

Л.И. Колесникова, Н.В. Корнакова, А.В. Лабыгина, В.А. Петрова, Л.Ф. Шолохов,
М.И. Долгих, Н.В. Завьялова

СОСТОЯНИЕ ГОРМОНАЛЬНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ У ЖЕНЩИН С ПОЛИКИСТОЗОМ ЯИЧНИКОВ И БЕСПЛОДИЕМ

ГУ Научный центр медицинской экологии ВСНЦ СО РАМН, Иркутск
НИИ педиатрии и репродукции человека ГУ НЦМЭ ВСНЦ СО РАМН, Иркутск

В работе представлены результаты исследования гормонального скрининга и процессов перекисного окисления липидов — антиоксидантной защиты у 18 женщин с бесплодием и поликистозом яичников по сравнению с группой контроля. Было выявлено достоверное повышение в группе с бесплодием и поликистозом яичников концентраций лютеинизирующего гормона, тестостерона, трийодтиронина, свободного трийодтиронина, тироксина. Установлено повышение содержания показателя ненасыщенности липидов — субстратов с двойными связями, вторичных продуктов липопероксидации — кетодиенов и сопряженных триенов при снижении конечных продуктов (малонового диальдегида). В системе антиоксидантной защиты были отмечены следующие изменения: повышение активности супероксиддисмутазы, возрастание уровня общей антиокислительной активности при снижении содержания в крови α -токоферола, ретинола и аскорбата и увеличении содержания окисленной формы глутатиона.

Ключевые слова: гормоны, пероксидация липидов, антиоксидантная защита, бесплодие.

В организме при физиологических состояниях существует определенный баланс в системе «перекисное окисление липидов — антиоксидантная защита» (ПОЛ-АОЗ), которая нарушается при многих заболеваниях [1], в частности при женском эндокринном бесплодии с поликистозом яичников. Изменения концентрации или активности одних антиоксидантов приводят к соответствующему изменению других, благодаря чему сохраняется общая активность радикальных окислительных процессов, в частности ПОЛ [4]. АОЗ организма представлена различными веществами и системами, которые находятся во взаимокompенсаторных отношениях. Поликистоз яичников, ассоциированный с женским бесплодием, обязательно сопровождается изменением у пациенток гормонального статуса [5]. Несмотря на проводимые исследования, посвященные анализу состояния системы нейроэндокринной регуляции и процессов ПОЛ-АОЗ, во многом обуславливающих течение данного патологического процесса, однозначного мнения по оценке связей между этими системами нет.

Целью настоящего исследования явилось установление характера гормонально-метаболических изменений и их взаимосвязей у женщин репродуктивного возраста с поликистозом яичников и бесплодием.

Материалы и методы

Обследована 101 женщина репродуктивного возраста. Группу сравнения составили 30 женщин, не страдающих бесплодием и какими-либо эндокринными заболеваниями. Средний возраст $22,0 \pm 1,2$ года. В основную группу вошли женщины с поликистозом яичников и бесплодием (18 пациенток, средний возраст $30,0 \pm 2,1$ года). Исследования на здоровых испытуемых выполнены неинвазивными методами с информированного согласия и соответствуют этическим нормам Хельсинской декларации (2000). Проведено анкетирование всех женщин с учетом анамнестических данных, выполнены общеклиническое, гинекологическое и лабораторное исследования. Оценка гормонального статуса, показателей процессов пероксидации липидов и АОЗ проведены в лабораториях патофизиологии репродукции и физиологии и патологии эндокринной системы института педиатрии и репродукции человека ГУ «Научный центр медицинской экологии ВСНЦ СО РАМН».

Забор крови осуществлялся с 8 до 9 ч натощак с 5-го по 9-й день менструального цикла. Полученную сыворотку для гормональных исследований, плазму и гемолизат для оценки метаболического статуса хранили в морозильной камере при температуре -20°C до момента определения. Измерение концентраций трийод-

Таблица 1

Содержание гормонов в сыворотке крови обследованных женщин ($M \pm m$)

Показатель	Группа сравнения (n = 30)	Группа исследования (n = 18)
Пролактин, мЕД/мл	307,63 \pm 20,54	354,17 \pm 30,12
ЛГ, мЕД/мл	3,35 \pm 0,22	12,25 \pm 1,17*
ФСГ, мЕД/мл	4,57 \pm 0,45	5,17 \pm 0,52
Тестостерон, нмоль/л	2,11 \pm 0,15	2,71 \pm 0,21*
Кортизол, нмоль/л	455,50 \pm 20,91	465,44 \pm 50,54
ТТГ, мЕД/мл	2,09 \pm 0,14	2,55 \pm 0,24
Т3, нмоль/л	1,94 \pm 0,07	2,52 \pm 0,12*
Т3 св., пмоль/л	3,52 \pm 0,13	4,69 \pm 0,54*
Т4, нмоль/л	108,13 \pm 3,44	132,08 \pm 8,23*
Т4 св., пмоль/л	14,35 \pm 0,48	12,91 \pm 0,93

* достоверность различий с группой сравнения ($p < 0,05$).

Таблица 2

Показатели процессов ПОЛ-АОЗ у обследованных женщин ($M \pm m$)

Показатель	Группа сравнения (n=30)	Группа исследования (n = 18)
Дв. св., усл. ед.	1,77 \pm 0,07	2,36 \pm 0,19*
ДК, мкмоль/л	1,24 \pm 0,06	1,40 \pm 0,10
КД и СТ, усл. ед.	0,29 \pm 0,04	0,52 \pm 0,10*
МДА, мкмоль/л	1,71 \pm 0,07	1,15 \pm 0,17*
АОА, усл. ед.	11,09 \pm 0,36	19,69 \pm 1,69*
СОД, усл. ед.	1,63 \pm 0,01	1,76 \pm 0,04*
GSH, мкмоль/л	2,34 \pm 0,06	2,09 \pm 0,14
GSSG, мкмоль/л	1,76 \pm 0,04	2,05 \pm 0,06*
α -токоферол, мкмоль/л	11,29 \pm 0,23	9,01 \pm 1,07*
Ретинол, мкмоль/л	1,88 \pm 0,04	0,65 \pm 0,07*
Аскорбат, мкмоль/л	66,49 \pm 0,88	55,68 \pm 3,94*

* достоверность различий с группой сравнения ($p < 0,05$).

тиронина (Т3), тироксина (Т4), пролактина, лютеинизирующего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) проводилось радиоиммунологическим методом с использованием наборов ООО «Диас» (Россия) и анализатора «Иммунотест». Определение уровня кортизола, свободного Т4, тестостерона (наборы «Алкор Био»), свободного Т3 (наборы «Хема») проводили иммуноферментным методом с использованием анализатора «Cobos» (USA). В плазме крови спектрофотометрическими методами регистрировали содержание диеновых конъюгатов (ДК), кетодиенов и сопряженных триенов (КД и СТ), показателя ненасыщенности субстратов пероксидации – сопряженных двойных связей (Дв. св.) [6]. Содержание конечного

продукта ПОЛ – малонового диальдегида (МДА) определяли флуорометрическим методом с использованием стандартного количества тетраметилпропанола (Sigma) [7]. Антиоксидантный статус оценивали по общей антиокислительной активности крови (АОА) [8], содержанию низкомолекулярных антиоксидантов α -токоферола, ретинола [9], восстановленного и окисленного глутатионов (GSH, GSSG) [10] и активности супероксиддисмутазы (СОД) [11]. Регистрацию оптических плотностей и флуоресценцию проводили с помощью спектрофотометра «SHIMADZU RF-5000» (Япония).

Обработку данных проводили с помощью известных статистических методов и прикладных программ, параметрической

(средней ошибки — m , среднеквадратичного отклонения — δ , достоверности различий средних величин по t -критерию Стьюдента) и непараметрической (критерий Манна-Уитни) статистики. Критический уровень значимости принимался равным 0,05.

Результаты

Как видно из *табл. 1*, у женщин, страдающих бесплодием и поликистозом яичников возрастает содержание в сыворотке крови ЛГ в 3,65 раза ($p < 0,05$) при неизменном уровне ФСГ. Соответственно, повышается индекс ЛГ/ФСГ до 2,37, что является одним из диагностических признаков заболевания [12]. Отмечено достоверное повышение содержания тестостерона на 28 %, тиреоидных гормонов — Т3, свободного Т3 и Т4 на 30, 33 и 22 % соответственно. Изменений уровней пролактина, кортизола, ТТГ и свободного Т4 в сыворотке крови пациенток с бесплодием и поликистозом яичников по отношению к группе сравнения не выявлено.

В результате исследования состояния системы ПОЛ-АОЗ (*табл. 2*) установлено, что в сыворотке крови группы бесплодных женщин с поликистозом яичников по сравнению с группой контроля повышено содержание субстратов с ненасыщенными двойными связями в 1,33 раза ($p < 0,05$), а также содержание вторичных продуктов ПОЛ — КД и СТ в 1,79 раз ($p < 0,05$) при снижении конечного продукта — МДА в 1,48 раз ($p < 0,05$).

При оценке состояния системы АОЗ организма в группе бесплодных женщин с поликистозом яичников отмечено повышение уровня общей антиокислительной активности крови почти в два раза, достоверное увеличение содержания окисленного глутатиона на 16 %, снижение содержания α -токоферола на 20 %, аскорбата на 16 % и ретинола почти в три раза ($p < 0,05$). Увеличение содержания окисленного глутатиона при незначительном снижении восстановленного, возможно, связано со снижением активности глутатионредуктазы либо с повышением активности глутатионпероксидазы [13]. Являясь «ловушкой радикалов», α -токоферол активно участвует в блокировке процессов липопероксидации, чем и объясняется его повышенный расход [4]. Снижение концентрации ретинола обусловлено участием витамина в АОЗ. Благодаря наличию сопряженных двойных связей в молекуле, ретинол как эффективный антиоксидант взаимодействует со свободными радикалами различных видов и одновременно значительно усиливает антиоксидантное дейс-

ствие α -токоферола, обеспечивая стационарный уровень последнего [14]. Недостаток аскорбата, возможно, определяется его участием в фермент-зависимой регенерации радикальных форм фенольных антиоксидантов [15].

Что касается ферментативного звена АОЗ, то у пациенток с поликистозом яичников и бесплодием по сравнению с женщинами контрольной группы отмечено увеличение активности одного из ключевых ферментов — СОД на 8 % ($p < 0,05$). СОД, как известно, является гидрофильным соединением, представляющим первое звено защиты, которое переводит супероксидный радикал в электрононейтральную форму — перекись водорода [16].

Для изучения особенностей взаимосвязей гормональной системы и процессов ПОЛ-АОЗ нами был проведен корреляционный анализ основных гормонально-метаболических показателей у здоровых женщин и пациенток с бесплодием и поликистозом яичников.

В контрольной группе было установлено семь статистически значимых корреляционных связей (4 положительных и 3 отрицательных). Закономерно были выявлены взаимосвязи между Дв. св. и ДК ($r = +0,77$), ДК и КД и СТ ($r = +0,67$), Дв. св. и КД ($r = +0,57$). Установленная отрицательная корреляционная связь между КД и СТ и α -токоферолом ($r = -0,37$) может свидетельствовать о влиянии витамина на этапе образования вторичных продуктов ПОЛ. Взаимосвязи ФСГ с СОД ($r = +0,43$) и МДА ($r = -0,63$) указывают на влияние гормона на активность ключевого фермента и образование конечного продукта липопероксидации. Вместе с тем повышение содержания в сыворотке крови ТТГ вызывает снижение содержания восстановленной формы глутатиона, на что указывает отрицательная корреляционная связь между показателями ТТГ-GSH ($r = -0,37$).

В группе бесплодных женщин с поликистозом яичников по сравнению с группой контроля меняется направленность: становится сильнее связь между КД и СТ и α -токоферолом ($r = +0,70$) и ослабевает связь между Дв. св. и ДК ($r = +0,69$). Помимо этого появляются 15 новых статистически значимых взаимосвязей между гормональными и метаболическими показателями. Положительная связь α -токоферола с ФСГ ($r = +0,53$) и пролактином ($r = +0,55$) указывает на участие витамина в регуляции секреции гормонов аденогипофиза. Содержание субстратов липопероксидации с ненасыщенными двойными связями положительно коррели-

рует со стрессозависимым гормоном – кортизолом ($r = +0,76$). Отмечены взаимосвязи ФСГ с КД и СТ ($r = +0,62$), а также пролактин с GSSG ($r = +0,60$), свидетельствующие о влиянии этих гормонов на активацию процессов липопероксидации.

Корреляционные взаимосвязи тиреоидных гормонов с общей АОА сыворотки крови и компонентами АОЗ – свободного Т4 и АОА ($r = -0,57$), ТТГ и СОД ($r = +0,50$), Т4 и СОД ($r = +0,49$), свободного Т4 и GSH ($r = +0,49$), свободного Т3 и GSH ($r = +0,48$) – подтверждают влияние гормонов гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы на процессы липолиза, а следовательно, и на компоненты системы АОЗ.

Помимо этого, в группе бесплодных женщин с поликистозом яичников отмечены новые корреляции между продуктами ПОЛ и компонентами АОЗ. Так, содержание ДК в сыворотке крови пациенток коррелирует с α -токоферолом ($r = +0,56$), а КД и СТ с GSH ($r = +0,55$), что свидетельствует о сохранении взаимовлияния системы ПОЛ-АОЗ. Положительные корреляции окисленного глутатиона с α -токоферолом ($r = +0,53$) и ретинолом ($r = +0,52$) показывают влияние витаминов на систему глутатиона. Кроме того, выявлена отрицательная взаимосвязь между ретинолом и аскорбатом ($r = -0,48$), что может свидетельствовать о одновременном участии этих антиоксидантов на различных этапах свободнорадикального окисления.

Заключение

Таким образом, по результатам исследования установлено, что у женщин с бесплодием и поликистозом яичников повышаются в сыворотке крови уровни ЛГ, тестостерона, Т3, свободного Т3 и Т4. Одновременно происходит увеличение содержания в крови субстратов для липопероксидации, а также вторичных продуктов ПОЛ при снижении конечного продукта. Вместе с тем у бесплодных женщин наблюдается напряжение в системе АОЗ, на что указывает повышение активности СОД, повышенный уровень общей АОА сыворотки крови при расходе α -токоферола, ретинола и аскорбата и увеличении содержания окисленного глутатиона. Наблюдаемые потери функциональных связей между гормонально-метаболическими показателями, характерные для группы сравнения, а также появление новых функциональных связей свидетельствуют о дисбалансе между системами нейроэндокринной регуляции и ПОЛ-АОЗ. Эти выявленные изменения у пациенток с бесплодием и поликистозом яичников обес-

печивают включение адаптационно-компенсаторных механизмов организма, направленных на сохранение гомеостаза.

HORMONAL-METABOLIC PROCESSES CONDITION OF WOMEN WITH POLYCYSTIC OVARY SYNDROME AND INFERTILITY

L.I. Kolesnikova, N.V. Kornakova, A.V. Labigina, V.A. Petrova, L.F. Sholokhov, M.I. Dolgih, N.V. Zavjalova

The paper presents the results of the study of hormonal examination and of the processes of lipid peroxidation-antioxidant protection in 18 women with infertility and polycystic ovaries as compared with the control group. In the women with polycystic ovaries and infertility the LH, testosterone, T3, T3 sv., T4 levels were considerably higher than levels in the controls. There has been diagnosed evaluated concentration of double bonds, secondary products of lipid peroxidation – ketodienes and coupled trienes at lowering of the concentration of final products – malonic dialdehyde. The following changes were marked: elevation activity of SOD, elevation of the level of general antioxidant activity at lowering of the α -tocoferol, retinol and ascorbate concentration in blood and increasing of the content of oxidized glutathione in the system of antioxidant protection.

Литература

1. Ланкин В.З., Тихадзе А.К., Беленков Ю.Н. Свободнорадикальные процессы в норме и при патологических состояниях. М.: РКНПК МЗ РФ, 2001. 78 с.
2. Agarwal A., Gupta S., Sharma R.K. Role of oxidative stress in female reproduction // Reproductive Biology and Endocrinology. 2005. 3. 28.
3. Behrman H.R., Kodaman P.H., Preston S.L., et al. Oxidative stress and the ovary // J. Soc. Gynecol. Invest. 2001. 8. 40–42.
4. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. и др. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. М.: Слово, 2006. 556 с.
5. Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению / Под ред. В.И. Кулакова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. 616 с.
6. Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г. и др. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови // Вопр. мед. химии. 1989. 1. 127–131.

7. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Мажуль Л.М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тибарбитуровой кислотой. *Вопр. мед. химии*. 1987. 1. 118–122.
8. Клебанов Г.И., Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О. и др. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов // *Лабораторное дело*. 1988. 5. 59–62.
9. Черняускене Р.Ч., Варишкявичене З.З., Грибаускас П.С. Одновременное определение концентраций витаминов Е и А в сыворотке крови // *Лабораторное дело*. 1984. 6. 362–365.
10. Hisin P.J., Hilf R. Fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues // *Anal. Biochem*. 1976. 74. 1. 214–226.
11. Misra H.P., Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase // *J. Biol. Chem*. 1972. 247. 3170–3175.
12. Серов В.Н., Прилепская В.Н., Овсянникова Т.В. Гинекологическая эндокринология. М.: МЕДпресс-информ, 2006. 520 с.
13. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Обмен глутатиона // *Успехи биол. химии*. М.: Наука, 1997. 31. 157–179.
14. Казимирко В.К., Мальцев В.И. Бутылин В.Ю. и др. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная терапия. Киев: Морион, 2004. 160 с.
15. Ланкин В.З., Тихадзе А.К., Беленков Ю.Н. Антиоксиданты в комплексной терапии атеросклероза: *pro et contra* // *Кардиология*. 2004. 2. 72–81.
16. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты // *Вестник РАМН*. 1998. 7. 43–51.