had an exacerbation of Herpes virus infections. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2012; 154(7):126–129 (in Russian).
14. Petrukina G.N., Makarov V.A. Natural eicosanoids in regulation of blood coagulation. *Biochemistry (Moscow)* 1998; 63(1):93–101 (in Russian).
15. Burdan F., Chalas A., Szumilo J. Cyclooxygenase and prostanoids – biological implications. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2006; 60:129–141.
16. Carreau J.P., Dubacq J.P. Adaptation of a macro-scale method to the micro-scale for fatty acid methyl transesterification of biological lipid extract. *J. Chromatogr.* 1978; 151(3):384–390.
17. Cha Y.I., Solnica-Kresel L., DuBois R.N. Fishing for prostanoids: deciphering the developmental functions of cyclooxygenase-derived prostaglandins. *Dev. Biol.* 2006; 289(2):263–272.
18. Dutta-Roy A.K. Fatty acid transport and metabolism in the feto-placental unit and the role of fatty-acid-binding proteins. *J. Nutr. Biochem.* 1997; 8(10):548–557.
19. FitzGerald G.A., Patrono C. The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. *N. Engl. J. Med.* 2001; 345(6):433–442.
20. Yli-Jama P., Seljeflot I., Meyer H.E., Hjerkin E.M., Arnesen H., Pedersen J.I. Serum non-esterified very long-chain PUFA are associated with markers of endothelial dysfunction *Atherosclerosis*. 2002; 164(2):275–281.

Поступила 05.05.2016

Контактная информация

Николай Николаевич Дорофиев,
кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории механизмов
этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при НЗЛ,
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 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,
22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation.
E-mail: dorofienko-nn@mail.ru