

УДК (577.335/336:615.155-008.1)57.016.4:616-053.31]618.3-06:578.825.12

DOI: 10.12737/article_5c89a90227a213.58230200

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ЭФФЕКТЫ ЭРИТРОПОЭТИНА НА ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ ПУПОВИНЫ НОВОРОЖДЕННЫХ ПРИ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В ПЕРИОД БЕРЕМЕННОСТИ**Н.А.Ишутина¹, И.А.Андриевская¹, Н.Н.Дорофиевко¹, О.Л.Кутепова¹, С.В.Медведева²**¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95**РЕЗЮМЕ**

С целью выявления молекулярных эффектов действия эритропоэтина на липидный состав и свойства мембраны эритроцитов крови пуповины обследовано 35 новорожденных детей, рожденных от серопозитивных по цитомегаловирусу женщин с обострением инфекции в третьем триместре беременности (основная группа). Контрольную группу составили 30 новорожденных, рожденных от серонегативных по цитомегаловирусу женщин. Материалом для исследования служили плазма и эритроциты крови пуповины. В мембране эритроцитов крови пуповины методом спектрофотометрии исследовали продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой; микровязкость мембраны изучали методом латеральной диффузии гидрофобного флуоресцентного зонда пирен; содержание лизофосфатидилхолина – методом тонкослойной хроматографии; арахидоновой, олеиновой и α -линоленовой жирных кислот – методом газовой хроматографии; ионизированного кальция – на анализаторе газов крови и электролитов; эритропоэтин в плазме крови пуповины – иммуноферментным методом анализа. Количество эритроцитов определяли на гематологическом автоматическом анализаторе. Морфологию эритроцитов и подсчет эхиноцитов проводили методом световой микроскопии с последующей цитофотометрической обработкой данных. В крови пуповины новорожденных, рожденных от серопозитивных по цитомегаловирусу женщин с обострением инфекции в третьем триместре беременности, установлено увеличение уровня эритропоэтина на 20% ($p < 0,05$), количества эритроцитов – на 21% ($p < 0,01$), продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой – на 60% ($p < 0,001$), лизофосфатидилхолина – на 42% ($p < 0,001$), арахидоновой кислоты – на 31% ($p < 0,001$), ионизированного кальция – на 14% ($p < 0,05$), количества эхиноцитов – на 91% ($p < 0,001$), при уменьшении содержания олеиновой и α -линоленовой жирных кислот на 40% ($p < 0,001$), отношения флуоресценции эксимеров и мономеров (Fe/Fm) – на 30% ($p < 0,001$), количества эритроцитов – на 21% ($p < 0,01$). Полученные результаты свидетельствовали о развитии у новорожденных, рожденных от серопозитивных по цитомегаловирусу женщин с об-

острением инфекции в третьем триместре беременности, неэффективного эритропоэза, усиливающего окислительное повреждение эритроцитов, что приводило к эхиноцитозу и эриптозу.

Ключевые слова: новорожденные, кровь пуповины, цитомегаловирусная инфекция, эритропоэтин, окислительный стресс, эриптоз.

SUMMARY**MOLECULAR EFFECTS OF ERYTHROPOIETIN ON THE LIPID COMPOSITION OF THE UMBILICAL CORD BLOOD ERYTHROCYTE MEMBRANES OF NEWBORNS AT CYTOMEGALOVIRUS INFECTION IN PREGNANCY****N.A.Ishutina¹, I.A.Andrievskaya¹, N.N.Dorofienko¹, O.L.Kutepova¹, S.V.Medvedeva²**¹Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation²Amur State Medical Academy, 95 Gor'kogo Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

In order to identify the molecular effects of erythropoietin on the lipid composition and properties of the membrane of red blood cells of the umbilical cord, 35 newborn children born from cytomegalovirus seropositive women with exacerbation of infection in the third trimester of pregnancy (main group) were examined. The control group consisted of 30 newborns born from cytomegalovirus seronegative women. Plasma and red blood cells of the umbilical cord became the material for the study. In the membrane of red blood cells of the umbilical cord by spectrophotometry there were studied the products that react with thiobarbituric acid; membrane microviscosity was studied by lateral diffusion of hydrophobic fluorescent probe of pyrenes; lysophosphatidylcholine content by a thin-layer chromatography; the content of arachidonic, oleic and α -linolenic fatty acids by gas chromatography; ionized calcium content by analyzer of blood gases and electrolytes; erythropoietin in umbilical cord blood plasma by enzyme immunoassay. The number of erythrocytes was determined by an automatic hematological analyzer. The assessment of erythrocytes morphology and echinocytes counting was performed by light mi-

croscopy with further cytophotometrical data processing. In the umbilical cord blood of newborns born from cytomegalovirus seropositive women with exacerbation of infection in the third trimester of pregnancy, there was found out an increase in the level of erythropoietin by 20% ($p < 0.05$), the number of erythrocytes by 21% ($p < 0.01$), of products reacting with thiobarbituric acid by 60% ($p < 0.001$), of lysophosphatidylcholine by 42% ($p < 0.001$), of arachidonic acid by 31% ($p < 0.001$), of ionized calcium by 14% ($p < 0.05$), of the amount of echinocytes by 91% ($p < 0.001$); with a decrease in the content of oleic and α -linolenic fatty acids by 40% ($p < 0.001$), there was an increase in the ratio of fluorescence of excimers and monomers (Fe/Fm) by 30% ($p < 0.001$), the number of red blood cells by 21% ($p < 0.01$). The results obtained suggested in the newborns from seropositive women to cytomegalovirus with exacerbation of the infection in the third trimester of pregnancy the development of ineffective erythropoiesis, enhancing oxidative damage of red blood cells, leading to echinocytosis and eryptosis.

Key words: newborns, umbilical cord blood, cytomegalovirus infection, erythropoietin, oxidative stress, eryptosis.

Эритропоэтин является не только основным регулятором эритропоэза [1, 13], но и индуктором экспрессии редокс-ферментов, что указывает на его антиокислительную роль в регуляции окислительного стресса [12, 20, 21]. Также показана роль эритропоэтина в подавлении индуцированного патогенными факторами (инфекции, окислительный стресс) эритропоэза [14, 16].

Согласно существующим представлениям, окислительный метаболизм – комплекс свободнорадикальных реакций, процессов липопероксидации и антиокислительных систем в клетках и тканях, разбалансировка которых приводит к накоплению окисленных радикалов и липопероксидов, с последующим изменением свойств мембран и их дисфункцией [8], в том числе мембран эритроцитов [5]. Показано, что продукты липопероксидации индуцируют окислительную модификацию белков мембраны и цитоплазмы эритроцита, снижая тем самым кислородный метаболизм, что вызывает развитие патологического состояния – гемической и тканевой гипоксии [7, 9] и формирование в период беременности внутриутробной гипоксии плода. Вместе с тем, в литературе отсутствуют исследования роли эритропоэтина в регуляции структурно-функциональных свойств эритроцитов крови пуповины новорожденных от серопозитивных по цитомегаловирусу (ЦМВ) женщин с обострением инфекции в третьем триместре беременности.

Цель работы – оценить влияние эритропоэтина на липидный состав и свойства мембраны эритроцитов в крови пуповины новорожденных от ЦМВ-серопозитивных женщин с обострением инфекции в третьем триместре беременности.

Материалы и методы исследования

В исследование включены 35 новорожденных детей, рожденных от ЦМВ-серопозитивных женщин с обострением инфекции в третьем триместре беременности (основная группа). Контрольную группу составили 30 новорожденных, рожденных от ЦМВ-серонегативных женщин.

Критериями включения в исследование явились обострение ЦМВ инфекции в третьем триместре беременности, стойкая клиническая ремиссия герпесвирусной инфекции в период беременности. Критерии исключения из исследования: первичная или латентная ЦМВ инфекция, обострение других воспалительных заболеваний экстрагенитальной патологии и наличие инфекций, передающихся половым путем.

Клинический диагноз – обострение хронической ЦМВ инфекции – у беременных женщин устанавливали по наличию в периферической крови антител IgG к ЦМВ, высокоавидных IgG (индекс авидности $> 65\%$), а также ДНК ЦМВ, выявляемой методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), в содержимом цервикального канала и соскобе с буккального эпителия.

Определение типоспецифических антител IgG классов M и G, индекса авидности антител класса G осуществляли методом иммуноферментного анализа (ИФА) на микропланшетном ридере Stat-Fax 2100 (США) с использованием стандартных тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Выявление ДНК ЦМВ методами ПЦР проводили на аппарате ДТ-96 с использованием наборов НПО «ДНК-технология» (Москва).

Материалом для исследования служили плазма крови пуповины и эритроциты. Об интенсивности процессов перекисного окисления липидов судили по содержанию в мембране эритроцитов активных продуктов тиобарбитуровой кислоты (ТБК-АП) [2]. Содержание лизофосфатидилхолина в мембране эритроцитов изучали методом тонкослойной хроматографии [6]. Жирные кислоты (олеиновая, α -линоленовая, арахидоновая) в мембране эритроцитов определяли методом газожидкостной хроматографии. Обработку данных пиков осуществляли по средствам программно-аппаратной установки Хроматэк Аналитик 2.5 по временам удержания с применением стандартных наборов (Supelco, США). Содержание сывороточного эритропоэтина оценивали иммуноферментным методом анализа с помощью наборов реактивов ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург).

Измерение микровязкости (величина обратная текучести) мембраны эритроцитов проводили методом латеральной диффузии гидрофобного флуоресцентного зонда пирена [3]. Определение микровязкости основано на образовании эксимеров (активных димеров) пирена в липидном окружении. Флуоресценцию пирена измеряли на спектрофлуориметре Hitachi (Япония). Для определения микровязкости липидного бислоя находили интенсивность флуоресценции или свечение пирена при длине волны возбуждения 334 нм,

длина волны мономеров 395 нм, длина волны эксимеров 470 нм. Оценка микровязкости основывается на вычислении коэффициента эксимеризации пирена ($K_{\text{экс.}} = F_{470}/F_{395}$), который равен отношению интенсивности флуоресценции эксимеров к интенсивности флуоресценции мономеров. Коэффициент эксимеризации находится в обратной зависимости от микровязкости.

Содержание ионизированного кальция (Ca^{2+}) в эритроцитах крови пуповины определяли на анализаторе газов крови и электролитов Medica EasyStat (США).

Количество эритроцитов определяли на гематологическом автоматическом анализаторе Medonic (Швеция). Морфологию эритроцитов и подсчет эхиноцитов осуществляли на микроскопе Motic (Япония) с последующей цитофотометрической обработкой данных на установке Mekos (Москва).

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.

Статистический анализ и обработка данных прово-

дился с использованием 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

Согласно приведенным в таблице данным, уровень эритропоэтина в крови пуповины новорожденных основной группы увеличивался на 20% ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой, что должно было сопровождаться усилением эритропоэза. Однако этого выявлено не было: эриптоз преобладал над эритропоэзом, что выражалось в уменьшении количества эритроцитов в крови пуповины основной группы новорожденных на 21% ($p < 0,01$).

При оценке состава и свойств липидных компонентов мембраны эритроцитов в крови пуповины основной группы обращало внимание увеличение содержания лизофосфатидилхолина на 42% ($p < 0,001$) и ТБК-АП на 60% ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой, что свидетельствовало об инициации процессов липопероксидации в ответ на формируемый гипоксический стимул.

Таблица

Показатели эритропоэза, окислительного метаболизма и вязкостных свойств мембраны эритроцитов крови пуповины новорожденных при обострении ЦМВ инфекции в третьем триместре беременности

Показатели	Контрольная группа	Основная группа	p
Эритроциты, $10^{12}/л$	$7,0 \pm 0,12$	$5,5 \pm 0,21$	$< 0,01$
Эхиноциты, %	$3,6 \pm 0,09$	$6,9 \pm 0,11$	$< 0,001$
Эритропоэтин, МЕ/мл	$42,53 \pm 0,32$	$53,12 \pm 0,41$	$< 0,05$
Ca^{2+} , моль/л	$1,01 \pm 0,03$	$1,17 \pm 0,05$	$< 0,05$
ТБК-АП, ммоль/л	$11,40 \pm 0,45$	$18,20 \pm 0,30$	$< 0,001$
Лизофосфатидилхолин, %	$6,70 \pm 0,10$	$11,60 \pm 0,12$	$< 0,001$
Арахидоновая кислота, %	$5,60 \pm 0,18$	$7,34 \pm 0,20$	$< 0,05$
Олеиновая кислота, %	$10,0 \pm 0,40$	$6,10 \pm 0,25$	$< 0,001$
α -линоленовая кислота, %	$0,20 \pm 0,07$	$0,12 \pm 0,03$	$< 0,001$
Fэ/Fм, отн. ед.	$0,76 \pm 0,04$	$0,53 \pm 0,02$	$< 0,001$

Увеличение содержания лизофосфатидилхолина в эритроцитах крови пуповины является результатом действия фосфолипазы А2, которая высвобождает арахидоновую кислоту после оксидативного действия [4]. Было установлено увеличение ее содержания в эритроцитах крови пуповины новорожденных основной группы на 31% по сравнению с контрольной группой. При анализе содержания олеиновой и α -линоленовой кислот в эритроцитах крови пуповины основной группы новорожденных выявлено уменьшение их уровня ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой.

Оценивая свойства мембраны эритроцитов крови пуповины в основной группе новорожденных выявлено уменьшение отношения флуоресценции экс-

меров и мономеров (Fэ/Fм) на 30% ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой, свидетельствующее об окислительной модификации липидных компонентов, пролонгирующей гиперосмотический шок и разрушение эритроцитов вследствие эхиноцитоза. В крови пуповины эритроцитов в основной группе новорожденных количество эхиноцитов увеличивалось на 91% ($p < 0,001$), содержание ионизированного Ca^{2+} – на 14 % ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой.

Обсуждение результатов исследования

По нашим данным обострение ЦМВ инфекции в период беременности сопровождается экспрессией циркулирующих иммунных комплексов на мембране

эритроцитов [19], инициирующих окислительные реакции и эриптоз. Последнее сопряжено с гемической (кровь матери) и тканевой (плацента) гипоксией, что изменяет кислородный метаболизм в крови плода вследствие эриптоза, способствуя развитию внутриутробной гипоксии.

В механизме формирования внутриутробной гипоксии плода при обострении ЦМВ инфекции в третьем триместре беременности лежит снижение эффективности действия эритропоэтина, хотя его уровень в крови пуповины новорожденных повышен. Это приводит к инициации Ca^{2+} -зависимых ионных каналов (Ca^{2+} -АТФаза) и увеличению уровня цитоплазматического Ca^{2+} в эритроцитах крови пуповины. Увеличение внутриклеточной концентрации свободного ионизированного Ca^{2+} инициирует скремблирование фосфолипидов мембраны эритроцитов с перераспределением фосфатидилсерина из внутреннего на внешний липидный монослой [10, 22] с последующим экзоцитарным лизисом. Триггерами данного процесса являются окислительный стресс, гиперосмотический шок и дефицит АТФ [17, 18]. Доказательством нарушений окислительного метаболизма в крови пуповины новорожденных явилось увеличение содержания лизофосфатидилхолина, ТБК-АП, арахидоновой кислоты и уменьшение концентрации олеиновой и α -линоленовой кислоты, что увеличивало вязкостные и деформирующие свойства мембраны.

С другой стороны, повышение внутриклеточного содержания цитоплазматического Ca^{2+} в эритроцитах крови пуповины может быть связано с активацией цистеиновой эндопептидазы – калпаина, субстратами которого являются белки цитоскелета – спектрин, актин [15] и белок полосы 3, а также мембраносвязанный транспортер – Ca^{2+} -АТФаза. В норме в эритроцитах калпаин находится в неактивной форме. Увеличение концентрации ионизированного Ca^{2+} вызывает перемещение калпаина из цитоплазматического пространства в мембрану, где он подвергается аутопротеолитической активации. Активированный в эритроцитах калпаин инициирует каспазу 3 [11], субстратами которой также являются спектрин и актин. Развитие описанных выше событий приводит к активной везикуляции эритроцитов.

Повышение внутриклеточной концентрации ионизированного Ca^{2+} также может активировать Ca^{2+} -зависимые калиевые каналы с последующим выходом K^{+} из эритроцита, что приводит к гиперполяризации клеточной мембраны и потере ионов хлора из клетки по электрохимическому градиенту. За выходом из эритроцита ионов калия и хлора следует потеря осмотически связанной воды [15], что морфологически проявляется в эхиноцитозе.

Таким образом, в крови пуповины новорожденных, рожденных от ЦМВ-серопозитивных женщин с обострением инфекции в третьем триместре беременности, нами установлено снижение эффективности действия эритропоэтина, усиливающего окислительное повреждение эритроцитов и накопление цитоплазматического

Ca^{2+} , что приводит к гиперосмотическому шоку, эхиноцитозу и эриптозу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андриевская И.А., Луценко М.Т. Влияние иммунного статуса на эритропоэтическую функцию крови рожениц при цитомегаловирусной инфекции во время беременности // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2010. Вып.38. С.54–57.
2. 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.
3. Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов. М.: Наука, 1989. 277 с.
4. Ишутина Н.А. Активность фосфолипазы А2 и состояние процессов перекисного окисления липидов в периферической крови у беременных с герпес-вирусной инфекцией // Успехи современного естествознания. 2013. №2. С.12–14.
5. Каткова Н.Ю., Марьямова Н.А., Малышев В.В., Романцов М.Г. Исследование антиоксидантного статуса у беременных с фетоплацентарной недостаточностью из групп риска по внутриутробному инфицированию плода // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии имени И.И.Мечникова. 2008. №4. С.60–63.
6. Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография: в 2-х т. М.: Мир, 1981. Т.1. С.52–115.
7. 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
8. Мартусевич А.К., Карузин К.А. Оксидативный стресс и его роль в формировании дизадаптации и патологии // Биорадикалы и антиоксиданты. 2015. Т.2, №2. С.5–18.
9. Петров Ю.А., Блесманович А.Е., Алехина А.Г. Беременность, роды, состояние плода и новорожденного у матерей с цитомегаловирусной инфекцией (обзор литературы) // Здоровье и образование в 21 веке. 2018. № 20(5). С.20–24. doi.org/10.26787/nydha-2226-7425-2018-20-5-20-24
10. Bissinger R., Modicano P., Frauenfeld L., Lang E., Jacobi J., Faggio C., Lang F. Estramustine-induced suicidal erythrocyte death // Cell. Physiol. Biochem. 2013. Vol.32, №5. P.1426–1436.
11. Diepenbroek M., Casadei N., Esmer H., Saido T.C., Takano J., Kahle P.J., Nixon R.A., Rao M.V., Melki R., Pieri L., Helling S., Marcus K., Krueger R., Masliah E., Riess O., Nuber S. Overexpression of the calpain-specific inhibitor calpastatin reduces human alpha-Synuclein processing, aggregation and synaptic impairment in alphaSyn transgenic mice // Hum. Mol. Genet. 2014. Vol.23, №15. P.3975–3989. doi: 10.1093/hmg/ddu112

12. d'Uscio L.V., Smith L.A., Katusic Z.S. Erythropoietin increases expression and function of vascular copper- and zinc-containing superoxide dismutase // *Hypertension*. 2010. Vol.55, №4. P.998–1004. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.150623

13. Fisher J.W. Erythropoietin: physiology and pharmacology update // *Exp. Biol. Med.* (Maywood). 2003. Vol.228, №1. P.1–14.

14. Kasinathan R.S., Föller M., Koka S., Huber S.M., Lang F. Inhibition of eryptosis and intraerythrocytic growth of *Plasmodium falciparum* by flufenamic acid // *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*. 2007. Vol.374. P.255–264. doi: 10.1007/s00210-006-0122-x

15. Lang E., Qadri S.M., Lang F. Killing me softly-suicidal erythrocyte death // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 2012. Vol.44, №8. P.1236–1243. doi: 10.1016/j.biocel.2012.04.019

16. Lang F., Abed M., Lang E., Föller M. Oxidative stress and suicidal erythrocyte death // *Antioxid. Redox Signal.* 2014. Vol.21, №1. P.138–153. doi: 10.1089/ars.2013.5747

17. Lang F., Qadri S.M. Mechanisms and significance of eryptosis, the suicidal death of erythrocytes // *Blood Purif.* 2012. Vol.33, №1-3. P. 125–130. doi: 10.1159/000334163

18. Lang N.N., Connelly D.T. Novel oral anticoagulants for the prevention of thromboembolism in patients with atrial fibrillation // *J. R. Coll. Physicians Edinb.* 2013. Vol.43, №2. P.151–158. doi: 10.4997/JRCPE.2013.213

19. Lucenko M.T., Andrievskaya I.A. Circulating immune complexes in pregnancy complicated by chronic cytomegalovirus infection // *International Journal of Biomedicine*. 2013. Vol.3, №3. P.174–176.

20. Mitra A., Bansal S., Wang W., Falk S., Zolty E., Schrier R.W. Erythropoietin ameliorates renal dysfunction during endotoxaemia // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2007. Vol.22, №8. P.2349–2353. doi.org/10.1093/ndt/gfm216

21. Toba H., Kojima Y., Wang J., Noda K., Tian W., Kobara M., Nakata T. Erythropoietin attenuated vascular dysfunction and inflammation by inhibiting NADPH oxidase-derived superoxide production in nitric oxide synthase-inhibited hypertensive rat aorta // *Eur. J. Pharmacol.* 2012. Vol.691, №1-3. P.190–197. doi: 10.1016/j.ejphar.2012.07.018

22. Wieder T., Lang P.A., Lang K.S., Kempe D.S., Niemoeller O.M., Durantion C., Gulbins E., Huber S.M., Lang F. Studying Mechanisms of Eryptosis // *Cytotechnology*. 2005. Vol.49, №2-3. P.117–132. doi: 10.1007/s10616-006-6335-5

REFERENCES

1. Andrievskaya I.A., Lutsenko M.T. Influence of immune status on erythropoiesis function of blood of parturient women at herpes virus infection during pregnancy. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2010; 38:54–57 (in Russian).

2. 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 meditsinskoj khimii* 1987; 33(1):118–121 (in Russian).

3. Dobretsov G.E. Fluorescent probes in the study of cell, membranes and lipoproteins. Moscow: Nauka; 1989 (in Russian).

4. Ishutina N.A. Activity phospholipase A2 and state of processes of peroxide oxidation of lipids in the peripheric blood at pregnant with the herpes-virus infection contamination. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya* 2013; 2:12–14 (in Russian).

5. Katkova N.Yu., Mariamova N.A., Malyshev V.V.I., Romantsov M.G. Antioxidant status study in pregnant women with fetoplacental insufficiency from risk group of intrauterine fetus infection. *Vestnik Sankt-Peterburgskoy gosudarstvennoy meditsinskoj akademii imeni I.I.Mechnikova* 2008; 4:60–63 (in Russian).

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

7. 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 Rossiyskoj Akademii Meditsinskikh Nauk* 2015; 70(1):106–112 (in Russian). doi: 10.15690/vramn.v70i1.1239

8. Martusevich A.K., Karuzin K.A. Oxidative stress and its role in the formation of disadaptation and pathology. *Bioradikaly i antioksidanty* 2015; 2(2):5–18 (in Russian).

9. Petrov Yu.A., Blesmanovich A.E., Alekhina A.G. Pregnancy, childbirth, a fetus newborn from mothers with cytomegalovirus infectio (review). *The Journal of scientific articles "Health and Education Millennium"* 2018; 20(5):20–24. <http://dx.doi.org/10.26787/nydha-2226-7425-2018-20-5-20-24> (in Russian).

10. Bissinger R., Modicano P., Frauenfeld L., Lang E., Jacobi J., Faggio C., Lang F. Estramustine-induced suicidal erythrocyte death. *Cell. Physiol. Biochem.* 2013; 32(5):1426–1436.

11. Diepenbroek M., Casadei N., Esmer H., Saido T.C., Takano J., Kahle P.J., Nixon R.A., Rao M.V., Melki R., Pieri L., Helling S., Marcus K., Krueger R., Masliah E., Riess O., Nuber S. Overexpression of the calpain-specific inhibitor calpastatin reduces human alpha-Synuclein processing, aggregation and synaptic impairment in alphaSyn transgenic mice. *Hum. Mol. Genet.* 2014; 23(15):3975–3989. doi: 10.1093/hmg/ddu112

12. d'Uscio L.V., Smith L.A., Katusic Z.S. Erythropoietin increases expression and function of vascular copper- and zinc-containing superoxide dismutase. *Hypertension* 2010; 55(4):998–1004. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.150623

13. Fisher J.W. Erythropoietin: physiology and pharmacology update. *Exp. Biol. Med.* (Maywood) 2003; 228(1):1–14.

14. Kasinathan R.S., Föller M., Koka S., Huber S.M., Lang F. Inhibition of eryptosis and intraerythrocytic growth of *Plasmodium falciparum* by flufenamic acid. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology* 2007; 374:255–264. doi: 10.1007/s00210-006-0122-x

15. Lang E., Qadri S.M., Lang F. Killing me softly-sui-

cidal erythrocyte death. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 2012; 44(8):1236–1243. doi: 10.1016/j.biocel.2012.04.019

16. Lang F., Abed M., Lang E, Föller M. Oxidative stress and suicidal erythrocyte death. *Antioxid. Redox Signal.* 2014; 21(1):138–153. doi: 10.1089/ars.2013.5747

17. Lang F., Qadri S.M. Mechanisms and significance of eryptosis, the suicidal death of erythrocytes. *Blood Purif.* 2012; 33(1-3):125–130. doi: 10.1159/000334163

18. Lang N.N., Connelly D.T. Novel oral anticoagulants for the prevention of thromboembolism in patients with atrial fibrillation. *J. R. Coll. Physicians Edinb.* 2013; 43(2):151–158. doi: 10.4997/JRCPE.2013.213

19. Lucenko M.T., Andrievskaya I.A. Circulating immune complexes in pregnancy complicated by chronic cytomegalovirus infection. *International Journal of Biomedicine* 2013; 3(3):174–176.

20. Mitra A., Bansal S., Wang W., Falk S., Zolty E., Schrier R.W. Erythropoietin ameliorates renal dysfunction during endotoxaemia. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2007; 22(8):2349–2353. doi.org/10.1093/ndt/gfm216

21. Toba H., Kojima Y., Wang J., Noda K., Tian W., Kobara M., Nakata T. Erythropoietin attenuated vascular dysfunction and inflammation by inhibiting NADPH oxidase-derived superoxide production in nitric oxide synthase-inhibited hypertensive rat aorta. *Eur. J. Pharmacol.* 2012; 691(1-3):190–197. doi: 10.1016/j.ejphar.2012.07.018

22. Wieder T., Lang P.A., Lang K.S., Kempe D.S., Niemoeller O. M., Duranton C., Gulbins E., Huber S.M., Lang F. Studying Mechanisms of Eryptosis. *Cytotechnology* 2005; 49(2-3):117–132. doi: 10.1007/s10616-006-6335-5

Поступила 11.02.2019

Контактная информация

Наталья Александровна Ишутина,

доктор биологических наук, ведущий 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: ishutina-na@mail.ru

Correspondence should be addressed to

Natalia A. Ishutina,

PhD, DSc, Leading 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: ishutina-na@mail.ru