

© Н. Г. Павлова, В. М. Прокопенко,
Г. К. Парцалис

ГУ НИИ акушерства и гинекологии
им. Д. О. Отта СЗО РАМН

ЗНАЧЕНИЕ ФЕРМЕНТОВ ГЛУТАТИОНЗАВИСИМОГО ЗВЕНА АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ДЛЯ ПРОГНОЗА НЕВЫНАШИВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ

УДК 618.39-07

■ Проведено сопоставление активности в плацентах женщин ферментов глутатионзависимого звена антиоксидантной системы (глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и глутатион-S-трансферазы) при физиологическом течении беременности и при ее невынашивании. С помощью линейного дискриминантного анализа разработана математическая модель расчета риска преждевременного прерывания беременности, основанная на определении активности этих ферментов в тканях плаценты. Точность прогноза составляет 70,9%; чувствительность — 73,7%; специфичность — 64,7%.

■ **Ключевые слова:** плацента;
глутатионзависимые ферменты;
невынашивание беременности.

Дисфункция плаценты является основным звеном патогенеза большого спектра осложнений беременности, в том числе ее невынашивания, частота которого продолжает оставаться высокой. По данным разных авторов она составляет 12–20% и не снижается, несмотря на лечебно-диагностические разработки последних лет [4, 5, 12].

При невынашивании беременности нарушается защитная функция плаценты, в реализации которой участвует глутатионзависимая антиоксидантная система, состоящая из глутатионзависимых ферментов — глутатионпероксидазы (ГП), глутатионредуктазы (ГР) и глутатион-S-трансферазы (Г-S-T). Ранее нами было показано, что в ткани плацент женщин, беременность которых прервалась, активность глутатионпероксидазы (ГП), участвующей в нейтрализации продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), в 1,5–2 раза превышала активность фермента в плацентах женщин при физиологическом течении беременности и была стабильной на протяжении всей беременности. При этом было выявлено, что активность ГП прямо коррелирует с частотой самопроизвольного прерывания беременности. Кроме того, активность глутатионредуктазы (ГР), фермента, ответственного за восстановление окисленного глутатиона, в плацентах женщин при невынашивании беременности и ее физиологическом течении на всем протяжении беременности была сопоставима. Однако активность глутатион-S-трансферазы, ответственной за защиту клеток плаценты от продуктов перекисного окисления липидов, у женщин, беременность которых прервалась во втором и третьем триместрах беременности, была в 1,5 раза меньше, чем активность этого фермента в плацентах женщин при физиологической беременности [9].

Цель исследования

Задача данной работы — проанализировать значение определения активности ферментов глутатионзависимой антиоксидантной системы (ГП, ГР и Г-S-T) в плацентах женщин для прогноза риска прерывания беременности.

Материалы и методы

Материалом для исследования служила ткань хориона и плацент.

Группу сравнения составили 34 относительно здоровые женщины, у которых были получены 10 плацент в результате срочных родов, 15 — во II триместре при прерывании беременности по социальным показаниям, а также 9 хорионов — в I триместре при проведении по желанию пациенток искусственного аборта.

Основную группу составили 26 женщин, беременность которых прервалась преждевременно на разных ее этапах. Так, 13 плацент были получены в результате преждевременных ро-

Таблица 1

Активность ферментов глутатионзависимого звена АОЗ в плацентах женщин основной группы и группы сравнения

Фермент	Локализация	Активность		t	p
		Основная группа, n=26	Группа сравнения, n=34		
ГП	Центр	73,76±7,75	57,56±3,35	-2,255	0,028
ГП	Периферия	70,37±14,23	57,20±3,29	-1,070	0,291
ГР	Центр	21,55±2,83	30,45±3,24	1,706	0,094
ГР	Периферия	24,08±5,54	29,76±3,14	0,499	0,621
Г-S-T	Центр	27,67±2,33	33,26±1,15	2,407	0,020
Г-S-T	Периферия	40,17±6,28	31,44±1,15	-2,004	0,052

Таблица 2

Наиболее значимые для прогноза преждевременного прерывания беременности параметры активности ферментов глутатионзависимой системы антиоксидантной защиты в плацентах и хорионах

Параметры	F-критерий Фишера	Величина достоверности p
Активность ГП центр	5,79	<0,019
Активность Г-S-T центр	5,08	<0,027

дов, 7 — во втором триместре при спонтанных поздних выкидышах, 6 хорионов — при самопроизвольных выкидышах в I триместре беременности.

Образцы ткани готовили из центральной и периферической зон плаценты. Кусочки тканей тщательно отмывали в холодном физиологическом растворе и гомогенизировали в соотношении 1:9 (вес/объем) в ледяном буфере, содержащем 60 мМ KH_2PO_4 и 105 мМ KCl , pH=7,4. Гомогенат центрифугировали при 10000 об/мин в течение 20 минут при 4 °С. Центрифугат использовали для определения активностей ферментов. Активность ГП определяли с использованием гидроперекиси третичного бутила [3], ГР — по степени окисления восстановленного НАДФ [13], ГТ — по скорости образования GS-2,4-динитробензола [1]. Белок определяли по методу Лоури.[14]

Результаты и их обсуждение

В таблице 1 представлены данные об активности ферментов глутатионзависимого звена антиоксидантной системы (АОЗ) в плацентах беременных с самопроизвольным преждевременным прерыванием беременности (основная группа) и при физиологическом течении беременности.

На основании ретроспективных данных нами был проведен многофакторный линейный дискриминантный анализ, представленный в таблице 1, отражающий связь активности ферментов глутатионзависимого звена антиоксидантной защиты и спонтанного прерывания беременности. По его результатам мы отобрали наиболее значимые параметры для прогноза невынашивания.

Ими оказались (табл. 2) активности ГП и Г-S-T в центральной части плаценты.

Используя наиболее значимые для прогноза параметры активности ферментов глутатионзависимой системы, была разработана математическая модель расчета прогностического индекса возможного преждевременного прерывания беременности (ПИППБ):

ПИППБ = 0,093 Г-S-T_ц – 0,028 ГП_ц, где:

ПИППБ — прогностический индекс преждевременного прерывания беременности;

Г-S-T_ц — активность Г-S-T в центральной части плаценты;

ГП_ц — активность ГП в центральной части плаценты.

Пороговое значение прогностического индекса преждевременного прерывания беременности составило 1,06. При значениях ПИППБ ≤ 1,06 риск прерывания беременности высокий, т. е. абсолютные значения ПИППБ обратно пропорциональны риску развития прерывания беременности.

Система прогноза строилась нами по 55 случаям.

Из них у 39 женщин получено полное совпадение предсказанного и фактического результата (70,9%). У 28 из них величина индекса ПИППБ была меньше 1,06 и беременность прерывалась досрочно, а у 11 женщин индекс ПИППБ превышал 1,06 и беременность развивалась физиологически.

Из 34 пациенток, у которых значение прогностического индекса было более 1,06, прерывание беременности произошло у 6 женщин, что составило 17,6%, а у 28 пациенток беременность закончилась в срок, что составило 82,4%. Из 21 пациентки, у которых значение прогностического индекса было менее 1,06, у 10 женщин беременность закончилась в срок, что составило 47,6%, а у 11 (52,4%) произошло прерывание беременности. Анализ результатов системы про-

Таблица 3

Анализ результатов, используемых для характеристики метода расчета ПИППБ

Параметры	Число случаев
Число истинно положительных случаев	28
Число истинно отрицательных случаев	11
Число ложноположительных случаев	10
Число ложноотрицательных случаев	6
Общее число случаев	55

гнозирования с использованием метода расчета ПИППБ представлен в таблице 3.

Исходя из вышепредставленных данных, мы определили параметры, характеризующие метод расчета ПИППБ (рис. 1).

Таким образом, по расчету риска преждевременного прерывания беременности чувствительность метода составляет 73,7%, специфичность — 64,7%. Предсказанная ценность «положительного результата» составляет 52,4%. Предсказательная ценность «отрицательного результата» составляет 82,4%.

Точность предсказания составляет 70,9 % ($\chi^2=5,80$; $p=0,016$; ТМФ : $p<0,015$).

Разработанная нами математическая модель прогноза невынашивания беременности по активности ферментов глутатионзависимого звена антиоксидантной защиты свидетельствует о значимой роли данных ферментов в процессах вынашивания беременности.

Известно, что при физиологически протекающей беременности состояние окислительного стресса (дисбаланса между процессами свободнорадикального окисления и буферной емкостью системы антиоксидантной защиты) в плаценте возникает в период ее формирования на этапе становления артериальной циркуляции и увеличения напряжения кислорода. Окислительный стресс выполняет в этой ситуации важные универсальные функции, участвуя в запуске механизмов дифференцировки клеток [2, 7, 10]. В данный период транзитного дисбаланса между генерацией и элиминированием активных форм кислорода происходит адаптация механизмов системы антиоксидантной защиты к нарушению физиологического равновесия. Неспособность системы антиоксидантной защиты или ее отдельных звеньев противостоять усилению процессов свободнорадикального окисления приводит к дальнейшему развитию состояния окислительного стресса и значительному ослаблению метаболических и детоксицирующих функций плаценты. Окислительный стресс, являясь универсальной реакцией многих заболеваний человека, играет важную роль и в акушерской практике, являясь, как показали и наши исследования, одним из патогенетических звеньев, в т. ч. невынашивания беременности [6, 8, 11].

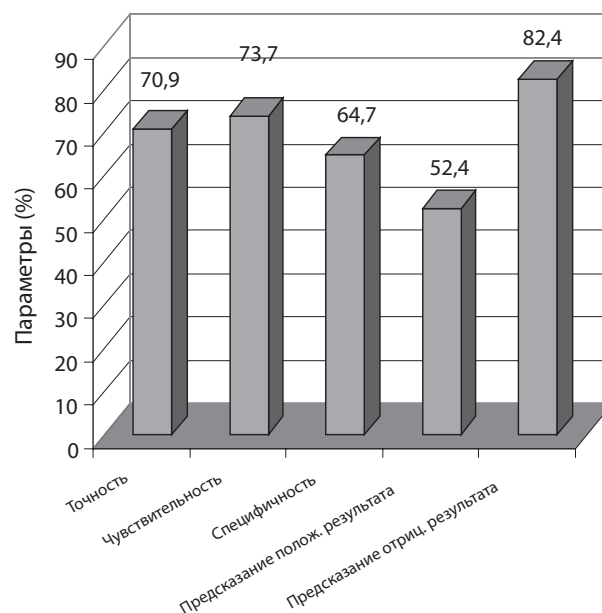


Рис. 1. Параметры прогностической модели возможного преждевременного прерывания беременности (ПИППБ) по активности глутатионзависимых ферментов системы антиоксидантной защиты плаценты

Таким образом, по-видимому, изменение буферной емкости глутатионзависимого звена антиоксидантной защиты в плаценте женщин можно рассматривать как один из универсальных механизмов, свидетельствующих о функциональных резервах плаценты.

Литература

1. Арутюнян А. В., Дубинина Е. Е., Зыбина Н. Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: методические рекомендации. — СПб.: Фолиант, 2000. — 104 с.
2. Зенков Н. К., Ланкин В. З., Менщикова Е. Б. Окислительный стресс. Биохимический и патофизиологический аспекты. — М.: Наука, 2001. — 343 с.
3. Моин И. М. Простой и чувствительный метод определения глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лабораторное дело. — 1986. — № 12. — С. 724–727.
4. Невынашивание беременности: этиопатогенез, диагностика, клиника и лечение: методические рекомендации / Кошелева Н. Г. [и др.]. — СПб.: Изд-во Н-Л, 2002. — 59 с.
5. Неотложная помощь в акушерской практике: руководство / Айламазян Э. К. [и др.]. — 3-е изд. — СПб.: Изд-во Н-Л, 2002. — 432 с.
6. Окислительный стресс в плаценте при физиологической и патологически протекающей беременности / Доброхотова Ю. Э. [и др.] // Росс. вестник акушера-гинеколога. — 2008. — № 6. — С. 33–35.
7. Окислительный стресс в патологии плацентации / Шестопалов А. В. [и др.] // Ж. акуш. и жен. болезн. — 2009. — Вып. 1. — С. 93–100.

8. Прокопенко В. М. Свободнорадикальные процессы в плаценте при преждевременных родах // Ж. акуш. и жен. болезн. — 2000. — №2. — С. 37–40.
9. Прокопенко В. М., Парцалис Г. К., Бурмистров С. О. Глутатионзависимая система антиоксидантной защиты в плаценте при невынашивании беременности // Физиология человека. — 2006. — Т. 32, №2. — С. 197–200.
10. Роль кислорода и его метаболитов в развитии плаценты / Арутюнян А. В. [и др.] // Ж. акуш. и жен. болезн. — 2008. — Вып. 4. — С. 115–121.
11. Свободнорадикальное окисление в тканях последа при недоношенной беременности / Прокопенко В. М. [и др.] // Вопр. мед. химии. — 1995. — Т. 41, №3. — С. 53–56.
12. Сидельникова В. М. Невынашивание беременности. — М.: Медицина, 1986. — 175 с.
13. Horn H. D. TPNH-glutathione reductase // Methods Enzym. Anal. / ed. Bergmeyer J. — N. Y.: Acad. Press., 1965. — P. 875–879.
14. Protein measurement with the Folin phenol reagent / Lowry O. H. [et al.] // J. Biol. Chem. — 1951. — Vol. 193. — P. 265–275.

Статья представлена А. В. Арутюняном,
НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН,
Санкт-Петербург

ANTIOXIDANT SYSTEM'S GLUTATHION DEPENDENT ENZYMES SIGNIFICANCE IN THE PREMATURITY PROGNOSIS

Pavlova N. G., Prokopenko V. M., Partsalis G. K.

■ **Summary:** Placental glutathione dependent enzymes (glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione-S-transferase) activity comparison in normal pregnancy and in the prematurity were done. On the base of these data the mathematical model of the prematurity risk prognosis was calculated with the help of linear discriminant analysis. Predict value 70,9%; sensitivity — 73,7%; specificity — 64,7%.

■ **Key words:** placenta; glutathione dependent enzymes; pregnancy miscarriage.

■ Адреса авторов для переписки

Павлова Наталья Григорьевна — д. м. н., профессор, руководитель лаборатории физиологии и патофизиологии плода с отделением ультразвуковой диагностики.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: iagmail@ott.ru

Прокопенко Валентина Михайловна — к. б. н., ст. н. сотр. лаб. перинатальной биохимии.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: iagmail@ott.ru

Парцалис Георгий Константинович — к. м. н., и. о. ст. н. сотр. родильного отделения.

ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН. 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: iagmail@ott.ru

Pavlova Natalia Grigorievna — professor, the head of the fetal Physiology and Pathophysiology Department with ultrasound diagnostics.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3.

E-mail: iagmail@ott.ru

Prokopenko Valentina Mikhailovna — PhD, Perinatal Biochemistry Laboratory, scientific researcher.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3.

E-mail: iagmail@ott.ru

Partsalis George Konstantinovich — MD, Delivery Department, scientific researcher.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034 Russia, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3.

E-mail: iagmail@ott.ru