

УДК 557.152.242.+612.173.015.1:577.152.273/06

ИССЛЕДОВАНИЕ ПЛАЦЕНТАРНОЙ ПУРИННУКЛЕОЗИДФОСФОРИЛАЗЫ И КРЕАТИНКИНАЗЫ ПРИ НЕКОТОРЫХ ПАТОЛОГИЯХ БЕРЕМЕННЫХ

Ж.И. Акопян, Л.С. Нерсесова, Г.О. Меликсетян, З.С. Мкртчян,
М.Г. Газарянц, С.А. Косян, В.Г. Фролов, М.А. Восканян

*/Институт молекулярной биологии НАН РА,
Университетский Центр планирования семьи и сексуального здоровья/
375044, Ереван, Асратяна, 7*

Ключевые слова: пурипнуклеозидфосфорилаза, креатинкиназа, активность, плацента, патология беременности

Креатинкиназа (КК) и пурипнуклеозидфосфорилаза (ПНФ) относятся к тем ферментам, изменение активности которых служит важным диагностическим показателем ряда заболеваний.

КК катализирует обратимый перенос фосфорильной группы с АТФ на креатин и является одним из ключевых ферментов энергетического метаболизма клетки. Изменение активности КК наблюдается при инфаркте миокарда, мышечной дистрофии, миопатии, новообразованиях и др. [6].

ПНФ играет принципиальную роль в усвоении нуклеозидов и нуклеотидов, катализируя обратимую реакцию фосфорилиза пуриновых (дезоксир)ибонуклеозидов с образованием Rib-1-фосфата и соответствующих оснований. В организме человека ПНФ обнаружена во многих тканях как в цитозольной, так и в митохондриальной формах, но наибольшая активность фермента наблюдается в гранулоцитах периферической крови и лимфоидной ткани [9]. Исследование локализации ПНФ в лимфоцитах и фибробластах показало, что фермент распространен по всей цитоплазме, но отсутствует в ядрах клеток [10]. Как и аденозиндеаминаза, ПНФ участвует в формировании Т-клеточного иммунитета [9], а также в регулировании количества интерферон-гамма-индуцирующего фактора IL-18. Этот фактор у ПНФ-дефицитных пациентов в избытке продуцируется и секретируется в плазму ПНФ-дефицитными макрофагами [11]. Поэтому исследование изменений активности ПНФ имеет важное значение при различных наследственных патологиях (врожденная недостаточность Т-клеточного иммунитета, гиперурикемия и др. [7-9, 11].

Изменение метаболических процессов в организме матери в течение беременности с выраженными патологиями отражается и на состоянии плода, нередко проявляясь в виде внутриутробной гипоксии или гипотрофии.

Проведенные ранее исследования изменения активности и перераспределения изофермента в КК в системе мать-плод-плацента-околоплодные воды в норме и при осложненной беременности (диабет первой степени, гипертоническая болезнь второй половины беременности, алиментарно-обменное ожирение, сердечно-сосудистая недостаточность матери, переносная беременность и гемолитическая болезнь плода) свидетельствуют о возможности использования КК в качестве метаболического маркера внутриутробной гипоксии плода [4]. Показано также изменение уровня активности ПНФ плаценты на различных сроках беременности в норме [1].

В настоящей работе проведено исследование изменения уровня активности ПНФ и КК в плацентах рожениц, перенесших вирусный грипп в разные сроки беременности, и изменение уровня активности ПНФ при некоторых патологиях беременных.

Материал и методы

Активность ПНФ и КК определяли в плацентах 34 рожениц, из которых 8 составляли контрольную группу, 13 с септопатией (вирусный грипп со второго триместра беременности), 5 с эмбриопатией (грипп в первом триместре беременности), 4 — с ожирением I—II степени, 4 — с нефропатией. В четырех случаях диагностирована хроническая внутриутробная гипоксия плода и в трех — гипотрофия плода в случае перенесения беременными вирусной инфекции.

Плаценты отмывали охлажденным 0.02% раствором Версена, удаляли кровеносные сосуды и гомогенизировали в 0.05М трис-НСI буфере pH 7.6, содержащем 0.005М ДТТ и 0.1М NaCl. Гомогенаты центрифугировали 20 мин при 20000 об/мин. Полученные экстракты использовали для определения активности ПНФ и КК. Активность ПНФ определяли по приросту гуанина, количество которого оценивали по цветной реакции с реактивом Фолина [5].

Реакционная смесь в объеме 0.3 мл содержала 50мМ калий-фосфатного буфера, 1.5мМ гуанозина, 5 или 10 мкМ экстракта. Время инкубирования — 6 мин при 37°C. Реакцию останавливали 2.4 мл 2% Na₂CO₃ в 0.1N NaOH, затем добавляли 0.24 мл р-ра Фолина и через час измеряли интенсивность окраски при 750 нм. За единицу активности принимали количество фермента, катализирующего образование 1 мкмоль, продукта в минуту на грамм ткани. Активность КК оценивали спектрофотометрически по количеству образовавшегося креатина [2,3].

Результаты и обсуждение

Исследование уровня активности ПНФ в плаценте рожениц с диагнозом септопатия и эмбриопатия показало, что при эмбриопатии активность ПНФ почти не изменяется, а при септопатии понижается на 26% по отношению к норме. Повидимому, несовершенство, несформированность плаценты на ранней стадии ее функционирования, а возможно, и неполноценность самого ферментного белка не делают его мишенью для токсического действия вирусной инфекции. В отличие от этого вирусная инфекция на поздних сроках беременности вызывает значительную инактивацию ПНФ, что может служить показателем десенсибилизации иммунного состояния организма матери. Эти данные позволяют предположить, что ПНФ относится к тем ферментным белкам плаценты, которые полноценно включаются в метаболизм после окончательного формирования плаценты к началу второго триместра.

Инактивирование ПНФ на 28% отмечено в случае септопатии, отягощенной анемией или сердечной недостаточностью матери, при которых диагностировалась также хроническая внутриутробная гипоксия плода. Исследование активности ПНФ при ожирении I—II степени беременных выявило повышение активности фермента на 146% по отношению к норме. Однако ввиду недостаточности экспериментального материала и наложения диагнозов, для интерпретации этих данных требуются дополнительные исследования.

В отличие от ПНФ, исследование активности плацентарной КК при вирусной инфекции выявило снижение ее примерно на 46% в случае эмбриопатии, а при септопатии выявляется повышение активности КК на 25% по сравнению с нормой. Несмотря на предварительный характер данных, особый интерес представляет корреляция падения активности плацентарной КК при заболевании беременных вирусной инфекцией в первой половине беременности (эмбриопатия) и рождении детей с хронической внутриутробной гипоксией и гипо-

трофией (4 случая). Ранее [2,3] было высказано предположение об адаптивных изменениях активности КК в зависимости от сроков беременности и при различных патологиях [4].

Таким образом, в случае вирусной патологии у матери, которая отрицательно влияет на развитие и формирование полноценной плаценты и соответствующей полноценной ферментной системы, активность плацентарной КК рожениц, перенесших инфекцию в первые месяцы беременности, примерно такая же, как в абортной плаценте первого триместра физиологически неотягощенной беременности. Очевидно, это является одной из причин страдания плода.

Поступила 07.11.00

ԸՆԿԵՐՔԱՅԻՆ ՊՈՒՐԻՆՆՈՒԿԼԵՈԶԻԳՖՈՍՖՈՐԻԼԱԶԻ ԵՎ ԿՐԵԱՏԻՆԿԻՆԱԶԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ ՀԳՐՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇ ԱՆՏԱՐԱՆՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԺԱՄԱՆԱԿ

Ժ.Ի. Հակոբյան, Լ.Ս. Ներսեսյան, Գ.Հ. Մելիքսեթյան, Զ.Ս. Մկրտչյան,
Ս.Գ. Գազարյան, Ս.Ա. Քոսյան, Վ.Գ. Ֆրոլով, Ս.Ա. Վոսկանյան

Պարինուկլեոզիդֆոսֆորիլազի (ՊՆՖ) և կրեատինինազի (ԿԿ) ակտիվությունների ուսումնասիրությունը հղիության փուլերի ժամկետներում վիրուսային գրիպով վարակված ծննդկանների ընկերքում ցույց տվեց, որ ՊՆՖ-ի ակտիվության մակարդակը էմբրիոպաթիայի դեպքում չի փոփոխվում, բայց 26%-ով նորմայի համեմատ պակասում է սեթոպաթիայի ժամանակ: Նախառակ դրան, ԿԿ-ի ակտիվությունը էմբրիոպաթիայի դեպքում 46%-ով պակասում է, իսկ սեթոպաթիայի ժամանակ 25%-ով ավելանում: Ընդ որում, խրոնիկական ներարգանային հիպոքսիայով կամ հիպոպրոֆիայով ծնված երեխաների թիվը համընկնում է ԿԿ-ի ակտիվության անկման հետ:

THE INVESTIGATION IN SOME PREGNANCY PATHOLOGIES OF PLACENTAL PURINNUCLEOSIDE PHOSPHORILASE AND CREATINE KINASE

J.I. Akopian, L.S. Nersesova, G.O. Meliksetian, Z.S. Mkrtchian, M.G. Gazariants,
S.A. Kosian, V.G. Frolov, M.A. Voskanian

The changes of placental purinnucleoside phosphorilase (PNP) and creatine kinase (CK) activities during pregnancy complicated by viral infection are shown.

PNP activity has not changed in case of embryopathy, but decreased approximately to 26% in case of setopathy. At the same time the placental CK activity has decreased to 46% during embriopathy and increased to 25% in case of setopathy. Simultaneously it has been observed a correlation between CK activity decrease and fetus intrauterine hypoxia and hypertrophy.

ЛИТЕРАТУРА

1. Մկրտչյան Յ.Տ., Գազարյան Մ.Գ., Մելիքսեթյան Գ.Օ., Ակոպյան Զ.Ի. Медицинская наука Армении НАН РА, 2000, т.40, 1, с.100.
2. Ներսեսյան Լ.Ս., Կոսյան Ս.Ա., Ակոպյան Զ.Ի. Ж. Эвол. биохим. и физиол., 1986, 1, с. 89.
3. Ներսեսյան Լ.Ս., Կոսյան Ս.Ա., Ակոպյան Զ.Ի. Биол. ж. Армении, 1988, 12, с.976.
4. Ներսեսյան Լ.Ս., Ակոպյան Զ.Ի., Արությունյան Ա.Վ., Լыжлова С.Н. Медицинская наука Армении НАН РА, 2000, т.40, 2, с.54.
5. Ahmad S.G., Pritchard R.H. Mol. and Gen. Genet., 1969, 107, p. 351.
6. Bais R., Edwards J.B. CRC Crit. Rev. in Clin. Lab. Science., 1982, 16, p. 291.
7. Hirshorn R. Clin. Immunol. Immunopathol., 1986, 40, p.157.
8. Martin D.W., Gelfand E.W. Ann. Rev. Biochem., 1981, 50, p. 845.
9. Moriwaki Y., Yamamoto T., Higashino K. Histol. Histopathol., 1999, 14, p.1321.
10. Pruslin F.H., Reem G.H. J. Immunol. Methods, 1980, 34, p.127.
11. Yamamoto T., Moriwaki Y., Matsui K. et al. Arch. Dis. Child., 1999, 81, p.179.