



Изменения свойств эритроцитов крови у родильниц после кесарева сечения в зависимости от метода ведения периперационного периода

Д.Р. Меджидова¹✉, Е.М. Шифман², В.Р. Абдуллаев³, М.О. Муслимов¹

¹ ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; Россия, г. Махачкала

² ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского»; Россия, г. Москва

³ ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный университет»; Россия, г. Кизляр

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: изучить изменения структурно-функциональных показателей эритроцитов крови у родильниц при кесаревом сечении в зависимости от метода ведения периперационного периода (ПП), на всех его этапах.

Дизайн: сравнительное групповое ретроспективное и проспективное исследование.

Материалы и методы. В исследование включены пациентки ($n = 81$), которым проводилось плановое кесарево сечение в условиях спинальной анестезии (СА). Контрольную группу составили 38 родильниц, у которых ПП велся традиционно. В основной группе 43 родильницы велись по программе ускоренного восстановления (ПУВ): отказ от механической очистки кишечника, прием глюкозосодержащего напитка за 2 ч до операции, антибиотикопрофилактика за 1 ч до операции (цефазолин 2 г внутривенно). Забор крови и исследование структурно-динамических параметров мембран эритроцитов крови пациенток проводили на разных этапах ПП: до СА, после развития СА, к концу операции; исследовали также пуповинную кровь.

Результаты. В контрольной группе на разных этапах кесарева сечения полярность аннулярных и общих липидов, а также вязкость общих липидов достоверно не изменялись. К концу операции повышались текучесть аннулярных липидов на 24% и параметр эффективности переноса энергии возбуждения с триптофановых остатков мембранных белков эритроцитов пуповиной крови на пирен ($(F_0 - F)/F_0$) — на 11%. В основной группе после развития СА и к концу операции в мембранах эритроцитов крови показатель $(F_0 - F)/F_0$ снизился на 10%; текучесть аннулярных липидов повысилась до СА и к концу операции на 25%, после развития СА — на 30% относительно контрольной группы до СА. Константы диссоциации 1-анилинонафталин-8-сульфоната с белками плазмы крови и эритроцитарными мембранами в контрольной группе до СА существенно отличаются: Kd_2 больше Kd_1 в 5,34 раза. Число центров связывания в эритроцитах в 12 раз меньше, чем в белках плазмы.

Заключение. Концепция ПУВ, которая способствует быстрому восстановлению пациента, может препятствовать усилению окислительно-воспалительных процессов, что позволяет разработать новые терапевтические методы для улучшения реологических свойств крови при многих клинических состояниях.

Ключевые слова: периперационный период, программа ускоренного восстановления, углеводный напиток, кесарево сечение, конформационные изменения белков.

Для цитирования: Меджидова Д.Р., Шифман Е.М., Абдуллаев В.Р., Муслимов М.О. Изменения свойств эритроцитов крови у родильниц после кесарева сечения в зависимости от метода ведения периперационного периода. Доктор.Ру. 2023;22(1):56–61. DOI: 10.31550/1727-2378-2023-22-1-56-61



Changes in RBC Profile in Mothers After Caesarean Section Depending on the Perioperative Management Method

D.R. Medzhidova¹✉, E.M. Shifman², V.R. Abdullaev³, M.O. Muslimov¹

¹ Dagestan State Medical University; 1 Lenina Str., Makhachkala, Russian Federation 367000

² M.F. Vladimirovsky Moscow Regional Research Clinical Institute; 61/2 Schepkina Str, Moscow, Russian Federation 129110

³ Dagestan State University; 37 Magomed Gadzhieva Str., Makhachkala, Russian Federation 367000

ABSTRACT

Aim: To study the changes in the structural and functional parameters of blood erythrocytes in maternity women during cesarean section, depending on the method of management of the perioperative period (PP), at all its stages.

Design: Comparative group retrospective and prospective study.

Materials and methods. The study included patients ($n = 81$) who underwent a planned cesarean section under spinal anesthesia (SA). The control group consisted of 38 maternity hospitals, in which PP was conducted traditionally. In the main group, 43 maternity hospitals were conducted according to the accelerated recovery program: refusal of mechanical intestinal cleansing, glucose-containing drink 2 hours before surgery, antibiotic prophylaxis 1 hour before surgery (cefazolin 2 g intravenously). Blood sampling and examination of the structural

✉ Меджидова Джаминат Расуловна / Medzhidova, D.R. — E-mail: dzhamilya-med@mail.ru

and dynamic parameters of the erythrocyte membranes of the patients' blood were carried out at different stages of PP: before CA, after the development of CA, by the end of the operation; umbilical cord blood was also examined.

Results. In the control group, the polarity of annular and total lipids, as well as the microviscosity of total lipids, did not significantly change at different stages of Cesarean section. By the end of the operation, the fluidity of annular lipids increased by 24% and the parameter of the efficiency of the transfer of excitation energy from tryptophan residues of erythrocyte membrane proteins by umbilical cord blood to pyrene ($(F_0-F)/F_0$) increased by 11%. In the main group, after the development of CA and by the end of the operation, the index $(F_0-F)/F_0$ in the membranes of red blood cells decreased by 10%; the fluidity of annular lipids increased to CA and by the end of the operation by 25%, after the development of CA — by 30% relative to the control group to CA. The dissociation constants of 1-anilinonaphthalene-8-sulfonate with plasma proteins and erythrocyte membranes in the control group up to CA differ significantly: Kd_2 is 5.34 times greater than Kd_1 . The number of binding centers in erythrocytes is 12 times less than in plasma proteins.

Conclusion. The concept of PUV, which promotes rapid recovery of the patient, can prevent the intensification of oxidative-inflammatory processes, which allows the development of new therapeutic methods to improve the rheological properties of blood in many clinical conditions.

Keywords: perioperative period, accelerated recovery program, carbohydrate drink, caesarean section, conformational changes in proteins.

For citation: Medzhidova D.R., Shifman E.M., Abdullaev V.R., Muslimov M.O. Changes in RBC profile in mothers after caesarean section depending on the perioperative management method. Doctor.Ru. 2023; 22(1):56–61. (in Russian). DOI: 10.31550/1727-2378-2023-22-1-56-61

ВВЕДЕНИЕ

Способ родоразрешения может существенно повлиять на состояние здоровья матери и новорожденного. В мире ежегодно выполняется около 18,5 млн операций кесарева сечения (КС). Более 20% беременных женщин рожают с помощью операции КС. В то же время КС — это хирургическое вмешательство, потенциально опасное как для матери, так и для ребенка [1].

Из-за гипердинамической реакции системы кровообращения, увеличения интенсивности метаболизма и потребности в кислороде, а также наличия плаценты как основного источника активных форм кислорода (АФК), сама по себе беременность представляет собой прооксидантное состояние, которое увеличивается со сроком гестации. Во время оперативного родоразрешения чрезмерное образование свободных радикалов также может быть вызвано несколькими механизмами: гипоксией (эпизоды гипотонии, угнетение дыхания), повышением провоспалительных цитокинов (ФНО, ИЛ-6), активизацией метаболического каскада арахидоновой кислоты, болью, нейроэндокринным ответом на стресс с последующей гипертензией, сужением сосудов и снижением перфузии тканей, травмой тканей с активацией нейтрофилов или гипероксией (искусственная вентиляция легких).

Внедрение программы ускоренного восстановления пациентов (ПУВ) при плановой операции КС способствует быстрому восстановлению пациенток за счет оптимизации различных элементов ухода, улучшения реабилитации [2].

Широкое признание такого подхода к лечению, несомненно, связано с растущими доказательствами преимуществ данного метода: снижением материнской заболеваемости, более коротким временем госпитализации и быстрым возвращением к обычному распорядку дня в случаях, когда использовалась ПУВ [3].

Однако безопасность и эффективность ПУВ при КС остаются спорными. Методом флуоресцентной спектроскопии нами показано, что КС сопровождается конформационными изменениями белков плазмы крови и мембран эритроцитов на фоне окислительной модификации макромолекул и снижения антиоксидантной ёмкости крови [4]. Поэтому необходимы дополнительные исследования, чтобы получить более подробные данные о структурных изменениях на клеточном уровне после внедрения ПУВ при КС.

Целью нашего исследования является изучение изменений структурно-функциональных показателей эритроцитов крови у рожениц при КС в зависимости от метода ведения периоперационного периода (ПП) на всех его этапах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено сравнительное групповое ретроспективное и проспективное исследование. Критерии включения: доношенная беременность, рубец на матке после 2 и более операций КС, поперечное положение плода, патология костей таза (анатомически узкий таз 3–4-й степени сужения). Критерии исключения: преждевременные роды, макросомия плода, многоплодная беременность, преэклампсия любой степени тяжести, массивная кровопотеря (более 30% объема циркулирующей крови), высокий риск гнойно-септических осложнений, сахарный диабет, ожирение и другая соматическая и акушерская патология. В исследование были включены пациентки ($n = 81$; средний возраст 30 ± 2 года; 22–38 лет), которым проводилось плановое КС под спинальной анестезией.

Все пациентки подписали информированное согласие на проведение исследования. Проведение исследования одобрено Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет» (протокол № 23 от 17.04.2018).

Выделены две группы рожениц. Контрольную (I) группу составили роженицы ($n = 38$), у которых ПП велся традиционно (голодание более 8 ч до операции, введение антибиотика после пережатия пуповины). ПП рожениц ($n = 43$) основной группы (II) велся по ПУВ с введением антибиотика цефазолина (2 г внутривенно за 1 ч до разреза на коже) и глюкозосодержащего напитка (за 2 ч до операции).

Забор крови проводили у каждой пациентки в разные промежутки времени: до начала проведения анестезии (этапы Ia и IIa), после развития анестезии до разреза на коже (этапы Ib и IIb), к концу операции (этапы Iv и IIv). На этапах Ig и IIg производили забор пуповинной крови. Всего получили 114 образцов исследуемого материала пациенток I группы и 129 образца исследуемого материала пациенток II группы.

При выполнении настоящей работы использовались методы подготовки биологического материала и спектральные методы анализа. Забор крови для анализа у рожениц всех групп и получение мембран эритроцитов крови осуществляли по методу Доджи с модификацией А.Н. Кленовой [5]. Исследование структурно-динамических свойств мембран эритроцитов (вязкости липидной фазы, микровязкости аннулярных липидов, степени погружения белков в липидный слой) и белков плазмы проводили методом зондовой спектроскопии с использованием флуоресцентных зондов 1-анилинонафталин-8-сульфоната (АНС) и пирена на спектрофлуориметре Hitachi F-7000 [6].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием t -критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В эритроцитах родильниц контрольной группы на этапах подготовки и КС в исследованных показателях достоверных изменений не наблюдается, за исключением двух показателей. Так, на этапах Iв (к концу операции) и Iг (пуповинная кровь) в мембранах эритроцитов родильниц коэффициент эксимеризации пирена в аннулярных липидах (24%) достоверно повышен относительно этапа Ia. Параметр эффективности переноса энергии возбуждения с триптофановых остатков мембранных белков эритроцитов пуповинной крови на пирен ((F₀-F)/F₀), повышается на 11% относительно этапа Ia (рисунк). Параметр F₃₇₀/F₃₉₀ (λ_{возб} = 280 и 337 нм), характеризующий полярность микроокружения зонда в области аннулярных и общих липидов, а также микровязкость общих липидов, достоверно не изменяются.

В основной группе наблюдались достоверные изменения в трех исследованных параметрах. На этапах IIб и IIв в мембранах эритроцитов крови родильниц показатель (F₀-F)/F₀ снижался на 10% относительно Ia, достоверно уменьшалась микровязкость аннулярных липидов (повышалась текучесть). Достоверное снижение микровязкости наблюдалось и в общих липидах эритроцитов на этапах IIа и IIв (на 25%) и IIб (на 30%) относительно Ia (рис.).

АНС широко применяется для исследований структурно-динамических характеристик мембран в качестве флуоресцентного зонда. Мы рассчитали кинетические параметры связывания АНС — y_{max} и Kd методом регрессионного многомерного нелинейного анализа, используя в опции «нелинейное оценивание» уравнение y = y_{max} × [ANS]/(Kd + [ANS]), где y — интенсивность флуоресценции, y_{max} — максимальная интенсивность флуоресценции, Kd — константа диссоциации; y_{max} зависит от числа мест связывания зонда (N), с таким образом, может опосредованно отражать это число [15].

Константы диссоциации АНС с белками плазмы крови и эритроцитарными мембранами в контрольной группе на этапе Ia существенно различались: Kd₂ был больше Kd₁ в 5,34 раза (таблица). Различалось и кажущееся число центров связывания АНС (N₁ и N₂). Число центров связывания в эритроцитах в 12 раз меньше, чем в белках плазмы (таблица). Данный факт является следствием связывания АНС

с гидрофобными карманами белка (имеющими более высокое сродство к зонду) и с остатками положительно заряженных аминокислот (имеющих более низкое сродство к зонду).

Интенсивность флуоресценции АНС и кинетика его связывания с белками плазмы и эритроцитами крови претерпевает значительные изменения на всех этапах КС в обеих группах родильниц. Из таблицы видно, что кажущееся число центров связывания АНС в белках плазмы крови в контрольной группе имеет тенденцию к снижению и к концу операции КС достигает 8% (этап Iв). В эритроцитах, относительно плазмы крови, наблюдается противоположная тенденция: кажущееся число центров связывания АНС с эритроцитами на этапах Iб и Iв повышается на 13% и 17% относительно Ia. При этом количество центров связывания АНС с эритроцитами на этапе Iг достоверно не изменяется, а в плазме снижается на 16% относительно Ia.

АНС обратимо взаимодействует с белками плазмы и эритроцитами, и это сродство определяется величиной константы диссоциации комплекса АНС–биологический субстрат. В плазме значение K1 в контрольной группе на всех этапах КС достоверно снижается (этап Iб — 23%, Iв — 27%, Iг — 43%) относительно этапа Ia. В эритроцитах в контрольной группе снижение значения K₂ наблюдается на этапах Iв (22%) и Iг (27%) относительно этапа Ia.

Анализ изменений кинетических параметров связывания АНС в основной группе в белках плазмы крови способствует дальнейшему снижению числа центров связывания N₂ и K₂ на всех этапах КС, тогда как в эритроцитах происходит дальнейший рост показателя N₂ на этапах IIа (14%), IIб (35%), IIв (37%) относительно этапа Ia и снижение K₂ на 9%, 18%, 23%, 31% соответственно. В эритроцитах пуповинной крови в основной группе достоверных изменений в значении N₂ относительно этапа Ia не наблюдалось.

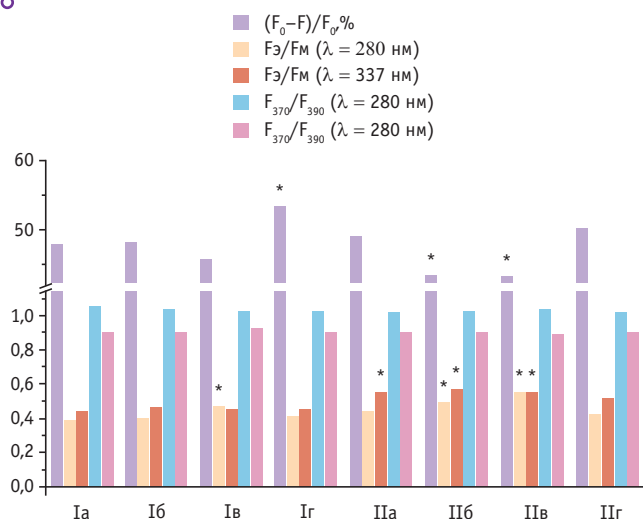
Таблица / Table

Кинетические параметры связывания АНС с белками плазмы и эритроцитов крови
Kinetic parameters of ANS binding to plasma and RBC proteins

Этап	Плазма		Эритроциты	
	N ₁ , усл. ед.	Kd ₁ , мкМ	N ₂ , усл. ед.	Kd ₂ , мкМ
<i>Контрольная группа</i>				
Ia	10 466 ± 340	13,22 ± 1,2	867 ± 36	70,53 ± 6,33
Iб	9807 ± 310	10,11 ± 1,1 p ₁₋₂ < 0,05	980 ± 42 p ₁₋₂ < 0,05	70,42 ± 6,21
Iв	9592 ± 260 p ₁₋₃ < 0,05	9,60 ± 1,0 p ₁₋₃ < 0,02	992 ± 47 p ₁₋₃ < 0,05	54,70 ± 4,84 p ₁₋₃ < 0,05
Iг	8753 ± 365 p ₁₋₄ < 0,001	7,54 ± 0,92 p ₁₋₄ < 0,001	798 ± 44	51,64 ± 5,22 p ₁₋₄ < 0,02
<i>Основная группа</i>				
IIа	8682 ± 385 p ₁₋₅ < 0,005	8,14 ± 1,03 p ₁₋₅ < 0,003	995 ± 47 p ₁₋₅ < 0,05	63,21 ± 5,20 p ₁₋₇ < 0,05
IIб	8417 ± 390 p ₁₋₆ < 0,01	8,53 ± 1,10 p ₁₋₆ < 0,006	1168 ± 76 p ₁₋₆ < 0,001	57,73 ± 5,44 p ₁₋₇ < 0,05
IIв	8176 ± 455 p ₁₋₇ < 0,001	8,92 ± 1,10 p ₁₋₇ < 0,01	1188 ± 80 p ₁₋₇ < 0,001	54,50 ± 5,13 p ₁₋₇ < 0,05
IIг	8847 ± 420 p ₁₋₈ < 0,01	7,87 ± 1,11 p ₁₋₈ < 0,005	907 ± 46	48,33 ± 5,11 p ₁₋₈ < 0,01

Рис. Структурно-динамические параметры мембран эритроцитов крови

Fig. Structural and dynamic parameters of RBC membranes



ОБСУЖДЕНИЕ

Выбор в качестве объекта исследования мембраны эритроцитов был продиктован тем, что ей присущи общие принципы молекулярной организации плазматических мембран. Поэтому закономерности изменений структуры и функции мембраны эритроцитов с определенной долей коррекции, обусловленной, прежде всего, видовой специфичностью клеток, могут быть экстраполированы на иные мембранные системы [7].

Флуоресцентная спектроскопия среди множества методов, разработанных для количественного определения текучести мембран, — наиболее чувствительная, универсальная и информативная. Пирен был выбран для исследования структурно-динамических параметров мембран эритроцитов, связанных с состоянием их липидной фазы, т.к. это наиболее изученный из эксимерообразующих флуоресцентных зондов.

В липидных мембранах интенсивность эксимерной флуоресценции зависит от константы скорости образования димера. Константа скорости регулируется диффузией, т.е. ограничивается скоростью боковой диффузии молекул пирена и, следовательно, текучестью мембранных липидов [8].

Помимо эксимерной флуоресценции, спектры максимумов флуоресценции мономеров пирена F_{372}/F_{393} используют для оценки полярности его окружения. Это соотношение отражает полярность липидного микроокружения мономеров пирена [9].

Флуоресценцию пирена применяют также для оценки погруженности мембранных белков в липидный матрикс за счет эффективности переноса энергии с триптофановых остатков белков на пирен [10]. Пирен локализуется в мембранах, преимущественно в области углеводородных хвостов фосфолипидов, где может быстро перемещаться латерально. В то же время он способен к быстрому трансмембранному перемещению.

Мембрана эритроцитов человека — это хорошо изученная структура с известной асимметрией состава фосфолипидов. Концентрация сфингомиелина (26% от всех липидов) и фосфатидилхолина (28%) выше на внешней стороне, фосфатидилсерина (13%), фосфатидилэтаноламина (27%) и аминокислотных фосфолипидов — на внутренней [11].

Существует еще один тип асимметрии липидов. Жирные ацильные цепи внешних фосфолипидов более насыщены, чем ацильные цепи внутренних фосфолипидов. Этот тип асимметрии липидов известен как поперечная асимметрия фосфолипидов. Это делает внутренний слой липидов эритроцитарных мембран более липофильным [12].

В эритроцитарных мембранах на долю белков приходится примерно 49%, липидов — 44%, углеводов — 7%. Важнейшими компонентами мембраны эритроцитов являются липиды в молярном соотношении фосфолипидов и холестерина 1,2 : 1, включающие до 48% холестерина, 17–28% фосфатидилхолина, 13–25% сфингомиелина и ряд других. Жирнокислотный состав фосфолипидов: насыщенные — 43%, мононенасыщенные — 23%, полиненасыщенные $\omega-6$ — 27,6, $\omega-3$ — 5,7% [13]. Примерное соотношение липидов и белков по массе — 1 : 1 не ограничивает латеральную диффузию зонда пирена, в отличие от некоторых плазматических мембран.

Понятию текучести мембраны нет точного определения, но обычно оно означает комбинацию различных типов подвижности компонентов мембраны. К ним относятся гибкость ацильных цепей фосфолипидов, латеральная диффузия молекул в плоскости мембраны, поперечная диффузия молекул из одного монослоя в другой и фазовые переходы, приводящие к латеральному фазовому разделению. Молярное

соотношение холестерина : фосфолипид обратно коррелирует с текучестью множества природных мембран. Увеличение содержания сфингомиелина или соотношения сфингомиелин : лецитин также ее снижает. Следует также отметить, что из-за липид-белковых взаимодействий текучесть мембран имеет тенденцию увеличиваться с увеличением соотношения липид : белок [14].

Флуоресцентный краситель АНС является ценным зондом для обнаружения и анализа конформационных изменений в белках и биологических мембранах. Он имеет низкий выход флуоресценции в полярных средах, который значительно усиливается при переходе в среды с более низкой полярностью. АНС нековалентно связывается с белками, и его флуоресценция меняется в зависимости от изменений в окружении зонда. Сульфонатная группа АНС связывается с мембранами в области полярных головок фосфолипидов, а неполярная часть молекулы АНС погружена в направлении алкильных цепей жирных кислот.

Исследование концентрационной зависимости флуоресценции АНС способствует детальному изучению кинетики взаимодействия зонда с эритроцитарными мембранами и белками плазмы крови родильниц, позволяет обнаружить отличающиеся по структуре участки связывания зонда, рассчитать их количество и аффинность. В связи с этим была исследована зависимость интенсивности флуоресценции АНС при инкубации с плазмой и мембранами эритроцитов крови от концентрации в диапазоне 2,5–30 мкМ. Спектры флуоресценции АНС при инкубации с плазмой и эритроцитами имеют характерные различия. В отличие от плазмы, при инкубировании АНС с эритроцитами крови в широком диапазоне концентраций в спектрах флуоресценции максимум интенсивности имеет смещение спектральной полосы в длинноволновую область. Известно, что положение максимума флуоресценции АНС в случае титрования естественных мембранных структур зависит от концентрации зонда и гетерогенности сайтов связывания, обладающих различным сродством и полярностью микроокружения фосфолипидов.

Частичное разворачивание белковых молекул как мембранных, так и белков плазмы на всех этапах КС относительно контроля обнажает гидрофобные центры связывания, которые увеличивают сродство АНС с белками, что приводит к усилению флуоресценции. В эритроцитах рост интенсивности флуоресценции происходит за счет как показателя N , так и K_d , тогда как рост интенсивности флуоресценции АНС, связанный с белками плазмы крови, происходит только за счет снижения показателя K_d [15].

Модификация липидного и белкового состава мембраны эритроцитов играет важную роль в модуляции функций мембран посредством изменения текучести фосфолипидного бислоя. В настоящей работе мы наблюдали увеличение текучести мембран эритроцитов на этапах КС в основной группе родильниц как в аннулярных, так и в общих липидах по сравнению с эритроцитами родильниц контрольной группы до анестезии. Более высокая текучесть может быть обусловлена прогрессирующим снижением уровня холестерина и увеличением количества ненасыщенных жирных кислот в мембране эритроцитов к концу беременности [16].

Между тем повышение текучести мембран эритроцитов крови не отмечено в контрольной группе родильниц. Можно предположить, что повышение текучести происходит на фоне введения антибиотика цефазолина и приёма глюкозосодержащего напитка. В литературе нет однозначных данных, указывающих на непосредственный эффект

антибактериальных препаратов на текучесть эритроцитарных мембран, но в то же время в предыдущих исследованиях [4] мы наблюдали усиление окислительного стресса в основной группе рожениц. Это, возможно, активизирует процессы непрерывного обмена фосфолипидами между плазмой и клеточной мембраной эритроцитов, и таким образом достигается равновесие. Наличие фактора текучести липидного бислоя у эритроцитов способствует быстрому «залечиванию» мембраны в случае ее незначительного повреждения как в физиологических условиях, так и в условиях лизиса или окислительного стресса. Процессы обновления фосфолипидов ускоряются после их окислительной модификации, в ходе которой окисленные ацильные цепи быстро удаляются из фосфолипидов мембран под действием кальцийзависимой фосфолипазы A₂ [17].

Проведенные ранее исследования показали, что соотношение насыщенных и ненасыщенных жирных кислот в мембране эритроцитов было значительно снижено на протяжении всей беременности по сравнению с небеременным состоянием. Это снижение максимально при сроке беременности 38 нед [18].

Мембранные липиды и мембранные белки являются практически единственными компонентами структур клеточной поверхности, которые обладают высоким сродством к АНС. Флуоресценцию АНС можно рассматривать как суперпозицию флуоресценции молекул АНС, связанных с липидами мембран, мембранными белками и свободной АНС, а также, в некоторых случаях, АНС транспортируемых внутрь клеток. На основании этого флуоресценцию АНС можно легко разложить на компоненты, соответствующие мембранным белкам < 480 нм и мембранным липидам < 490 нм. Количество центров связывания АНС в мембранных белках меньше, чем количество центров связывания в липидах, но сродство центров связывания белков к АНС выше. При низких концентрациях АНС будет связываться сначала с белками и только потом с липидами. Таким образом, вклад во флуоресценцию белок : липиды колеблется от 1 : 10 до 1 : 100.

Во внешнем слое липидов эритроцитарных мембран преобладают сфингомиелин и фосфатидилхолин, и можно предположить, что основной вклад во флуоресценцию АНС вносят именно они, т.к. они связывают АНС аналогично лецитину, и считается, что положительный заряд остаток холина играет важную роль в связывании. Тем не менее электростатическое взаимодействие здесь не является абсолютно решаю-

щим, поскольку фосфатидилэтаноламин с положительно заряженной головкой практически не связывает АНС. Другие липиды (фосфатидилсерин, фосфатидинозитол, кардиолипин и ганглиозиды) связывают АНС гораздо менее активно, чем сфингомиелин или лецитин. Следовательно, большинство молекул АНС будут связаны с мембранами, состоящими из различных липидов, в карманах, образованных 4 молекулами лецитина или сфингомиелина, а меньшая часть АНС — с другими фосфолипидами.

В мембранах эритроцитов в обеих группах рожениц происходит увеличение числа кажущихся центров связывания и рост сродства АНС. Это косвенно подтверждается тем, что рост окислительной деструкции происходит за счет внутренней стороны мембраны, тогда как благодаря обменным процессам на внешней стороне растет текучесть мембраны. Изменение кинетических параметров связывания АНС связано с тем, что усиление окислительного стресса на этапах КС сопровождается изменением нативной конформации белков [19].

Достаточно трудно определить характер центров связывания белка для АНС и является он «гидрофобным» или «гидрофильным». Химотрипсин — единственный белок, для которого прямо установлено, что АНС связан с поверхностью белка в полярной области рядом с массивом заряженных аминокислотных остатков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В нашем исследовании, в качестве клеточной модели влияния окислительного стресса в ходе КС и ПП были выбраны эритроциты крови человека. Окислительный стресс *in vivo* серьезно ухудшает деформируемость эритроцитов, т.к. в основе него лежит текучесть мембран. За счет цепной реакции аутоокисления, вызывающей образование метгемоглобина, происходят перекисное окисление фосфолипидов мембран, деградация белков и гемолиз, что нарушает системную микроциркуляцию и вызывает глубокую тканевую гипоксию.

Предполагается, что усиление окислительного стресса у рожениц запускает эритропоэз, что позволяет избежать внутрисосудистого гемолиза и тканевой гипоксии. Следовательно, концепция ПУВ, которая способствует быстрому восстановлению пациента, может препятствовать усилению окислительно-воспалительных процессов и позволит разработать новые терапевтические методы для улучшения реологических свойств крови при многих клинических состояниях.

Вклад авторов / Contributions

Все авторы внесли существенный вклад в подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. Вклад каждого из авторов: Шифман Е.М. — предложение идеи работы, разработка дизайна, научное редактирование, утверждение рукописи для публикации; Меджидова Д.Р. — сбор клинического материала, написание текста, проверка критически важного содержания, Абдуллаев В.Р. — интерпретация результатов, составление базы данных, Муслимов М.О. — сбор клинического материала, статистическая обработка.

All authors made a significant contribution to the preparation of the article, read and approved the final version before publication. Special contribution: Shifman, E.M. — proposal of the idea of the work, development of design, scientific editing, approval of the manuscript for publication; Medzhidova, D.R. — collection of clinical material, writing a text, verification of critical content, Abdullaev, V.R. — interpretation of the results, compilation of a database, Muslimov, M.O. — collection of clinical material, statistical processing.

Конфликт интересов / Disclosure

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов. The authors declare no conflict of interests.

Финансирование / Funding source

Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования. This study was not supported by any external sources of funding.

Этическое утверждение / Ethics approval

Все пациентки подписали информированное согласие на проведение исследования. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, протокол № 23 от 17.04.2018.

The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the ethics committee of the Dagestan State Medical University (protocol No. 23, 17.04.2018).

Об авторах / About the authors

Меджидова Джаминат Расуловна / Medzhidova, D.R. — к. м. н., доцент кафедры акушерства и гинекологии ФПК ППС ФГБОУ ВО ДГМУ Минздрава России. 367000, Россия, г. Махачкала, пл. Ленина, д. 1. <https://orcid.org/0000-0002-6182-9942>. E-mail: dzhamilya-med@mail.ru
 Шифман Ефим Муневич / Shifman, E.M. — д. м. н., профессор, заведующий кафедрой анестезиологии и реаниматологии ГБУЗ МО «МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского». 129110, Россия, г. Москва, ул. Щепкина, д. 61/2. eLIBRARY.RU SPIN: 4582-8494. <https://orcid.org/0000-0002-6113-8498>. E-mail: eshifman@mail.ru

Абдулаев Вагаб Рафикович / Abdullaev, V.R. — к. б. н., доцент кафедры естественных и гуманитарных наук ФГБОУ ВО «ДГУ». 367000, Россия, г. Махачкала, ул. Магомеда Гаджиева, д. 37. <https://orcid.org/0000-0002-3551-1746>. E-mail: vagab@mail.ru

Муслимов Магомед Омарович / Muslimov, M.O. — ассистент кафедры кожных и венерических болезней ФГБОУ ВО «ДГУ». 367000, Россия, г. Махачкала, ул. Магомеда Гаджиева, д. 37. <https://orcid.org/0000-0001-9789-188X>. E-mail: dgma_55@mail.ru

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Visconti F., Quaresima P., Rania E. et al. Difficult caesarean section: a literature review. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2020;246:72. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2019.12.026
2. Меджидова Д.Р., Маршалов Д.В., Петренко А.П., Шифман Е.М. Периоперационные и отдаленные осложнения при кесаревом сечении: систематический обзор. *Саратовский научно-медицинский журнал.* 2020;16(1):9–17. Medzhidova D.R., Marshalov D.V., Petrenko A.P., Shifman E.M. Perioperative and long-term cesarean section complications: a systematic review. *Saratov Journal of Medical Scientific Research.* 2020;16(1):9–17. (in Russian)
3. Bowden S.J., Dooley W., Hanrahan J. et al. Fast-track pathway for elective caesarean section: a quality improvement initiative to promote day 1 discharge. *BMJ Open Qual.* 2019;8(2):e000465. DOI: 10.1136/bmjog-2018-000465
4. Меджидова Д.Р., Шифман Е.М., Черкесова А.У., Черкесова Д.У. Перекисное окисление липидов и окисленность белков плазмы крови и мембран эритроцитов матери при абдоминальном родоразрешении с использованием программы ускоренного выздоровления. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.* 2020;19(3):57–62. Medzhidova D.R., Shifman E.M., Cherkesova A.U., Cherkesova D.U. Lipid peroxidation and oxidative damage of maternal plasma and erythrocyte membrane lipids in abdominal delivery with the use of an enhanced rapid recovery programme. *Vopr. ginekol. akus. perinatol. (Gynecology, Obstetrics and Perinatology).* 2020;19(3):57–62. (in Russian) DOI: 10.20953/1726-1678-2020-3-57-62
5. Dodge J., Mitchell C., Hanahan D. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin-free ghosts of human erythrocytes. *Arch. Biochem. Biophys.* 1963;100(1):119–130.
6. Халилов Р.А., Хизриева С.И., Джафарова А.М., Абдуллаев В.Р. Флуоресцентные исследования структурно-динамических параметров мембран митохондрий печени крыс при гипотермии различной длительности. *Биологические мембраны.* 2021;38(5):351–362. Khalilov R.A., Khizrieva S.I., Dzhafarova A.M., Abdullaev V.R. Fluorescent studies of the structural and dynamic parameters of the mitochondrial membranes from the liver of rats at hypothermia of various duration. *Biologičeskie membrany.* 2021;38(5):351–362. (in Russian) DOI: 10.31857/S023347552104006X
7. Боровская М.К., Кузнецова Э.Э., Горохова В.Г. и др. Структурно-функциональная характеристика мембраны эритроцита и ее изменения при патологиях разного генеза. *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук.* 2010;(3):334–354. Borovskaya M.K., Kuznetsov E.E., Gorokhova V.G. et al. Structural and functional characteristics of membrane's erythrocyte and its change at pathologies of various genesis. *Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal).* 2010;(3):334–354. (in Russian)
8. Vekshin N.L. Pyrene monomers and excimers in membranes. In: *Photonics of Biopolymers.* Berlin, Heidelberg; 2002:165–171.
9. Донцов В.И. Флуоресцентные зонды в изучении внутриклеточных изменений при старении: изменения микровязкости мембран клеток. В сб.: *Доклады МОИП. Секция геронтологии.* М.; 2013:73–78. Dontsov V.I. Fluorescent probes in the study of intracellular changes during aging: changes in the microviscosity of cell membranes. In: *Reports of MOIP. Section of gerontology.* Moscow; 2013:73–78. (in Russian)
10. Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов. М.; 1989. Dobretsov G.E. Fluorescent probes in the study of cells, membranes and lipoproteins. Moscow; 1989. (in Russian)
11. Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А. Физиология и патофизиология эритроцита. Томск; 2004. Novitsky V.V., Ryazantseva N.V., Stepovaya E.A. Physiology and pathophysiology of the erythrocyte. Tomsk; 2004. (in Russian)
12. Aiswarya S., Vidya V., Aneesh T., Anil B. Pros and cons of phospholipid asymmetry in erythrocytes. *J. Pharm. Bioallied. Sci.* 2014;6(2):81–85.
13. Lauritzen L., Hansen H.S., Jørgensen M.H., Michaelsen K.F. The essentiality of long chain n-3 fatty acids in relation to development and function of the brain and retina. *Prog. Lipid. Res.* 2001;40:1–94.
14. Patel J., Chowdhury E.A., Noorani B. et al. Isoflurane increases cell membrane fluidity significantly at clinical concentrations. *Biochim Biophys Acta Biomembr.* 2020; 1862(2):183140. DOI: 10.1016/j.bbmem.2019.183140
15. Schönbrunn E., Eschenburg S., Luger K. Structural basis for the interaction of the fluorescence probe 8-anilino-1-naphthalenesulfonate (ANS) with the antibiotic target MurA. *Proceedings of the National Academy of Sciences. PNAS.* 2000;97(12):6345–6634.
16. Tranquilli A.L., Cester N., Giannubilo S.R. et al. Plasma lipids and physicochemical properties of the erythrocyte plasma membrane throughout pregnancy. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 2004;83(5):443–448. DOI: 10.1111/j.0001-6349.2004.00341.x
17. Van den Berg J.J., Op den Kamp J.A., Lubin B.H., Kuypers F.A. Conformational changes in oxidized phospholipids and their preferential hydrolysis by phospholipase A2: a monolayer study. *Biochemistry.* 1993;32:4962–4967.
18. Schachter D. Fluidity and function of hepatocyte plasma membranes. *Hepatology.* 1984;4(1):140–151. DOI: 10.1002/hep.1840040124
19. Меджидова Д.Р., Шифман Е.М., Абдуллаев В.Р., Куликов А.В. Конформационные изменения белков плазмы и эритроцитов крови у родильниц при различной тактике ведения периоперационного периода. *Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева.* 2021;8(4):221–232. Medzhidova D.R., Shifman E.M., Abdullaev V.R., Kulikov A.V. Conformational changes in plasma proteins and erythrocytes in puerperal women and strategies of managing the perioperative period. *V.F. Snegirev Archives of Obstetrics and Gynecology.* 2021;8(4):221–232. (in Russian) DOI: 10.17816/2313-8726-2021-8-4-221-232

Поступила / Received: 24.11.2022

Принята к публикации / Accepted: 01.02.2023