УДК 618.2-7:618.5-089.888:618.3-037

Кливак В.В.
Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова

МЕТАБОЛІЧНІ КРИТЕРІЇ РОЗВИТКУ ПОРУШЕНЬ В СИСТЕМІ МАТИ-ПЛАЦЕНТА-ПЛІД У ВАГІТНИХ З РІЗНИМИ ТИПАМИ ГЕРПЕТИЧНОЇ ІНФЕКЦІЇ

РЕЗЮМЕ. Мета: оцінити внутрішньоутробний стан плода, показники матково-плаценто-плодового кровообігу, а також дослідити стан антиоксидантних систем, вміст монооксиду нітрогену в організмі вагітних при різних типах герпетичної інфекції.

Матеріали та методи. Під спостереженням знаходились 120 вагітних в терміни гестації 22-24 тижні та 34-36 тижні вагітності, з яких у 40 було виявлено вірус простого герпесу I типу (ВПГ I), у 40 – вірус простого герпесу II типу (ВПГ II), у 40 – цитомегаловірусна інфекція (ЦМВ). В кожній з груп виділяли дві підгрупи в залежності від наявності загострення чи ремісії герпетичної інфекції. Досліджено показники фетоплацентарної гемодинаміки, внутрішньоутробного стану плода та оцінено активність процесів пероксидації ліпідів і білків, вміст вазоактивних молекул в організмі вагітних з герпетичною інфекцією.

Результати. Показано, що за умов герпетичної інфекції виявляються ознаки плацентарної дисфункції та дистресу плода, що доказово підтверджується даними біофізичного профілю плода, кардіотокографії та матково-плаценто-плодового кровотоку, які супроводжуються розладами метаболічних процесів в організмі вагітних, що виявилось в посиленні процесів пероксидації ліпідів, окисної модифікації білків на тлі зменшення ендогенних запасів глутатіону, протеїнових тіолів та падіння активності антиоксидантного ензиму супероксиддисмутази та супроводжувалось дисбалансом в системі вазодилятатори-вазоконстриктори, що проявляється зростанням продукції вазоконстрикторів та зменшенням рівня метаболітів оксиду азоту.

Висновки. Встановлено, що інфікування герпесом супроводжується ознаками плацентарної дисфункції, дистресу плода, посиленням процесів пероксидації ліпідів, окисної модифікації білків на тлі зменшення ендогенних запасів глутатіону, протеїнових тіолів та падінням активності антиоксидантного ензиму супероксиддисмутази.

Ключові слова: герпетична інфекція, пероксидація ліпідів, окисна модифікація білків, оксид азоту.

Герпетична інфекція відіграє важливу роль в патології вагітних, плода та новонароджених. Актуальність проблеми герпетичних інфекцій в перинатальній патології в останні роки в значній ступені виросла в зв'язку з несприятливими соціально-економічними змінами в житті суспільства, які проявляються в підвищенні ризику інфікування жінок в період вагітності.

У період імплантації і раннього ембріогенезу при негативному впливі герпетичної інфекції виникає плацентарна дисфункція, яка призводить до мимовільного переривання вагітності, затримки внутрішньоутробного розвитку плода [6].

З'являються порушення функціонального стану плода, численні органічні зміни в усіх відділах плаценти: розвиваються патологічні процеси в її різних ферментних системах, зміни матково-плацентарно-плодового кровотоку [7].

Подібна ситуація призвела до перегляду поглядів на герпетичну інфекцію і змусила визнати її роль у розвитку різних акушерських та перинатальних патологічних станів.

Незважаючи на значне число наукових досліджень, отримані в них дані є неповними, часом суперечливими.

Насамперед, це стосується етіопатогенетичної ролі вірусу простого герпесу I типу, генітального герпесу, а також ЦМВ-інфекції у розвитку порушень стану системи мати-плацента-плід.

За даними літератури, патогенез дистресу плода асоціюється з активацією процесів окисної модифікації білків і ліпідів, порушенням балансу в системі вазоконстриктори-вазодилятатори [3]. Проте, залишається невивченим, в якій мірі розлади цих процесів інтегровані в формування дистресу плода за герпетичної інфекції. Все це гальмує розробку ефективних заходів профілактики, діагностики, прогнозування та лікування дистресу плода.

Метою нашої роботи було оцінити внутрішньоутробний стан плода, показники матково-плаценто-плодового кровообігу, а також дослідити стан антиоксидантних систем, вміст монооксиду нітрогену в організмі вагітних при різних типах герпетичної інфекції.

Матеріали та методи

Відповідно до завдань дослідження нами було комплексно обстежено 120 вагітних в терміни гестації 22-24 тижні та 34-36 тижні вагітності,

© Кливак В.В.

з яких у 40 було виявлено вірус простого герпесу I типу (ВПГ I), у 40 – вірус простого герпесу II типу (ВПГ II), у 40 – цитомегаловірусна інфекція (ЦМВ). Виділення двох підгруп у кожній з груп проведено в зв'язку з наявністю загострення чи ремісії герпетичної інфекції, відповідно: ВПГ I З (10) з загостренням ВПГ I типу, ВПГ I Р (30) – ремісія ВПГ I типу; в групу ВПГ II З включено 9 вагітних з загостренням ВПГ II типу, до групи ВПГ II Р віднесені 31 вагітна з ремісією ВПГ II типу; відповідно, група ЦМВ З – 11 вагітних з загостренням ЦМВ інфекції та група ЦМВ Р – 29 вагітних з ремісією ЦМВ інфекції. Перехресні та супутні значущі мікробні асоціації були виключені протягом проведення дослідження.

Оцінку біофізичного профілю плода проводили за методикою A.M. Vintzileos в модифікації Л.Г. Сичинави і О.І. Шраер. Кардіотокографічну оцінку стану плода виконували у всіх жінок, починаючи з 30 тижня вагітності, за допомогою приладу «Sonicaid» за загальноприйнятою методикою з комп'ютерною обробкою отриманих даних та наступною оцінкою стану плода за шкалою Фішера. Доплерометрію матково-плацентарного та плодово-плацентарного кровообігу виконували на 22-24 та 34-36 тижнях вагітності за допомогою цифрового ультразвукового доплерівського комплексу «ULTIMA PA» (Харьків) з цифровими ультразвуковими датчиками С2-5/60 Е; ЕС4 – 9/10.

Біохімічні дослідження проведені в сироватці крові вагітних усіх груп. Забір крові здійснювався в стандартних умовах – з 8 до 9 годин ранку, натще, після нічного голодування, з ліктьової вени за допомогою вакутейнерів у пробірки Vacuette (Greiner Bio-One, Австрія) без антикоагулянтів. Сироватку крові отримували зразу ж після її взяття, шляхом центрифугуванням крові при 1500 об/хв. протягом 20 хв. і зразу ж використовували для аналізу.

Рівень протеїнових SH-груп в плазмі крові визначали за реакцією з реактивом Елмана – 5,5'-дітіобіс(2-нітробензоатом) [1]. Рівень малонового діальдегіду оцінювали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [2], а карбонільних груп протеїнів – за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразином. Вміст відновленого глутатіону визначали у трихлороцтовому фільтраті крові в глутатіонтрансферазній реакції. Концентрацію протеїну в препаратах визначали за методом Лоурі [8]. Активність супероксиддисмутази (КФ 1.15.1.1) – за ступенем пригнічення окислення кверцитину [5]. Аргінін в сироватці крові визначали за реакцією Сакагучі, яка включає утворення забарвленого комплексу аргініну з альфа-нафтолом в присутності гіпобромідy в лужному середовищі. Суму нітритів та нітратів в плазмі крові визначали за реакцією з реактивом Грісса [4].

Також проведено дослідження імунологічних показників в сироватці крові вагітних з різними типами герпетичної інфекції шляхом лабораторного дослідження з використанням імуноферментного аналізу та молекулярно-біологічного методу дослідження за допомогою методу ПЛР.

Статистична обробка отриманих результатів була проведена із застосуванням пакета «STATISTICA 6.1» (належить НДЦ ВНМУ ім. М.І. Пирогова, ліцензійний № BXXR901E246022FA) з використанням непараметричних методів оцінки отриманих результатів. Оцінювали правильність розподілу ознак за кожним з отриманих варіаційних рядів, середні значення по кожній ознаці, що вивчалася, стандартні відхилення. Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали за допомогою U-критерія Мана-Уітні, а між залежними – за допомогою критерію Вілкоксона.

Результати дослідження. Їх обговорення

Стан імунологічних показників у обстежених вагітних відповідав змінам, характерним для різних типів герпетичної інфекції, але середній рівень IgM був найвищим в групі вагітних з ЦМВ-інфекцією (ЦМВ З) – 6,259±5,597 в терміні 22-24 тижні, що свідчило про певну гостроту процесу, та знизився до норми (0,56±0,219) в терміні гестації 34-36 тижнів ($p<0,01$). В той же час, середній рівень IgG був найбільш значним в групі вагітних з генітальним герпесом (ВПГ II З) саме в терміні вагітності 34-36 тижнів (38,04±27,52), хоча в терміні гестації 22-24 тижні рівень IgG був нижчим в середньому більше, ніж в 7 разів (5,308±3,898), що могло свідчити про вторинну імунну відповідь при інфікуванні вірусом герпесу. Таким чином, було з'ясовано характер змін в перебігу різних типів герпетичної інфекції.

Доплерометричні дослідження показали, що у вагітних з різними типами герпетичної інфекції виникають значні порушення кровотоку в фетоплацентарній системі. Розлади гемодинаміки в артерії пуповини спостерігались в усіх групах вагітних, але були найбільш вираженими в групі вагітних з ВПГ I типу (ВПГ I З) (СДС – 3,587±0,124). У групі вагітних з генітальним герпесом (ВПГ II З) найглибші зміни стосувались маткової артерії, де індекс СДС становив 2,472±0,165. У групі вагітних з ЦМВ-інфекцією індекси судинного опору як в матковій, так і в

артерії пуповини виходили за фізіологічні межі нормального кровотоку(СДС – 2,477±0,157 та ПІ – 1,289±0,072 у матковій артерії). Отже, за умов герпетичного інфікування порушується гемодинаміка в матковій артерії та артерії пуповини. Загострення герпесу потенціює негативний вплив на фетоплацентарну гемодинаміку.

На наступному етапі ми провели кардіотокографічні дослідження та оцінили біофізичний профіль плода (БПП) у вагітних з різними типами герпетичної інфекції. У вагітних з герпетичною інфекцією реєструється порушення функціонування плода, доказом чого є зниження показників біофізичного профілю плода та кардіотокографії. Встановлено, що за умов загострення герпетичної інфекції бали БПП були достовірно нижчими, ніж у вагітних з герпетичною інфекцією в стадії ремісії. Найменшими бали даного дослідження були в групі ВПГ І З в терміні 36 тижнів гестації – відповідно, 6,0±2,211 (ДІ: [6-7]) ($p<0,05$) ($p<0,001$), в той час як при розшифруванні даних КТГ достовірно найнижчими виявились бали в групі ВПГ ІІ З також в терміні 36 тижнів вагітності – відповідно, 5,333±2,121 (ДІ: [5-6]) ($p<0,001$).

У групі вагітних з ВПГ І типу біохімічні зміни виявлялись в зростанні продуктів окисної деструкції білків (вміст карбонільних груп був найвищим в групі ВПГ І З –90,74±8,16) ммоль/л ($p<0,001$) в терміні 34-36 тижнів). В групі вагітних з генітальним герпесом найгостріші зміни стосувались формування дефіциту нітроген монооксиду (в групі ВПГ ІІ З – 1,449±0,381 кмоль/л) та зростання продуктів окисної деструкції ліпідів (малонового діальдегіду (максимально в групі ВПГ ІІ З – 4,451±0,863) ($p<0,01$) на 34-36 тижнях вагітності) в сироватці крові вагітних. В групі вагітних з цитомегаловірусною інфекцією найчастіше розвивався тіол-дисульфідний дисбаланс (найнижчим даний показник був групі ЦМВ З – 4,232±0,739 ммоль/л ($p<0,001$) на 34-36 тижнях вагітності). Отже, було виявлено найбільш значущі метаболічні предиктори, які інтегровані в патогенез порушень системи мати-плацента-плід, в тому числі, фетоплацентарної гемодинаміки, у вагітних з різними типами герпетичної інфекції.

Далі ми дослідили стан процесів пероксидації в сироватці крові жінок дослідних груп. Виявлено, що у вагітних з різними типами герпетичної інфекції посилюються процеси окисної деструкції білків та ліпідів – вміст карбонільних груп був найвищим у групі простого герпесу в стадії загострення (в групі ВПГ І З – 90,4±11,39 (ДІ: [82,49 – 97,38]) ($p<0,01$) в терміні 22-24 тижні та 90,74±8,16 (ДІ: [84,63 – 98,24]) ммоль/л ($p<0,001$) в терміні 34-36 тижні) та ліпідів (малонового діальдегіду (максимально в групі ВПГ ІІ З – 4,451±0,863 (ДІ: [3,56 – 5,23]) ($p<0,01$), та у групі ЦМВ З – 4,39±0,615 мкмоль/л (ДІ: [3,99 – 4,83]) ($p<0,05$) на 34-36 тижнях вагітності)).

З'ясувалось, що при герпетичній інфекції в сироватці крові вагітних відмічається також падіння вмісту протеїнових сульфгідрильних груп, спостерігався розвиток тіол-дисульфідного дисбалансу (найнижчим даний показник був групі ЦМВ З – 4,232±0,739 (ДІ: [3,65 – 7,74] ммоль/л ($p<0,001$) на 34-36 тижнях вагітності), зменшення запасів глутатіону (низьким даний показник був в групах загострення герпетичних інфекцій, а найменшим – в групі ЦМВ З – 2,368±0,549 мкмоль/л (ДІ:[1,98 – 2,86]) ($p<0,001$) на 22-24 тижні вагітності).

Встановлено, що у групі вагітних з різними типами герпетичної інфекції виявляється дисбаланс в ензимних системах, які забезпечують генерцію та інактивацію реактивних кисневих інтермедіатів, масштабність якого значно зростає за умов приєднання плацентарної недостатності. Так, в сироватці крові вагітних з герпес-вірусною інфекцією падає активність супероксиддисмутази знижується (з найнижчим рівнем в групі ЦМВ З – 24,25±5,09 ум.од/мг білку (ДІ: [20,44 – 27,56]) в терміні 34-36 тижні гестації).

У наступній частині роботи ми оцінили маркери метаболізму нітроген монооксиду, а також рівень нещодавно відкритого вазоактивного месенджера – гідроген сульфіду в сироватці крові вагітних. В наших дослідженнях показано, що за умов герпетичної інфекції формувався дефіцит нітроген монооксиду (особливо, в групі ВПГ ІІ З на 34-36 тижнях гестації – 1,449±0,381 кмоль/л (ДІ: [1,09 – 1,73]) в сироватці крові вагітних.

Таким чином, проведені дослідження показали, що за умов герпетичної інфекції виявляються ознаки плацентарної дисфункції та дистресу плода, що доказово підтверджується даними біофізичного профілю плода, кардіотокографії та матково-плаценто-плодового кровотоку. Виявлені зміни внутрішньоутробного стану плода за цих патологічних станів супроводжуються розладами метаболічних процесів в організмі вагітних. Показано, що у вагітних з герпес-вірусною інфекцією різних типів посилюються процеси пероксидації ліпідів, окисної модифікації білків на тлі зменшення ендогенних запасів глутатіону, протеїнових тіолів та падіння активності антиоксидантного ензиму супероксиддисмутази. Слід зазначити, що за цих умов реєструється дисбаланс в системі вазодилятатори-вазоконстриктори, що проявля-

ється зростанням продукції вазоконстрикторів та зменшенням рівня метаболітів оксиду азоту.

Перспективи подальшого дослідження

Результати досліджень розширюють уявлення про причини та механізми розвитку порушень в системі мати-плацента-плід у вагітних з герпетичною інфекцією різних типів. За результатами імунологічних, біохімічних, інструментальних (доплерометрія, кардіотокографія) досліджень виявлено діагностичні особливості порушень в системі мати-плацента-плід, за допомогою яких можливо створення системи прогнозування перебігу вагітності та стану плода при різних типах герпетичної інфекції та розроблення необхідної тактики ведення та лікування вагітних з різними типами герпетичної інфекції.

Висновки

У вагітних з різними типами герпетичної інфекції виникають розлади маткового-плацентарно-плодового кровотоку, що виявляються в достовірному підвищенні систоло-діастолічного співвідношення, індексу резистентності та пульсаційного індексу в маткових артеріях та артеріях пуповини, а також розвиваються порушення внутрішньоутробного стану плода.

За умов герпес-вірусного інфікування накопичуються продукти окисної деструкції білків та ліпідів – малоновий діальдегід та карбонільні групи протеїнів, виникає тіол-дисульфідний дисбаланс, достовірно зменшується вміст глутатіону та активність супероксиддисмутази.

Показано, що у вагітних жінок з герпетичною інфекцією різних типів реєструється достовірне падіння вмісту L-аргініну та метаболітів оксиду азоту в сироватці крові.

Список літератури

1. *Колориметрический метод определения SH-групп и S-S-связей в белках при помощи 5,5'-дитиобис(2-нитробензойной кислоты) кислоты/ И. В. Веревкина, А. И. Точилкин, Н. А. Попова// Современные методы в биохимии; под. ред. В.Н. Ореховича. – М.: «Медицина», 1977. – С 223–228.*
2. *Владимиров Ю. А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах/ Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков. – М.: Наука, 1972. – 252 с.*
3. *Неотложные состояния в акушерстве: учебник/ Гайструк А. Н., Гайструк Н. А. , Мороз О. В. – [Изд. третье]. – Винница: КНИГА-ВЕГА, 2009. – 576 с.*
4. *Коренман И. М. Методы определения органических соединений/ И. М. Коренман – М.: Химия, 1975. – 360 с.*
5. *Костюк В. А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцитина/ В. А. Костюк, А. И. Потапович// Вопр. мед. химии. – 1990. – № 2. – С. 88–91.*
6. *Нисевич Л. Л. Внутриутробная инфекция: мать-плацента-плод/ Л.Л. Нисевич// Дет. инфекции. – 2008. – №2. – С. 9–13.*
7. *Роль генитальної герпетичної інфекції в розвитку плацентарної недостатності/ Л.В. Тютюнник, З.С. Засадієва, Н.І. Бубнова// Вісник асоціації акушерів-гінекологів України. – 2003. – №1. – С. 34–38.*
8. *Protein measurement with the Folin phenol reagent/ O. H. Lowry, N. J. Rosenbrough, A. L. Farr// J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193. – P. 265–276.*

14.05.2014

КЛЫВАК В.В.
Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ РАЗВИТИЯ НАРУШЕНИЙ В СИСТЕМЕ МАТЬ-ПЛАЦЕНТА-ПЛОД У БЕРЕМЕННЫХ С РАЗНЫМИ ТИПАМИ ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ

РЕЗЮМЕ. Цель: оценить внутриутробное состояние плода, показатели маточно-плацента-плодового кровообращения, а также исследовать состояние антиоксидантных систем, содержание монооксида азота в организме беременных при различных типах герпетической инфекции.

Материалы и методы: под наблюдением находились 120 беременных в сроке гестации 22-24 недели и 34-36 недель беременности, из которых у 40 был обнаружен вирус простого герпеса I типа (ВПГ I), у 40 – вирус простого герпеса II типа (ВПГ II), у 40 – цитомегаловирусная инфекция (ЦМВ). В каждой из групп выделяли две подгруппы в зависимости от наличия обострения или ремиссии герпетической инфекции. Исследованы показатели фето-плацентарной гемодинамики, внутриутробного состояния плода и оценена активность процессов пероксидации жиров и белков, содержание вазоактивных молекул в организме беременных с герпетической инфекцией.

Результаты Показано, что при герпетической инфекции выявляются признаки плацентарной дисфункции и дистресса плода, что доказательно подтверждается данными биофизического профиля плода, кардиотокографии и маточно-плацента-плодового кровотока, которые сопровождаются расстройствами метаболических процессов в организме беременных, что проявилось в усилении процессов пероксидации липидов, окислительной модификации белков на фоне уменьшения эндогенных запасов глутатиона, протеиновых тиолов и падения активности антиоксидантного энзима супероксиддисмутазы и сопровождалось дисбалансом в системе вазодилататоры-вазоконстрикторы, что проявилось ростом продукции вазоконстрикторов и уменьшением уровня метаболитов оксида азота.

Выводы: Установлено, что инфицирование герпесом сопровождается признаками плацентарной дисфункции, дистресса плода, усилением процессов пероксидации липидов, окислительной модификации белков на фоне уменьшения эндогенных запасов глутатиона, протеиновых тиолов и падением активности антиоксидантного энзима супероксиддисмутазы.

Ключевые слова: герпетическая инфекция, перексидация липидов, окислительная модификация белков, оксид азота.

KLIVAK V.V.
Vinnitsa National Medical University named after M.I. Pirogov

METABOLIC CRITERIA OF DISTURBANCES IN THE MOTHER-PLACENTA-FETUS SYSTEM WITH DIFFERENT TYPES OF HERPETIC INFECTION IN PREGNANT WOMEN

SUMMARY. Purpose: to estimate prenatal condition of fetus, indices of utero-placental circulation, condition of antioxidant systems, nitrogen monoxide content in the body of pregnant women in different types of herpetic infection.

Materials and Methods: 120 pregnant women were examined in the following periods of gestation 22-24 weeks and 34-36 weeks (40 – with herpes simplex virus type I, 40 – with herpes simplex virus type II, 40 with cytomegalovirus). We have also studied indices of fetoplacental hemodynamics, prenatal condition of fetus and estimated activity of lipid and protein peroxidation processes, content of vasoactive molecules in the body of pregnant women with herpetic infection.

Results: it was found out that infection of herpes is accompanied by signs of placental dysfunction and fetal distress It was confirmed by, cardiotocography estimation of fetal biophysical profile and utero-placental-fetal blood flow, which are accompanied by disorders of metabolic processes in pregnants. Under the conditions of herpes viral infection the following products of oxidative degradation of proteins and lipids are accumulated – malonic dialdehyde and carbonyl groups of protein, thiol-disulfide imbalance occurs, and glutathione content and superoxide dismutase activity is significantly reduced. It is shown that pregnant women with herpetic infection of different types have a significant decrease in the content of L-arginine and nitric oxide metabolites in blood serum.

Conclusions: it was found out that infection of herpes is accompanied by signs of placental dysfunction, fetal distress, increased lipid peroxidation processes, oxidative modification of proteins on the background of reduced endogenic stock of glutathione, protein thiols and decrease of superoxide dismutase antioxidant enzyme activity.

Key words: herpetic infection, lipid peroxidation, oxidative modification of proteins, nitric oxide.