

УДК 618.145-007.415-07:577.112.5]-092.9

DOI: <https://doi.org/10.17816/JOWD52877>

Активность глутатионпероксидазы в эндометриодных очагах при хирургическом моделировании эндометриоза

© А.В. Разыграев^{1, 2}, Е.В. Базиян², Л.С. Полянских², М.А. Петросян^{2, 3}¹ Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, Санкт-Петербург, Россия;² Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия;³ Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия

Актуальность. Известна связь между полиморфизмами генов, кодирующих антиоксидантные ферменты, изменениями активностей каталазы и глутатионпероксидазы в ткани эндометрия и развитием эндометриоза. Некоторые формы глутатионпероксидазы активируются гестагенами. В то же время гестагены эффективны в обеспечении регресса эндометриодных очагов. Представляет интерес оценка связи глутатионпероксидазной активности в эндометриодных очагах со степенью их регресса.

Цель — проанализировать активность глутатионпероксидазы в смоделированных эндометриодных очагах, имеющих разную степень регресса.

Материалы и методы. Метод определения глутатионпероксидазной активности с использованием пероксида водорода в качестве субстрата и 5,5'-дитиобис(2-нитробензойной кислоты) для оценки убыли восстановленной формы глутатиона применен для количественной оценки активности фермента в эндометриодных очагах, смоделированных у лабораторных крыс линии Вистар. Определение проводили в гомогенатах ткани при 37 °С в реакционной среде на основе трис-НСI-буфера с этилендиаминтетраацетатом и азидом натрия (рН 8,5) в присутствии 0,55 мМ глутатиона и 0,192 мМ пероксида водорода (время инкубации — 40 с). Оценивали корреляцию между глутатионпероксидазной активностью и массой очагов.

Результаты. Для эндометриодных очагов, смоделированных на лабораторных крысах, в целом характерен высокий, хорошо определяемый уровень глутатионпероксидазной активности. Величина глутатионпероксидазной активности для одних и тех же гетеротопий пропорциональна содержанию их белка в реакционной смеси. Диапазон значений удельной активности глутатионпероксидазы в разных очагах составил 2,43–6,45 мкмоль израсходованного глутатиона / мин на 1 мг белка ($n = 7$). В очагах, обладающих меньшей массой (сильнее подвергшихся регрессу), регистрировали более высокую глутатионпероксидазную активность — коэффициент ранговой корреляции Спирмена составил $-0,93$ ($p = 0,0067$).

Заключение. Метод определения глутатионпероксидазной активности с использованием пероксида водорода и 5,5'-дитиобис(2-нитробензойной кислоты) пригоден для работы с тканью смоделированных эндометриодных очагов. Чем более высокая активность глутатионпероксидазы в очагах, тем, как правило, меньше их масса. Результаты аналогичны полученным ранее данным по активности каталазы и позволяют предположить вовлеченность обоих антиоксидантных ферментов в механизм регресса эндометриодных очагов.

Ключевые слова: эндометриоз; корреляция; глутатионпероксидаза; фермент; пероксид водорода; метод.

Как цитировать:

Разыграев А.В., Базиян Е.В., Полянских Л.С., Петросян М.А. Активность глутатионпероксидазы в эндометриодных очагах при хирургическом моделировании эндометриоза // Журнал акушерства и женских болезней. 2021. Т. 70. № 2. С. 55–61. DOI: <https://doi.org/10.17816/JOWD52877>

DOI: <https://doi.org/10.17816/JOWD52877>

Experience of measuring glutathione peroxidase activity in surgically induced endometrial-like lesions in rats

© Aleksey V. Razygraev^{1, 2}, Elena V. Baziyan², Lyudmila S. Polyanskikh², Mariya A. Petrosyan^{2, 3}

¹ Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia;

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

³ V.A. Almazov National Medical Research Center, Saint Petersburg, Russia

BACKGROUND: Endometriosis is known to be linked with altered activities of antioxidant enzymes and with their gene polymorphisms. Progestins are known to induce glutathione peroxidase activity in the endometrium and promote reduction of endometrial lesions. It could be useful to estimate the correlation between the activity of glutathione peroxidase within endometrial lesions and their degree of reduction.

AIM: The present study was aimed at estimating glutathione peroxidase activity in surgically induced endometrial-like lesions of different degree of reduction in rat model of endometriosis.

MATERIALS AND METHODS: The method for determining glutathione peroxidase activity using hydrogen peroxide as a substrate and 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) for estimation of residual reduced glutathione was applied for quantitative analysis of the enzyme activity in endometriotic foci, surgically induced in female Wistar rats. An assay of glutathione peroxidase activity in tissue homogenates was performed at 37°C in a reaction medium containing Tris-HCl buffer supplemented with tetrasodium ethylenediaminetetraacetate and sodium azide (pH 8.5) in the presence of 0.55 mM reduced glutathione and 0.192 mM hydrogen peroxide. Before adding trichloroacetic acid, 40-second incubation was used. The correlation between the specific activity of the enzyme and protein amount in endometriotic foci was estimated.

RESULTS: In a rat model of endometriosis, there was a high, well-determined glutathione peroxidase activity in endometriotic foci. For the same endometriotic tissue sample, the enzymatic activity was proportional to the amount of protein in the reaction mixture. The range of specific glutathione peroxidase activity was 2.43–6.45 micromoles of consumed glutathione per minute per milligram of protein ($n = 7$). In most reduced endometriotic foci (with the minimum amount of endometriotic tissue), the highest specific activity of glutathione peroxidase was found (the Spearman's rho of -0.93 with $p = 0.0067$).

CONCLUSIONS: The method for determining glutathione peroxidase activity using hydrogen peroxide and 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) is convenient for working with the endometriotic tissue in a rat model of endometriosis. We can accept, with $p < 0.01$, that weight of endometriotic foci is negatively linked with specific glutathione peroxidase activity within their tissue. The results are analogous to the previously obtained data on catalase activity and suggest the involvement of both antioxidant enzymes in reduction of endometrial lesions.

Keywords: endometriosis; correlation; glutathione peroxidase; enzyme; hydrogen peroxide; method.

To cite this article:

Razygraev AV, Baziyan EV, Polyanskikh LS, Petrosyan MA. Experience of measuring glutathione peroxidase activity in surgically induced endometrial-like lesions in rats. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2021;70(2):55–61. DOI: <https://doi.org/10.17816/JOWD52877>

АКТУАЛЬНОСТЬ

Согласно данным ряда исследований развитие эндометриоза сопряжено с изменениями активности антиоксидантных ферментов в ткани эндометрия, а также с полиморфизмами их генов. При эндометриозе выявлены изменения активности каталазы [1, 2]. Получены также данные, указывающие на возможность связи полиморфизма промотора гена, кодирующего этот фермент, с риском развития эндометриоза [3]. В нашем недавнем исследовании активности каталазы в смоделированных у крыс эндометриозидных гетеротопиях с разной степенью регресса была выявлена обратная корреляция между активностью фермента и массой гетеротопий ($p < 0,025$) [4]. Экспрессия классической внутриклеточной формы глутатионпероксидазы (GPx1) также подвергается изменениям при эндометриозе: циклические изменения экспрессии GPx1 в эндометрии нарушены при данном заболевании [5]. Каталаза и глутатионпероксидаза (GPx) — ферменты, сходные в функциональном смысле, их роль состоит в детоксикации пероксида водорода и, соответственно, снижении уровня свободнорадикального окисления [6]. Полученные ранее данные указывают на целесообразность оценки активности антиоксидантных ферментов в гетеротопиях с разной степенью их регресса — это важно как для понимания механизмов развития и регресса эндометриозидных очагов, так и для оценки возможности прогноза течения заболевания по уровню активности этих ферментов. Настоящее исследование, в котором определяли глутатионпероксидазную активность, аналогично исследованию, проведенному ранее для каталазной активности в эндометриозидных очагах [4].

Цель — количественно оценить глутатионпероксидазную активность в ткани эндометриозидных очагов с разной степенью регресса, смоделированных на лабораторных крысах. В задачи входили оценка возможности применения разработанного ранее метода определения активности GPx для работы с тканью эндометриозидных имплантов и (при положительном ответе) оценка связи между активностью GPx и их массой.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на половозрелых самках крыс линии Вистар массой 230–320 г. Все лабораторные животные были получены из ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово» (Ленинградская область) и находились 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, свободный доступ к воде и пище, автоматический режим освещения день : ночь — 12 : 12 ч).

Подготовку животных к операции и выполнение операции по моделированию эндометриоза проводили согласно описаниям в работах [4, 7]. Все операции выполняли на стадии эструс, стандартизируя условия трансплантации фрагментов матки животных, находящихся на одинаковой стадии эстрального цикла. Осуществляли ауто трансплантацию фрагментов ткани матки размером 3×3 мм на участки в брюшной полости животного. Всем животным во время операции также проведена двусторонняя овариоэктомия с последующей заместительной терапией этинилэстрадиолом. Через 2 нед. выполняли диагностическую лапаротомию для подтверждения жизнеспособности имплантов, спустя еще 3 нед. животных выводили из эксперимента, используя глубокий ингаляционный наркоз. Иссеченные эндометриальные очаги замораживали и хранили при -85 °C до приготовления гомогенатов. От каждого животного использовали по одному импланту; остальные импланты применяли для других исследований.

Каждый имплант тщательно промывали в изотоническом растворе натрия хлорида и гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе в охлажденном 0,05 М К-Na-фосфатном буфере (pH 7,8) в течение 60 с. Общий объем буфера для приготовления гомогената составлял 50–80 мкл в зависимости от размера образца. Точный объем буфера при гомогенизации регистрировали для последующего расчета массы растворимого белка в ткани. Гомогенаты центрифугировали 6 мин при 4 °C, 1000 г. Супернатант использовали как биоматериал для определения активности GPx.

Глутатионпероксидазную активность определяли по модифицированному методу с использованием пероксида водорода в качестве субстрата [8]. Для реакционной смеси I использовали реактив А — 0,64 мМ раствор восстановленной формы глутатиона (GSH) в смеси 0,1 М трис-HCl-буфера (pH 8,5), содержащего 0,34 мМ ЭДТА, и водного раствора NaN_3 (26 мг/мл). Смесь буфера и раствора NaN_3 готовили в объемном соотношении 17 : 1. Реакцию инициировали добавлением реактива Б — 5 мМ водного раствора H_2O_2 . Реактив Б готовили разведением в 4 раза водного раствора H_2O_2 , имеющего поглощение при 240 нм, равное 0,872 (то есть разведением в 4 раза 20 мМ раствора пероксида водорода). Реакцию останавливали внесением 30 % (w/v) трихлоруксусной кислоты. Концентрация трихлоруксусной кислоты не должна превышать данное значение, иначе последующее окрашивание проб в реакции с реактивом Элмана будет затруднено [9].

Заполнение проб и ход определения

Реакцию проводят при 37 °C на водяной бане в пробирках «Эппендорф». Аликвоты реактива А объемом 90 мкл аккуратно вносят на дно пробирок, избегая образования капель, отделившихся и осевших на стенках пробирки. Преинкубируют пробирки несколько минут на

водяной бане. Затем вносят реактивы согласно четырем схемам постановки реакции.

SUM: вносят одновременно 4 мкл реактива Б и 10 мкл биоматериала, затем инкубация 40 с, внесение 20 мкл трихлоруксусной кислоты.

NEO: вносят одновременно 4 мкл реактива Б и 10 мкл растворителя биоматериала (в данном случае — фосфатного буфера), затем инкубация 40 с, внесение 20 мкл трихлоруксусной кислоты.

X: вносят 10 мкл биоматериала, инкубируют 40 с, одновременно добавляют 4 мкл реактива Б и 20 мкл трихлоруксусной кислоты.

ST: вносят 10 мкл растворителя биоматериала, инкубируют 40 с, одновременно добавляют 4 мкл реактива Б и 20 мкл трихлоруксусной кислоты.

При одновременном внесении реактивов их предварительно не смешивают. Для этого заранее наносят 4 мкл реактива Б на стенку пробирки выше уровня реактива А и затем вносят биоматериал (по схемам SUM и NEO) или трихлоруксусную кислоту (по схемам X и ST), тщательно пипетируя, перемешивая и споласкивая стенки смесью реактивов.

Если позволяет объем биоматериала, можно использовать пропорционально увеличенные объемы реактивов (рис. 1): 180 мкл реактива А, 20 мкл биоматериала, 8 мкл реактива Б и 40 мкл раствора трихлоруксусной кислоты.

После терминации реакции пробы центрифугируют при комнатной температуре 10 мин при 1000 g. Реакционную смесь II для каждой пробы собирают следующим образом: к 108 мкл каждого супернатанта, содержащего остаточный GSH, последовательно добавляют 1160 мкл 0,1 М трис-НСl-буфера с 0,34 мМ ЭДТА (рН 8,5) и затем через те же промежутки времени в каждую пробу

(в той же последовательности проб) вносят 9 мкл раствора 5,5'-дитиобис(2-нитробензойной кислоты), или реактива Элмана (4 мг на 1 мл абсолютного метанола). Наблюдается желтое окрашивание смеси. При добавлении реактива в каждую следующую пробу с интервалом в полминуты за 7,5 мин можно провести реакцию в 15 пробах. Поглощение при 412 нм регистрируют через следующие 7–8 мин, по очереди фотометрируя каждую пробу через тот же самый промежуток времени, через который вносили реактив Элмана. Окрашивание проб и измерение оптической плотности проводят при комнатной температуре. Для точной оценки концентрации GSH поглощения измеряют против пробы, в которую вместо 108 мкл супернатанта от реакционной смеси I вносят 108 мкл смеси, предварительно собранной аналогичным образом, но без GSH (90 мкл трис-НСl-буфера с NaN_3 и ЭДТА + 10 мкл фосфатного буфера + 4 мкл раствора H_2O_2 + 20 мкл раствора трихлоруксусной кислоты). Однако, поскольку для дальнейших расчетов ферментативной активности имеет значение разница между величинами поглощения для разных проб, измерение можно проводить против дистиллированной воды.

Общий объем фотометрируемого раствора по данной методике составляет 1277 мкл, поэтому для измерения в обычной спектрофотометрической кювете с длиной оптического пути 1 см и таким же расстоянием между ее боковыми стенками применяют спектрофотометр DU-65 (Beckman Coulter, США). При работе на спектрофотометре Lambda 25 (PerkinElmer, США) рекомендовано использовать «микрокювету» с длиной оптического пути 1 см и вогнутыми боковыми стенками (расстояние между ними — 0,45 см) либо в случае обычной кюветы пропорционально увеличить объемы всех реактивов (например, в 2 раза).

Убыль GSH в реакционной смеси I рассчитывают по разнице величин поглощения при 412 нм в реакционных смесях II. Для этого используют коэффициент миллимолярного поглощения продукта реакции GSH с реактивом Элмана при 412 нм ($14,15 \text{ мМ}^{-1} \text{ см}^{-1}$) [10] и разведения реакционной смеси. Реактив А с 0,64 мМ GSH (90 мкл) разбавляется до полностью собранной реакционной смеси (104 мкл) в 1,15(5) раза до концентрации GSH, равной 0,55385 мМ (то есть рабочей концентрации GSH), и затем при добавлении трихлоруксусной кислоты (до общего объема смеси 124 мкл) — в 1,1923 раза. Затем супернатант разводится реакционной смесью II в 11,824 раза (1277 мкл/108 мкл). Общее разведение реакционной смеси I составляет $(124/104)(1277/108) = 14,09793$, что приблизительно равно коэффициенту миллимолярного поглощения продукта реакции GSH с реактивом Элмана. На 1 ммоль GSH образуется 1 ммоль окрашенного продукта. Соответственно, 1 единица поглощения (1,000) реакционной смеси II при 412 нм соответствует приблизительно 1 мМ GSH (точно — 0,9963201 мМ GSH)

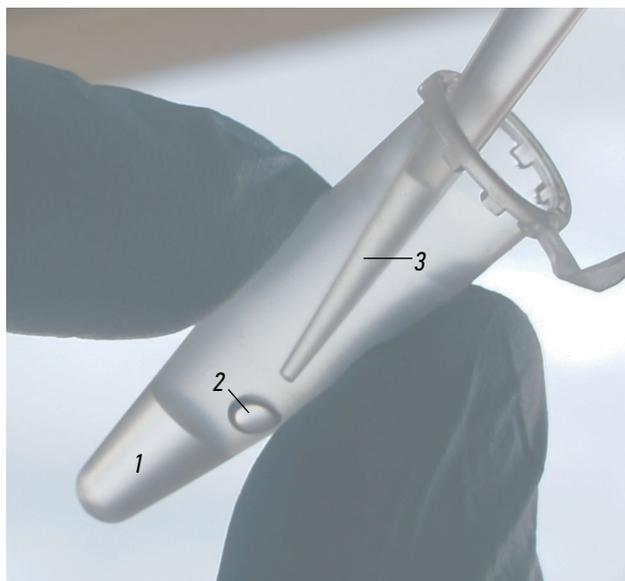


Рис. 1. Одновременное внесение пероксида водорода и биоматериала в реакционную смесь: 1 — реактив А (180 мкл); 2 — 5 мМ H_2O_2 (8 мкл); 3 — биоматериал (20 мкл). Фото А.Д. Юшиной

в реакционной смеси I. Применяемой в настоящем исследовании рабочей концентрации GSH в реакционной смеси I соответствует оптическая плотность реакционной смеси II, равная 0,556. Таким образом, арифметические действия со значениями оптических плотностей при 412 нм для разных проб будут хорошо отражать изменения концентраций GSH в реакционной смеси I.

Ферментативную активность рассчитывают по формуле, основанной на определении убыли концентрации GSH в разных процессах, протекающих в ходе аналитической процедуры:

$$\Delta A_{\text{GPx}} = [(A_{\text{ST}} - A_{\text{SUM}}) - (A_{\text{ST}} - A_{\text{NEO}}) - (A_{\text{ST}} - A_{\text{X}})] \cdot 1,5,$$

где ΔA_{GPx} — разность поглощений при 412 нм и численно равная ей убыль концентрации GSH в ферментативном окислении за 1 мин, выраженная в мМ (мкмоль/мл).

Таким образом, из суммарной убыли GSH ($A_{\text{ST}} - A_{\text{SUM}}$) вычитают убыль в неферментативной реакции ($A_{\text{ST}} - A_{\text{NEO}}$) и убыль при окислении глутатиона биоматериалом без участия GPx ($A_{\text{ST}} - A_{\text{X}}$). Разность в последней части формулы ($A_{\text{ST}} - A_{\text{X}}$) может иметь отрицательный знак, если биоматериал не окисляет GSH без участия GPx, а, напротив, содержит добавочное количество свободных сульфгидрильных групп. Коэффициент 1,5 служит для выражения активности за 1 мин (60 с / 40 с).

Концентрацию белка в супернатанте гомогенатов в настоящей работе определяли по упрощенной турбидиметрической процедуре [11] с помощью нескольких различающихся разведений одного и того же биоматериала. В качестве стандарта использовали раствор сывороточного альбумина человека (Corma, Польша). Концентрацию белка в реакционной смеси вычисляли с учетом разведения биоматериала реакционной смесью (104 мкл/10 мкл). Для расчета удельной активности GPx (в микромолях GSH в минуту на 1 мг белка) убыль концентрации GSH в ферментативном окислении за 1 мин (мкмоль/мин/мл) делили на значение концентрации белка в реакционной смеси (мг/мл).

Пропорциональность скорости реакции содержанию биоматериала в реакционной смеси оценивали с помощью коэффициента детерминации (R^2), для оценки корреляции между удельной активностью GPx и массой биоматериала применяли ранговый коэффициент корреляции Спирмена (ρ). Расчеты выполняли в программной среде R (версия 3.4.0) [12].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При хирургически индуцированном эндометриозе у крыс в гетеротопиях обнаруживается высокий, хорошо определяемый уровень глутатионпероксидазной активности. Диапазон значений удельной активности GPx составил 2,43–6,45 мкмоль GSH, израсходованного в ферментативной реакции, в пересчете на 1 мин и на 1 мг белка ($n = 7$).

Скорость ферментативной реакции (после вычета скорости неферментативного окисления GSH пероксидом и скорости окисления глутатиона биоматериалом без участия GPx и пероксида) для одних и тех же гетеротопий пропорциональна содержанию их белка в реакционной смеси. Показатель линейности этой зависимости (R^2) для пяти отдельных очагов варьировал в пределах от 0,9943 до 1, что соответствует высокой и очень высокой степени линейности. В случае одного и того же образца это означает, что удельные активности, определяемые при разных концентрациях белка, будут идентичны. Это указывает на то, что сравнение величин удельной активности фермента, полученных при разных концентрациях белка для разных образцов ткани, является корректным.

Вклад неферментативного окисления GSH пероксидом ($A_{\text{ST}} - A_{\text{NEO}}$) в общую реакцию при концентрациях белка в реакционной смеси, равных 57–125 мкг/мл, составил всего 12–16 %. Вклад ($A_{\text{ST}} - A_{\text{X}}$) в общую реакцию близок к нулю. Таким образом, основной расход GSH в вышеописанных условиях в реакционной смеси происходит вследствие ферментативной активности GPx.

Масса растворимого белка в смоделированных эндометриоидных гетеротопиях составила 47–415 мкг. Это означает, что сформировавшиеся очаги подверглись существенно разной степени регресса у разных животных. Между удельной активностью GPx в гетеротопиях и их массой, косвенно оцененной по количеству содержащегося в них растворимого белка, выявлена статистически значимая отрицательная корреляция: $\rho = -0,93$, $p = 0,006746$ (рис. 2).

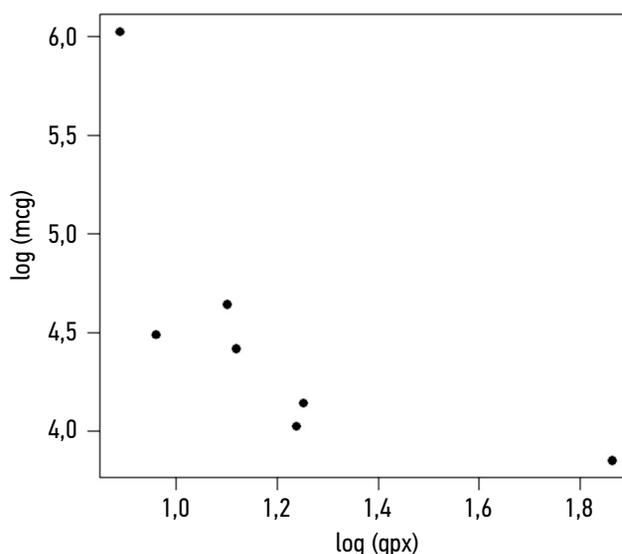


Рис. 2. Обратная корреляция между удельной активностью глутатионпероксидазы в смоделированных эндометриоидных очагах и их массой: $\log(\text{gpx})$ — натуральный логарифм глутатионпероксидазной активности (мкмоль/мин на 1 мг белка); $\log(\text{mcg})$ — натуральный логарифм массы всего растворимого белка в очаге (в микрограммах), экстрагированного при гомогенизации

Исходя из данных, представленных на рис. 2, можно предположить, что эндометриоидным имплантам изначально свойственен определенный ненулевой уровень удельной активности GPx независимо от их размера (что вполне понятно, так как исходно это нормальная ткань эндометрия), который, однако, увеличивается в дальнейшем в случае их регресса.

Выбранный нами способ представления этих данных показывает, что, как и в случае с каталазной активностью [4], мы рассматриваем активность GPx в качестве вероятного компонента механизма регресса эндометриоидных очагов; соответственно, мы помещаем активность фермента на горизонтальную ось графика, а массу гетеротопий рассматриваем как зависимую переменную [4]. Полученный результат по оценке корреляции дает основание полагать, что очаги могут подвергаться регрессу вследствие дополнительной индукции GPx и, наоборот, рост эндометриоидного очага может быть обусловлен снижением активности GPx. В то же время авторы отдают себе отчет в том, что наличие корреляции не доказывает причинно-следственную связь — повышенная активность GPx в уменьшенных очагах может лишь отражать реакцию антиоксидантной системы на работу других, основных механизмов, обуславливающих регресс эндометриоидных образований.

В общем полученные данные согласуются с выводом, сделанном ранее другими авторами [1, 2], о вовлеченности окислительного стресса в механизм прогрессирования эндометриоза. Проверку вклада GPx в подавление окислительного стресса в эндометриоидной ткани и в регресс эндометриоидных очагов целесообразно выполнить в экспериментах с применением соединений селена, который, как известно, необходим для биосинтеза GPx и потребление которого увеличивает определяемую активность этого фермента в тканях.

ДОПОЛНИТЕЛЬНО

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Информация о финансировании. Работа выполнена при 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).

Вклад авторов. А.В. Разыграев — биохимическое исследование, статистическая обработка данных, написание статьи. Е.В. Базиян — постановка модели эндометриоза и сбор материала. Л.С. Полянских — постановка модели эндометриоза и сбор материала. М.А. Петросян — дизайн экспериментальной модели эндометриоза и ее постановка, редактирование статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ota H., Igarashi S., Sato N. et al. Involvement of catalase in the endometrium of patients with endometriosis and adenomyosis // *Fertil. Steril.* 2002. Vol. 78. No. 4. P. 804–809. DOI: 10.1016/S0015-0282(02)03344-7
- Puy L.A., Librach C.L. A case-controlled analysis of catalase expression in endometriosis // *Fertil. Steril.* 2001. Vol. 76. No. 3. Suppl. 1. P. S149. DOI: 10.1016/S0015-0282(01)02436-0
- Zarafshan S.S., Salehi Z., Salehi E. et al. Polymorphism of catalase gene (CAT C-262T) in women with endometriosis // *J. Obstet. Gynaecol.* 2015. Vol. 35. No. 3. P. 269–271. DOI: 10.3109/01443615.2014.948402
- 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. DOI: 10.17816/JOWD68657-63
- 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. Vol. 74. P. 313–318. DOI: 10.1016/S0015-0282(00)00638-5
- Torres W.H. *Biología de las especies de oxígeno reactivas* // *Mensaje Bioquímico.* 2002. Vol. 26. P. 19–54. [дата обращения: 02.12.2020]. Доступ по ссылке: http://static1.1.sqspcdn.com/static/f/1381323/18832492/1340082783193/Mensaje_Bioq02v26p019_Hansberg.pdf?token=%2BxnoB2oTZkYCHfk5sNZxT7gyf4Y%3D
- 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. DOI: 10.30906/0869-2092-2018-81-7-14-19
- Разыграев А.В., Юшина А.Д., Титович И.А. Методика определения активности глутатионпероксидазы мозга мышей и ее применение в фармакологическом эксперименте // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2018. Т. 165. № 2. С. 261–264. DOI: 10.1007/s10517-018-4219-2
- 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'-дителибис(2-нитробензойной кислоты) // *Биомедицинская химия.* 2016. Т. 62. № 4. С. 431–438. DOI: 10.18097/PBMC20166204431
- Riddles P.W., Blakeley R.L., Zerner B. Ellman's reagent: 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) — a reexamination // *Analytical biochemistry.* 1979. Vol. 94. No. 1. P. 75–81. DOI: 10.1016/0003-2697(79)90792-9
- Чеснокова Л.С., Войнова Н.Е., Комкова А.И., Лянгузов А.Ю. Методы количественного определения белка // *Ферменты и нуклеиновые кислоты* / под ред. В.Г. Владимиров, С.Н. Лызлова. Санкт-Петербург, 1997.
- r-project.org [Internet]. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, 2017. [дата обращения: 05.05.2017]. Доступ по ссылке: <https://www.r-project.org/>

REFERENCES

- 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. DOI: 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, suppl. 1):S149. DOI: 10.1016/S0015-0282(01)02436-0
- Zarafshan SS, Salehi Z, Salahi E, et al. Polymorphism of catalase gene (CAT C-262T) in women with endometriosis. *J Obstet Gynaecol*. 2015;35(3):269–271. DOI: 10.3109/01443615.2014.948402
- Razygraev AV, Petrosyan MA, Bazian 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. (In Russ.). DOI: 10.17816/JOWD68657-63
- 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;74:313–318. DOI: 10.1016/S0015-0282(00)00638-5
- Torres WH. Biología de las especies de oxígeno reactivas. *Mensaje Bioquímico*. 2002;26:19–54. [cited: 2020 Dec 2]. Available from: http://static1.1.sqspcdn.com/static/f/1381323/18832492/1340082783193/Mensaje_Bioq02v26p019_Hansberg.pdf?token=%2BxnoB2oTZkYC Hfk5sNZxT7gyf4Y%3D
- Petrosyan MA, Balashova NN, Polyanskikh LS, et al. Influence of progesterone analogs on endometrioid heterotopia in experimental model of endometriosis. *Экспериментальная и Клиническая Фармакология*. 2018;81(7):14–19. (In Russ.). DOI: 10.30906/0869-2092-2018-81-7-14-19
- Razygraev AV, Yushina AD, Titovich IA. Correction to: A method of measuring glutathione peroxidase activity in murine brain: Application in pharmacological experiment. *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2018;165(4):589–592. (In Russ.). DOI: 10.1007/s10517-018-4219-2
- 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.). DOI: 10.18097/PBMC20166204431
- Riddles PW, Blakeley RL, Zerner B. Ellman's reagent: 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) — a reexamination. *Analytical biochemistry*. 1979;94(1):75–81. DOI: 10.1016/0003-2697(79)90792-9
- Chesnokova LS, Voinova NE, Komkova AI, Lyanguzov AYU. Metody kolichestvennogo opredeleniia belka. In *fermenty i nukleinoye kisloty*. Ed. by S.N. Lyzlova, B.G. Vladimirov. Saint Petersburg; 1997. (In Russ.)
- r-project.org [Internet]. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna; 2017. [cited: 2017 May 5]. Available from: <https://www.r-project.org/>

ОБ АВТОРАХ

***Алексей Вячеславович Разыграев**, канд. биол. наук;
адрес: Россия, 199034, Санкт-Петербург,
Менделеевская линия, д. 3;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0544-9398>;
eLibrary SPIN: 8623-7923; e-mail: a.v.razygraev@gmail.com

Елена Владимировна Базиян;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7837-3315>;
eLibrary SPIN: 2232-9914; e-mail: waz2107gen@yandex.ru

Людмила Сергеевна Полянских;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9994-8341>;
eLibrary SPIN: 2501-8880; e-mail: polyanskikh-83@mail.ru

Мария Анатольевна Петросян, канд. биол. наук;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7347-6104>;
eLibrary SPIN: 5329-5420; e-mail: mariya@labpharm.spb.ru

AUTHORS INFO

***Aleksey V. Razygraev**, MD, PhD;
address: 3 Mendeleevskaya line,
Saint Petersburg, 199034, Russia;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0544-9398>;
eLibrary SPIN: 8623-7923; e-mail: a.v.razygraev@gmail.com

Elena V. Bazian, MD;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7837-3315>;
eLibrary SPIN: 2232-9914; e-mail: waz2107gen@yandex.ru

Lyudmila S. Polyanskikh, MD;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9994-8341>;
eLibrary SPIN: 2501-8880; e-mail: polyanskikh-83@mail.ru

Mariya A. Petrosyan, MD, PhD;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7347-6104>;
eLibrary SPIN: 5329-5420; e-mail: mariya@labpharm.spb.ru