

АДАПТАЦИОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ И ИЗОФЕРМЕНТНОГО СПЕКТРА КРЕАТИНКИНАЗЫ В ТЕЧЕНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ

Л.С. Нерсесова, Ж.И. Акопян, А.В. Арутюнян, С.Н. Лызлова

/Институт молекулярной биологии НАН РА; Институт акушерства и гинекологии им. Д. Отта РАМН, Санкт-Петербургский государственный университет/ 375014, Ереван, ул. Асратяна, 7

Ключевые слова: креатинкиназа, изоферменты, плацента, патологии беременности, гипоксия плода

Креатинкиназа (КК) катализирует обратимый перенос фосфорильной группы с АТФ на креатин и регулирует связь между энергопроизводящими и энергоутилизирующими процессами. По-видимому, именно с этим связана особенность КК тонко отражать морфофункциональное состояние клеток и тканей организма, что и лежит в основе широкого использования определения активности и изоферментного спектра КК в качестве диагностического теста при ряде заболеваний (инфаркт миокарда, мышечные дистрофии, миопатии, новообразования и др.) [5].

Ранее нами была выделена плацентарная КК, изучены физико-химические и каталитические свойства этого фермента [2, 3]. Увеличение в последние годы числа беременных, страдающих гестозами, сердечно-сосудистой и эндокринной патологиями, приводящими нередко к нарушению метаболизма в организме матери и, таким образом, развитию внутриутробной гипоксии плода, подчеркивает актуальность исследований возможных метаболических маркеров таких нарушений и, в частности, фермента КК.

Нами исследована активность и изоферментный состав КК в системе мать-плод-плацента-околоплодные воды в норме и при беременности, осложненной диабетом первого типа, гипертонической болезнью второй половины беременности, алиментарно-обменным ожирением, сердечно-сосудистой недостаточностью, а также при перенесенной беременности и гемолитической болезни плода. Обнаруженные сдвиги в активности и распределении изоферментов КК в этой системе свидетельствуют о возможности использования КК в качестве метаболического маркера внутриутробной гипоксии плода.

Материал и методы

Активность КК оценивали спектрофотометрически по количеству образовавшегося креатина [2, 3]. Изоферментный состав КК определяли ступенчатой ионообменной хроматографией на ДЕАЕ-сефадексе А-50 [7], выражая активность каждого изофермента в % по отношению к суммарной активности изоферментов. Для статистической обработки данных использовали экспресс-методы [1].

Обследованы 53 женщины в возрасте 30,3±2,6 лет, страдающих: диабетом первого типа (7), гипертонической болезнью второй половины беременности (11), недостаточностью митрального клапана в стадии II (5) (без выраженных симптомов ревматического процесса), алиментарно-обменным ожирением (5), с гемолитической болезнью плода (5), обусловленной несовместимостью крови матери и плода по резус-фактору (сроки беременности 30–36 недель), и перенесенной беременностью (13). Контрольную группу составляли 11 рожениц с физиологическим течением беременности и родов и 23 женщины с неосложненным течением беременности, прерванной по социальным показаниям или в связи с преждевременными родами, наступившими по поводу неполноценности матки.

Функциональное состояние плодов оценивали с помощью кардиографа, регистрируя сердечный ритм и общую двигательную активность плода. Кровь брали из вены локте-

вого сгиба, у новорожденных — из вены пуповины до первого крика. Амниоцентез проводили у всех беременных, находящихся под наблюдением. Образцы амниотической жидкости и крови после свертывания центрифугировали 20 мин при 3000 об/мин и хранили при -20°C . Плаценту тщательно отмывали от крови охлажденным 0,02% раствором версена, удаляли кровеносные сосуды, измельчали и гомогенизировали в 0,05M трис HCl буфере (pH 7,6), содержащем 0,005M дитиотрейтола и 0,1M NaCl. Гомогенаты центрифугировали при 20000 об/мин и полученные экстракты использовали для определения активности и изоферментного спектра КК.

Результаты и обсуждение

Для оценки активности и изоферментного состава КК при различных патологиях беременности необходимо иметь данные о распределении КК в системе мать—плод—плацента—амниотическая жидкость (АЖ) в норме, тем более что в литературе этот вопрос освещен весьма противоречиво [4,5,8,9].

Согласно нашим данным (таблица), активность и изоферментный спектр КК сыворотки крови беременных остаются неизменными в течение всей неосложненной беременности и почти не отличаются от таковых у небеременных женщин — $23,7 \pm 2,8$ мкм/г/мин.

Активность КК сыворотки крови рожениц почти вдвое выше, чем беременных женщин, причем в кровотоке рожениц дополнительно к ММ- и МВ-изоферментам, присутствующим в крови беременных, появляется некоторое количество ВВ-изофермента. Предполагается, что источником ВВ-изофермента в этом случае являются сокращающаяся при родовых схватках матка и плацента.

Активность КК сыворотки крови новорожденных значительно выше, чем у рожениц и, постепенно снижаясь, доходит до уровня активности в течение первого года жизни [5, 6].

В АЖ обнаруживаются все три изофермента КК, хотя суммарная активность их невелика (таблица). Активность плацентарной КК в течение беременности увеличивается по мере дифференциации тканей и возрастания энергетических потребностей плода, в то же время изоферментный состав остается неизменным (ВВ — 100%). Предварительные данные свидетельствуют о том, что это увеличение активности может быть связано с увеличением сродства фермента к субстратам. В настоящее время получены данные об уменьшении в течение беременности Км плацентарной КК и КФ и Mg-АДФ. В плаценте рожениц активность КК меньше, чем в плаценте беременных в третьем триместре и в плаценте беременных, родоразрешившихся с помощью кесарева сечения ($2,00 \pm 0,25$ мкм/г/мин), что, по-видимому, связано как с выходом фермента в сыворотку крови матери и АЖ во время родовых схваток, так и с дегенерационными процессами в плаценте в конце беременности.

Таблица

Активность и изоферментный спектр (%) КК в системе мать—плод—плацента—амниотическая жидкость в ходе нормальной беременности и родов

Объект		Триместр беременности			Роженицы	Новорожденные
		I	II	III		
Плацента	КК	$0,72 \pm 0,12$	$1,33 \pm 0,25$	$2,09 \pm 0,07$	$1,43 \pm 0,09$	
	ВВ	100	100	100	100	
		(9)	(5)	(7)	(11)	
Сыворотка крови	КК	$25,1 \pm 2,9$	$29,5 \pm 3,2$	$25,8 \pm 1,8$	$49,3 \pm 5,8$	$60,2 \pm 6,7$
	ММ	96	97	94	89	
	МВ	4	3	6	7	
	ВВ				4	
		(12)	(6)	(6)	(10)	(10)
Амниотическая жидкость	КК			$0,20 \pm 0,03$	$0,37 \pm 0,6$	
	ММ			45	40	
	МВ			30	27	
	ВВ			25	33	
				(5)	(6)	

Примечание. В скобках — число обследованных

Исходя из вышеуказанных данных, мы провели исследование активности и изоферментного состава КК в АЖ, плаценте и сыворотке крови матери и плода у беременных, страдающих различными заболеваниями, ведущими к внутриутробной гипоксии плода.

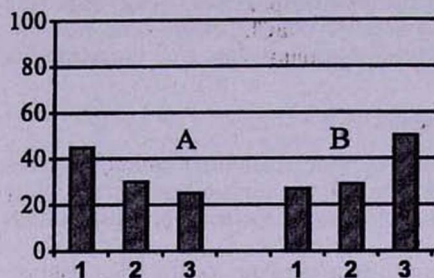


Рис. 1. Изоферментный состав КК амниотической жидкости при гипоксии плода, вызванной диабетом матери. А — норма; В — диабет I типа матери. Здесь и в последующих рисунках: 1 — ММ-изофермент; 2 — МВ-изофермент; 3 — ВВ-изофермент

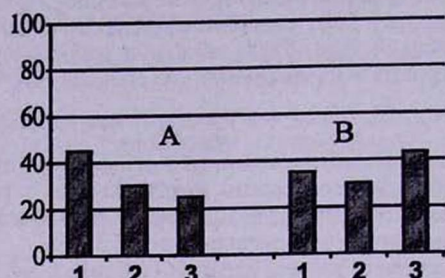


Рис. 2. Изоферментный состав КК амниотической жидкости при гипоксии плода, вызванной гипертонической болезнью второй половины беременности матери. А — норма; В — гипертоническая болезнь матери

Оказалось, что при сахарном диабете I типа в АЖ при небольшом увеличении общей активности КК (на 33%) имеет место значительное перераспределение изоферментов КК (рис. 1) в сторону увеличения доли эмбриональной формы КК — ВВ-изофермента в 1,5 раза. Последнее может свидетельствовать о задержке внутриутробного развития плода. В то же время в сыворотке крови матери статистически достоверные изменения в активности КК не обнаруживаются.

Аналогичные изменения, но менее выраженные, имеют место в АЖ при гипертонической болезни второй половины беременности (рис. 2) и гемолитической болезни плода вследствие резус-конфликта матери и плода. Оценка изменений в активности и изоферментном спектре КК сыворотки крови беременных с гипертонической болезнью оказалась затруднительной из-за большого разброса данных, несмотря на достаточное количество наблюдаемых больных (11 женщин).

При сердечно-сосудистой недостаточности у беременных статистически достоверных изменений в активности КК по сравнению с нормой ни в сыворотке крови матери, ни в АЖ, ни в пуповинной крови новорожденных обнаружить не удалось. Очевидно, компенсаторные механизмы организма матери в этом случае ограждают плод от внутриутробной гипоксии.

Особый интерес представляют данные о резком падении активности КК плаценты и значительном перераспределении в изоферментном спектре в АЖ женщин с перенесенной беременностью. Как видно из рис. 3, доля ВВ-изофермента, характерного для плаценты и для всех тканей плода на ранних стадиях развития, возрастает в 1,5 раза. При этом активность КК плаценты этих беременных ($0,63 \pm 0,08$ мкм/г/мин) снижается более чем в два раза по сравнению с активностью КК плаценты здоровых рожениц (таблица). Падение активности КК в дифференцирующихся клетках — известный факт [6]. Таким образом, приведенные данные подтверждают

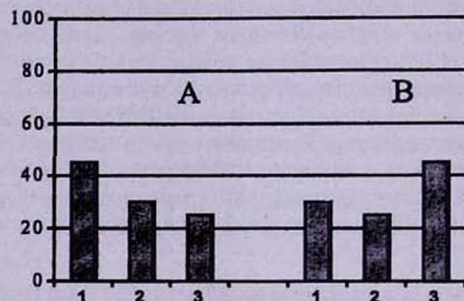


Рис. 3. Изоферментный состав КК амниотической жидкости при гипоксии плода, вызванной перенесенной беременностью. А — норма; В — перенесенная беременность

наблюдения клиницистов о дегенеративных изменениях в плацентарной ткани при переносимой беременности.

Не менее резкое падение активности КК наблюдается в плаценте беременных женщин, страдающих алиментарно-обменным ожирением ($0,47 \pm 0,05$ мкм/г/мин). Общая активность КК в АЖ этих беременных также падает, что делает затруднительным оценку изоферментного состава.

Таким образом, приведенные данные свидетельствуют, что при изученных нами патологиях беременности, приводящих к внутриутробной гипоксии плода, активность и изоферментный спектр КК в системе мать—плод—плацента—АЖ указывают на наличие патологии плода. При этом изменение общей активности КК АЖ и перераспределение состава изоферментов в сторону увеличения доли ВВ-изофермента могут быть использованы в качестве диагностического теста на внутриутробную гипоксию плода.

Поступила 09.09.99

ԿՐԵԱՏԻՆԿԻՆԱԶԻՆ ԲԱՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ԻՅՈՅԵՐՄԵՆՏԱՅԻՆ ՍՊԵԿՏՐԻ ՀԱՐՄԱՐՈՂԱԿԱՆ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ՀՂԻՈՒԹՅԱՆ ԸՆԹԱՅԻՆՈՒՄ

Լ.Ս. Ներսեսյան, Ժ.Ի. Հակոբյան, Ա.Վ. Հարությունյան, Ս.Ն. Լիզլովա

Ուսումնասիրվել է էմբրգոնիկ փոխանակման մեջ որոշակի դեր կատարող ֆերմենտներից մեկի կրեատինինազի (ԿԿ) քաշխումը պտուղ-ընկերը-մայր-պտղաբեր համակարգում հղիության նորմալ և քաղցած ընթացքների դեպքում (առաջին կարգի շաքարախտ, հղիության երկրորդ կեսի հիպերտոնիկ հիվանդություն, ճարպակալում, պտղի հեմոլիտիկ հիվանդություն, կեսարյան հատում և այլն):

Ստացված տվյալները վկայում են, որ պաթոլոգիաների ժամանակ, երբ առաջանում է պտղի ներարգանդային հիպոքսիա, տեղի է ունենում պտղաբերի ԿԿ-ի ակտիվության փոփոխություն և նրա իզոֆերմենտների վերաբաշխում դեպի ВВ-իզոֆերմենտի զանգվածի ավելացում, ինչը կարելի է օգտագործել որպես պտղի հիպոքսիայի մետաբոլիկ ցուցանիշ:

ADAPTATIONAL ALTERATIONS OF CREATINE KINASE ACTIVITY AND ISOENZYME SPECTRUM DURING PREGNANCY

L.S. Nersesova, J.I. Hakopian, A.V. Harutyunyan, S.N. Lyslova

The distribution of creatine kinase, one of the important enzymes of energy metabolism, in the fetus—placenta—mother—amniotic fluid system during normal and complicated pregnancy (maternal diabetes 1, maternal hypertension disease, prolonged pregnancy, haemolytic disease of fetus etc.) has been examined. The results suggest that evaluation of amniotic fluid creatine kinase activity and isoenzyme spectrum can be used as a marker of the fetus intrauterine hypoxia.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ашмарин И.П., Васильев Н.Н., Амбросов В.А. В кн.: Быстрые методы статистической обработки и планирование эксперимента. Л., 1971, с. 11.
2. Нерсесова Л.С., Косян С.А., Акопян Ж.И. Ж. Эвол.биохимии и физиологии, 1986, 1, с. 89.
3. Нерсесова Л.С., Косян С.А., Акопян Ж.И. Биол.ж. Армении, 1988, 12, с. 976.
4. Laboda H.M., Britton J. Clin. Chem., 1977, 23, 7, p. 1329.
5. Lang H. Pathophysiology and Clinical Application. Ed.Y.Lang, N-Y, 1981.
6. Lyslova S.N., Stephanov V.E. Phosphagen kinases. CRC Press, Boston, 1991.
7. Merse D.W. Clin.Chem., 1974, 20, 1, p. 36.
8. Sammor R. Clin.Chem., 1981, 27, 1, p. 61.
9. Tsung S.H. Clin.Chem. 1976, 22, p. 173.