

Н.В. Кириллова, О.М. Спасенкова, А.Г. Платонова

## Исследование прооксидантной активности и некоторых показателей гипофизарно-гонадной системы у больных, страдающих хроническим эндометритом

Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, Санкт-Петербург

**Резюме.** Исследованы состояние перекисного окисления липидов и окислительная модификация белков в крови у 29 женщин, больных хроническим эндометритом, в возрасте от 27 до 40 лет. Контрольную группу составили 19 здоровых женщин в возрасте от 27 до 44 лет. Интенсивность перекисного окисления липидов оценивалась по уровню диеновых конъюгатов и малонового диальдегида, окислительная модификация белков – по уровню карбонильных производных. Показано, что в крови женщин, больных хроническим эндометритом, в 3,3 раза увеличивается концентрация алифатических альдегидных групп и в 1,9 раз карбонильных групп в молекулах белков по сравнению с контрольной группой. Установлено достоверное увеличение диеновых конъюгатов на 34% и малонового диальдегида в плазме крови и эритроцитах соответственно на 47 и 43%. Нарастание продуктов перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков в крови указывает на развитие окислительного стресса у женщин, страдающих хроническим эндометритом. В группе больных хроническим эндометритом женщин, по сравнению со здоровыми женщинами контрольной группы, выявлена убедительная тенденция повышения пролактина, антимюллерова гормона на фоне снижения прогестерона. Для прогнозирования возможных осложнений у больных, страдающих хроническим эндометритом, целесообразно исследовать в качестве маркеров окислительного стресса и выраженности воспалительного процесса показатели перекисного окисления белков и липидов. Кроме того, таким больным необходимо рекомендовать прием лекарственных средств антиоксидантного действия в комплексе с основной базовой терапией.

**Ключевые слова:** хронический эндометрит, продукты перекисного окисления липидов, диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид, окислительная модификация белка, гормоны, пролактин, прогестерон, гормональный дисбаланс.

**Введение.** Известно, что хронический эндометрит (ХЭ) представляет собой полиэтиологичный процесс, в развитии которого запускающим фактором является экзогенный вирусно-бактериальный возбудитель. Течение ХЭ во многом определяется состоянием иммунной и гормональной систем, ослабление которых позволяет условно-патогенной микрофлоре выходить на первое место как основному возбудителю заболевания. Неотъемлемым патогенетическим звеном любой воспалительной реакции является активация свободно-радикально окисления, которое как часть молекулярного механизма самого процесса воспаления носит защитный, адаптационный характер для организма. Выполняя важные адаптационные и регуляторные функции, активные формы кислорода в избытке приводят к процессам перекисного окисления молекул белков и липидов и вместе с инфекционными агентами изменяют структуру, пролиферацию и цикличность обновления эндометрия, создавая отрицательные условия для вынашивания беременности.

Ранее нами было изучено состояние ферментов-антиоксидантов у больных, страдающих ХЭ [4]. Было установлено, что у женщин, больных ХЭ, не только достоверно снижена активность таких ферментов антиоксидантной защиты, как супероксиддисмутаза,

каталаза и параоксаназа, но и наблюдается нарушение дисбаланса активностей данных ферментов. Полученные в работе результаты свидетельствовали о том, что антиоксидантная система крови у больных женщин находится в «напряженном» состоянии вследствие активной защиты организма от избытка молекул супероксидного радикала и перекиси водорода, образующихся в процессе хронического воспалительного процесса.

Нарушение в системе «антиоксидантная защита – активные формы кислорода» в сторону избыточного образования последних приводит к структурным повреждениям клеток.

Окислительная деструкция белков является индикатором повреждения ткани, причем наличие в белках алифатических альдегидных групп считается наиболее ранним маркером окислительной деструкции белков. Содержание карбонильных групп в циркулирующих и тканевых белках является чувствительным и достаточно стабильным показателем свободно-радикального повреждения этих молекул [3, 11]. Наличие повышенного содержания диеновых конъюгатов в сыворотке крови выступает более ранним маркером окислительной деструкции липидов по сравнению с присутствием в ней малонового альдегида [2].

В.М. Сидельникова, Г.Т. Сухих [6] указывают, что в 60–80% случаев причиной бесплодия и невынашивания беременности у женщин репродуктивного возраста является ХЭ. Главной причиной заболеваемости последних лет является распространение инфекции, передаваемой половым путем, а также активация условно-патогенной микрофлоры [5]. Одним из осложнений воспалительного процесса эндометрия является нарушение чувствительности рецепторного аппарата гормонозависимой ткани к действию стероидных гормонов яичников, что и определяет их вторичную недостаточность [1]. В то же время ХЭ представляет собой воспалительный процесс, направленный на защиту организма от возбудителей инфекционного характера и приводящий к свободнорадикальной активации. Запуск процессов перекисного окисления белков и липидов сопровождается повреждением не только мембран клеток, белковых рецепторов, ферментов эндометрия, но и влияет на метаболизм организма в целом.

**Цель исследования.** Изучить окислительную модификацию белков и перекисного окисления липидов в крови у женщин с ХЭ, позволяющую оценить степень выраженности оксидативного стресса при данной патологии.

**Материалы и методы.** Обследованы 29 пациенток в возрасте от 27 до 40 лет, обратившихся к врачу-гинекологу в связи с отсутствием беременности или невынашиванием плода. После проведения микробиологического и гистологического исследований эндометрия, а также ультразвукового обследования матки всем женщинам был поставлен диагноз «ХЭ». В контрольную группу вошли 19 здоровых женщин в возрасте от 27 до 44 лет. Забор крови проводили натощак. Для получения эритроцитов цельную кровь собирали в центрифужные пробирки, куда предварительно вносили 1 мл антикоагулянта (3,8% раствор цитрат натрия) и центрифугировали 15 мин при 1500 об/мин. Плазму крови сливали и использовали в дальнейших исследованиях, в частности, для получения сыворотки также путем центрифугирования при 1500 об/мин в течение 15 мин, а эритроциты дважды отмывали тройным объемом 0,85% ледяного раствора натрия хлорида, каждый раз центрифугируя при указанных выше условиях и отбрасывая надосадочную жидкость.

Биохимические показатели крови обследованных женщин определяли в сыворотке, плазме и эритроцитах. Для исследования окислительной модификации белков в плазме крови по уровню карбонильных производных использовали методику, основанную на реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков с 2,4-динитрофенилгидразином, которые регистрируются спектрофотометрически при длине волны  $\lambda = 370$  нм. Алифатические альдегидные группы основных аминокислот определяли в тех же пробах при длине волны, равной 280 нм, а степень модификации белков выражали в единицах оптической плотности, отнесенных на мг белка [3, 11]. Содержание первичных молекулярных продуктов перекисного окисления липидов – диеновых конъюгатов – определяли в метанол-гексановой липидной фракции (5:1) сыворотки крови при длине волны поглощения 233 нм [7]. Конечный продукт перекисного окисления липидов – малоновый диальдегид плазмы крови и эритроцитов определяли в реакции с тиобарбитуровой кислотой по образованию окрашенного в розовый цвет комплекса, имеющего максимум поглощения при длине волны поглощения 530 нм [8]. Содержание общего белка в плазме крови определяли по методике Лоури [12].

Для определения уровня пролактина, прогестерона, тиреотропного (ТТГ), фолликулостимулирующего (ФСГ), лютеонизирующего (ЛГ), антимюллерова гормонов (АМГ) в крови использовали набор реагентов фирмы «Алкор» для определения концентрации гормонов в сыворотке крови с помощью твердофазного иммуноферментного анализа. Гормональный анализ производился на автоматическом иммуноферментном анализаторе «Alisei Q.S. Био».

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакетов прикладных программ Statistica 6.0, Biostat, Microsoft Excel.

**Результаты и их обсуждение.** Установлено, что у женщин, страдающих ХЭ, уровень алифатических альдегидных групп увеличен в 3,3 раза, карбонильных групп – в 1,9 раза, диеновых конъюгатов – в 1,3 раза, а малонового диальдегида в плазме крови и эритроцитах, соответственно, в 1,5 и в 1,3 раза по сравнению с пациентками контрольной группы (табл. 1). Следовательно, у женщин, страдающих ХЭ, нарушено прооксидантное равновесие, что,

Таблица 1

**Окислительная модификация белков и перекисное окисление липидов в плазме крови больных, страдающих ХЭ**

Группа	Карбонильные группы, нмоль/мг	Алифатические альдегидные группы, D280/мг	Малоновый диальдегид, мкмоль/л		Диеновые конъюгаты, мкмоль/мл
			плазма крови	эритроциты	
Контрольная	2,89±0,46	0,069±0,003	2,64±0,19	16,75±0,79	15,48±1,63
Больных ХЭ	5,43±0,57*	0,23±0,03*	3,89±0,62*	22,12±2,47*	20,74±1,09*

**Примечание:** \* – различие между группами,  $p < 0,05$ .

по-видимому, способствует прогрессированию воспалительного процесса.

Морфофункциональные изменения эндометрия при ХЭ, по данным R. T. Dean et al. [10], приводят к снижению чувствительности его рецепторного аппарата к действию половых стероидных гормонов, следствием чего является снижение функции яичников, приводящее к недостаточности лютеиновой фазы как одной из причин репродуктивных нарушений. Кроме того, так как хроническая воспалительная реакция эндотелия матки подавляет его рецепцию, то по принципу обратной связи это может отражаться на гормональном статусе организма женщины. Нередко у женщин, страдающих бесплодием и невынашиванием беременности, наблюдается дисфункция гипофизарно-адrenalно-гонадной и тиреоидной систем.

Выявлено, что содержание исследованных гормонов в крови как у обследуемых контрольной группы, так и у больных пациенток находилось практически на уровне референтных значений. При этом все пациентки, страдающие ХЭ, по содержанию исследованных гормонов были разделены на 2 подгруппы (табл. 2).

Из таблицы 2 видно, что у 3% женщин, страдающих ХЭ, наблюдается достоверное повышение уровня пролактина в 3,9 раза (1-я подгруппа), а у 97% (2-я подгруппа) – в 1,5 раза по сравнению с контрольной группой. Содержание ФСГ и АМГ у 20% женщин 1-й подгруппы было достоверно повышенным в 1,3 и 3,8 раза соответственно по сравнению с контрольной группой.

В то же время у 60% больных пациенток 2-й подгруппы наблюдалось снижение содержания прогестерона в 1,6 раз, а у 80% женщин, страдающих ХЭ, уровень ФСГ и АМГ практически не менялся по сравнению с группой здоровых женщин. Достоверных различий ЛГ и ТТГ между больными и здоровыми не наблюдалось.

Полученные результаты свидетельствуют о наличии гормонального дисбаланса в гипофизарно-гонадной системе у 60% обследованных женщин, страдающих ХЭ, по сравнению с группой контроля.

**Заключение.** Анализ гормонального статуса обследованных женщин, страдающих ХЭ, не выявил патологических сдвигов в гипофизарно-гонадной

системе. Вместе с тем у 20% больных 1-й подгруппы по сравнению с группой здоровых женщин достоверно повышался ФСГ и АМГ и наблюдалась убедительная тенденция повышения пролактина. Кроме того, у 60% больных 2-й подгруппы концентрация прогестерона была достоверно снижена по сравнению со здоровыми женщинами.

R. L. Levine et al. [11] показали, что атаке активными формами кислорода подвергаются вначале не липиды, а белковые молекулы, в том числе плазматической мембраны, что сопровождается нарушением ее структуры и функциональной активности и приводит к инактивации натрий-калиевой аденозинтрифосфатазы, деполаризации мембраны и цитолизу. Полученные нами результаты свидетельствуют об активации процессов перекисного окисления белков крови у женщин, страдающих ХЭ, на что указывает достоверное увеличение уровня алифатических альдегидных и карбонильных групп (в 3,3 и 1,9 раза соответственно). Увеличение концентрации диеновых конъюгатов и малонового диальдегида в 1,3 и 1,5 раза соответственно свидетельствует о деструктивных процессах, которым подвергаются молекулы липидов. Все это позволяет рассматривать показатели перекисного окисления белков и липидов в качестве маркеров выраженности воспалительного процесса, а также рекомендовать женщинам, страдающим ХЭ, прием лекарственных средств антиоксидантного действия в комплексе с основной базовой терапией.

**Литература**

1. Али-Риза, А.Э. Влияние хронических воспалительных процессов органов репродуктивной системы на рецепторы стероидных гормонов в эндометрии у женщин с привычным невынашиванием беременности / А.Э. Али-Риза [и др.] // Сиб. мед. экспресс. – 2005. – № 2. – С. 12–17.
2. Владимиров, Ю.А. Роль нарушений свойств липидного слоя мембран в развитии патологических процессов / Ю.А. Владимиров // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 1989. – № 4. – С. 7–19.
3. Дубинина, Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса / Е.Е. Дубинина // Вопр. мед. химии. – 2001. – № 6. – С. 561–581.
4. Кириллова, Н.В. Исследование активности ферментов антиоксидантной защиты у больных с хроническим эндометритом / Н.В. Кириллова [и др.] // Естественные и технические науки. – 2017. – № 7 (109). – С. 15–19.

Таблица 2

**Показатели гормонов гипофиза и яичников у женщин, страдающих ХЭ, и здоровых, абс. (%)**

Гормон	Контрольная группа	Больные, страдающие ХЭ	
		1-я подгруппа	2-я подгруппа
Прогестерон, нмоль/л	35,32±4,95	55,27±14,47(40)	22,48±4,73(60)*
Пролактин, мЕд/л	157,44±20,57	626,5±154,24 (3)*	236,50±44,24(97)*
ФСГ, мМЕд/л	7,65±1,54	10,03±1,08(20)*	6,50±1,45 (80)
ЛГ, мМЕд/л	5,65±1,56	7,85±0,94 (50)	3,46±0,82 (50)
ТТГ, мЕд/л	1,58±0,73	3,49±0,87 (20)	1,02±0,14 (80)
АМГ, нг/мл	1,31±0,56	5,03±0,87 (20)*	1,15±0,33 (80)

**Примечание:** \* – различие между подгруппами больных пациенток и контрольной группой, p≤0,05.

5. Радзинский, В.Е. Антибактериальная терапия воспалительных заболеваний органов малого таза без ошибок и экспериментов: методическое руководство для врачей / В.Е. Радзинский, Р.С. Козлов, А.О. Духин. – М.: Редакция журнала Status Praesens, 2013. – 16 с.
6. Сидельникова, В.М. Невынашивание беременности: руководство для врачей / В.М. Сидельникова, Г.Т. Сухих. – М.: Медицина, 2011. – 546 с.
7. Стальная, И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот / И.Д. Стальная // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 63–64.
8. Стальная, И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66–68.
9. Таюкина, И.П. Морфофункциональное состояние эндометрия и экспрессия рецепторов половых стероидных гормонов у пациенток с бесплодием / И.П. Таюкина [и др.] // Сиб. мед. журнал. – 2010. – Т. 25. – Вып. 2, № 25. – С. 110–112.
10. Dean, R.T. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation / R.T. Dean [et al.] // Biochem. J. – 1997. – Vol. 324 (Pt1). – P. 1–18.
11. Levine, R.L. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins / R.L. Levine [et al.] // Methods Enzymol. – 1990. – Vol. 186. – P. 464–478.
12. Lowry, O.H. Protein measurement with Folin phenol reagent / O.H. Lowry [et al.] // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, № 1. – P. 265–275.

---

N.V. Kirillova, O.M. Spasenkova, A.G. Platonova

### **Study of prooxidant activity and some indicators of the pituitary-gonadal system in patients suffering from chronic endometritis**

**Abstract.** *The state of lipid peroxidation and the oxidative modification of proteins in the blood of 29 women with chronic endometritis aged 27 to 40 years were studied. The control group consisted of 19 healthy women aged 27 to 44 years. The intensity of lipid peroxidation was estimated by the level of diene conjugates and malondialdehyde, the oxidative modification of proteins – by the level of carbonyl derivatives. It was shown that in the blood of women with chronic endometritis, the concentration of aliphatic aldehyde groups and 1,9 times the carbonyl groups in protein molecules increases by 3,3 times compared with the control group. A significant increase in diene conjugates by 34% and malondialdehyde in blood plasma and red blood cells by 47 and 43%, respectively, was established. The increase in lipid peroxidation products and oxidative protein modification in the blood indicates the development of oxidative stress in women suffering from chronic endometritis. Compared with healthy patients with chronic endometritis, a convincing tendency toward an increase in prolactin and anti-Muller hormone against a decrease in progesterone was revealed in the group compared to healthy ones. To predict possible complications in patients with chronic endometritis, it is advisable to study the indicators of protein and lipid peroxidation as markers of oxidative stress and the severity of the inflammatory process. In addition, such patients should be advised to take antioxidant drugs in combination with the basic therapy.*

**Key words:** *chronic endometritis, the products of lipid peroxidation, diene conjugates, malondialdehyde, oxidative modification of proteins, hormones, prolactin, progesterone, imbalance of hormones.*

Контактный телефон: +7-911-789-45-51; e-mail: nadezhda.kirillova@pharminnotech.com