

И.Н. Данусевич¹, Н.А. Курашова¹, Я.Г. Надеяева¹, А.А. Гейн²

АКТИВНОСТЬ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У ЖЕНЩИН С РЕПРОДУКТИВНЫМИ НАРУШЕНИЯМИ И ХРОНИЧЕСКИМ ЭНДОМЕТРИТОМ

¹ ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», Иркутск, Россия

² Поликлиника Иркутского научного центра СО РАИ, Иркутск, Россия

Данное исследование посвящено изучению особенности процессов перекисидации липидов у женщин с репродуктивными нарушениями, ассоциированными с хроническим эндометритом. В исследование включены 50 женщин репродуктивного возраста с хроническим эндометритом. Группу сравнения составили 50 женщин соответствующего возраста с репродуктивными нарушениями без хронического эндометрита. О наличии окислительного стресса у женщин с репродуктивными нарушениями и хроническим эндометритом свидетельствует недостаточная активность процессов перекисидации.

Ключевые слова: хронический эндометрит, перекисное окисление липидов, репродуктивные нарушения, иммунитет

LIPID PEROXIDATION ACTIVITY IN WOMEN WITH REPRODUCTIVE DISORDERS AND CHRONIC ENDOMETRITIS

I.N. Danusevich¹, N.A. Kurashova¹, Y.G. Nadelyaeva¹, A.A. Geyn²

¹ Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russia

² Polyclinic of the Irkutsk Scientific Center SB RAS, Irkutsk, Russia

The research focuses on peculiarities of lipid peroxidation processes in women with reproductive disorders associated with chronic endometritis. The control group included 50 women of reproductive age with chronic endometritis, whose average age was 29.7 ± 4.7 years. The comparison group consisted of 50 women of the same age with reproductive disorders without chronic endometritis, who had signed informed consent. We followed ethical principles and requirements of the Declaration of Helsinki of the World Medical Association. Insufficient activity of peroxidation processes which is characterized by a decrease in the concentration of primary ((DC – 1.11 ± 0.05 for the control group and 1.43 ± 0.08 for the comparison ($p \leq 0.05$)) peroxidation products, an increase in concentration of intermediate ((KD) – 0.53 ± 0.03 and 0.36 ± 0.03 respectively ($r \leq 0,001$)) peroxidation products and increased content of double bond substrates: 1.82 ± 0.07 and 1.11 ± 0.07 respectively ($r \leq 0,001$) compared to the patients with reproductive disorders without chronic inflammation of the endometrium which therefore indicates the presence of oxidative stress in women with reproductive disorders and chronic endometritis. The results of discriminant analysis showed that the diene conjugates are the most informative indicators of the lipid peroxidation system, indicating the differences between the group of patients with chronic endometritis and the group of patients without inflammation.

Key words: chronic endometritis, lipid peroxidation, reproductive disorders, immune system

ВВЕДЕНИЕ

Активация процессов свободнорадикального окисления (СРО) является универсальным ответом тканей и важным патогенетическим фактором, отрицательно влияющим на течение, эффективность лечения и прогноз воспалительных заболеваний [5]. Оксидативный стресс и перекисное окисление липидов (ПОЛ) возникают с самого начала и постоянно сопровождают воспалительный процесс [8, 11].

Хроническое воспаление представляет собой адаптационную реакцию организма на длительное персистирование инфекционного агента. При хроническом воспалительном процессе имеет место гипоксическое поражение ткани эндометрия. При воспалении, в условиях хронической гипоксии клеток и нарушений микроциркуляции, появляется целый каскад воспалительных факторов повреждения, который запускает процесс перекисного окисления липидов и повреждение клеточных мембран [4, 10]. Процесс перекисидации липидов может приводить к потере мембранами своих барьерных свойств, уменьшению их механической и осмотической прочности; в клетке снижаются скорость и координация протекания ферментативных реакций, развиваются

явления клеточной альтерации, которые часто носят характер физиологической адаптации [3].

Усиленное ПОЛ клеточных мембран, возникая в условиях патологии, само становится патогенетическим механизмом дальнейшего развития патологического процесса, имеет универсальное биологическое значение и возникает в различных клетках и органах. Эндогенно возникающие в неконтролируемом количестве свободные радикалы и продукты ПОЛ представляют собой по существу эндотоксины [3, 12].

Кроме того, клетки воспалительного инфильтрата интенсивно продуцируют и накапливают провоспалительные цитокины, факторы роста, протеолитические ферменты и ряд других биологически активных веществ, обладающих прооксидантным действием, инициирующих и ингибирующих процессы СРО липидов [15].

Показано, что при хроническом воспалении за счет длительной персистенции инфекционного агента не успевают запуститься процесс регенерации – восстановления клеток [2, 5].

В связи с этим **целью** настоящего исследования явилось выявление особенностей системы перекис-

ного окисления липидов у женщин с репродуктивными нарушениями и хроническим эндометритом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами было обследовано 50 женщин репродуктивного возраста с хроническим эндометритом, средний возраст которых составил $29,7 \pm 4,7$ года. Группу сравнения составили 50 женщин соответствующего возраста с репродуктивными нарушениями без хронического эндометрита. В работе с пациентками и здоровыми женщинами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, 2000 ред.)). Пациентки подписали информированное согласие на участие в исследовании. Диагноз «хронический эндометрит» был подтвержден данными гистологического исследования эндометрия, полученного методом пайпель-биопсии. Микробный фактор определяли бактериологическим методом с количественным определением в КОЕ/мл и с определением факторов патогенности; диагностику на вирусы проводили методом ПЦР-диагностики.

В качестве материала для определения показателей ПОЛ использовали сыворотку и плазму крови, гемолизат из эритроцитов. Кровь забирали из локтевой вены с 8 до 9 часов утра, натощак, в 1-ю фазу менструального цикла (3–9-й день) или на фоне аменореи.

Субстраты с изолированными двойными связями (Дв. св.), диеновые конъюгаты (ДК), кетодиены и сопряженные триены (КД и СТ) определяли по И.А. Волчегорскому с соавт. Содержание Дв. св. и КД и СТ выражали в усл. ед., ДК – в мкмоль/л. Определение содержания ТБК-активных продуктов проводили по В.Б. Гаврилову с соавт. на спектрофлуорометре Shimadzu RF-1501 (Япония). Концентрацию ТБК-АП выражали в мкмоль/л.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ StatSoft Statistica 6.1 (США) (правообладатель лицензии – ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»).

Оценивали характер распределения (нормальность) методами Колмогорова – Смирнова с поправкой Лиллиефорса и Шапиро – Уилка, в зависимости от чего в последующем применяли различные методы параметрической и непараметрической статистики с

уровнем значимости, меньшим и равным 5 % ($p \leq 0,05$). Для качественной оценки использовали абсолютные и относительные показатели (доли, %). Значимость межгрупповых различий показателей устанавливалась с двусторонним Z-критерием. Для количественных переменных в группах сравнения определяли среднюю арифметическую величину (M), стандартное отклонение (σ), медиану (Me), стандартные ошибки средних, 95%-е доверительные интервалы. Анализ межгрупповых различий для независимых выборок по каждому из нормально распределенных количественных признаков проводили с помощью параметрических критериев Стьюдента (t-критерий) и Фишера (F-test), для ненормально распределенных – с помощью непараметрических критериев Манна – Уитни (U-test), Колмогорова – Смирнова (K-S), Вальда – Вольфовица (W-W). Внутригрупповые взаимосвязи количественных признаков определяли корреляционным анализом Пирсона (для нормально распределенных величин) и непараметрическим методом Спирмена.

Многофакторный дискриминантный анализ позволил выявить значимость наиболее информативных показателей и оценить их эффективность для классификации наблюдений. Проводили классификационный анализ с пошаговым включением переменных и канонический анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ содержания продуктов ПОЛ в крови женщин с хроническим эндометритом и репродуктивными нарушениями свидетельствует об активации свободнорадикальных реакций и наличии явления оксидативного стресса.

Результаты проведенного нами исследования выявили у женщин с репродуктивными нарушениями и хроническим эндометритом снижение концентрации первичных продуктов (ДК) и повышение концентрации промежуточных (КД) продуктов перекисидации и субстратов окисления с двойными связями. Данные представлены в таблице 1.

Отмечено повышение концентрации двойных связей у женщин с репродуктивными нарушениями и хроническим эндометритом. Известно, что по концентрации изолированных двойных связей можно судить об активности начальных этапов перекисидации и об энергообеспечении организма, в дальнейшем сопровождающееся снижением первичных продуктов перокси-

Таблица 1

Показатели процессов перекисного окисления липидов у обследованных женщин

Показатели	Группа ($M \pm \sigma$; Me (25-й; 75-й перцентиль))		$p < 0,05$		
	1-я клиническая ($n = 50$)	2-я клиническая ($n = 50$)	p_U	p_{K-S}	p_{W-W}
Дв. св. (у.е.)	$1,82 \pm 0,07$ 1,77 (0,86; 2,94)	$1,11 \pm 0,07$ 1,07 (0,36; 2,79)	1–2	1–2	1–2
ДК (мкмоль/л)	$1,11 \pm 0,05$ 2,03 (0,78; 3,02)	$1,43 \pm 0,08$ 1,33 (0,6; 3,3)	–	1–2	–
КД (у.е.)	$0,53 \pm 0,03$ 0,51 (0,1; 1,16)	$0,36 \pm 0,03$ 0,26 (0,1; 1,34)	1–2	1–2	–
МДА (мкмоль/л)	$1,29 \pm 0,12$ 1,16 (0,4; 11,5)	$1,14 \pm 0,06$ 1,07 (0,4; 2,15)	–	–	–

Примечание. p_U – критерий Манна – Уитни; p_{K-S} – критерий Колмогорова – Смирнова; p_{W-W} – критерий Вальда – Вольфовица.

дации, что определяется состоянием общего и местного иммунитета [6,9, 13]. На этапе экссудации наблюдается вазоконстрикция, усиление агрегации тромбоцитов, адгезия нейтрофилов к эндотелию, миграция в ткани моноцитов и гранулоцитов, а также нейроэндокринные изменения на уровне целого организма. Гидроперекиси полиненасыщенных жирных кислот ингибируют адгезию моноцитов к эндотелиоцитам, стимулированным липополисахаридом, ФНО- α , ИЛ-1 [5, 7, 11]. Однако повышение двойных связей у женщин с хроническим воспалением эндометрия и репродуктивными нарушениями, возможно, обусловлено и изменениями эндокринной регуляции с преобладанием андрогенов как надпочечникового, так и яичникового происхождения со значимым различием между группами.

Снижение интенсивности процессов ПОЛ на первичном этапе липопероксидации за счет уменьшения концентрации первичных продуктов (ДК) способствует накоплению недоокисленных продуктов, что характерно для патологического процесса. Этап вторичной альтерации определяется состоянием общего и местного иммунитета, активностью фагоцитирующих клеток [8, 9].

Известно, что активные формы кислорода активно участвуют в развитии воспалительной реакции. На всех стадиях его развития АФК оказывают регуляторное, микробицидное и деструктивное действие [1].

Активации продукции активных форм кислорода способствует избыточная продукция провоспалительных цитокинов в результате стимуляции функции макрофагов, выявленная у пациенток с хроническим воспалением эндометрия (ИЛ-1, -6, -8, ФНО- α), а также эндо- и экзотоксины бактерий [8, 11]. Этот процесс сопровождается активацией фермента плазматической мембраны – НАДФ*Н-оксидазы с формированием свободного молекулярного кислорода O_2 [14, 15]. Процессы пероксидации липидов протекают менее агрессивно и сопровождаются низким содержанием ДК и отсутствием повышения конечных продуктов пероксидации – МДА. Возможно, это связано со снижением общей активности фагоцитоза и фагоцитарной активности нейтрофилов у женщин с хроническим эндометритом. Мембраны иммунокомпетентных клеток повреждаются при активации перекисных процессов в первую очередь. В итоге лимфоциты, включенные в воспалительный процесс, меняют свои функции и начинают активно продуцировать фактор роста фибробластов, благодаря которому происходит усиленная пролиферация фибробластов, активируется продукция коллагена [2], что является одной из причин фиброза как одного из проявлений хронического воспаления эндометрия.

Нами не выявлено корреляционных связей между двойными связями, ДК и МДА и показателями сопряженных систем у пациенток с хроническим воспалением эндометрия, что можно объяснить разобщением межклеточных взаимодействий.

Напротив, у пациенток с репродуктивными нарушениями при отсутствии хронического воспаления эндометрия присутствуют положительные, умеренной силы корреляционные связи между общей активностью фагоцитоза и двойными связями ($r = 0,32$),

общей активностью фагоцитоза и МДА ($r = 0,33$), МДА и ИНФ- γ ($r = 0,33$), ФНО- α и ДК ($r = 0,39$), НК-клетками и КД ($r = 0,34$), и отрицательные, умеренной силы связи между МДА и ИЛ-4 ($r = -0,44$). Данные взаимодействия позволяют говорить об адаптации регуляторных систем в условиях нарушения репродуктивной функции.

Таким образом, наблюдаемые изменения в системе ПОЛ характеризуют дизадаптивные реакции у пациенток с репродуктивными нарушениями и хроническим воспалением эндометрия. Возможно, такое состояние дизадаптации в системе пероксидации липидов способствует хронизации воспалительного процесса.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Владимиров Ю.А., Арчаков В.И. Свободные радикалы в биологических системах // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – Т. 6, № 12. – С. 13–19.
Vladimirov YA, Archakov VI (2000). Free radicals in biological systems [Svobodnye radikaly v biologicheskikh sistemakh]. *Sorosovskiy obrazovatel'nyy zhurnal*, 6 (12), 13-19.
2. Городецкая О.С., Чандра-Д'Мелло Р. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная система защиты у больных хроническим неспецифическим эндометритом // Современные технологии в медицине. – 2011. – № 2. – С. 150–151.
Gorodetskaya OS, Chandra-D'Mello R (2011). Lipid peroxidation and antioxidant protective system in patients with chronic nonspecific endometritis [Perekisnoe okislenie lipidov i antioksidantnaya sistema zashchity u bol'nykh khronicheskim nespetsificheskim endometritom]. *Sovremennye tekhnologii v meditsine*, (2), 150-151.
3. Дизрегуляторная патология: руководство для врачей и биологов / Под ред. Г.Н. Крыжановского. – М.: Медицина, 2002. – 632 с.
Kryzhanovskii GN (2002). Dysregulation pathology: a guide for physicians and biologists [Dizregulyatsionnaya patologiya: rukovodstvo dlya vrachey i biologov], 632.
4. Долгушина В.Ф., Макацария А.Д. Вирусные инфекции у беременных. – М.: Триада-Х, 2004. – 164 с.
Dolgushina VF, Makatsariya AD (2004). Viral infections in pregnant women [Virusnye infektsii u beremennykh], 164.
5. Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс при воспалении // Успехи современной биологии. – 1997. – Т. 117, Вып. 2. – С. 155–171.
Zenkov NK, Menshchikova EB (1997). Oxidative stress during inflammation [Okislitel'nyy stress pri vospalenii]. *Uspekhi sovremennoy biologii*, 117 (2), 155-171.
6. Колесникова Л.И., Гребёнкина Л.А., Даренская М.А., Власов Б.Я. Окислительный стресс как неспецифическое патогенетическое звено репродуктивных нарушений (обзор) // Бюллетень СО РАМН. – 2012. – Т. 32, № 1. – С. 58–66.
Kolesnikova LI, Grebyonkina LA, Darenskaya MA, Vlasov BYa (2012). Oxidative stress as nonspecific pathogenetic link of reproductive disorders (systematic review) [Okislitel'nyy stress kak nespetsificheskoe patogeneticheskoe zveno reproduktivnykh narusheniy (obzor)]. *Byulleten' Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*, 32 (1), 58-66.

7. Колесникова Л.И., Данусевич И.Н., Курашова Н.А., Сутурина Л.В., Гребёнкина Л.А., Долгих М.И. Особенности перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у женщин с хроническим эндометритом и репродуктивными нарушениями // *Фундаментальные исследования*. – 2013. – № 8. – С. 28–34.

Kolesnikova LI, Danusevich IN, Kurashova NA, Suturina LV, Grebyonkina LA, Dolgikh MI (2013). Features of lipid peroxidation and antioxidant protection in women with chronic endometritis and reproductive disorders [Osobennosti perekisnogo okisleniya lipidov i antioksidantnoy zashchity u zhenshchin s khronicheskim endometritom i reproduktivnymi narusheniyami]. *Fundamental'nyye issledovaniya*, (8), 28-34.

8. Костюк С.А., Коломиец Н.Д. Окислительный стресс при урогенитальных инфекциях: активация перекисного окисления липидов и истощение системы антиоксидантной защиты // *Медицинские новости*. – 2008. – № 16. – С. 75–79.

Kostyuk SA, Kolomiets ND (2008). Oxidative stress in urogenital infections: lipid peroxidation activation and antioxidant defense system depletion [Okislitel'nyy stress pri urogenital'nykh infektsiyakh: aktivatsiya perekisnogo okisleniya lipidov i istoshchenie sistemy antioksidantnoy zashchity]. *Meditsinskie novosti*, (16), 75-79.

9. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З., Бондарь И.А., Труфакин В.А. Окислительный стресс. Патологические состояния и заболевания. – Новосибирск: АРТА, 2008. – 284 с.

Menshchikova EB, Zenkov NK, Lankin VZ, Bondar IA, Trufakin VA (2008). Oxidative stress. Pathological conditions and diseases [Okislitel'nyy stress. Patologicheskie sostoyaniya i zabolevaniya], 284.

10. Сологуб Т.В., Романцов М.Г., Кремень Н.В., Александрова Л.М., Аникина О.В., Суханов Д.С., Коваленко А.Л., Петров А.Ю., Ледванов М.Ю., Стукова Н.Ю., Чеснокова Н.П., Бизенкова М.Н., Понукалина Е.В., Невважай Т.А. Свободнорадикальные процессы и воспаление (патогенетические, клинические и терапевтические аспекты): учебное пособие для врачей. – М.: Академия естествознания, 2008. – 76 с.

Sologub TV, Romantsov MG, Kremen NV, Aleksandrova LM, Anikina OV, Sukhanov DS, Kovalenko AL, Petrov AY, Ledvanov MY, Stukova NY, Chesnokova NP,

Bizenkova MN, Ponukalina EV, Nevvazhay TA (2008). Free-radical processes and inflammation (pathogenic, clinical and therapeutic aspects): manual for physicians [Svobodnoradikal'nye protsessy i vospalenie (patogeneticheskie, klinicheskie i terapevticheskie aspekty): uchebnoye posobie dlya vrachey], 76.

11. Стрижова Н.В., Дугиева М.З., Багдасарова З.З. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная система у больных с гнойным воспалительным процессом придатков матки // *Акушерство и гинекология*. – 2003. – № 1. – С. 31–43.

Strizhova NV, Dugieva MZ, Bagdasarova ZZ (2003). Lipid peroxidation and antioxidant system in patients with purulent inflammation of the uterine appendages [Perekisnoe okislenie lipidov i antioksidantnaya sistema u bol'nykh s gnoynym vospalitel'nyy protsessom pridatkov matki]. *Akusherstvo i ginekologiya*, (1), 31-43.

12. Чурикова М.С., Гречканёв Г.О. Коррекция перекисного стресса как важный элемент патогенетического лечения воспалительных заболеваний органов малого таза // *Российский вестник акушера-гинеколога*. – 2013. – Т. 13, № 5. – С. 8–11.

Churikova MS, Grechkanyov GO (2013). Peroxidation stress correction as an important element of the pathogenetic treatment of inflammatory diseases of pelvic organs [Korreksiya perekisnogo stressa kak vazhnyy element patogeneticheskogo lecheniya vospalitel'nykh zabolevaniy organov malogo taza]. *Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa*, 13 (5), 8-11.

13. Шебзухова Ф.К., Бондарь Т.П. Изменение иммунного статуса и антиоксидантной защиты у женщин с урогенитальным хламидиозом // *Саратовский научно-медицинский журнал*. – 2010. – Т. 6, № 1. – С. 111–113.

Shebzukhova FK, Bondar TP (2010). Immune status and antioxidant protection changes in women with urogenital clamidiosis [Izmenenie immunного statusa i antioksidantnoy zashchity u zhenshchin s urogenital'nyy khlamidiozom]. *Saratovskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal*, 6 (1), 111-113.

14. Bast A, Goris P (1990). Oxidation stress. Biochemistry and human disease. *Pharm. Weekbl. Sci.*, (3), 117-127

15. Bhatt DL, Paskow FY (2008). Oxidative stress and heart disease. *Am. J. Cardiol.*, (101), 86.

Сведения об авторах Information about the authors

Данусевич Ирина Николаевна – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории гинекологической эндокринологии ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 20-76-32; e-mail: irinaemails@gmail.com)

Danusevich Irina Nikolaevna – Doctor of Medical Sciences, Senior Research Officer of the Laboratory of Gynecological Endocrinology of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (664003, Irkutsk, Timiryazev str., 16; tel.: +7 (3952) 20-76-32; e-mail: irinaemails@gmail.com)

Курашова Надежда Александровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

Kurashova Nadezhda Aleksandrovna – Candidate of Biological Sciences, Senior Research Officer of the Laboratory of Pathophysiology of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

Наделяева Яна Геннадьевна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории гинекологической эндокринологии ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»

Nadelyaeva Yana Gennadyevna – Candidate of Medical Sciences, Research Officer of the Laboratory of Gynecological Endocrinology of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems

Гейн Анжела Александровна – заведующая женской консультацией поликлиники Иркутского научного центра СО РАН (664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 283Б; тел.: 8 (3952) 42-08-65; e-mail: iranb@irkoms.ru)

Geyn Anzhela Aleksandrovna – Head of the Women's Health Clinic of the Polyclinic of Irkutsk Scientific Center SB RAS (664033, Irkutsk, Lermontov str., 283B; tel.: +7 (3952) 42-08-65; e-mail: iranb@irkoms.ru)