

Стан редокс-гомеостазу у хворих на зовнішній генітальний ендометріоз

В.М. Запорожан, О.В. Михайленко

Одеський національний медичний університет

У плазмі та цитозолі еритроцитів крові хворих на ендометріоз спостерігається достовірне збільшення вмісту сульфгідрильних груп, зниження вмісту дисульфідних сполук водорозчинних білків і низькомолекулярних сполук і відповідно збільшення співвідношення між SH/SS-групами. У плазмі крові хворих на ендометріоз відбувається достовірне збільшення вмісту окиснених і редукованих нікотинамідних коферментів та зниження співвідношення НАД/НАД•Н. У плазмі і еритроцитах крові хворих на ендометріоз мало місце посилення активності ПОЛ на тлі помірного зростання активності глутатіонредуктази та реципрокного зниження активності супероксиддисмутази. Описані зміни є характерними для метаболічного ацидозу і свідчать про напруження адаптаційних резервів організму.

Ключові слова: ендометріоз, кислотно-основний стан, оксидативний стрес.

Ендометріоз є однією з найзагадковіших та невирішених проблем у сучасній гінекології, що за поширеністю посідає 3-є місце після запальних захворювань жіночих статевих органів і міоми матки в структурі гінекологічної патології [1, 2]. Сьогодні ендометріоз прийнято розглядати не тільки як специфічне місцеве гінекологічне захворювання, але й як патологічний процес („ендометріодна хвороба”), у який залучені як сусідні, так і віддалені органи і системи організму [1]. Незважаючи на численні дослідження, етіологія і патогенез захворювання залишаються предметом наукових дискусій. Відповідно до сучасних уявлень, ендометріоз – це дисгормональне, імунозалежне та генетично зумовлене захворювання, що характеризується доброякісним розростанням тканини, подібною за морфологічною будовою та функцією до ендометрію, що втім знаходиться за межами матки (Баскаков В.П. та ін., 2002) [1].

За висловом М.Р. Соен, «ендометріоз є епідемією ХХ століття, що вражає жінок від менархе до менопаузи» [3]. Цей вислів лишається актуальним і сьогодні, у ХХІ сторіччі. Частота ендометріозу в популяції, за різними даними, варіює від 7 до 65% [1, 2].

На сучасному етапі розвитку науки значну увагу приділяють ролі імунної системи в розвитку ендометріозу. Доведено, що імплантація ендометріодних клітин та їх проліферація відбувається лише в тому випадку, якщо в жінки є порушення клітинного та гуморального імунітету [4–6]. Ці порушення можуть бути детерміновані як зовнішніми, екологічними, так й ендогенними факторами [4].

Дисфункція імунної системи, на тлі якої розвивається захворювання, може бути генетично зумовленою або виникати в період статевої зрілості через гормональні порушення та імунодепресивну дію підвищених концентрацій статевих і гонадотропних гормонів, а також у результаті впливу хронічних захворювань і шкідливих факторів зовнішнього середовища (Баскаков В.П. та ін., 2002) [1]. Зниження опірності організму може бути зумовлено також недостатністю АОЗ системи організму, що також

взаємодіє з імунною системою [7–9]. Значні кількості вільних радикалів в організмі продукують фагоцитувальні клітини в разі взаємодії зі збудниками інфекції та імунних комплексів. У нормі в системі оксиданти–антиоксиданти зберігається рівновага, але за надмірної активності продукції перекисних радикалів потужності механізмів захисту не вистачає й може відбуватися ушкодження ДНК клітини, подальше перекисне окиснення ліпідів мембран, модифікація білків [7, 8]. Вільні радикали також продукуються під час метаболізму естрадіолу та низки ксенобіотиків в окисному циклі хінонів і семіхінонів [9].

Відомо, що необхідною умовою функціонування здорових клітин, у тому числі ендометрію, є підтримка на певному рівні перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), швидкість і регуляція яких здійснюється багатокомпонентною антиоксидантною системою (АОС) [7]. Функціонування цієї системи тісно пов'язане з функціональним станом гормональної регуляції, та, зокрема, з активністю гормонмодифікувальних ферментів.

Метою дослідження була оцінка стану редокс-гомеостазу у хворих на зовнішній генітальний ендометріоз.

Для досягнення поставленої мети були визначені такі наукові завдання:

1. Визначити характеристики функціонування тіолдисульфідної системи та нікотинамідних коферментів у хворих на ендометріоз.
2. Оцінити активність ПОЛ у хворих на ендометріоз.
3. Дослідити антиоксидантний потенціал внутрішнього середовища організму у жінок, хворих на ендометріоз.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проведено протягом 2005–2009 рр. на базі відділення онкогінекології обласного онкологічного диспансеру та 2-го пологового будинку м. Одеси. Протягом дослідження були сформовані 3 групи порівняння. До складу I групи увійшли 100 жінок фертильного віку з клінічно верифікованим ендометріозом та супутньою гінекологічною патологією. Відповідно до виду супутньої патології I група була розподілена на три підгрупи. IA підгрупа складалася з 30 жінок, у яких ендометріоз було діагностовано інтраопераційно при втручаннях з приводу лейоміоми. IB підгрупа складалася з 30 жінок, які страждали на безплідність без порушення прохідності маткових труб, а IC – з 40 жінок, які страждали на безплідність із порушенням прохідності маткових труб. До складу II групи увійшли 50 практично здорових жінок фертильного віку з обтяженим спадковим анамнезом щодо ендометріозу, а до складу III групи – 50 практично здорових жінок фертильного віку з необтяженим спадковим анамнезом. Критеріями виключення на етапі формування груп була наявність спадкової патології, рання менопауза, відмова від участі у дослідженні.

На першому етапі дослідження було проведено ретроспективний аналіз чинників ризику у хворих на ендометріоз та у жінок з обтяженою спадковістю щодо ендометріозу, ранжирування ризику, створення прогностичної

моделі. У подальшому були проведені дослідження молекулярно-генетичних чинників ризику виникнення ендометріозу у жінок групи ризику.

Усі хворі були обстежені відповідно до діючих клінічних протоколів (накази МОЗ України від 15.12.2003 № 582 і від 31.12.2004 № 676) [10, 11]. Діагноз ендометріозу встановлювали на підставі гістологічного дослідження біоптатів ендометрію гетеротопій, одержаних під час оперативного втручання. Під час оцінювання ступеня важкості та поширеності ендометріозу керувалися рекомендаціями AFS (1985) [12].

У плазмі крові хворих визначали вміст сульфгідрильних груп та дисульфідних зв'язків водорозчинних білків та низькомолекулярних сполук методом І.В. Верьовкіної та співавторів за допомогою реактиву Елмана за кількістю утвореного тіонітрофенольного аніону (ТНФА) [13]. Уміст окиснених та відновлених нікотинамідних коферментів визначали за методикою М.І. Прохорової в спиртових екстрактах спектрофотометрично за утворенням НАД•Н у присутності відповідних ферментів за довжини хвилі 340 нм [13]. Для оцінювання інтенсивності вільнорадикальних процесів у пацієнтів визначали вміст дієнових кон'югатів (ДК) за методом І.Д. Стальної та вміст малонового діальдегіду (МДА) за методом І.Д. Стальної та Т.Г. Гаришвілі [13]. Активність супероксиддисмутази (СОД) і глутатіонредуктази (ГТР) визначали спектрофотометрично за довжиною хвилі 340 нм [14].

Визначення достовірності відмінностей популяційних частот проводили за допомогою точного критерію Фішера за стандартною формулою із поправкою Йетса для парних порівнянь, міжгрупові відмінності за допомогою дисперсійного аналізу за Фрідменом [15]. На всіх етапах статистичного оброблення використовували спеціалізоване програмне забезпечення Statistica 7.0 [15].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За даними проведених досліджень, у плазмі крові хворих на ендометріоз спостерігається достовірне збільшення вмісту сульфгідрильних груп, зниження вмісту дисульфідних сполук водорозчинних білків і низькомолекулярних сполук і відповідно збільшення співвідношення між SH/SS-групами (табл. 1), що свідчить про збільшення відновлювальних та зниження окиснювальних властивостей в організмі хворих. Найвищі рівні вмісту SS-груп були притаманні хворим групи ІС. При цьому достовірних відмінностей між групами ІІ та ІІІ за вмістом тіолових та дисульфідних груп у плазмі крові не виявлено.

В еритроцитах крові у жінок, хворих на ендометріоз, зміни у вмісті тіолових і дисульфідних груп та їх співвідношень у порівнянні із середньо-популяційними рівнями та контролем (ІІ і ІІІ групи) були статистично достовірними, зокрема відзначалося збільшення середніх показників вмісту тіолів та співвідношення SH/SS-груп, що свідчить на компенсаторне збільшення відновлювальних властивостей (табл. 2). При цьому достовірних відмінностей між групами ІА, ІВ і ІС за показниками вмісту SS-SH-групи виявлено не було. Виключення складає співвідношення SH/SS, яке було найвищим (74,2±2,2) у групі ІА (р<0,05).

За результатами досліджень встановлено, що у плазмі крові хворих на ендометріоз відбувається достовірне збільшення вмісту окиснених і редукованих нікотинамідних коферментів та зниження співвідношення НАД/НАД•Н (табл. 3), що свідчить про посилення відновлювальних та зниження окиснювальних властивостей в організмі. Зниження значення НАД/НАД•Н свідчить про зниження окиснювальних та посилення

Таблиця 1

Уміст сульфгідрильних та дисульфідних груп водорозчинних білків і низькомолекулярних сполук у плазмі крові в обстежених жінок (M±m)

Групи	SH-групи (ммоль/л)	SS-групи (ммоль/л)	SH/SS, абс. число
	Норма – 1,8±0,1	Норма – 5,4±0,2	Норма – 0,3±0,01
ІА	13,5±1,7**	1,9±0,3**	7,1±0,6**
ІВ	13,3±1,3**	1,8±0,3**	7,4±0,5**
ІС	11,3±1,1**	1,6±0,2**	11,3±0,7**
ІІ	1,9±0,2	5,7±0,1	0,3±0,02
ІІІ	2,0±0,1	5,8±0,2	0,3±0,01

Примітка: * – достовірність відмінностей з нормою (р<0,01); ** – достовірність відмінностей з нормою (р<0,001).

Таблиця 2

Уміст сульфгідрильних та дисульфідних груп водорозчинних білків і низькомолекулярних сполук в еритроцитах у обстежених жінок (M±m)

Групи	SH-групи (ммоль/л)	SS-групи (ммоль/л)	SH/SS
	Норма – 25,9±1,8	Норма – 0,40±0,04	Норма – 64,8±1,6
ІА	44,5±4,5**	0,6±0,05**	74,2±2,2**
ІВ	41,2±3,3**	0,6±0,05**	68,7±2,4
ІС	32,5±1,1**	0,5±0,05	65,0±3,2
ІІ	22,2±2,3	0,5±0,05	44,4±2,2**
ІІІ	24,4±1,2*	0,4±0,05	61,0±3,3

Примітка: * – достовірність відмінностей з нормою (р<0,01); ** – достовірність відмінностей з нормою (р<0,001).

Таблиця 3

Уміст окиснених та відновлених нікотинамідних коферментів та співвідношення НАД/НАД•Н у плазмі крові обстежених жінок (M±m)

Групи	НАД мкмоль/л	НАД•Н мкмоль/л	НАД/НАД•Н
	Норма – 0,6±0,1	Норма – 1,8±0,2	Норма – 0,4±0,02
ІА	2,3±0,2*	20,9±2,2**	0,1±0,02*
ІВ	2,7±0,2*	20,7±1,5**	0,1±0,02*
ІС	2,8±0,3**	20,3±1,3**	0,1±0,02*
ІІ	0,7±0,1	2,0±0,2	0,4±0,03
ІІІ	0,6±0,1	1,9±0,3	0,3±0,05

Примітка: * – достовірність відмінностей з нормою (р<0,01); ** – достовірність відмінностей з нормою (р<0,001).

відновлювальних властивостей у тканинах і біологічних рідинах організму, що призводить до активації процесів глюконеогенезу і пригнічення ліпогенезу, біосинтезу амінокислот, білків, інтенсивності гліколізу та трикарбонного циклу.

Інтерес викликає відсутність достовірних відмінностей у вмісті окиснених та відновлених нікотинамідних коферментів та співвідношенні НАД/НАД•Н у плазмі крові хворих клінічних груп ІА–ІС. На нашу думку, описані закономірності можуть пояснюватися сталістю порушень у редокс-системі та анаболічною спрямованістю перебігу

Таблиця 4

Уміст окиснених та відновлених нікотинамідних коферментів та співвідношення НАД/НАД·Н в еритроцитах крові хворих на пептичну виразку ДПК до лікування

Групи	НАД мкмоль/л	НАД·Н мкмоль/л	НАД/НАД·Н
	Норма – 0,6±0,03	Норма – 2,0±0,2	Норма – 0,1±0,01
IA	0,9±0,05*	36,1±2,0**	0,02±0,01*
IB	0,9±0,05*	36,2±2,0**	0,02±0,01*
IC	0,8±0,03*	37,8±2,1**	0,02±0,01*
II	0,8±0,02*	33,5±2,0*	0,02±0,01*
III	0,9±0,04*	33,33±1,67	0,03±0,01*

Примітка: * – достовірність відмінностей з нормою (p<0,01);

** – достовірність відмінностей з нормою (p<0,001).

основних процесів регуляції кислотно-основного стану у хворих на ендометріоз.

В еритроцитах крові хворих на ендометріоз відзначалося достовірне збільшення вмісту окиснених та відновлених нікотинамідних коферментів (табл. 4) у порівнянні із середньопопуляційними значеннями. Натомість у жінок II і III групи відмінності з референсними значеннями були відсутні.

У плазмі й еритроцитах крові хворих на ендометріоз мало місце посилення активності ПОЛ, про що свідчить збільшення вмісту МДА і ДК ненасичених жирних кислот (табл. 5). Крім того, вміст МДА та ДК значно корелював з іншими показниками гіперактивації ПОЛ. Таким чином, для пацієнтів з ендометріозом були характерні ознаки прискорення ПОЛ при підвищенні відновлювальних властивостей та надлишку редукованих еквівалентів спрямо-

ване на підвищення окиснювальних властивостей в тканинах та біологічних рідинах організму, що є типовими процесами при явищах метаболічного ацидозу.

Як свідчать наведені в табл. 6 дані, активність ГТР та СОД в плазмі та еритроцитах крові хворих на ендометріоз на початку лікування суттєво відрізнялася від середньопопуляційних значень, при цьому найменша активність ферментативної ланки АОС спостерігалася у підгрупі IA. Так, вміст глутатіонредуктази був вище норми й у плазмі, й у еритроцитах крові хворих різних клінічних груп, тоді як вміст супероксиддисмутази у плазмі крові був нормальний, а в еритроцитах крові хворих – суттєво знижений. Цей парадокс вимагає додаткового пояснення.

Підвищення у хворих на ендометріоз в плазмі й еритроцитах крові активності глутатіонредуктази може бути пов'язане із загальним підвищенням в організмі хворих рівня відновлювальних еквівалентів, тому що активність ГТР безпосередньо залежить від умісту в середовищі відновлених нікотинамідних коферментів. Цікаво, що у більшості хворих також відзначалося певне збільшення активності СОД в плазмі крові, причому активність фермента в цитоплазмі еритроцитів не відрізнялася від середньопопуляційних стандартів.

ВИСНОВКИ

1. У плазмі та цитозолі еритроцитів крові хворих на ендометріоз спостерігається достовірне збільшення вмісту сульфгідрильних груп, зниження вмісту дисульфідних сполук водорозчинних білків і низькомолекулярних сполук і відповідно збільшення співвідношення між SH/SS-групами.

2. У плазмі крові хворих на ендометріоз відбувається достовірне збільшення вмісту окиснених і редукованих нікотинамідних коферментів та зниження співвідношення НАД/НАД·Н

3. У плазмі й еритроцитах крові хворих на ендометріоз мало місце посилення активності ПОЛ на тлі помірного

Таблиця 5

Уміст МДА та ДК ненасичених жирних кислот у плазмі та еритроцитах крові хворих на ендометріоз (M±m)

Групи	МДА (мкмоль/мл)		ДК ненасичених жирних кислот (мкмоль/мл)	
	Плазма	Еритроцити	Плазма	Еритроцити
	Норма – 1,3±0,1	Норма – 1,4±0,1	Норма – 0,3±0,01	Норма – 0,2±0,02
IA	5,7±0,3*	6,7±0,4*	0,6±0,1**	0,7±0,1**
IB	4,2±0,6*	7,3±0,5*	0,6±0,1**	0,5±0,1**
IC	4,2±0,5*	6,8±0,6*	0,6±0,1**	0,6±0,1**
II	1,7±0,3	1,5±0,2	0,3±0,1	0,7±0,1
III	1,8±0,3	1,6±0,2	0,6±0,1	0,7±0,1

Примітка: * – відмінності у порівнянні з нормою достовірні (p<0,01); ** – відмінності у порівнянні з нормою достовірні (p<0,001).

Таблиця 6

Активність глутатіонредуктази та супероксиддисмутази в плазмі та еритроцитах крові обстежених жінок (M±m)

Референтні групи	Глутатіонредуктаза (нмоль/мл с)		Супероксиддисмутаза (у.о.)	
	Плазма	Еритроцити	Плазма	Еритроцити
	Норма – 84,2±3,0	Норма – 94,1±5,5	Норма – 0,2±0,02	Норма – 0,2±0,03
IA	119,1±3,3*	122,5±3,7*	0,18±0,01	0,13±0,01*
IB	121,3±4,3*	133,3±3,3*	0,18±0,01	0,13±0,01*
IC	122,4±3,3*	125,1±3,7*	0,18±0,01	0,13±0,01*
II	88,8±2,7*	93,0±2,5*	0,19±0,01	0,21±0,01*
III	86,4±2,3*	92,8±3,3*	0,20±0,01	0,19±0,01*

Примітка: * – відмінності у порівнянні із нормою достовірні (p<0,01).

зростання активності глутатіонредуктази та реципрочно-го зниження активності супероксиддисмутази.

4. Описані зміни є характерними для метаболічного ацидозу і свідчать про напруження адаптаційних резервів організму.

Состояние редокс-гомеостаза у больных наружным генитальным эндометриозом
В.Н. Запорожан, А.В. Михайленко

В плазме и цитозоле эритроцитов крови больных эндометриозом наблюдается достоверное повышение содержания сульфгидрильных групп, снижение содержания дисульфидных соединений водорастворимых белков и низкомолекулярных соединений и соответственно увеличение соотношения между SH/SS-группами. В плазме крови больных эндометриозом происходит достоверное увеличение содержания окисленных и редуцированных никотинамидных коферментов и снижение соотношения НАД / НАД•Н. В плазме и эритроцитах крови больных эндометриозом имело место повышение активности ПОЛ на фоне умеренного роста активности глутатионредуктазы и реципрочного снижения активности супероксиддисмутази. Описанные изменения характерны для метаболического ацидоза и свидетельствуют о напряженности адаптационных резервов организма.

Ключевые слова: эндометриоз, кислотно-основное состояние, оксидативный стресс.

The state of redox homeostasis of patients with endometriosis
V.M. Zaporozhan, O.V. Mikhailenko

In plasma and cytosol of red blood of patients with endometriosis observed significant increase in the content sulfhydryl groups decrease disulfid compounds soluble proteins and low molecular compounds and thus increase the correlation between SH / SS-groups. In the plasma of patients with endometriosis is significantly increased content of oxidized and reduced nikotinamid coenzymes and decrease the ratio of NAD / NAD•N. In plasma and red blood endometriosis patients had increased POL place against the backdrop of moderate growth of glutathionereductase and reciprocal reduction of superoxide. Described changes characteristic of metabolic acidosis and evidence of adaptive capacities of the strain.

Key words: endometriosis, acid-based balance, oxidative stress.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баскаков В.П. Эндометриодная болезнь / В.П. Баскаков, Ю.В. Цвелев, Е.В. Кира. – СПб., 2002. – 452 с.
2. Генитальный эндометриоз у жінок репродуктивного віку (діагностика та лікування). / В.М. Запорожан, Б.М. Венцівський, Л.І. Іванюта [та. ін.] – Метод. рекомендації. – К., 2005. – 34 с.
3. Наказ МОЗУ від 15.12.2003 № 582 „Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги”. Електронний ресурс. Режим доступу: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_2_0031215_582.html
4. Наказ від 03.11.2008 № 624 «Про внесення змін до наказу МОЗ України від 15 грудня 2003 року № 582 «Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги», наказу МОЗ від 31.12.2004 року № 676 „Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги” Електронний ресурс. Режим доступу: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_2_0081103_624.html
5. Окислительный стресс и генитальный эндометриоз (обзор литературы) / Л.В. Адамян, Е.Н. Бургова, М.М. Сонова [и др.] // Проблемы репродукции. – 2008. – № 4. – С. 6–8.
6. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с.
7. Современные методы в биохимии / под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – 392 с.
8. Теория и практика иммуноферментного анализа / под ред. А.М. Егорова, А.П. Осипова, Б.Б. Дзантиева и др. – М., 1991. – 288 с.
9. Цвелев Ю.В. Перекисное окисление липидов в патогенезе эндометриоза яичников / Ю.В. Цвелев, А.А. Пазычев. // Вестник Росс. ас. акуш.-гинеко. – 1998. – № 2. – С. 26–31.
10. Mitchell L.A. Endometriosis: Symptoms, Diagnosis & Treatments / L.A. Mitchell NY, Nova Science Publishers Inc, 2010. – 272 p.
11. Pathogenesis of endometriosis: natural immunity dysfunction or autoimmune disease? / G. Matarese, G.De Placido, Y. Nikas, C Alviggi // Trends Mol Med. – 2003 – Vol. 9 (5) – P. 223–228.
12. Ho HN. Peritoneal cellular immunity and endometriosis. / HN Ho, MY Wu, YS. Yang // Am J Reprod Immunol. 1997 – Vol. 38 (6). – P. 400–412.
13. Gleicher N. The role of humoral immunity in endometriosis / N. Gleicher // Acta Obstet Gynecol Scand Suppl. – 1994. – Vol. 159. – P. 15–17.
14. Total antioxidant status and nitric oxide do not increase in peritoneal fluids from women with endometriosis / HN Ho, MY Wu, SU Chen [et al.] // Hum Reprod. – 1997. – 12 (12). – Vol. 2810–2815.
15. AFS 1985. American Fertility Society. Revised American Fertility Society Classification of Endometriosis // Fertility and Sterility. – 1985. – Vol. 43 – P. 351–352.