

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

手术模拟子宫内膜异位症中子宫内膜样病灶中的谷胱甘肽过氧化物酶活性

© 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

现实意义的题目已知编码抗氧化酶的基因的多态性、子宫内膜组织中过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性的变化以及子宫内膜异位症的发展之间存在关系。某些形式的谷胱甘肽过氧化物酶被孕激素激活。同时,孕激素可有效确保子宫内膜异位灶的消退。评估子宫内膜样病灶中谷胱甘肽过氧化物酶活性与其退化程度之间的关系是有意义的。

目的是分析具有不同退化程度的模拟子宫内膜异位病灶中谷胱甘肽过氧化物酶的活性。

材料和方法。使用过氧化氢作为底物和5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)测定谷胱甘肽过氧化物酶活性以评估谷胱甘肽还原形式的损失的方法用于量化在实验室 Wistar 中模拟的子宫内膜异位病灶中的酶活性老鼠。测定是在37°C的组织匀浆中在基于 Tris-HCl 缓冲液的反应介质中进行的,该缓冲液含有乙二胺四乙酸盐和叠氮化钠(pH 8.5),存在 0.55 mM 谷胱甘肽和 0.192 mM 过氧化氢(孵育时间 - 40秒)。评价了谷胱甘肽过氧化物酶活性与病灶质量的相关性。

结果。以实验室大鼠为模型的子宫内膜异位病变通常以高、明确的谷胱甘肽过氧化物酶活性水平为特征。相同异位的谷胱甘肽过氧化物酶活性值与其在反应混合物中的蛋白质含量成正比。不同病灶谷胱甘肽过氧化物酶比活性值范围为每1mg蛋白质消耗谷胱甘肽2.43-6.45 $\mu\text{mol}/\text{min}$ ($n=7$)。质量较低的病灶中(更强烈地受到回归)记录到较高的谷胱甘肽过氧化物酶活性 - Spearman 等级相关系数为 -0.93 ($p=0.0067$)。

结论。用过氧化氢和5,5'-二硫代(2-硝基苯甲酸)测定谷胱甘肽过氧化物酶活性的方法,5,5'-二硫代(2-硝基苯甲酸)适用于模拟子宫内膜异位症病灶的组织。病灶中谷胱甘肽过氧化物酶活性越高,其质量通常越小。结果与先前获得的催化酶活性数据相似,提示两种抗氧化剂酶均参与内膜源性退变机制。

关键词: 子宫内膜异位症; 相关性; 谷胱甘肽过氧化物酶; 酶; 过氧化氢; 方法。

引用本文:

Razygraev AV, Baziyan EV, Polyanskikh LS, Petrosyan MA. 手术模拟子宫内膜异位症中子宫内膜样病灶中的谷胱甘肽过氧化物酶活性. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2021;70(2):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>

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>

主题的相关性

根据多项研究子宫内膜异位症的发生与子宫内膜组织中抗氧化酶活性的变化及其基因的多态性有关。已在子宫内膜异位症中发现过氧化氢酶活性的变化[1, 2]。还获得了数据,表明编码该酶的基因启动子的多态性与发生子宫内膜异位症的风险之间存在联系的可能性[3]。我们最近对具有不同退化程度的大鼠模型子宫内膜异位中过氧化氢酶活性的研究中,发现酶活性与异位质量之间呈负相关($p < 0.025$) [4]。经典细胞内形式的谷胱甘肽过氧化物酶(GPx1)的表达也在子宫内膜异位症中发生变化:子宫内膜中GPx1表达的周期性变化在这种疾病中受损[5]。过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)在功能上是相似的酶,它们的作用是解毒过氧化氢,从而降低自由基氧化水平[6]。以前的数据表明,评估抗氧化剂酶在异位生物中的活性是有用的,它们的退化程度不同——这对于理解机制很重要子宫内膜异位灶的发育和退化,并根据这些酶的活性水平评估预测疾病流动的可能性。本研究确定了谷胱甘肽过氧化物酶活性,与早先针对子宫内膜样病灶中过氧化氢酶活性进行的研究相似 [4]。

目的是在实验室大鼠中模拟具有不同消退程度的子宫内膜样病灶组织中的谷胱甘肽过氧化物酶活性。任务包括评估使用先前开发的方法来确定GPx活动以处理子宫内膜样植入物组织的可能性,以及(如果答案是肯定的)评估GPx活动与其质量之间的关系。

材料和方法

该研究是在体重为 230-320 克的成熟雌性 Wistar 大鼠上进行的。所有实验动物均来自联邦国家统一企业“实验动物托儿所”Rappolovo“(列宁格勒地区),并且处于饲养场的规范条件下 FGBNU«NII AGiR D.O. Otta»遵守饲养实验动物的所有规则(检疫时间和顺序、所有个体的标记、持续的卫生控制、标准饮食、自由获取水和食物、自动照明模式白天:夜间-12:12小时)。

根据作品中的描述,进行了动物手术准备和模拟子宫内膜异位症的手术[4, 7]。所有手术均在发情期进行,规范了动情周期同一阶段动物子宫碎片移植的条件。将大小为3×3毫米的子宫组织碎片自体移植到动物腹腔区域。手术期间的所有动物也接受了双侧卵巢切除术,然后用乙炔雌二醇进行替代治疗。2周后进行诊断性剖腹手术以确认植入物的可行性,又过了3周使用深吸入麻醉将动物从实验中取出。将切除的子宫内膜病灶冷冻并储

存在-85℃直至制备匀浆。每只动物使用一个植入物;其余的植入物用于其他研究。

每个植入物在等渗氯化钠溶液中彻底清洗,并在玻璃均质器中在冷却的 0.05 M K-磷酸钠缓冲液(pH 7.8)中均质 60 秒。用于制备匀浆的缓冲液总体积为 50-80 μ L,具体取决于样品大小。记录匀浆过程中缓冲液的准确体积,用于随后计算组织中可溶性蛋白质的质量。匀浆在 4℃ 下离心 6 分钟,1000 克。上清液用作生物材料以确定GPx活性。

谷胱甘肽过氧化物酶活性是通过使用过氧化氢作为底物的改良方法测定的[8]。对于反应混合物I,我们使用试剂 A - 0.64 mM 谷胱甘肽(GSH)还原形式的溶液,在含有 0.34 mM EDTA 的0.1 M Tris-HCl 缓冲液(pH 8.5)和 NaN_3 水溶液(26 mg/毫升)。以 17:1 的体积比制备缓冲液和 NaN_3 溶液的混合物。过添加试剂 B - 5 mM H_2O_2 水溶液引发反应。通过将 H_2O_2 水溶液稀释4倍制备试剂B,该水溶液在 240 nm 处的吸收为0.872(即 20 mM 过氧化氢溶液的4倍稀释)。通过加入 30% (w/v) 三氯乙酸终止反应。三氯乙酸的浓度不应超过此值,否则后续样品在与埃尔曼试剂反应时染色困难[9]。

样品填充及测定进度

反应在 Eppendorf 管中于37℃的水浴中进行。将 90 μ L 试剂 A 的等分试样小心添加到试管底部,避免形成分离并沉淀在试管壁上的液滴。将试管在水浴中预孵育几分钟。然后根据四种反应方案添加试剂。

SUM: 同时加入4微升B试剂和10微升生物材料,然后孵化40秒加入20微升三氯乙酸。

NEO: 同时加入4 μ l试剂B和10 μ l生物材料溶剂(本例中为磷酸盐缓冲液),然后孵育40秒加入 20 μ l三氯乙酸。

X: 加入生物材料10 μ l,孵育40秒同时加入4 μ l试剂B和20 μ l三氯乙酸。

ST: 加入10 μ l生物材料溶剂,孵育40秒,同时加入4 μ l试剂B和20 μ l三氯乙酸。

随着试剂的同时引入,它们不会预先混合。为此,将4 μ l试剂 B 施放到试剂 A 液面上方的管壁上,然后小心添加生物材料(根据 SUM 和 NEO 方案)或三氯乙酸(根据方案 X 和 ST)移液、混合和用试剂混合物冲洗壁。

如果生物材料的体积允许,可以按比例增加试剂的体积(图1): 180 μ l 试剂 A、20 μ l 生物材料、8 μ l 试剂 B 和 40 μ l 三氯乙酸溶液。

反应终止后,将样品在室温下以 1000 g 离心 10 分钟。如下收集每个样品的反应混合物II:

将 1160 μl 含有 0.34 mM EDTA (pH 8.5) 的 0.1 M Tris-HCl 缓冲液依次添加到 108 μl 含有残留 GSH 的每个上清液中, 然后每隔 9 μl 通过上清液将 5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸) 溶液或 Ellman 试剂(每 1 ml 无水甲醇 4 mg) 添加到每个样品中(以相同的样品顺序)。在混合物中观察到黄色。如果将试剂以半分钟的间隔加入到每个后续样品中, 则可以在 7.5 分钟内反应 15 个样品。接下来的 7-8 分钟后记录 412 nm 处的吸光度, 在添加 Ellman 试剂后的同一时间间隔内轮流测量每个样品。样品染色和光密度测量在室温下进行。为了准确评估 GSH 浓度, 针对样品测量吸光度, 其中, 不是 108 μl 反应混合物 I 的上清液, 而是 108 μl 先前以相同方式收集的混合物, 但不含 GSH(90 含 NaN_3 和 EDTA 的 Tris-HCl 缓冲液 + 10 μl 磷酸盐缓冲液 + 4 μl H_2O_2 溶液 + 20 μl 三氯乙酸溶液)。但是, 由于不同样品的吸收值之间的差异对于酶活性的进一步计算很重要, 因此可以对蒸馏水进行测量。

根据该技术的光度测量溶液的总体积为 1277 μL ; 因此, 使用 DU-65 分光光度计(美国贝克曼库尔特)在光程长度为 1 cm 且两者之间距离相同的传统分光光度比色皿中进行测量。它的侧壁。Lambda 25 分光光度计(美国, Perkin-Elmer)上工作时, 建议使用光程长度为 1 厘米且侧壁为凹形(它们之间的距离为 0.45 厘米)的“微比色皿”, 或者在常规比色皿, 按比例增加所有试剂的体积(例如, 2 倍)。

反应混合物 I 中 GSH 的损失由反应混合物 II 在 412 nm 处吸收值的差异计算。为此, 请使用反应产物 GSH 与 Ellman 试剂在 412 nm ($14.15 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) [10] 处的毫摩尔吸收系数, 并稀释反应混合物。将含有 0.64 mM GSH (90 μl) 的试剂 A 稀释至完全收集的反应混合物 (104 μl) 1.15 (5) 倍至 GSH 浓度为 0.55385 mM(即 GSH 的工作浓度), 然后在到混合物的总体积 124 μl) - 1.1923 倍。然后用反应混合物 II (1277 μl / 108 μl) 将上清液稀释 11.824 倍。反应混合物 I 的总稀释度为 $(124/104) (1277/108) = 14.09793$, 这大约等于 GSH 反应产物与 Ellman 试剂的毫摩尔吸收系数。1 毫摩尔 GSH 形成 1 毫摩尔有色产物。因此, 反应混合物 II 在 412 nm 处的 1 个吸光度单位 (1.000) 对应于反应混合物 I 中的约 1 mM GSH(恰好为 0.9963201 mM GSH)。本研究中反应混合物 I 中使用的 GSH 工作浓度对应于

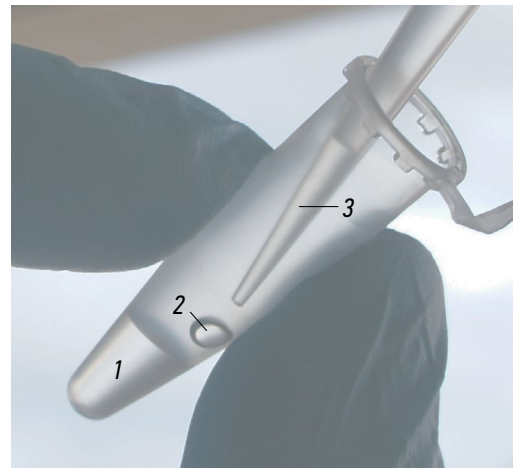


图1 同时将过氧化氢和生物材料加入反应混合物中: 1 - 试剂 A (180 μl); 2 - 5 mM H_2O_2 (8 μl); 3 - 生物材料 (20 微升)。A. D. Yushina 图片

反应混合物 II 的光密度, 等于 0.556。因此, 对不同样品在 412 nm 处的光密度值进行算术运算, 将很好地反映反应混合物 I 中 GSH 浓度的变化。

使用一个公式计算酶活性, 该公式基于分析过程中发生的不同过程中 GSH 浓度损失的测定: $\Delta A_{\text{GPx}} = [(A_{\text{ST}} - A_{\text{SUM}}) - (A_{\text{ST}} - A_{\text{NEO}}) - (A_{\text{ST}} - A_{\text{X}})] \cdot 1.5$, 其中 ΔA_{GPx} - 412 nm 处的吸光度差异和酶促氧化 1 分钟中 GSH 浓度在数值上相等的下降, 以表示 mM ($\mu\text{mol/ml}$)。

因此, 从 GSH 的总损失 ($A_{\text{ST}} - A_{\text{SUM}}$) 中减去非酶促反应 ($A_{\text{ST}} - A_{\text{NEO}}$) 的减少和没有 GPx 参与的生物材料对谷胱甘肽氧化的减少 ($A_{\text{ST}} - A_{\text{X}}$)。如果生物材料在没有 GPx 参与的情况下不氧化 GSH, 但相反, 包含额外量的游离巯基, 则公式最后部分的差异 ($A_{\text{ST}} - A_{\text{X}}$) 可能具有负号。系数 1.5 用于表示 1 分钟 (60 秒/40 秒) 内的活动。

这项工作中, 使用简化的浊度法 [11] 使用相同生物材料的几种不同稀释度来确定匀浆上清液中的蛋白质浓度。使用人血清白蛋白溶液 (Cormay, 波兰) 作为标准。考虑到生物材料与反应混合物的稀释 (104 μl / 10 μl), 计算反应混合物中的蛋白质浓度。为了计算 GPx 的比活性 (以每分钟每 1 毫克蛋白质微摩尔 GSH 为单位), 将酶促氧化 1 分钟中 GSH 浓度的减少量 ($\mu\text{mol/min/ml}$) 除以反应混合物 (毫克/毫升)。

反应速率与反应混合物中生物材料含量的比例使用决定系数 (R^2) 进行评估; 为了评估 GPx 的比活性与生物材料质量之间的相关性, Spearman 等级相关系数 (ρ) 被使用。计算是在 R 软件环境 (版本 3.4.0) 中进行的 [12]。

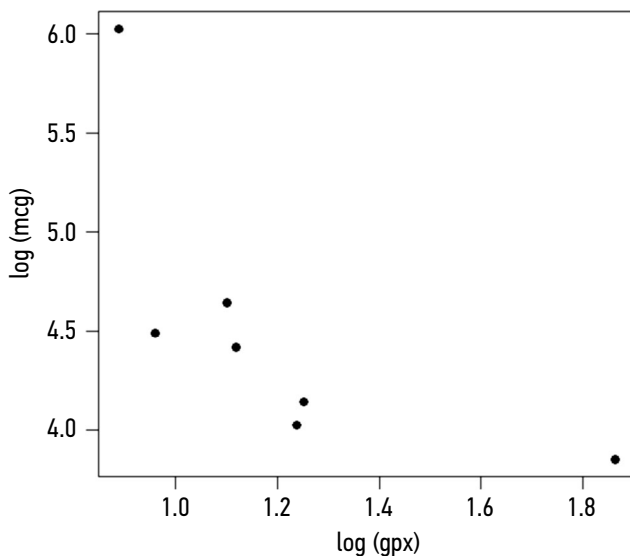


图2 模拟子宫内膜异位症病灶中谷胱甘肽过氧化物酶的比活度与其质量的反比关系: $\log(\text{GPX})$ 是谷胱甘肽过氧化物酶活性的自然对数 (每1mg蛋白质微mol/min); $\log(\text{MCG})$ 是同质化提取的所有可溶性蛋白质的自然对数

结果和讨论

手术诱发子宫内膜异位症的大鼠中, 异位中发现了高水平、明确定义的谷胱甘肽过氧化物酶活性。Gpx 比活值的范围是 2.43–6.45 $\mu\text{mol GSH}$ 在酶促反应中消耗, 按每分钟和每 1 mg 蛋白质计算 ($n=7$)。

酶反应速率 (在不涉及GPX和过氧化物的情况下, 通过生物材料减去GSH的非代表性氧化速率和谷胱甘肽的氧化速率后) 异位性与它们在反应混合物中的蛋白质含量成正比。五个独立焦点的这种关系 (R^2) 的线性指数从 0.9943 到 1 不等, 这对应于高度和非常高的线性度。相同样品情况下, 这意味着在不同蛋白质浓度下测定的比活将是相同的。这说明不同组织样本在不同蛋白质浓度下获得的酶比活值的比较是正确的。

反应混合物中蛋白质浓度为 57–125 $\mu\text{g/ml}$ 时, GSH 与过氧化物 ($A_{\text{ST}} - A_{\text{NEO}}$) 的非酶促氧化对整个反应的贡献仅为12–16%。对整个反应的贡献 ($A_{\text{ST}} - A_{\text{X}}$) 接近于零。因此, 在上述条件下, 反应混合物中 GSH 的主要消耗是由于 GPx 的酶活性。

模拟子宫内膜异位中可溶性蛋白质的质量为 47–415 μg 。这意味着形成的病灶在不同

的动物中经历了显著不同程度的消退。发现异位中 GPx 的比活性与其质量之间存在统计学上显著的负相关, 通过其中包含的可溶性蛋白质的量间接估计: $\rho = -0.93$, $p = 0.006746$ (图2)。

根据图1所示的数据。2、可以假设, 子宫内膜植入物最初具有一定的非零GPX比活性水平, 无论其大小 (这是可以理解的, 由于它最初是一种正常的子宫内膜组织), 但在将来, 如果子宫内膜退化, 子宫内膜组织会增加

我们选择呈现这些数据的方式表明, 在过氧化氢酶活性的情况下[4], 我们认为GPx活性是子宫内膜样病灶消退机制的可能组成部分; 因此, 我们将酶活性放在图表的横轴上, 并将异位的质量视为因变量[4]。获得的相关性评估结果表明, 由于GPx的额外诱导, 病灶可能会消退, 相反, 子宫内膜样病灶的生长可能是由于GPx活性的降低。同时, 作者意识到相关性的存在并不能证明因果关系——减少病灶中GPx活性的增加只能反映抗氧化系统对其他导致退化的基本机制的工作的反应。子宫内膜样形成。

总的来说, 获得的数据与其他作者早先关于氧化应激参与子宫内膜异位症进展机制的结论一致[1, 2]。建议在使用硒化合物的实验中测试GPx对抑制子宫内膜样组织氧化应激和子宫内膜样病灶消退的贡献, 众所周知, 硒化合物对GPx的生物合成及其消耗是必需的增加该酶在组织中的可检测活性。

此外

利益冲突信息。作者宣称没有利益冲突。

融资信息。这项工作得到了俄罗斯联邦教育和科学部在以下主题的基础研究框架内的支持: “生殖器子宫内膜异位症和女性生殖道肿瘤的诊断、治疗策略的发展” (注册号: AAAA- A19-119030490009-6)。

作者的贡献。A.V. Razygraev - 生化研究、统计数据处理、文章写作。E.V. Baziyan - 建立子宫内膜异位症模型并收集材料。L.S. Polyanskikh - 建立子宫内膜异位症模型并收集材料。M.A. Petrosyan - 子宫内膜异位症实验模型的设计及其设置, 文章编辑。

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, Salehi 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, 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. (In Russ.). DOI: 10.17816/JOWD68657-63

5. 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

6. 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

7. Petrosyan MA, Balashova NN, Polyanskikh LS, et al. Influence of progesterone analogs on endometrioid heterotopia in experimental model of endometriosis. *Eksperimental'naya i Klinicheskaya Farmakologiya.* 2018;81(7):14–19. (In Russ.). DOI: 10.30906/0869-2092-2018-81-7-14-19

8. 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

9. 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

10. 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

11. Chesnokova LS, Voinova NE, Komkova AI, Lyanguzov AYU. Metody kolichestvennogo opredeleniia belka. In *fermenty i nukleinoverye kisloty*. Ed. by S.N. Lyzlova, B.G. Vladimirov. Saint Petersburg; 1997. (In Russ.)

12. 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/>

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. 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

2. 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

3. 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

4. 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

5. 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

6. 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

7. 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

8. 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

9. 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

10. 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

11. 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.

12. 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/>

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. Baziyani, 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

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