

ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ КАТАЛАЗЫ В ГЕТЕРОТОПИЯХ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ЭНДОМЕТРИОЗА

© А.В. Разыграев^{1,2}, М.А. Петросян², Е.В. Базиян², Л.С. Полянских²

¹ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, Санкт-Петербург;

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург

Для цитирования: Разыграев А.В., Петросян М.А., Базиян Е.В., Полянских Л.С. Исследование активности каталазы в гетеротопиях в экспериментальной модели эндометриоза // Журнал акушерства и женских болезней. – 2019. – Т. 68. – № 6. – С. 57–63. <https://doi.org/10.17816/JOWD68657-63>

Поступила: 23.10.2019

Одобрена: 25.11.2019

Принята: 12.12.2019

■ **Актуальность.** Развитие эндометриоза сопряжено с изменением активности антиоксидантных ферментов в ткани эндометрия, а также с полиморфизмами их генов. Прогестерон активирует некоторые антиоксидантные ферменты в эндометрии, а его аналоги эффективно предотвращают рост и обеспечивают регресс эндометриодных гетеротопий. Для оценки эффективности терапии эндометриоза целесообразно в дополнение к морфометрической и гистологической оценке регресса гетеротопий проводить биохимический анализ гетеротопий на активность ферментов антиоксидантной защиты.

Цель — проанализировать активность каталазы — фермента, участвующего в детоксикации пероксида водорода, — в ткани эндометриодных имплантов в экспериментальной модели эндометриоза на лабораторных крысах.

Материалы и методы исследования. Исследование выполнено на 12 половозрелых крысах-самках линии Вистар. Всем животным проводили аутоотрансплантацию фрагментов матки на брюшину. Через 35–37 дней гетеротопии были извлечены. Каталазную активность в ткани определяли по методу Beers & Sizer с модификациями — регистрировали расход H_2O_2 при длине волны 250 нм и использовали 3-амино-1,2,4-триазол (АТ) для оценки специфичности. Оценивали корреляцию между каталазной активностью и массой гетеротопий.

Результаты исследования. При длине волны 250 нм не наблюдается сильной интерференции АТ с другими компонентами реакционной смеси, что позволяет применять специфический ингибитор каталазы для оценки специфичности определения ферментативной активности. Активность измеряли в короткий период инкубации (менее минуты), при этом ее величина была пропорциональна концентрации материала гетеротопии в реакционной смеси. В гетеротопиях, наиболее сильно подвергшихся регрессу и обладающих наименьшей массой, как правило, активность каталазы была выше (коэффициент ранговой корреляции составил $-0,66$ при $p < 0,025$).

Выводы. Был адаптирован подход определения активности каталазы к работе с тканью эндометриодных гетеротопий. Показано, что чем выше каталазная активность в гетеротопиях, тем, как правило, меньше их масса ($p < 0,025$). Исходя из полученных данных можно предположить вовлеченность каталазы в механизм регресса эндометриодных очагов.

■ **Ключевые слова:** эндометриоз; корреляция; активность каталазы; фермент; пероксид водорода; коэффициент молярного поглощения H_2O_2 .

ACTIVITY OF CATALASE IN SURGICALLY INDUCED ENDOMETRIAL-LIKE LESIONS IN RATS

© A.V. Razygraev^{1,2}, M.A. Petrosyan², E.V. Baziyan², L.S. Polyanskikh²

¹ Saint Petersburg State University of Chemistry and Pharmacy, Saint Petersburg, Russia;

² The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia

For citation: Razygraev AV, Petrosyan MA, Baziyan EV, Polyanskikh LS. Activity of catalase in surgically induced endometrial-like lesions in rats. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2019;68(6):57-63. <https://doi.org/10.17816/JOWD68657-63>

Received: October 23, 2019

Revised: November 25, 2019

Accepted: December 12, 2019

■ **Hypothesis/aims of study.** There is a link between the activities (and polymorphisms of genes) of antioxidant enzymes and endometriosis. It is also known that progesterone induces some antioxidant enzymes in the endometrium and that progesterone analogs are effective for reduction of endometrial lesions. In addition to morphometric and histological

estimations of endometriosis regression, it could be useful to assess the activity of antioxidant enzymes within endometriotic foci. The present study is aimed at estimating the activity of catalase, a hydrogen peroxide-detoxifying enzyme, in surgically induced endometrial-like lesions with a variable degree of reduction.

Study design, materials and methods. The study was carried out on 12 mature female rats of Wistar strain. Endometrial-like lesions were induced by autotransplantation of uterine tissue fragments on the abdominal wall. After 35–37 days, the endometrial foci were extracted. Catalase activity in the ectopic endometrium was determined by the Beers & Sizer method modified as follows: recording hydrogen peroxide concentration decrease at 250 nm and using 3-amino-1,2,4-triazole (AT) to assess specificity. The correlation between the specific catalase activity and protein amount in the ectopic endometrium was estimated.

Results. At the wavelength of 250 nm, a relatively weak interference of AT with other components of the reaction mixture was observed, which allows using the specific catalase inhibitor to indicate the enzyme activity. The activity is measured in a short period of incubation (less than 1 minute) and is proportional to amount of the endometrial tissue extract in the reaction mixture. As a rule, the most reduced endometriotic foci (with the lowest weight) possessed a higher catalase activity (the Spearman's rho was -0.66 with $p < 0.025$).

Conclusion. The method for determining catalase activity was adapted to work with endometriotic foci. With $p < 0.025$, we can accept that a low weight of endometriotic foci is linked with a relatively high catalase activity within their tissue. The results allow suggesting the involvement of catalase in reduction of endometrial lesions.

■ **Keywords:** endometriosis; correlation; catalase activity; enzyme; hydrogen peroxide; H_2O_2 molar absorption coefficient.

Актуальность

Развитие эндометриоза сопряжено с изменением активности антиоксидантных ферментов (и состояния кодирующих их генов) в ткани эндометрия. Ранее показано, что эндометриоз сопровождается нарушениями циклических изменений экспрессии GPx1 (классической формы глутатионпероксидазы) в эндометрии [1]. Существуют данные, указывающие на активацию GPx3 (секретируемой формы глутатионпероксидазы) под действием прогестерона [2, 3] и эффективность аналогов прогестерона при терапии эндометриоза [4]. Каталаза — фермент, выполняющий сходную с глутатионпероксидазами функцию (детоксикация пероксида водорода в организме). Уровень активности данного фермента при эндометриозе изменяется [5, 6], а полиморфизм промотора его гена ассоциирован с риском развития этого заболевания [7]. Ранее мы упоминали о целесообразности анализа активности GPx3 при оценке эффективности воздействия аналогов прогестерона на клетки эндометриоидной ткани [8], однако, судя по имеющимся данным, анализ на каталазную активность может оказаться не менее важным и информативным показателем реактивности ткани эндометрия, в том числе в эндометриоидных гетеротопиях при эндометриозе. Важно изучить возможность оценки регресса гетеротопий по активности каталазы в их ткани. Данное исследование перспективно для разработки новых подходов к диагностике эндометриоза, а также его терапии.

Цель — провести анализ активности каталазы в ткани эндометриоидных имплантов в экспериментальной модели эндометриоза на лабораторных крысах.

Материалы и методы

Исследование проведено на половозрелых самках крыс линии Вистар массой 170–220 г. Все лабораторные животные получены из ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово» и содержались в регламентированных условиях вивария ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта» при соблюдении всех правил содержания лабораторных животных: время и порядок проведения карантина, маркировка всех особей, постоянный санитарный контроль, стандартный рацион питания, свободный доступ к воде и пище, автоматический режим освещения (день : ночь — 12 : 12 ч).

Подготовку животных к операции и выполнение операции по моделированию эндометриоза с использованием лапаротомии проводили согласно описанию в работе [4]. Все операции выполняли на стадии эструс, стандартизируя условия трансплантации фрагментов матки животных, находящихся в одинаковой стадии эстрального цикла. Перевязывали рог матки в области маточно-трубного перехода и на 1 см выше места бифуркации рогов. Фрагмент рога матки между лигатурами иссекали. Удаленный участок переносили в стерильную чашку Петри в 1 мл стерильного изотонического раствора хлорида натрия, вскрывали вдоль со стороны прикрепления маточной брыжейки и разрезали на фрагменты размером 3×3 мм. Затем проводили аутоотрансплантацию фрагментов ткани матки на участки в брюшной полости животного. Импланты размещали на передней брюшной стенке в области локализации крупных сосудов, справа и слева от срединного разреза таким образом, чтобы эндометрий был

ориентирован в сторону мезотелия. Импланты фиксировали с помощью шовного материала VICRYL*Plus Antibacterial/resorbaarbeer (0–4) (Johnson&Johnson, Бельгия). Всем животным во время операции была проведена двусторонняя овариоэктомия. После моделирования эндометриоза всем животным назначили заместительную гормональную терапию этинилэстрадиолом. Инъекции эстрогена в дозе 50 мкг/кг в масляном растворе проводили внутримышечно, начиная со дня операции дважды в неделю до окончания эксперимента. Спустя две недели после первой операции выполняли повторную (диагностическую) лапаротомию для подтверждения жизнеспособности имплантов. Техника и условия выполнения оперативного вмешательства были аналогичны первой лапаротомии. При условии визуализации одного и более имплантов животных оставляли в эксперименте, при отсутствии всех имплантов (потеря, отторжение и/или резорбция ткани) животных исключали из исследования. Через 3 нед. от диагностической лапаротомии животных выводили из эксперимента, используя глубокий ингаляционный наркоз. Проводили вскрытие, иссекали эндометриоидные очаги из окружающих тканей, после чего замораживали и хранили при -85°C до приготовления гомогенатов. От каждого животного для анализа активности каталазы брали по одному импланту; остальные импланты использовали для других исследований.

Каждый извлеченный имплант промывали в изотоническом растворе натрия хлорида и гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе в 40 мкл охлажденного 0,05 М К-Na-фосфатного буфера (рН 7,8) в течение 60 с. Гомогенизатор промывали дополнительной порцией буфера (40 мкл); таким образом, общий объем раствора для приготовления гомогената в каждом случае составил 80 мкл. Гомогенаты центрифугировали 6 мин при 4°C , 1000 g. Для последующей проверки ингибирования ферментативной активности специфичным ингибитором каталазы, 3-амино-1,2,4-триазолом (АТ), аликвоты супернатанта смешивали с 0,5 М водным раствором АТ вдвое меньшего объема и инкубировали 1 ч при 4°C .

Каталазную активность в супернатанте определяли по изменению поглощения раствора в ультрафиолетовой части спектра, отражающему изменение концентрации пероксида водорода под действием фермента [9]. В соответствии с законом Бера – Ламберта оптическая плот-

ность раствора пероксида водорода линейно зависит от концентрации пероксида водорода, и при различных длинах волн ультрафиолетового диапазона можно высчитать коэффициент молярного поглощения пероксида водорода при известных концентрациях последнего. Длина волны, широко используемая для измерения концентрации пероксида водорода, составляет 240 нм, соответствующий коэффициент молярного поглощения для водного раствора H_2O_2 равен $43,6 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (проверен нами ранее при работе с глутатионпероксидазами) [10, 11]. Спектр поглощения пероксида водорода не имеет пика при длине волны 240 нм, поглощение раствора H_2O_2 постепенно увеличивается при уменьшении длины волны и снижается при ее увеличении (не линейно) [9]. При низких начальных концентрациях белка в супернатанте, содержащем каталазу, и, соответственно, при необходимости внесения в реакционную смесь больших количеств супернатанта, смешанного с раствором АТ, была выявлена сильная интерференция АТ с пероксидом водорода при длине волны 240 нм, что не позволяло точно регистрировать возможные изменения концентрации H_2O_2 в присутствии ингибитора каталазы. По этой причине был рассчитан коэффициент молярного поглощения H_2O_2 для другой длины волны, 250 нм, с использованием соотношения между величинами поглощения при 240 и 250 нм (A_{240}/A_{250}) на основании спектров поглощения растворов H_2O_2 в дистиллированной воде (а также в К-Na-фосфатном буфере с рН 7,8, рис. 1). Спектры регистрировали на четырех UV/VIS-спектрометрах: Lambda 25 (Perkin Elmer, США), CLARIOstar (BMG Labtech, Германия), NanoDrop One (Thermo Scientific, США) и DU-65 (Beckman Coulter, США). Коэффициент молярного поглощения при 250 нм (ϵ_{250}) был рассчитан для каждой спектрограммы по формуле

$$\epsilon_{250} = 43,6 / (A_{240}/A_{250}).$$

Затем вычисляли среднее значение ϵ_{250} (в $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) для каждого спектрометра. Для четырех спектрометров среднее значение ϵ_{250} для пероксида водорода составило $26,444 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (медиана — 26,439, размах min–max — 26,08–26,82). Средние значения для водного и забуференного растворов оказались идентичными, поэтому $\epsilon_{250} = 26,4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ был использован для оценки убыли концентрации пероксида водорода при определении активности каталазы. Коэффициенты молярного поглощения H_2O_2

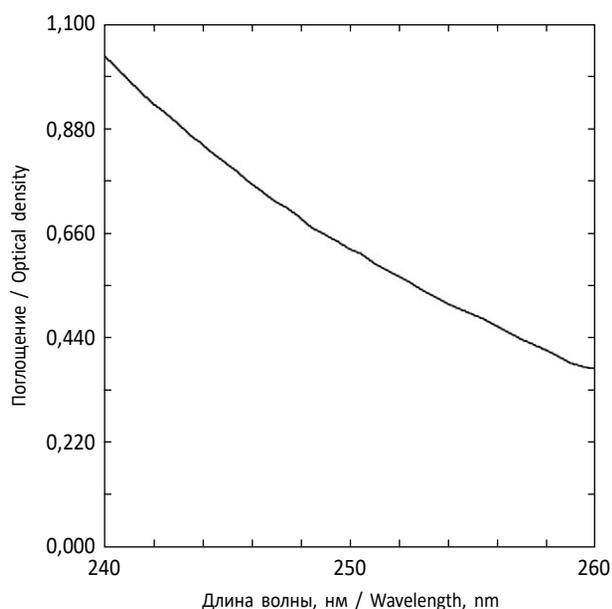


Рис. 1. Спектр поглощения пероксида водорода (23,7 мМ) в 0,05 М К-На-фосфатном буфере (рН 7,8) в ультрафиолетовом диапазоне длин волн 240–260 нм

Fig. 1. Absorption spectrum of 23.7 mM hydrogen peroxide in 0.05 M K-Na-phosphate buffer (pH 7.8) in the ultraviolet wavelength range of 240–260 nm

для других длин волн также были определены на основе записанных спектрограмм (таблица), что может быть использовано в дальнейшей работе.

Таблица 1 / Table 1

Коэффициенты молярного поглощения пероксида водорода, рассчитанные для длин волн ультрафиолетового диапазона 241–270 нм

Hydrogen peroxide molar absorption coefficients calculated for the ultraviolet wavelength range of 241–270 nm

Длина волны, нм (λ, nm)	Коэффициент молярного поглощения H ₂ O ₂ , М ⁻¹ см ⁻¹ (ε, М ⁻¹ см ⁻¹)	Длина волны, нм (λ, nm)	Коэффициент молярного поглощения H ₂ O ₂ , М ⁻¹ см ⁻¹ (ε, М ⁻¹ см ⁻¹)	Длина волны, нм (λ, nm)	Коэффициент молярного поглощения H ₂ O ₂ , М ⁻¹ см ⁻¹ (ε, М ⁻¹ см ⁻¹)
241	41,3	251	24,9	261	14,4
242	39,3	252	23,5	262	13,7
243	37,6	253	22,3	263	13,0
244	36,0	254	21,2	264	12,2
245	34,2	255	20,1	265	11,4
246	32,2	256	19,0	266	10,8
247	30,3	257	18,0	267	10,2
248	29,0	258	16,9	268	9,6
249	27,8	259	16,0	269	9,1
250	26,4	260	15,1	270	8,5

Примечание. За основу для расчетов коэффициентов молярного поглощения H₂O₂ при длинах волн 241–270 нм взяты коэффициент молярного поглощения H₂O₂ при 240 нм, равный 43,6 М⁻¹см⁻¹, и соотношение между поглощением при 240 нм и при длине волны, указанной в таблице.

сении в реакционную смесь супернатанта гомогената, содержащего АТ, оптическая плотность оставалась в диапазоне точных измерений спектрометра.

Концентрацию белка в супернатанте гомогенатов определяли путем упрощенной турбидиметрической процедуры, как описано в работе [12], с использованием нескольких различающихся разведений одного и того же биоматериала. Данные по концентрации белка использовали как для расчета удельной активности каталазы, так и для оценки массы гетеротопий (с учетом того, что гетеротопии гомогенизировали идентичным образом независимо от их размера).

В качестве стандартных образцов со стабильной каталазной активностью, по которым контролировали воспроизводимость результатов, применяли ферментные препараты *Culex torrentium*.

Линейный характер зависимости скорости реакции от содержания биоматериала оценивали с использованием коэффициента детерминации (R^2), для оценки корреляции между удельной каталазной активностью и массой биоматериала применяли ранговый коэффициент корреляции Спирмена (ρ). Расчеты выполняли в программной среде R (версия 3.4.0) [13].

Результаты и обсуждение

При использовании длины волны 250 нм не наблюдалось сильной интерференции АТ с другими компонентами реакционной смеси, что позволило применить специфический ингибитор каталазы для проверки принадлежности определяемой активности ферменту каталазе. Во всех случаях после преинкубации материала эндометриоидных гетеротопий с АТ разложение пероксида водорода блокировалось полностью и в течение 1–3 мин инкубации оптическая плотность раствора не снижалась. Это позволило идентифицировать H_2O_2 -разрушающую активность материала эндометриоидных гетеротопий как каталазную активность. В пробах без АТ максимальная скорость убыли концентрации пероксида водорода под действием фермента зарегистрирована в первые несколько десятков секунд после внесения биоматериала в реакционную смесь (менее минуты); при этом скорость была пропорциональна концентрации материала гетеротопии в реакционной смеси (R^2 составил 0,9934–0,9967 для разных гетеротопий; проверено до концентрации бел-

ка в реакционной смеси, равной 0,037 мг/мл). При дальнейшей инкубации скорость ферментативного разложения пероксида водорода снижалась. Таким образом, для дальнейшего расчета каталазной активности целесообразно использовать результаты измерений в течение первых десятков секунд инкубации. Линейная зависимость скорости ферментативной реакции от содержания материала эндометриоидных гетеротопий означает, что в соответствующем диапазоне концентраций биоматериала приемлемо проводить сравнительные исследования удельной ферментативной активности в образцах с отличающимися разведениями (и, соответственно, с разными концентрациями белка).

Рассчитанная удельная активность каталазы в смоделированных эндометриоидных гетеротопиях у 12 самок крыс составила в среднем 88,41 мкмоль H_2O_2 /мин на миллиграмм белка (медиана — 81,43, интерквартильный размах — 78,64–94,41). Между удельной активностью каталазы в гетеротопиях и массой гетеротопий (оцененной по количеству содержащегося в них растворимого белка) выявлена статистически значимая обратная корреляция: $\rho = -0,66$, $p = 0,02398$ (рис. 2). Поскольку при моделировании гетеротопий размер имплантируемой ткани был приблизительно одинаковым для всех крыс, можно говорить о существовании

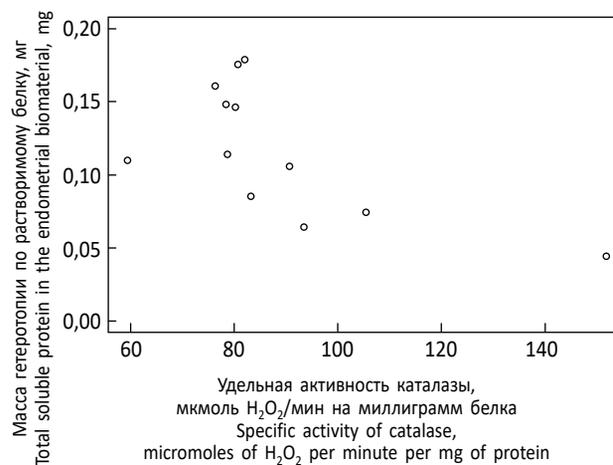


Рис. 2. Связь (обратная корреляция) между удельной активностью каталазы в гетеротопиях и их массой

Fig. 2. A negative link (reciprocal correlation) between the specific activity of catalase in endometriotic foci and the weight of endometrial biomaterial (estimated by total soluble protein that released into the supernatant during homogenization). Hence, the link between the regression of endometrial lesion and the specific activity of catalase is positive

положительной связи между степенью регресса гетеротопии (который происходит как самопроизвольно, так и под действием обработки половыми стероидами) и активностью каталазы в ткани гетеротопии. Иными словами, гетеротопии, наиболее сильно подвергающиеся регрессу, как правило, обладают более высокой активностью каталазы, и, наоборот, при слабом регрессе, его отсутствии или даже росте эндометриоидной гетеротопии каталазная активность в основном низкая ($p < 0,025$).

Полученные данные согласуются с выводом, сделанным ранее другими авторами [5, 6], о вовлеченности окислительного стресса в механизм прогрессирования эндометриоза. На основании настоящего исследования справедливо будет предположить, что усиление активности каталазы в эндометриоидных гетеротопиях может привести к их регрессу. В связи с этим целесообразны поиск нетоксичных избирательных индукторов экспрессии каталазы в эндометриоидной ткани и проверка их эффективности для терапии эндометриоза.

Благодарности

Авторы благодарят А.-П.С. Шурыгину (Научно-исследовательский институт гриппа, Санкт-Петербург) за помощь при работе на спектрометрах при определении коэффициентов молярного поглощения пероксида водорода.

Дополнительная информация

Информация о конфликте интересов.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Информация о финансировании. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках фундаментального исследования по теме «Разработка стратегий диагностики, терапии генитального эндометриоза и опухолей женского репродуктивного тракта» (регистрационный номер: АААА-А19-119030490009-6).

А.В. Разыграев — биохимическое исследование, статистическая обработка данных, написание статьи.

М.А. Петросян — дизайн экспериментальной модели эндометриоза и ее постановка, написание статьи.

Е.В. Базиян — постановка модели эндометриоза и сбор материала.

Л.С. Полянских — постановка модели эндометриоза и сбор материала.

Литература

- Ota H, Igarashi S, Kato N, Tanaka T. Aberrant expression of glutathione peroxidase in eutopic and ectopic endometrium in endometriosis and adenomyosis. *Fertil Steril.* 2000;74(2):313-318. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(00\)00638-5](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(00)00638-5).
- Borthwick JM, Charnock-Jones DS, Tom BD, et al. Determination of the transcript profile of human endometrium. *Mol Hum Reprod.* 2003;9(1):19-33. <https://doi.org/10.1093/molehr/gag004>.
- Xu X, Leng JY, Gao F, et al. Differential expression and anti-oxidant function of glutathione peroxidase 3 in mouse uterus during decidualization. *FEBS Lett.* 2014;588(9):1580-1589. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2014.02.043>.
- Петросян М.А., Балашова Н.Н., Полянских Л.С., и др. Влияние аналогов прогестерона на эндометриоидные гетеротопии в экспериментальной модели эндометриоза // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2018. – Т. 81. – № 7. – С. 14–19. [Petrosyan MA, Balashova NN, Polyanskikh LS, et al. Influence of progesterone analogs on endometrioid heterotopia in experimental model of endometriosis. *Eksp Klin Farmakol.* 2018;81(7):14-19. (In Russ.)] <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2018-81-7-14-19>.
- Ota H, Igarashi S, Sato N, et al. Involvement of catalase in the endometrium of patients with endometriosis and adenomyosis. *Fertil Steril.* 2002;78(4):804-809. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(02\)03344-7](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(02)03344-7).
- Puy LA, Librach CL. A case-controlled analysis of catalase expression in endometriosis. *Fertil Steril.* 2001;76(3):S149. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(01\)02436-0](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(01)02436-0).
- Zarafshan SS, Salehi Z, Salehi E, et al. Polymorphism of catalase gene (CAT C-262T) in women with endometriosis. *J Obstet Gynaecol.* 2015;35(3):269-271. <https://doi.org/10.3109/01443615.2014.948402>.
- Разыграев А.В., Петросян М.А., Таборская К.И. Перспективы определения ферментативной активности глутатионпероксидазы GPx3 в клеточной культуре эндометрия при оценке гестагенной активности аналогов прогестерона // Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – Т. 66. – № 5. – С. 66–67. [Razygraev AV, Petrosyan MA, Taborskaya KI. Perspektivy opredeleniya fermentativnoy aktivnosti glutationperoksidazy GPx3 v kletochnoy kul'ture endometriya pri otsenke gestagennoy aktivnosti analogov progesterona. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases.* 2017;66(5):66-67. (In Russ.)]
- Beers RF, Jr., Sizer IW. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J Biol Chem.* 1952;195(1):133-140.
- Разыграев А.В. Гомоцистеинпероксидазная активность плазмы крови крыс. Стехиометрия и ферментативный характер реакции // Биомедицинская химия. – 2013. – Т. 59. – № 6. – С. 636–643. [Razygraev AV. Homocysteine peroxidase activity in rat blood plasma: stoichiometry and enzymatic character of the reaction. *Biomed Khim.*

- 2013;59(6):636-643. (In Russ.]. <https://doi.org/10.18097/pbmc20135906636>.
11. Разыграев А.В., Таборская К.И., Петросян М.А., Тумасова Ж.Н. Тиолпероксидазные активности плазмы крови крыс, определяемые с использованием пероксида водорода и 5,5'-дитиобис(2-нитробензойной кислоты) // Биомедицинская химия. – 2016. – Т. 62. – № 4. – С. 431–438. [Razygraev AV, Taborskaya KI, Petrosyan MA, Tumasova ZhN. Thiol peroxidase activities in rat blood plasma determined with hydrogen peroxide and 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid). *Biomed Khim.* 2016;62(4):431-438. (In Russ.]. <https://doi.org/10.18097/PBMC20166204431>.
 12. Чеснокова Л.С., Войнова Н.Е., Комкова А.И., Лянгузов А.Ю. Методы количественного определения белка // Ферменты и нуклеиновые кислоты / под ред. В.Г. Владимирова, С.Н. Лызловой. – СПб., 1997. – С. 5–25. [Chesnokova LS, Voynova NE, Komkova AI, Lyanguzov AY. Metody kolichestvennogo opredeleniya belka. In: *Fermenty i nukleinovye kisloty*. Ed. by V.G. Vladimirov, S.N. Lyzlova. Saint Petersburg; 1997. P. 5-25. (In Russ.)]
 13. r-project.org [Internet]. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria; 2017. [cited 25 Oct 2019]. Available from: <https://www.r-project.org/>.

■ Информация об авторах (Information about the authors)

Алексей Вячеславович Разыграев — канд. биол. наук, научный сотрудник группы фармакологии отдела патоморфологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург; научный сотрудник лаборатории фармакологических исследований. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0002-0544-9398>. SPIN-код: 8623-7923. **E-mail:** alexeyrh@mail.ru.

Мария Анатольевна Петросян — канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник группы фармакологии отдела патоморфологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0001-7347-6104>. SPIN-код: 5329-5420. **E-mail:** mariya@labpharm.spb.ru.

Елена Владимировна Базиян — научный сотрудник группы фармакологии отдела патоморфологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0001-7837-3315>. SPIN-код: 2232-9914. **E-mail:** waz2107gen@yandex.ru.

Людмила Сергеевна Полянских — научный сотрудник группы фармакологии отдела патоморфологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0001-9994-8341>. SPIN-код: 2501-8880. **E-mail:** polyanskikh-83@mail.ru.

Alexey V. Razygraev — PhD, Researcher. Pharmacology Group, the Department of Pathomorphology, the Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia; the Laboratory of Pharmacological Research, Saint Petersburg State University of Chemistry and Pharmacy, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0002-0544-9398>. SPIN-code: 8623-7923. **E-mail:** alexeyrh@mail.ru.

Maria A. Petrosyan — PhD, Leading Researcher. Pharmacology Group, the Department of Pathomorphology, the Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0001-7347-6104>. SPIN-code: 5329-5420. **E-mail:** mariya@labpharm.spb.ru.

Elena V. Baziyan — Researcher. Pharmacology Group, the Department of Pathomorphology, the Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0001-7837-3315>. SPIN-code: 2232-9914. **E-mail:** waz2107gen@yandex.ru.

Lyudmila S. Polyanskikh — Researcher. Pharmacology Group, the Department of Pathomorphology, the Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0001-9994-8341>. SPIN-code: 2501-8880. **E-mail:** polyanskikh-83@mail.ru.