

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

СЕКЦИЯ

«АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ»

ВЛИЯНИЕ КУРЕНИЯ НА АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОНЗАВИСИМЫХ ФЕРМЕНТОВ НОВОРОЖДЕННЫХ

Гаврилюк Людмила Александровна

*д-р мед. наук, проф., Государственный университет
медицины и фармации им. Николая Тестемицану,
Молдова, г. Кишинёв
E-mail: gavrli@mail.ru*

Котова Наталья Владимировна

*д-р мед. наук, проф.,
Национальный медицинский университет,
Украина, г. Одесса*

Гаврилюк Татьяна Евгеньевна

*неонатолог, Одесский областной роддом,
Украина, г. Одесса
E-mail: veritas81@mail.ru*

INFLUENCE OF SMOKING ON THE ACTIVITY OF THE GLUTATHIONE-DEPENDENT ENZYMES IN NEWBORNS

Ludmila Gavriliuc

*doctor of medical science, Professor,
N.Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy,
Moldova, Chisinau*

Natalia Kotova

*doctor of medical science, Professor,
National Medical University,
Ukraine, Odessa*

Tatyana Gavrilyuk

*neonatologist, Regional maternity hospital,
Ukraine, Odessa*

АННОТАЦИЯ

Антиоксидант глутатион и глутатионзависимые ферменты, гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТ) и глутатионтрансфераза (ГТ), участвуют в тиол-дисульфидном обмене, процессах дифференцировки и деления клеток, защите от токсинов и продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) клеточных мембран. Активность ГГТ и ГТ определяли в сыворотке крови из пуповины новорожденных, чьи матери курили во время беременности. Полученные результаты свидетельствовали о негативном влиянии курения на активность ферментов.

ABSTRACT

The antioxidant glutathione and glutathione-dependent enzymes, gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) and glutathione S-transferase (GST) participate in the thiol-disulfide metabolism, processes of the cell differentiation and division, protection against of the toxins and products of the lipid peroxidation (LPO) of the cell membranes. Activity of GGT and GST were determined in the blood serum of the umbilical cord in the newborns of the smoking women. The obtained results indicated a negative effect of smoking on enzyme activity.

Ключевые слова: гамма-глутамилтранспептидаза; глутатионтрансфераза; котинин; новорожденные

Keywords: gamma-glytamyl transpeptidase; glutathione S-transferase; cotinine; newborns

Наибольший вред как активное, так и пассивное курение наносит детям и беременным женщинам. Несмотря на всем хорошо известную информацию о вреде курения и негативном влиянии компонентов табачного дыма на организм беременной женщины и её будущего ребёнка, количество курящих беременных является значительным. Почти во всех странах Мира наблюдается выраженный рост числа курящих женщин [1, с. 238; 2, с. 507-8], это относится и к беременным женщинам, проживающим в Украине.

Никотин, угарный газ (СО), бензпирен и другие токсичные вещества, попадая в организм беременной женщины, легко проникают через плаценту к плоду. Концентрация всех токсичных веществ в тканях плода значительно выше, чем в крови матери [2, с. 508-10]. Поступая в организм, никотин подвергается биотрансформации, в процессе которой участвуют многие ферментативные системы с образованием промежуточных метаболитов, одним из которых является *котинин* [3, с.886-7]. Хорошо известно, что никотин негативно влияет на физическое и психическое развитие ребёнка курящей матери [3, с. 887; 5, с. 39; 10, с. 840-2; 12, с. 377-8].

Во время беременности возникает система «мать-плод», для которой характерны сложные обменные взаимоотношения. Организм матери подвергается воздействию не только гормонов, продуцируемых плацентой, но и продуктов обмена плода в процессе его развития [6, с. 215-6]. В организме женщины происходит гормональная перестройка, её ткани и органы испытывают определённый стресс, в результате которого резко повышается количество свободных радикалов, атакующих клетки плаценты и эмбриона [5, с. 1040; 6, с. 215]. Увеличение количества свободных радикалов приводит к индукции антиоксидантной системы (АОС) защиты, механизм действия которой направлен на блокирование окисления внутриклеточных молекул свободными радикалами [7, с. 189-90]. В первую очередь это относится к окислению полиненасыщенных жирных кислот, входящих в состав фосфолипидов клеточных мембран, перекисному окислению липидов (ПОЛ). Этому препятствует антиокислительная система, включающая супероксиддисмутазу, глутатионпероксидазу, каталазу, глутатионтрансферазу.

В организме здорового человека между процессами окисления и АОС существует равновесие, которое нарушается при чрезмерном и длительном усилении процессов ПОЛ. Это происходит при многих заболеваниях и может наблюдаться при беременности [6, с. 216]. Chelchowska M. и соавт. (2005) наблюдали повышение количества свободных радикалов и уменьшение антиоксидантов в плазме крови куривших матерей и новорожденных, как следствие окислительного стресса [4, с. 1040]. В эритроцитах беременных, продолжавших курить во время беременности, были повышенными активности супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы, по сравнению с группой беременных, прекративших курение до наступления беременности.

Целью данного исследования было проведение сравнительного анализа уровня активности гамма-глутамилтранспептидазы и глутатионтрансферазы, в сыворотке крови из пуповины новорожденных, куривших во время беременности женщин и не куривших.

Материал и методы

Исследование было проведено согласно заключённому Договору о научном сотрудничестве между Кишинёвским и Одесским Государственными медицинскими университетами (20.08.2003). Клинический материал (кровь) был подготовлен в Областном роддоме Одессы. Согласно этическим принципам в исследовании добровольно участвовали 62 беременные женщины (18-40 лет). В контрольную группу (группу сравнения) входили 20 не беременных, не курящих женщин соответствующего возраста. С помощью иммуно-хроматографического метода определяли котинин в моче женщин [3, с. 887]. На основании результатов теста на наличие котинина в моче беременные женщины были разделены на две группы: 1- 44 беременные, не курившие; 2- 18 беременных, не прекративших курение во время беременности. Во время родов кровь из пуповинной вены помещали в пробирку, центрифугировали при 5000 оборотов/мин в течение 15 минут. Сыворотки затем замораживали и хранили при температуре -20°C . Замороженные сыворотки транспортировали из Одессы в специальном контейнере на кафедру биохимии и клинической биохимии Государственного университета медицины и фармации им. Н. Тестемицану в Кишинёв. Сыворотки размораживались непосредственно перед определением активностей ферментов на спектрофотометре "Humalyzer 2000". Активность ферментов определяли с помощью микрометодов: гамма-глутамил-транспептидазы- методом MeisterA. [11, с. 238], глутатионтрансферазы – W. Habig, W. Jacoby [9, с.400] и содержание белка – WatanabeN [13, с. 1552]. Статистическую обработку полученных результатов проводили по методу Стьюдента с использованием пакета прикладных программ Microstat: MicrosoftExcel 2007. Коэффициенты корреляции рассчитывали по методу Спирмена.

Результаты и обсуждение

Гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТ). Активность ГГТ в сыворотке крови новорожденных (*рис. 1*), не куривших женщин, была 22,27 МЕ/л (144,6 %; $p < 0,05$), а у новорожденных, куривших матерей – 17,61 МЕ/л (114,4 %) по сравнению с активностью ГГТ в плазме крови небеременных женщин (15,4 МЕ/л; 100 %). Согласно результатам удельной активности ГГТ в крови новорожденных, не куривших матерей, она соответствовала 1,71 МЕ/г белка

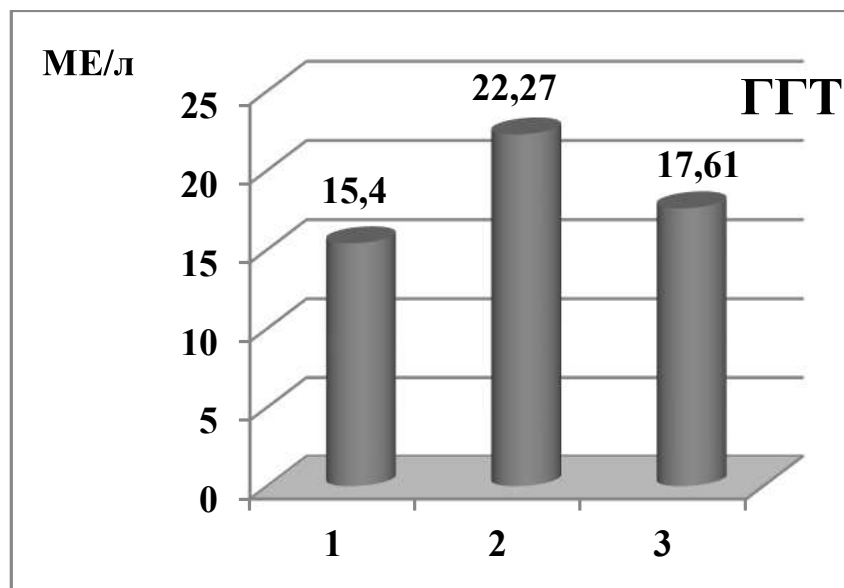
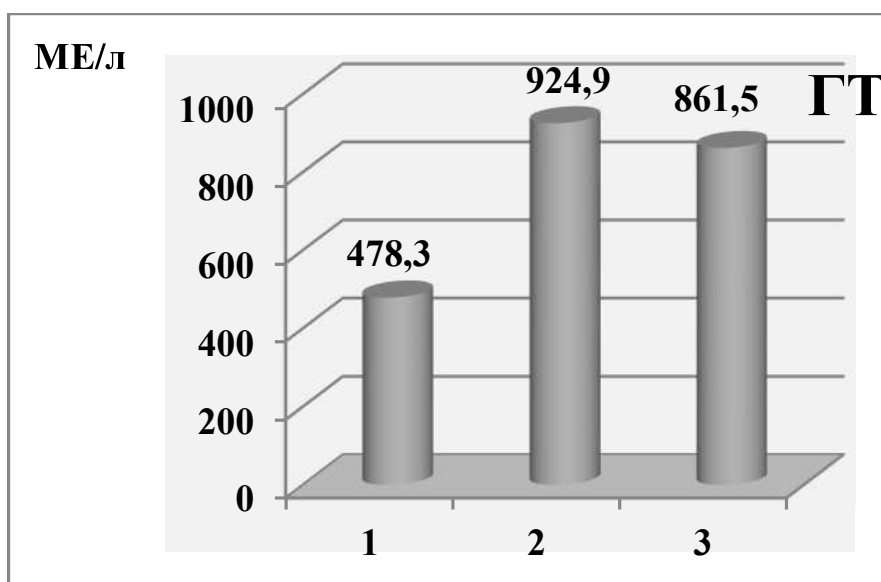


Рисунок 1. Активность ГГТ в сыворотке крови



1- небеременные, не курившие; 2- беременные, не курившие; 3- беременные, курившие.

Рисунок 2. Активность ГТ в сыворотке крови

($p < 0,01$), а у новорожденных, куривших – 1,00 ME/г ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной группой (0,30 ME/г).

ГГТ осуществляет трансмембранный транспорт аминокислот в клетки с помощью кофермента глутатиона (гамма-глутамильный цикл). Повышенная активность в пуповинной крови новорожденных свидетельствует о возрастающих потребностях в аминокислотах в качестве субстратов для биосинтеза белков и других биологически

активных веществ в тканях плода. Однако, хроническое воздействие компонентов сигаретного дыма понижало активность ГГТ в организме развивающегося плода, как показали полученные результаты исследования крови новорожденных.

Глутатиотрансфераза (ГТ). Одним из ферментов, играющих важную роль в процессах детоксикации и глутатион-конъюгации, является ГТ. Взаимосвязь интенсификации ПОЛ и уменьшение АОА, а также генетические исследования беременных женщин, которые не могут прекратить курение во время вынашивания плода, интересуют в последние годы многих исследователей и медиков. Согласно наблюдениям Delpishen A. и соавт. (2009) у куривших беременных с вариантом CYP 1 A₁ «aa» генотипа рождались дети с меньшим весом, чем у беременных с таким же генотипом, но не куривших во время беременности ([5, с.39-40]. Dordevic N. и соавт. (2008) наблюдали в эритроцитах беременных с преэклампсией более высокую активность ГТ, чем у здоровых беременных, а активность ГР была ниже контроля [6, с.214-15]. Авторами был сделан вывод о дисбалансе окислительно-антиоксидантного статуса в эритроцитах беременных с преэклампсией.

Результаты наших исследований активности ГТ представлены на *рис. 2*, который демонстрирует значительно повышенную активность ГТ в пуповинной крови новорожденных, не куривших матерей, равную 924,87 МЕ/л (193,37 %; $p < 0,01$) и куривших матерей – 861,54 МЕ/л (180,13 %; $p < 0,01$) по сравнению с уровнем активности ГТ в крови небеременных женщин (478,3 МЕ/л). Расчёт удельной активности также показал её высокий уровень в обеих группах: у беременных куривших - 75,71 МЕ/г ($p < 0,001$) и 46,54 МЕ/г ($p < 0,005$) у не куривших по сравнению с контрольной группой (9,56 МЕ/г белка).

Исследование Hsieh C. и соавт. (2008) было посвящено изучению негативного модифицирующего воздействия табачного дыма на развитие нервной системы новорожденного ребёнка в течение последующих двух лет его жизни [10]. Авторами исследования был сделан вывод, что котинин, находящийся в крови плода, может вызывать негативные модификации генов, кодирующих энзимы метаболизма, следствием чего может быть нарушение развития нервной системы ребёнка в дальнейшем.

Заключение. Полученные в нашей работе отличия между уровнем активности ГГТ и ГТ в плазме пуповинной крови у новорожденных, не куривших и куривших во время беременности женщин, свидетельствуют о негативном влиянии курения на антиоксидантный статус плода. Несомненно, исследование антиоксидантного статуса

в крови новорожденных сложно выполнить в роддомах, но определение содержания продукта метаболизма никотина, котинина, возможно, т. к. это простой метод. Неинвазивный метод определения котинина в моче необходимо более широко применять в акушерско-гинекологической практике для мониторинга беременности.

Список литературы:

1. Amos A., Greaves L., Nichter M. Women and tobacco: a call for including gender in tobacco control research, policy and practice. // *Tob. Control*. 2012. V. 21.№ 2. P. 236-243.
2. Anderka M., Romitti P.A., Sun L. National Birth Defects Prevention Study. Patterns of tobacco exposure before and during pregnancy. // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 2010. V.89.№ 4. P. 505-514.
3. Benowitz N.L., Schultz K.E, Haller C.A. Prevalence of smoking assessed biochemically in an urban public hospital: a rationale for routine cotinine screening. // *Am.J. Epidemiol.* 2009. V.170.№ 7. P.885-891.
4. Chełchowska M., Laskowska-Klita T., Niemiec K.T. Activities of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in erythrocytes of women smoking during pregnancy. // *Przegl. Lek.* 2005. Vol. 62. № 10. P.1039-42.
5. Delpisheh A., Brabin L., Topping J., Reyad M., Tang A.W, Brabin B.J. A case-control study of CYP1A1, GSTT1 and GSTM1 gene polymorphisms, pregnancy smoking and fetal growth restriction. // *Eur.J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2009. Vol. 143. N. 1. P. 38-42.
6. Dordević N.Z., Babić G.M., Marković S.D., Ognjanović B.I., Stajin A.S., Zikić R.V., Saicić Z.S. Oxidative stress and changes in antioxidative defense system in erythrocytes of preeclampsia in women. // *Reprod. Toxicol.* 2008. Vol. 25. № 2. P. 213-218.
7. Frosali S., Di Simplicio P., Perrone S., Di Giuseppe D. Glutathione recycling and antioxidant enzyme activities in erythrocytes of term and preterm newborns at birth. // *Biol. Neonate.* 2004. Vol. 85.№ 3. P. 188-94.
8. Gorrod J.W., Schepers G. Biotransformation of nicotine in mammalian systems. / Chapter 3. – P.45-67. In: J.W. Gorrod, G. Schepers. // *Analytical Determination of Nicotine and Related Compounds and Their Metabolites.* - 1999. 758 p.
9. Habig W.H., Jacoby W.B. Assays for differentiation of glutathione S-transferase. // *Methods in Enzymology.* 1981. Vol. 77. P. 398-405.
10. Hsieh C.J., Liao H.F., Wu K.Y., Hsieh W.S., Su Y.N., Jeng S.F., Yu S.N., Chen P.C. CYP1A1 Ile462Val and GSTT1 modify the effect of cord blood cotinine on neurodevelopment at 2 years of age. // *Neurotoxicology.* 2008. Vol. 29. N. 5. P. 839-45.
11. Meister A., Tate S.S., Griffith O.W. Gamma-glutamyl transpeptidase. // *Meth. Enzymol.* 1981. Vol. 77. P. 237-25.

12. Pogodina C., Brunner Huber L.R., Racine E.F. Smoke-free homes for smoke-free babies: the role of residential environmental tobacco smoke on low birth. // J. Commun. Health. 2009. V. 34. № 5. P. 376-382.
13. Watanabe N., Kamei S., Ohkuto A. Urinary protein as measured with a pyrogallol red-molybdate complex: Manually and in a Hitachi 726 automated analyzer. // Clin. Chem. 1986. Vol. 32. P. 1551-1554.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ДОРОДОВОЙ ПОДГОТОВКИ ЖЕНЩИН

Румянцева Зоя Сергеевна

*доц., канд. мед. наук, Медицинская академия имени С.И. Георгиевского
ФГАОУ ВО «КФУ имени В.И. Вернадского»,
РФ, Республика Крым, г. Симферополь
E-mail: zoyarum@inbox.ru*

Баснаева Анифе Джумаевна

*студент кафедры акушерства и гинекологии № 1
Медицинской академии им. С.И. Георгиевского КФУ
РФ, Республика Крым, г. Симферополь
E-mail: anifeuseinva@gmail.com*

EVALUATION PRENATAL TRAINING FOR WOMEN

Zoya Rumyantseva

*associate professor, Candidate of Science,
V.I. Vernadsky Crimean Federal University,
Russia, Republic of Crimea, Simferopol*

Anife Basnaeva

*student of the Federal State Autonomous Educational Institution
of Higher Learning "Crimean FU named after V.I. Vernadsky",
Russia, Republic of Crimea, Simferopol*