

3  
НОМЕР

БОНЦ

ISSN 2304-9081

ЭЛЕКТРОННЫЙ ЖУРНАЛ  
On-line версия журнала на сайте  
<http://www.elmag.uran.ru>

# БЮЛЛЕТЕНЬ

ОРЕНБУРГСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА УРО РАН

*Lycaena thersamon* (Esper, 1784)  
Червонец блестящий  
Шовкун Д.Ф.



2019

УЧРЕДИТЕЛЬ  
ОРЕНБУРГСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР УРО РАН

© Е.А. Щуплова, И.В. Гладышева, 2019

УДК 575.113:616.94:616.61-002.8-053.2

*Е.А. Щуплова, И.В. Гладышева*

## **ВЛИЯНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ НА МОЛЕКУЛУ ГЕМОГЛОБИНА НА ПРИМЕРЕ ВНУТРИУТРОБНОЙ ИНФЕКЦИИ**

Оренбургский федеральный исследовательский центр УрО РАН (Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН), Оренбург, Россия

*Цель.* Изучить влияние микроорганизмов, выделенных при внутриутробной инфекции от матери и ребенка на структуру молекулы гемоглобина.

*Материалы и методы.* Материалом для исследования послужили штаммы микроорганизмов, выделенные в парах ребенок-мать при клиническом диагнозе – внутриутробная инфекция. Для выделения чистой культуры применяли бактериологический метод исследования. С помощью сканирующего спектрофотометра «Genesys 6» (USA) изучали изменения в спектре молекулы гемоглобина под влиянием исследуемых микроорганизмов.

*Результаты.* Под действием микроорганизмов, выделенных с кожи новорожденных, наблюдали один пик, равный 1,3 (OD) при длине волны 550 нм, тогда как в контроле и в других опытных образцах, где изучали влияние микроорганизмов, выделенных с последа матери на молекулу гемоглобина, наблюдали два пика: при длине волны 540 нм - значения оптической плотности составляли 0,9 (OD), при 576 нм – 1,0 (OD).

*Заключение.* Микроорганизмы, выделенные с кожи новорожденных, независимо от видовой принадлежности, оказывали влияние на спектральные характеристики молекулы гемоглобина, переводя оксигемоглобин в форму дезоксигемоглобина. Микроорганизмы, выделенные от матери, напротив, никакого влияния на спектр молекулы гемоглобина не оказывали.

*Ключевые слова:* микроорганизмы, спектральный анализ, гемоглобин, внутриутробная инфекция.

---

---

*E.A. Shchuplova, I.V. Gladysheva*

## **EFFECT OF MICROORGANISMS ON THE HEMOGLOBIN MOLECULE ON THE EXAMPLE OF DOMESTIC INFECTION**

Orenburg Federal Research Center, UB RAS (Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, UB RAS), Orenburg, Russia

*Objective.* To study the effect of microorganisms isolated intrauterine infection from mother and child on the structure of hemoglobin molecules.

*Materials and methods.* The material for the study was strains of microorganisms isolated in pairs of the child-mother in clinical diagnosis – intrauterine infection. A bacteriological method of investigation was used to isolate a pure culture. Using the scanning spectrophotometer "Genesys 6" (USA) we studied changes in the spectrum of hemoglobin molecules under the influence of the studied microorganisms.

*Results.* Under the action of microorganisms isolated from the skin of newborns, one peak was observed equal to 1.3 (OD) at a wavelength of 550 nm, whereas in the control and in other experimental samples, where the influence of microorganisms isolated from the mother's after-birth on the hemoglobin molecule was studied, two peaks were observed: at a wavelength of 540 nm, the optical density values were 0.9 (OD), at 576 nm – 1.0 (OD).

*Conclusion.* Microorganisms isolated from the skin of newborns, regardless of species, influenced the spectral characteristics of the hemoglobin molecule, converting oxyhemoglobin into the form of deoxyhemoglobin. Microorganisms isolated from the mother, on the contrary, had no

effect on the spectrum of hemoglobin molecules.

*Key words:* microorganisms, spectral analysis, hemoglobin, intrauterine infection.

## **Введение**

Внутриутробные инфекции (ВУИ) в настоящее время являются одной из ведущих патологий детского возраста. Они не только приводят к высокому проценту летальности, особенно в перинатальном периоде, но и являются в ряде случаев причиной глубокой инвалидности, обусловленной врожденными пороками развития и хроническими заболеваниями [1].

Особенностью ВУИ является их тесная связь с состоянием организма матери и последа. Послед является провизорным органом, обеспечивающим развитие и рождение жизнеспособного плода. Нормальная плацента осуществляет доставку плоду кислорода, питательных и минеральных веществ, продуцирует стероидные и полипептидные гормоны, а также выполняет барьерную функцию. Исследование последа необходимо для определения характера инфекционного процесса в системе «мать-плацента-плод», так как поражение последа может вызываться всеми известными классами микроорганизмов. В связи с этим патология плода должна рассматриваться в рамках единой системы «мать-плацента-плод».

Инфекционный процесс в последе характеризуется размножением возбудителя в различных отделах органа и выработкой защитных факторов, а также может привести к нарушению плацентарного барьера и инфицированию зародыша [2, 3].

Нарушение микробиоценоза половых путей является прогностическим критерием, позволяющим выделить беременных в группу риска по реализации внутриутробного инфицирования плода. Большое значение в развитии внутриутробного инфицирования плода имеют *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis* и *Escherichia coli*, выделенные из влагалища и плодовой поверхности плаценты [4].

Известно, что при инфекционном воспалении наблюдается снижение кислородного метаболизма в соответствии со степенью выраженности инфекции во время беременности. Газообмен плода зависит от концентрации кислорода в материнской крови, кровоснабжения матки, плацентарной передачи газов и их транспорта в тканях плода. Нарушение любого из этих звеньев приводит к гипоксии плода и сопутствующему ацидозу [5].

В связи с этим нарушение функциональных особенностей эритроцитов как резервуара для переноса молекул кислорода и углекислого газа в фетоплацентарной системе ведет к возникновению гипоксического состояния, которое осложняет течение беременности и внутриутробного развития плода.

Цель данной работы – изучить влияние микроорганизмов, выделенных при внутриутробной инфекции от матери и ребенка, на структуру молекулы гемоглобина.

### **Материалы и методы**

Материалом для исследования послужили штаммы микроорганизмов, выделенные в парах ребенок-мать при клиническом диагнозе – внутриутробная инфекция. При исследовании матери использовали посев с последа, а от ребенка брали посев с кожи заушной области. У всех исследуемых пар был естественный путь родоразрешения.

Для выделения чистой культуры использовали бактериологический метод. Видовую идентификацию бактерий проводили по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам, используя Staphy-, Entero- тесты и др.

Для оценки влияния микроорганизмов, выделенных при внутриутробной инфекции от матери и ребенка, на структуру молекулы гемоглобина определяли оптические спектры пробы, используя сканирующий спектрофотометр «Genesys 6» (USA). В качестве опытного образца брали взвесь 2 мл супернатанта суточной исследуемой культуры и 0,5 мл отмытых донорских эритроцитов человека (концентрация  $10^6$  кл/мл). В качестве контрольного образца использовали пробу, состоящую из 2 мл мясо-пептонного бульона и 0,5 мл взвеси эритроцитов в той же концентрации. Исследования проводили при постоянном температурном режиме  $37^{\circ}\text{C}$  в течение 24 ч. Для проведения каждого измерения 0,5 мл исследуемой пробы смешивали с 0,5 мл дистиллированной воды с целью получения гемолизата эритроцитов. Далее с помощью сканирующего спектрофотометра «Genesys 6» (USA) изучали изменения значений оптической плотности (OD) молекулы гемоглобина в опытных и контрольных пробах в диапазоне 450-700 нм, характерных для гемовой части молекулы.

### **Результаты и обсуждение**

Гемоглобин эритроцитов представляет собой гетерогенную систему, включающую не только его производные (окси-, дезокси-, сульф-, мет-, ци-

анметгемоглобин), но и ряд продуктов необратимой окислительной деградации гемоглобина, причем соотношение между компонентами этой системы может меняться под воздействием различных экзогенных и эндогенных факторов. По спектрам оптической плотности оксигемоглобин, характеризуется наличием двух полос поглощения. Максимум  $\alpha$ -полосы находится в области длин волн 575-579 нм, максимум  $\beta$ -полосы приходится на 540-544 нм, характерные для группы гема. Дезоксигемоглобин характеризуется наличием одного пика в диапазоне 550-560 нм [6].

В данной работе по результатам спектрального анализа молекулы гемоглобина под действием штамма *S. epidermidis*, выделенного с кожи новорожденного, наблюдали кривую, характерную для образования дезоксигемоглобина (рис. 1). Кривая характеризовалась наличием одного пика при длине волны 550 нм. При анализе спектров гемовой части гемоглобина под влиянием штамма *S. epidermidis*, выделенного с последа матери изменений не обнаружили, причем, наблюдали кривую спектра, характерную для оксигемоглобина. Кривая опытной пробы совпадала с кривой контроля, что свидетельствовало об отсутствии влияния исследуемых микроорганизмов на молекулу гемоглобина.

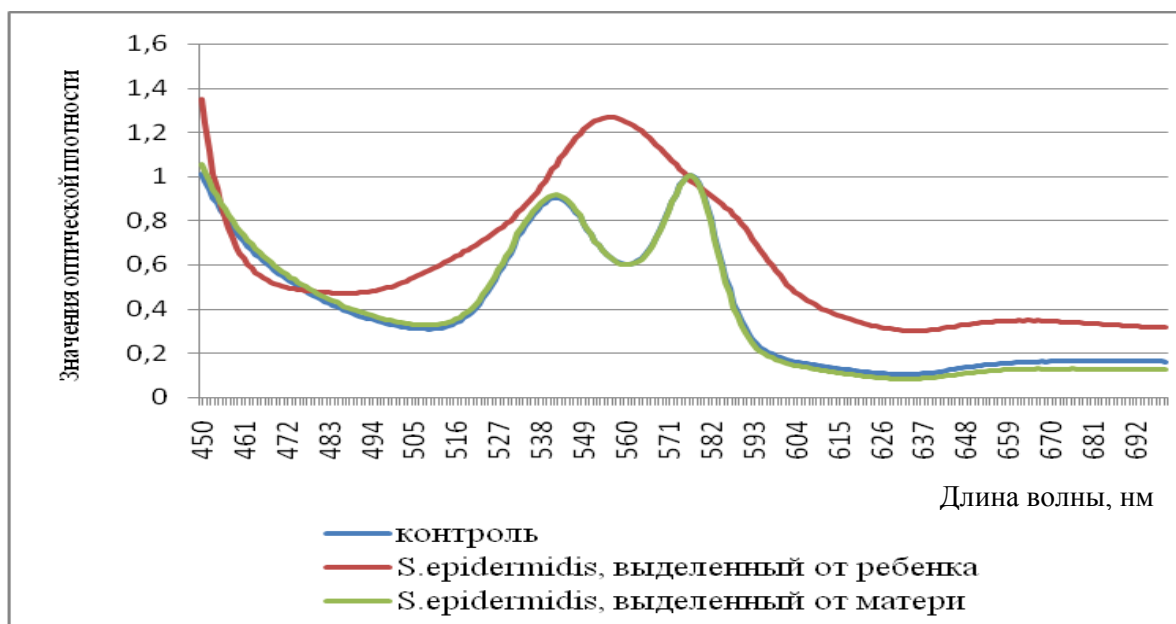


Рис. 1. Спектр молекулы гемоглобина под действием изолятов *S. epidermidis*, выделенных от матери и ребенка при внутриутробной инфекции.

Таким образом, штамм *S. epidermidis*, выделенный из организма матери, не оказывал влияния на структуру молекулы гемоглобина и соответ-

ственно не нарушал газотранспортную функцию, тогда как под действием изолята *S. epidermidis*, выделенного с поверхности кожи новорожденного ребенка наблюдали спектр, характерный для дезоксигемоглобина.

Полученные результаты показывают, что микроорганизмы могут способствовать развитию гипоксии при внутриутробной инфекции, помимо других физиологических факторов.

При анализе графиков спектральных характеристик гемовой части гемоглобина под влиянием штаммов грибов *C. albicans*, выделенных с кожи новорожденного также наблюдали кривую, характерную для дезоксигемоглобина (рис. 2). При длине волны 554-556 нм обнаружили один пик, значения оптической плотности которого соответствовали 1,2-1,3 (OD).

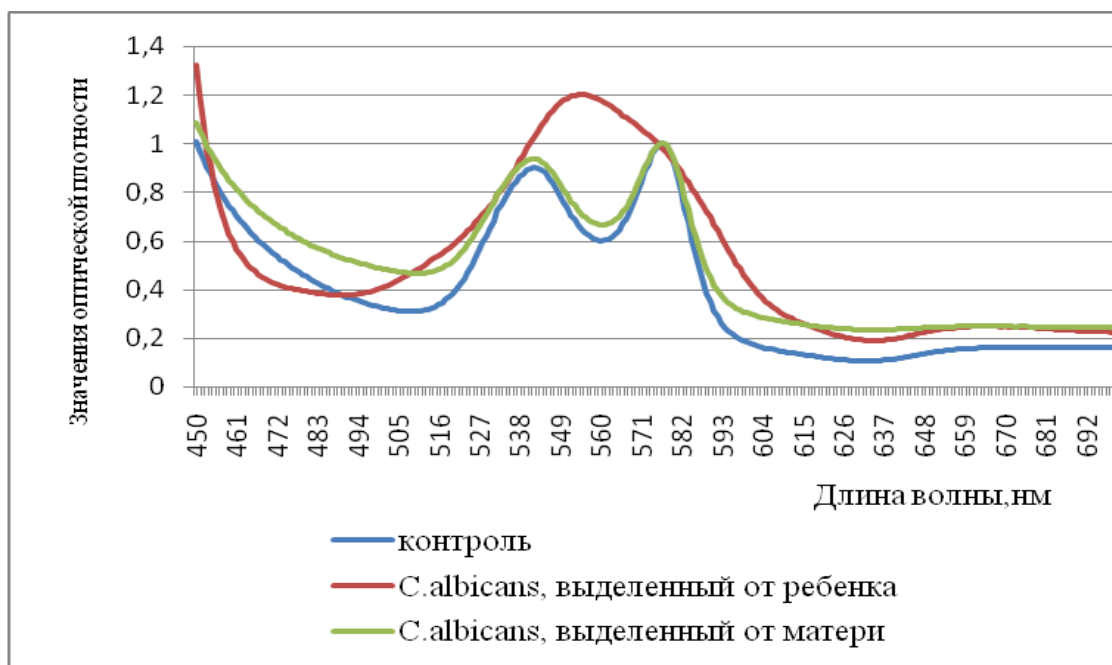


Рис. 2. Спектр молекулы гемоглобина под действием *Candida albicans*, выделенных от матери и ребенка при внутриутробной инфекции.

При анализе спектров гемовой части гемоглобина под влиянием штамма *C. albicans*, выделенного с последа матери, изменений в спектре молекулы гемоглобина не обнаружили. Получили результаты аналогичные тем, которые наблюдали при взаимодействии эритроцитов с *S. epidermidis*.

При анализе спектральных характеристик кривых гемовой части гемоглобина под влиянием клеток *E. coli* и *S. capitis* получили разнонаправленные результаты.

Под действием штамма *E. coli*, выделенного с кожи новорожденного,

наблюдали изменения в спектре молекулы гемоглобина. Причем в диапазоне 550-580 нм в опытном образце наблюдали два небольших пика: при длине волны 550 нм значения оптической плотности составляли 1,01 (OD), а при 576 нм наблюдали значения оптической плотности, равные 1,0 (OD). Необходимо отметить, что пик при длине волны 550 нм располагался правее, по сравнению с пиком спектра гемоглобина в контрольном образце. В контроле наблюдали кривую с двумя пиками, характерными для оксигемоглобина: при длине волны 544 нм значения оптической плотности составляли 0,89 (OD) и при длине волны 553 нм – 0,68 (OD) соответственно. Возможно, с увеличением времени под действием *E. coli* произошло бы изменение в сторону образования кривой, характерной для дезоксигемоглобина, то есть с одним пиком при длине волны - 550 нм.

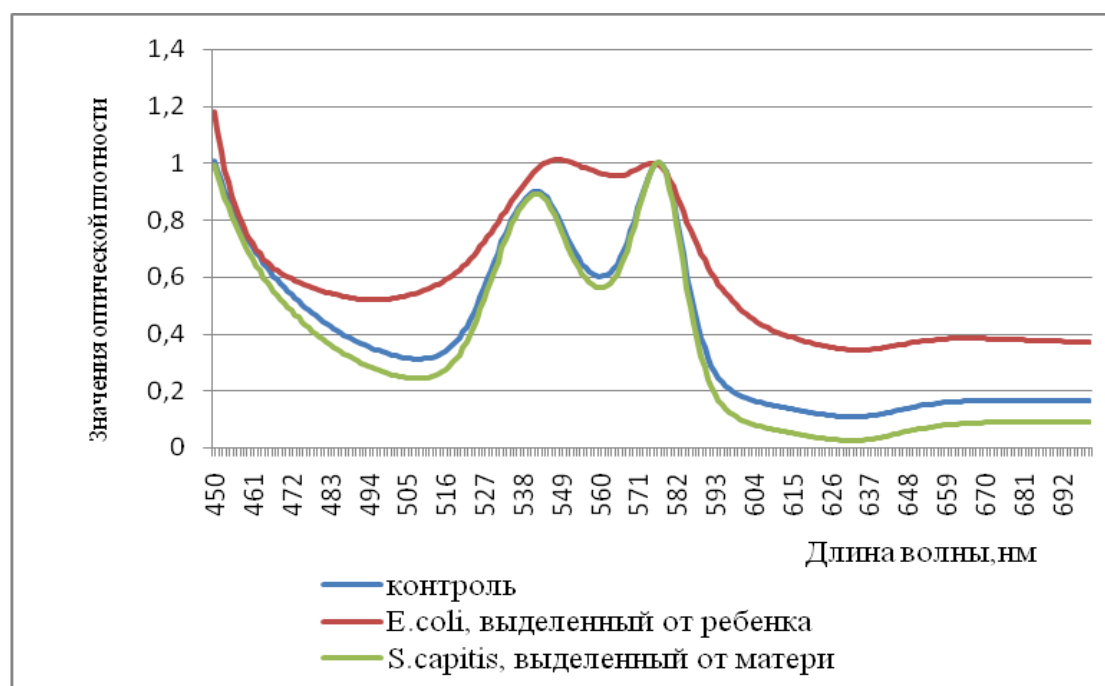


Рис. 3. Спектр молекулы гемоглобина под действием микроорганизмов, выделенных от матери и ребенка при внутриутробной инфекции.

Под действием штамма *S. capitis*, выделенного с послета матери, изменений в спектре молекулы гемоглобина не наблюдали. Значения оптической плотности в опыте не отличались от данных в контрольном образце.

Таким образом, микроорганизмы, выделенные с кожи новорожденных, независимо от видовой принадлежности, оказывают влияние на спектральные характеристики молекулы гемоглобина, переводя оксигемоглобин в

форму дезоксигемоглобина. Возможно, данные микроорганизмы ещё не адаптированы к новому биотопу и проявляют патогенность в отношении гемоглобина. Микроорганизмы, выделенные от матери, напротив, никакого влияния на спектр молекулы гемоглобина не оказывали – значения оптической плотности не отличались от данных в контроле.

### **Заключение**

Внутриутробная гипоксия плода представляет серьезную клиническую проблему. Перинатальная гипоксия представляет собой патологическое состояние плода и новорожденного, связанное с дефицитом кислорода либо недостаточной тканевой перфузией. Адаптационные механизмы здорового плода позволяют компенсировать возникающую гипоксию и предупредить развитие ацидоза. В частности, парциальное напряжение кислорода в кровотоке матери выше, чем у плода, что облегчает диффузию  $O_2$  через плаценту от матери к плоду. Кроме того, изменения в системе дыхания беременной приводят к снижению парциального напряжения  $CO_2$  в материнском кровотоке и таким образом улучшают перенос  $CO_2$  от плода к матери [7].

Результаты данной работы показали, что не только физиологические факторы могут приводить к развитию гипоксии плода, но и микроорганизмы также могут способствовать развитию гипоксии при внутриутробной инфекции. Необходимо указать, что микроорганизмы, выделенные с кожи новорожденных, гораздо чаще, чем бактерии, выделенные с последа матери оказывали влияние на спектр молекулы гемоглобина, переводя оксигемоглобин в форму дезоксигемоглобина. А дезоксигемоглобин, как известно, не способен переносить молекулу кислорода, в связи с чем и развивалась гипоксия.

Таким образом, необходим комплексный подход в изучении развития гипоксии при внутриутробной инфекции, включающий как клинико-лабораторные методы исследования, так и микробиологические.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Цинзерлинг В.А., Мельникова В.Ф. Перинатальные инфекции. Вопросы патогенеза, морфологической диагностики и клинико-морфологических сопоставлений: практическое руководство. СПб: Элби СПб, 2002. 352 с.
2. Цинзерлинг В.А. Внутриутробные инфекции: современный взгляд на проблему. Журнал инфектологии. 2014; 4(6): 13-18.
3. Перепелица С. А., Голубев А. М., Мороз В. В., Алексеева С. В. Причины острой интранатальной и постнатальной гипоксии у новорожденных. Общая реаниматология. 2012; 6 (VIII): 17-22.
4. Русакова Л.А., Хамадянов У.Р. Роль инфекционного агента в этиологии и патогенезе



- внутриутробной инфекции. Медицинский вестник Башкортостана. 2010: 5: 83-86.
5. Андриевская И.А., Луценко М.Т. Структурно-функциональное состояние гемоглобина у рожениц при герпесной инфекции во время беременности. Бюллетень. 2011: 39: 17-19.
  6. Кочубей В.И. Определение концентрации веществ при помощи спектрофотометрии. Руководство к лабораторной работе. Саратов, 2008. 125 с.
  7. Крастелева И.М.. Перинатальная гипоксия, ассоциированная с внутриутробными инфекциями: временное состояние проблемы. Охрана материнства и детства. 2010: 1: 85-90.

*Поступила 22 июля 2019 г.*

*(Контактная информация: Щуплова Елена Алексеевна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории микробной экологии и дисбиозов Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН; адрес: 460000, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11; тел. 8 (3532) 77-54-17; e-mail: Khanina83@yandex.ru)*

---

---

## LITERATURA

1. Tsinserling V.A., Melnikova V.F. Perinatal infections. Issues of pathogenesis, morphological diagnosis and clinical and morphological comparisons: a practical guide. St. Petersburg: Alby St. Petersburg, 2002.352 s.
2. Zinserling V.A. Intrauterine infections: a modern view of the problem. Journal of Infectology. 2014: 4 (6): 13-18.
3. Perepelitsa S. A., Golubev A. M., Moroz V. V., Alekseeva S. V. Causes of acute intra-transatal and postnatal hypoxia in newborns. General resuscitation. 2012: 6 (VIII): 17-22.
4. Rusakova L.A., Khamadyanov U.R. The role of the infectious agent in the etiology and pathogenesis of intrauterine infection. Medical Bulletin of Bashkortostan. 2010: 5: 83-86.
5. Andrievskaya I.A., Lutsenko M.T. Structural and functional state of hemoglobin in women in labor with herpes infection during pregnancy. Bulletin 2011: 39: 17-19.
6. Kochubey V.I. Determination of the concentration of substances using spectrophotometry. Manual for laboratory work. Saratov, 2008. 125 p.
7. Krastelova IM. Perinatal hypoxia associated with intrauterine infections: a temporary condition of the problem. Protection of motherhood and childhood. 2010: 1: 85-90.

### **Образец ссылки на статью:**

Щуплова Е.А., Гладышева И.В. Влияние микроорганизмов на молекулу гемоглобина на примере внутриутробной инфекции. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2019. 3. 8с. [Электр. ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2019-3/Articles/ShEA-2019-3.pdf>).

**DOI: 10.24411/2304-9081-2019-13003**