

Л.А. Гребенкина

СОСТОЯНИЕ ПРОЦЕССОВ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ У ИНФЕРТИЛЬНЫХ ЖЕНЩИН С ГИПЕРПРОЛАКТИНЕМИЕЙ

ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН (Иркутск)

Бесплодие является важнейшей проблемой медицины. Считается, что окислительный стресс модулирует возрастное снижение рождаемости. Развитие окислительного стресса, как правило, происходит вследствие избыточной продукции свободных радикалов и/или нарушения механизма антиоксидантной защиты. Изучены показатели липидного статуса и системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» у 60 женщин с бесплодием и гиперпролактинемией. В качестве материала для биохимических исследований использовали сыворотку крови и гемолизат. Компоненты липидного обмена определяли с помощью наборов Cormay на автоматическом анализаторе BTS-330 методом фотометрии. Содержание субстратов для процессов ПОЛ – соединений с изолированными двойными связями и продуктов процессов липопероксидации (диеновых конъюгатов, кетодиенов и сопряженных триенов, малонового диальдегида), общую антиокислительную активность сыворотки крови и ее компонентов (супероксиддисмутазы, α -токоферол, ретинола, восстановленного и окисленного глутатиона) определяли на спектрофлуорофотометре «SHIMADZU-1501» (Япония). Определение концентрации пролактина (ПРЛ) проводилось с использованием набора «Диас» (Россия) и анализатора «Иммунотест». При анализе межгрупповых различий для независимых выборок использовали непараметрический критерий Манна – Уитни. У женщин с бесплодием и гиперпролактинемией происходит увеличение концентраций атерогенных и снижение уровня антиатерогенных липопротеидов, содержания триглицеридов. Кроме того, имеет место увеличение коэффициента атерогенности. Установлено, что у обследованных бесплодных пациенток происходит усиление интенсивности липопероксидных процессов на первоначальных этапах, при одновременном снижении уровня конечных (ТБА – активных) продуктов. Состояние антиоксидантной защиты при гиперпролактинемии и бесплодии характеризуется сниженным уровнем жирно- и водорастворимых витаминов, увеличением общей АОА, дисбалансом в системе глутатиона. Работа выполнена при поддержке Совета по грантам Президента РФ (ИШ – 494.2012.7).

Ключевые слова: липопероксидация, антиоксиданты, бесплодие, гиперпролактинемия

THE STATE OF LIPID PEROXIDATION PROCESSES IN INFERTILE WOMEN WITH HYPERPROLACTINEMIA

L.A. Grebenkina

Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems SB RAMS, Irkutsk

Infertility is a problem of medicine with a large magnitude. It is believed that oxidative stress (OS) modulates the age-related decline in fertility. OS can arise as result of excessive production of free radicals and/or impaired antioxidant defense mechanism. Lipid state and «lipid peroxidation – antioxidant protection» system were studied in 60 women with infertility and hyperprolactinemia. The materials for biochemical studies were blood serum and red cells. Lipid components were evaluated by a automatic analyzer Cormay «BTS-330» with photometry method. The content of the substrates and products of lipid peroxidation (diene conjugates, ketodienes and coupled trienes, malondialdehyde), total antioxidant activity of serum and its components (superoxide dismutase, α -tocopherol, retinol, reduced and oxidized glutathione) were evaluated by a spektrofлуорофотометр «SHIMADZU-1501» (Japan). The concentration of prolactin was evaluated by a set of «Diaz» (Russia) and analyzer «Immunotest». Statistical analysis was performed by non-parametric tests. In women with infertility and hyperprolactinemia increase of concentration of atherogenic and decrease of antiatherogenic lipoproteins and triglycerides takes place. In addition, atherogenic factor increases. It has been established that in evaluated infertile patients lipid peroxidation processes were excessed, while the level of output (TBA-active) products was reducing. Antioxidant protection state in hyperprolactinemia and infertility is characterized by reduced levels of fat- and water-soluble vitamins, increasing total antioxidant activity, an imbalance in the glutathione system. The study was supported by grants of President of the Council of the Russian Federation (Scientific School - 494.2012.7).

Key words: lipid peroxidation, antioxidants, infertility, hyperprolactinemia

Бесплодие является одной из актуальных проблем современной медицины. В 42,6–65,3 % случаев бесплодие в браке обусловлено нарушениями репродуктивной функции женщины, причем эндокринная форма бесплодия является одной из наиболее распространенных и составляет 29–43 % [3]. Гиперпролактинемия (ГПРЛ) в структуре женского бесплодия эндокринного генеза выявляется в 18,9–40 % случаев [4, 12]. Показано, что повышенный уровень ПРЛ не является единственной причиной нарушения репродуктивной функции у данного контингента больных. Частота сочетанной патологии при функциональной гиперпролактинемии, особенно у пациенток

с транзиторным повышением ПРЛ и регулярным ритмом менструаций, составляет практически 95 % [4, 14]. К настоящему времени показано, что наряду с нарушением функционального состояния системы нейроэндокринной регуляции важным звеном патогенеза бесплодия является и дисбаланс в системе «перекисное окисление липидов – антиокислительная защита» [2, 5, 6, 7, 8]. Дефект в указанном звене метаболизма способен существенно снизить резистентность организма, а также создать предпосылки к формированию, ускоренному развитию и усугублению тяжести течения различных заболеваний. Усиление процессов липопероксидации, как правило,

происходит вследствие снижения буферной емкости системы антиоксидантной защиты (АОЗ), нарушения ее мобилизации в ответ на повышение активности прооксидантной системы [10, 11, 12, 15, 16].

В связи с этим, **целью** настоящего исследования явилось изучение компонентов липидного обмена и системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» (ПОЛ – АОЗ) у женщин с гиперпролактинемией и бесплодием.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 60 женщин с ГПРЛ и бесплодием, проживающих в городе Иркутске (средний возраст $31,5 \pm 0,8$ года). Диагностическими критериями включения в группу исследования женщин с бесплодием и ГПРЛ были: повышение уровня ПРЛ выше 600 МЕ/мл в сыворотке крови в фолликулиновую фазу менструального цикла; отсутствие у пациенток беременности при регулярной половой жизни без контрацепции в течение года и более; нарушения менструального цикла по типу олигоменореи на фоне ановуляции или недостаточности лютеиновой фазы (НЛФ), или НЛФ с регулярным ритмом менструаций; галакторея. МСКТ или МРТ гипофиза проводилось для исключения/подтверждения органической патологии гипофиза и пограничных областей: микро- и макроаденомы гипофиза, синдрома пустого турецкого седла, опухолей ЦНС.

Контрольную группу составили 30 женщин репродуктивного возраста (средний возраст $28,14 \pm 2,11$ года). Критерием включения в контрольную группу было: наличие в анамнезе беременности, закончившейся родами в течение последних 2 лет; отсутствие нейроэндокринных нарушений и лактации; регулярный менструальный цикл; отсутствие тяжелой соматической патологии.

Материалом исследования служили сыворотка крови и гемолизаты. Забор крови проводили из локтевой вены в соответствии с общепринятыми требованиями. Уровни общего холестерина (ОХС), холестерина липопротеидов высокой плотности (ХСЛПВП), триацилглицеролов (ТАГ) определяли с помощью наборов *Cotmax* на автоматическом анализаторе ВТС-330 методом фотометрии. Содержание холестерина липопротеидов низкой плотности (ХСЛПНП) рассчитывали по формуле:

$$\text{ХСЛПНП} = \text{ОХС} - (\text{ХСЛПВП} + \text{ХСЛПОНП}),$$
 где $\text{ХСЛПОНП} = \text{ТАГ} / 2,2$.

Холестериновый коэффициент атерогенности (КА), отражающий баланс между уровнем атерогенных и антиатерогенных липопротеидов, определяли по формуле (Камышников В.С., 2000):

$$\text{КА} = (\text{ОХС} - \text{ХСЛПВП}) / \text{ХСЛПВП}.$$

За нормальные значения липидов и липопротеинов принимали уровни: ОХС < 5,2 ммоль/л, ХСЛПНП < 3,89 ммоль/л, ХСЛПВП > 0,9 ммоль/л, ТАГ < 1,7 ммоль/л; КА < 3,0.

Интенсивность процессов ПОЛ оценивали по содержанию его субстратов с сопряженными двойными связями (Дв.св.), а также продуктов – диеновых конъюгат (ДК) и кетодиенов и сопряженных триенов (КД и СТ) по методу И.А. Волчегорского (1989). Содержание

ТБК-активных продуктов ПОЛ определяли флуориметрически по методу В.Б. Гаврилова с соавт. (1987). О состоянии системы антиоксидантной защиты (АОЗ) судили по общей антиокислительной активности (АОА) крови (метод Г.И. Клебанова с соавт. (1988)), по содержанию ее компонентов: а-токоферола и ретинола по методу Р.Ч. Черняускене и соавт. (1984), аскорбата по методу Н.И. Портяной, В.Г. Осипенко, П.А. Москадыновой и др. (1990) и активности супероксиддисмутазы (СОД) методом Н.Р. Misra, I. Fridovich (1972). Уровень восстановленного (GSH) и окисленного (GSSG) глутатионов регистрировали по методу Р.У. Hissin, R. Hilf (1976). Измерения проводили на спектрофлуорофотометре «Shimadzu RF-1501» (Япония), спектрофотометре «Shimadzu RF-1650» (Япония). Определение концентрации пролактина (ПРЛ) проводилось радиоиммунологическим методом с использованием набора «Диас» (Россия) и анализатора «Иммунотест». Концентрацию гормона выражали в мЕД/мл, нормативные значения – 72–480 мЕД/мл.

Все женщины, перед включением их в данное исследование, подписывали информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации последнего пересмотра (Сеул, октябрь 2008).

Для анализа полученных данных использовали статистический пакет – Statistica 6.1 Stat-Soft Inc, США (правообладатель лицензии – ФГБУ «НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН»). Для проверки нулевой статистической гипотезы о наличии различий между группами использовали непараметрический критерий Манна – Уитни (U-test). Выбранный критический уровень значимости равнялся 5 % (0,05).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ липидного статуса у бесплодных женщин с ГПРЛ показал статистически значимое снижение содержания ТАГ (в 1,82 раза, $p = 0,000$), ХСЛПВП (в 1,25 раза, $p = 0,001$) и ХСЛПОНП (в 1,92 раза, $p = 0,000$) (рис. 1). При этом увеличено содержание ХСЛПНП в 1,2 раза ($p = 0,021$) и, соответственно, повышен КА в 1,44 раза ($p = 0,0009$). Уровень ОХС соответствовал значениям контроля.

При анализе содержания интермедиатов процесса ПОЛ в группах бесплодных с ГПРЛ в сравнении с контрольными значениями статистически значимые различия были выявлены по содержанию субстратов с сопряженными двойными связями (в 1,34 раза выше, $p = 0,000$), уровню первичных (ДК – в 1,41 раза выше, $p = 0,0002$) и вторичных продуктов липопероксидации (КД и СТ – в 1,86 раза выше, $p = 0,0002$). В то же время отмечено снижение (относительно контрольных значений) активности липоперекисных процессов на стадии образования конечных продуктов – в 1,33 раза, $p = 0,0005$ (рис. 2).

При оценке состояния системы АОЗ у пациенток с бесплодием и ГПРЛ в сравнении с контролем нами отмечены разнонаправленные изменения содержания отдельных показателей: увеличение общей АОА (в 1,48 раза, $p = 0,0000$), при одновременном снижении

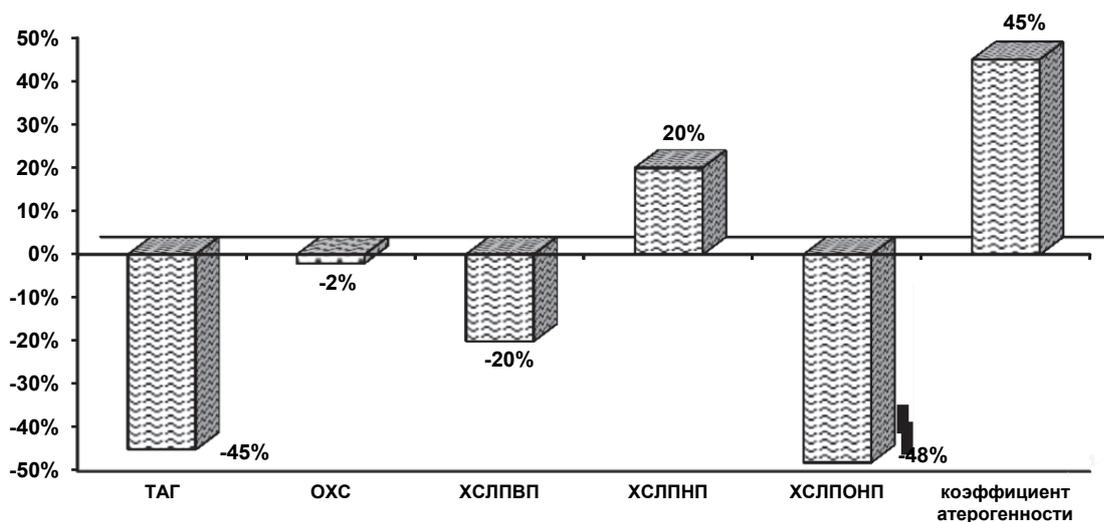


Рис. 1. Изменение уровня показателей липидного статуса (повышение/снижение) у женщин с бесплодием и ГПРЛ (за 0 % принят уровень показателей в крови женщин контрольной группы).

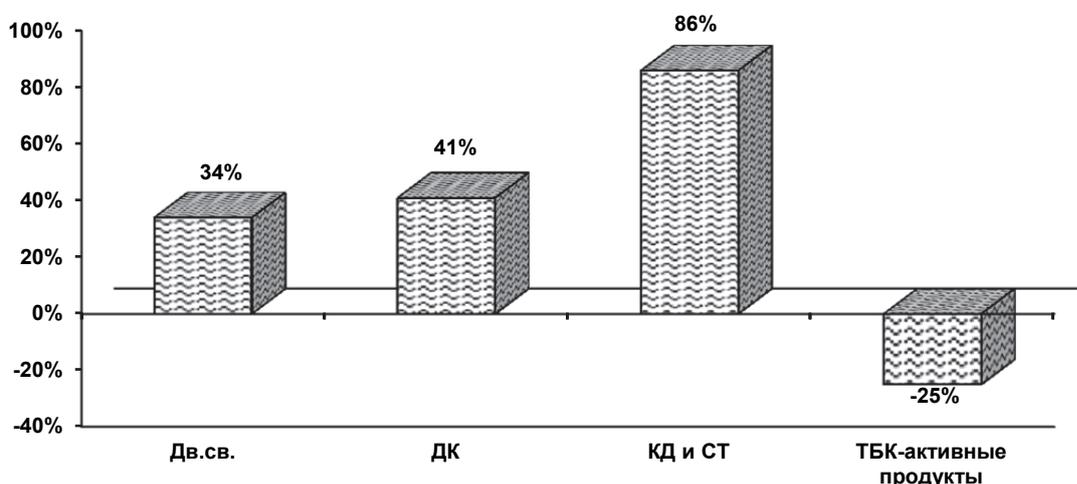


Рис. 2. Изменение уровня показателей процессов липопероксидации (повышение/снижение) у женщин с бесплодием и ГПРЛ (за 0 % принят уровень показателей в крови женщин контрольной группы).

уровней α -токоферола (в 1,24 раза, $p = 0,0014$), ретинола (в 2,69 раза, $p = 0,0000$), аскорбата (в 1,18 раза, $p = 0,009$) (рис. 3). Глутатион-дисульфидная система характеризовалась снижением концентрации GSH (в 1,18 раза, $p = 0,0003$) и увеличением GSSG (в 1,13 раза, $p = 0,0004$) (рис. 3).

Полученные данные свидетельствовали о повышении концентраций в крови у бесплодных женщин с ГПРЛ атерогенных и снижении уровня антиатерогенных липопротеидов, а также триглицеридов, что указывает на развитие дислипидемии. Следует также отметить, что у большинства пациенток повышен коэффициент атерогенности, что предполагает риск развития у этих женщин сердечно-сосудистых заболеваний.

При изучении липоперекисных процессов у пациенток с бесплодием и ГПРЛ отмечалось увеличение в крови субстратов с сопряженными Дв.св., первичных и вторичных продуктов ПОЛ, при снижении уровня ТБК-активных продуктов. Ряд авторов предпола-

гают, что процессы липопероксидации в условиях гиперпролактинемии инициируются гормональным сигналом (активация пролактинергической системы), снижается уровень эстрогенов в крови, соответственно, происходит ускорение процессов липосинтеза. Метаболические нарушения проявляются увеличением массы тела, что нередко сопровождается инсулинорезистентностью. При этом выявляют повышение концентраций общего холестерина и атерогенных фракций липопротеидов, которые служат субстратами для процесса липопероксидации [1, 2, 9, 12]. Сниженный уровень ТБК-активных продуктов ПОЛ в крови у пациенток может свидетельствовать о наличии своевременной антиоксидантной защиты на этапе обезвреживания конечных продуктов ПОЛ. Ведь известно, что продукты, образующиеся на конечных этапах перекисного каскада, обладают многосторонним повреждающим эффектом на многие биополимеры и клеточные структуры [11, 12]. По нашим данным, группа бесплодных женщин с ГПРЛ отличается разной

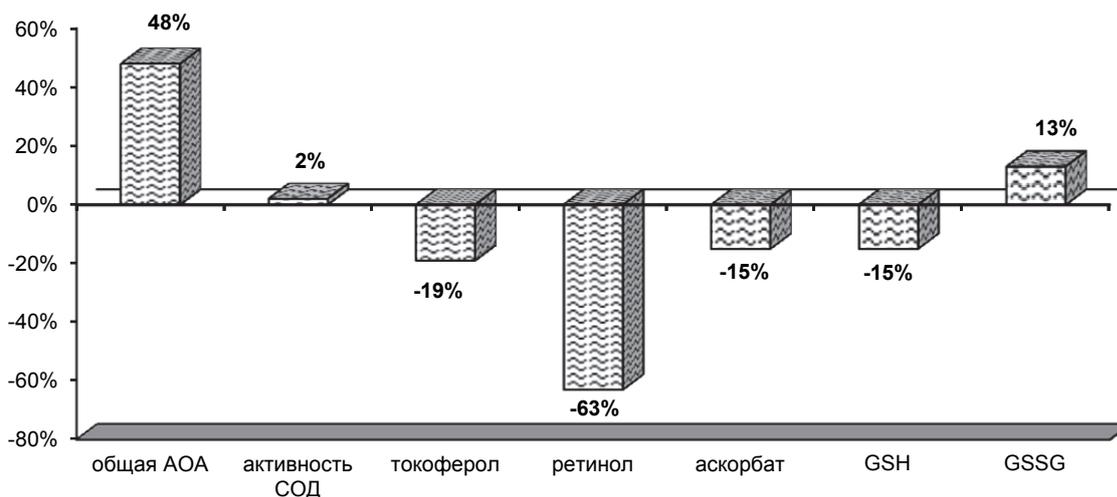


Рис. 3. Изменение уровня показателей системы АОЗ (повышение/снижение) у женщин с бесплодием и ГПРЛ (за 0 % принят уровень показателей в крови женщин контрольной группы).

степенью реагирования системы АОЗ. Так, было отмечено увеличение интегративного показателя системы АОЗ – общей АОА крови. Общая АОА крови характеризует суммарную активность ингибиторов свободно-радикального окисления и включает ряд факторов ферментативной и неферментативной природы, к которым относятся и низкомолекулярные соединения (витамины, глутатион) [15]. Свой вклад в повышение общей АОА при данной патологии, вероятно, вносит высокий уровень пролактина ($915,12 \pm 313,76$ против $307,63 \pm 112,49$ мЕД/мл в группе контроля). Его антиоксидантный эффект доказан ранее проведенными исследованиями, в которых выявлена положительная корреляционная связь между пролактином и общей АОА [17]. Снижение содержания жиро- и водорастворимых витаминов в крови при ГПРЛ и бесплодии может свидетельствовать о несостоятельности неферментативного звена антиокислительной системы. Известно, что витамины, как и гормоны, являются высокоактивными соединениями, причастными к работе всех звеньев регуляции гонадотропной функции гипофиза [18]. Так, α -токоферол, являясь структурным антиоксидантом, влияет на различные звенья репродуктивной системы, стимулируя стероидогенез в яичниках, биосинтез белка в эндометрии и других органах-мишенях стероидных гормонов и его дефицит, безусловно, обладает патогенетической значимостью в развитии бесплодия. Ретинол в настоящее время принято считать не только антиоксидантом прямого действия (ответственным, совместно с токоферолом за «гашение» перекисных радикалов), но и фактором, оказывающим антиокислительный опосредованный эффект через гормональную регуляцию системного метаболизма и функционирование многих органов и систем организма [18]. Недостаток аскорбата, возможно, определяется его участием в ферментзависимой регенерации радикальных форм фенольных антиоксидантов или самостоятельным участием в блокировке процессов ПОЛ, связывая супероксиданионы и активные радикалы [12]. Известно, что основным органом, на котором отража-

ется дефицит витамина С являются яичники. Вполне обосновано допустить нарушение функциональной активности яичников при недостатке аскорбата. Помимо этого, ретинол, аскорбат и α -токоферол тесно взаимосвязаны, что выражается в их совместном антиоксидантном действии. Известно, что в присутствии α -токоферола ретинол устраняет свободные радикалы кислорода, тем самым предупреждая развитие процесса ПОЛ в биомембранах. Аскорбат и ретинол усиливают антиоксидантное действие α -токоферола, окисляясь, расходуясь в процессах на его восстановление. Эти антиоксиданты также активируют включение селена в состав глутатионпероксидазы, которая совместно с токоферолом практически полностью подавляет чрезмерную активацию ПОЛ в биологических мембранах. Это происходит за счет того, что α -токоферол эффективно ингибирует радикалы, а фермент разлагает гидроперекиси, препятствуя тем самым их вовлечению в окислительный цикл [12]. В группе бесплодных женщин с ГПРЛ изменения в системе АОЗ касались также глутатионного статуса, что выражалось в снижении его восстановленной и увеличении окисленной форм. Известно, что низкомолекулярная небелковая система глутатиона («восстановленный – окисленный глутатион») при участии специальных ферментов обеспечивает антиоксидантный эффект. Снижение уровня GSH в данной группе больных может предполагать несостоятельность ферментативного звена системы АОЗ, в частности – глутатионпероксидазы, катализирующей реакцию восстановления глутатионом гидроперекисей и нестойких органических перекисей, а также падение активности глутатионредуктазы, регенерирующей глутатион в основную восстановленную форму [12, 15].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нарушения репродуктивной функции у женщин с ГПРЛ ассоциированы с изменениями состояния липидного обмена, что выражается повышением концентраций атерогенных и

снижении уровня антиатерогенных липопротеидов, а также триглицеридов, что указывает на развитие дислипидемии. В системе «липопероксидация – антиоксидантная защита» отмечается нарастание первичных и вторичных продуктов ПОЛ, снижение конечных ТБК-активных продуктов. При этом состояние антиоксидантной защиты у женщин с ГПРЛ и бесплодием характеризуется снижением содержания жирорастворимых витаминов, увеличением суммарной величины общей АОА и дисбалансом в системе глутатиона. В связи с этим можно обосновать исследование данных антиоксидантов и проведение индивидуальной коррекции антиоксидантной недостаточности с учетом характера обнаруженных изменений в прооксидантно-антиоксидантной системе у пациенток с ГПРЛ и бесплодием.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акмаев И.Г., Сергеев В.Г. Нейроиммуноэндокринология жировой ткани // Успехи физиол. наук. – 2002. – № 2. – С. 3–16.
2. Аталян А.В., Сутурина Л.В., Ильин В.П. и др. Состояние основных звеньев нейроэндокринной системы у женщин с гиперпролактинемией и различным статусом фертильности // Бюллетень СО РАМН. – 2008. – № 1. – С. 11–15.
3. Бесплодный брак / под ред. В.И. Кулакова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. – 616 с.
4. Гилязутдинов И.А., Гилязутдинова З.Ш. Нейроэндокринная патология в гинекологии и акушерстве: рук. для врачей – М.: МЕДпресс-информ, 2006. – 416 с.
5. Колесникова Л.И., Петрова В.А., Корнакова Н.В., Лабыгина А.В. и др. Пероксидация липидов и система антиоксидантной защиты у женщин с эндокринными факторами бесплодия // Журнал акушерства и женских болезней. – 2008. – Т. LVII, № 1. – С. 52–56.
6. Колесникова Л.И., Осипова Е.В., Гребенкина Л.А. Окислительный стресс при репродуктивных нарушениях эндокринного генеза у женщин. – Новосибирск, 2011. – 116 с.
7. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Гребенкина Л.А., Лабыгина А.В. и др. Уровень ТБК-активных продуктов и компонентов антиоксидантной защиты у женщин различных популяций с гиперпролактинемией и бесплодием // Вопросы сохранения и развития здоровья населения Севера и Сибири: матер. Итоговой научно-практ. конф. с междунар. уч. – 2011. – С. 49–50.
8. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Гребенкина Л.А., Лабыгина А.В. и др. Характеристика процессов липопероксидации у женщин различных популяций с гиперпролактинемией и бесплодием // Журнал акушерства и женских болезней. – 2011. – № 5. – С. 55–61.
9. Лабыгина А.В., Сутурина Л.В., Колесникова Л.И., Олифиренко Т.Л. и др. Клинико-гормональные аспекты женского эндокринного бесплодия, ассоциированного с гиперпролактинемией // Проблемы репродукции. – 2010. – спец. выпуск. – С. 86–87.
10. Мадаева И.М., Колесникова Л.И., Петрова В.А., Шевыргалова О.Н. и др. Изменения процессов перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты у пациентов с синдромом обструктивного апноэ сна // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2009. – № 3. – С. 24–27.
11. Макаров О.А., Савченков М.Ф., Ильин В.П., Колесникова Л.И. Радон и здоровье населения. – Новосибирск, 2000. – 147 с.
12. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З. и др. Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания. – Новосибирск: АРТА, 2008. – 284 с.
13. Овсянникова Т.В., Корнеева И.Е. Диагностика и лечение бесплодия у женщин с функциональной гиперпролактинемией // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2005. – Т. 4, № 4. – С. 54–58.
14. Овсянникова Т.В., Макаров И.О., Камилова Д.П., Хачатрян А.М. Гиперпролактинемия: современные подходы к диагностике и лечению // Гинекология. – 2011. – № 6. – С. 4–7.
15. Сазонтова Т.Г., Архипенко Ю.В. Значение баланса прооксидантов и антиоксидантов – равнозначных участников метаболизма // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2007. – № 3. – С. 2–18.
16. Семенов А.В., Колесникова Л.И., Куликов В.Ю., Неделькина С.В. и др. Метод оценки активности ферментов метаболизма лекарственных растений // Клиническая лабораторная диагностика. – 1982. – № 10. – С. 607–609.
17. Сутурина Л.В., Колесникова Л.И. Основные патогенетические механизмы и методы коррекции репродуктивных нарушений у больных с гипоталамическими синдромами. – Новосибирск: Наука, 2001. – 134 с.
18. Третьякова Т.В., Кубасов Р.В., Власова О.С. и др. Взаимоотношения между содержанием в сыворотке крови токоферола, ретинола и гормонов репродуктивной системы у детей // Клиническая лабораторная диагностика. – 2009. – № 12. – С. 11–14.

Сведения об авторах

Гребенкина Людмила Анатольевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии репродукции ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: +7 (3952) 20-76-36; e-mail: greblud@mail.ru)