

Л.В. Беленькая, Л.И. Колесникова, Л.Ф. Шолохов, Л.В. Сутурина, Т.П. Бардымова,
А.В. Сафроненко, Л.А. Гребенкина, Б.Я. Власов

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКИСЛИТЕЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ У БОЛЬНЫХ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1 ТИПА И НАРУШЕНИЕМ СПЕРМАТОГЕНЕЗА

Учреждение Российской академии медицинских наук Научный центр проблем здоровья семьи
и репродукции человека Сибирского отделения РАМН (Иркутск)

Проведено сравнительное изучение состояния системы перекисного окисления липидов – антиоксидантной защиты у 11 пациентов с сахарным диабетом 1 типа (СД 1) и патоспермией и 19 мужчин с СД 1 типа без нарушений в спермограмме. В результате исследования было установлено, что у мужчин с СД 1 типа и патоспермией отмечается повышение степени окисленности липидов, активация их пероксидации на этапе образования малонового диальдегида и снижение общей антиоксидантной активности сыворотки крови. Вместе с тем, на фоне подъема интенсивности окислительных процессов у этих пациентов отмечалась стабилизация активности супероксиддисмутазы и системы глутатиона.

Ключевые слова: оксидативный стресс, патоспермия, диабет

LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT DEFENSE IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS OF THE 1ST TYPE AND SPERM ABNORMALITIES

L.V. Belen'kaya, L.I. Kolesnikova, L.F. Sholohov, L.V. Suturina, T.P. Bardimova,
A.V. Safronenko, L.A. Grebenkina, B.Ya. Vlasov

Scientific Center of Family Health and Human Reproduction Problems, Siberian Branch of Russian
Academy of Medical Sciences, Irkutsk

The comparative analysis of lipid peroxidation and antioxidant defense in 11 patients with diabetes mellitus of the 1st type and patospermia and in 19 normospermic men with diabetes mellitus type 1 was performed. The increase of lipid oxidation, lipoperoxidation activation on the stage of malonic dialdehyde formation and decrease of common antioxidant activity of blood serum were shown in patients with diabetes mellitus type 1 and patospermia. At the same time the superoxide dismutase activity and glutathione system stabilization simultaneously with increase of oxidation processes intensity were revealed in these patients.

Key words: oxidative stress, patospermia, diabetes

ВВЕДЕНИЕ

Частота бесплодных браков в российской популяции достигла критической отметки – 15 %, при этом одной из причин бесплодия в 36–60 % случаев является нарушение репродуктивной функции мужчин [1, 7]. В настоящее время установлены этиологические факторы, приводящие к инфертильности у мужчин. Среди них есть как неоспоримо доказанные, так и вызывающие много предположений и научных дискуссий [11]. В связи с этим и в настоящее время остается актуальным определение механизмов развития осложнений, включая репродуктивные нарушения, с целью внедрения полученных результатов в практику здравоохранения для повышения качества жизни больных сахарным диабетом 1 типа. В условиях длительного воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды на человеческий организм важное значение имеет его индивидуальная реактивность, которая определяется и состоянием процессов свободно-радикального окисления липидов, как неспецифической реакции организма. Нарушение в организме баланса между прооксидантами и компонентами системы антиоксидантной защиты может привести к окислительному стрессу, обусловленному рядом механизмов: снижением актив-

ности антиоксидантной системы в организме, представленной глутатионом, глутатионпероксидазой, каталазой, супероксиддисмутазой, витаминами К, Е, С, α-липовой кислотой и другими антиоксидантами; повышенным содержанием реактивных оксидантов, образовавшихся при окислении как самих углеводов, так и углеводов, комплексированных с различными белками, а также в результате аутоокисления жирных кислот в триглицеридах, фосфолипидах и эфирах холестерина; нарушением ферментов полиолового обмена глюкозы, митохондриального окисления, обмена простагландинов и лейкотриенов и снижением активности глиоксалазы; нарушением концентрации или обмена глутатиона и ионов некоторых металлов [6, 13, 17, 19].

Таким образом, свободнорадикальное окисление липидов, сопровождая многие жизненно важные процессы, протекающие в организме в норме, также участвуют и в развитии патологически измененных структур различных органов, что приводит к нарушению их функции. Не являются исключением и основные носители репродуктивной составляющей мужчин – сперматозоиды, которые характеризуясь выраженным аэробным метаболизмом, могут подвергаться окислительным повреждениям с возникновением патоспермии.

Данное патологическое состояние особенно усугубляется в условиях нарушения углеводного обмена, и наиболее серьезного его проявления, как инсулинзависимый сахарный диабет 1 типа (СД 1). При этом в условиях длительной гипергликемии происходит неферментативное гликирование практически всех белков, в том числе эритроцитарных, что ухудшает кислородтранспортную функцию эритроцитов и приводит к гипоксии тканей с освобождением из трансферрина двухвалентного катиона железа, и в итоге — к усилению окислительного стресса.

На основании вышеизложенного целью нашей работы явилось изучение окислительного стресса у больных СД 1 типа с установленной патоспермией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для решения поставленных задач было обследовано 30 мужчин фертильного возраста ($28 \pm 3,8$ года) больных сахарным диабетом 1 типа, проходивших стационарное лечение в эндокринологическом отделении городской клинической больницы № 8 г. Иркутска (гл. врач Ж.В. Есева). Диагноз СД 1 верифицировался в результате комплексного клинико-anamnestического и лабораторного исследований в соответствии с последним диагностическим алгоритмом, рекомендованным ВОЗ [2, 4].

Из этих пациентов были сформированы 2 группы. Основную группу составили 11 пациентов с СД 1 типа, у которых были выявлены нарушения в спермограмме по типу олигоспермии, астенозооспермии и олигоастенозооспермии. Группу сравнения составили 19 мужчин, больных СД 1 типа без нарушений в спермограмме.

Контрольную группу составили 30 практически здоровых мужчин соответствующего возраста ($28 \pm 2,1$ лет) без нарушений сперматогенеза.

В работе с обследуемыми соблюдались этические принципы, предьявляемые Хельсинской Декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964, 2000 ред.)

Интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиокислительной защиты (АОЗ) оценивали по содержанию их отдельных компонентов в сыворотке крови и гемолизате, а также по определению величины общей антиокислительной активности (АОА). В сыворотке крови определяли уровень «двойных связей» (Дв. св.), диеновых конъюгатов (ДК), кетодиенов и сопряженных триенов (КД и СТ); малонового диальдегида (МДА) [5]; α -токоферола, ретинола.

В гемолизате измеряли активность супероксиддисмутазы (СОД), восстановленной (GSH) и окисленной форм глутатиона (GSSG), а также их соотношения (GSH/GSSG).

Анализ эякулята проводился по унифицированной методике [12] в нативном препарате в камере МАКЛЕРА при 200-кратном увеличении, а морфологические формы сперматозоидов и другие клетки эякулята — при 400-кратном увеличении. Анализ полученных данных осуществлялся с по-

мощью методов математической статистики, реализованных в ППП STATISTICA 6.1 Stat Soft, США (правообладатель лицензии — Учреждение Российской академии медицинских наук Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека Сибирского отделения РАМН). Для представления данных использовали $M \pm \sigma$. Выбранный критический уровень значимости равнялся 5 % ($P \leq 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование первичного звена ПОЛ у пациентов с патоспермией на фоне течения СД 1, которое включает в себя образование сопряженных двойных связей (ДК, КД, СТ), на первый взгляд показало отсутствие активации перекисаации липидов, т. к. эти величины или статистически значимо ниже групп сравнения и контроля, или не отличаются от таковых, соответственно (табл. 1). Состояние патоспермии на фоне декомпенсации сахарного диабета сопровождается повышенной степенью окисленности липидов сыворотки крови, что может маскировать потенциальную активацию ПОЛ на его начальных стадиях. О реальной активации ПОЛ у больных СД 1 типа, сопровождающегося патоспермией, свидетельствуют результаты по измерению концентрации МДА, которая у этих пациентов выше, чем в группе сравнения и у здоровых мужчин, соответственно, на 13,6 % и 37,1 % ($P < 0,05$). Несмотря на то, что было установлено повышение только одного показателя ПОЛ, тем не менее, этого достаточно для заключения об активации этого многоступенчатого процесса [20], тем более что разнообразные продукты перекисаации липидов, в которые входит МДА, обладают многосторонним повреждающим эффектом на многие биополимеры и клеточные структуры [14, 15, 16, 18, 19, 21].

При оценке состояния системы АОЗ у больных СД 1 типа с патоспермией и без таковой установлено снижение величины общей антиокислительной активности по сравнению со здоровыми мужчинами на 29,6 и 34,6 % соответственно.

Вместе с тем, характер изменений уровня отдельных компонентов подсистемы АОЗ может свидетельствовать об адаптивно-компенсаторных процессах, происходящих у больных СД 1 типа с патоспермией. Это доказывается тем, что в сыворотке крови отмечается стабилизация и даже некоторое повышение концентрации антиоксидантных витаминов, которое может быть обусловлено включением такой системной адаптивной реакции, как повышение их энтеральной абсорбции [9, 11]. В эритроцитах, которые являются своеобразным усредненным биоптатом организма, также наблюдается сохранение активности СОД на уровне величин контроля и группы сравнения. Следует заметить, что поддержание активности СОД у этих пациентов происходит в условиях интенсивного гликирования ферментного белка, нарушающего его нативную структуру [3, 8, 10]. В связи с этим можно предположить, что стабильный уровень реакции дисмутации супероксида обеспечивают неповрежденные гликированием молекулы фер-

Показатели системы «ПОЛ–АОЗ» у мужчин с СД 1 типа и патоспермией (M ± σ)

Показатель	Группа контроля	Больные СД 1 типа без нарушений в спермограмме	Больные СД 1 типа и нарушениями в спермограмме
Дв. св., усл. ед.	2,83 ± 0,36	2,782 ± 0,37	1,984 ± 0,77
ДК, мкмоль/л	0,81 ± 0,11	0,662 ± 0,17	0,752 ± 0,36
КТ и СТ, усл. ед.	0,31 ± 0,70	0,322 ± 0,19	0,296 ± 0,1
МДА, мкмоль/л	0,99 ± 0,21	1,36 ± 0,42	1,573 ± 0,38
АОА, усл. ед.	15,44 ± 2,49	10,099 ± 2,9	10,883 ± 2,3
СОД, усл. ед.	1,48 ± 0,07	1,426 ± 0,2	1,454 ± 0,18
Ретинол, мкмоль/л	0,90 ± 0,18	1,018 ± 0,32	1,095 ± 0,35
Токоферол, мкмоль/л	8,23 ± 1,29	6,325 ± 1,6	9,316 ± 3,1
GSH, ммоль/л	2,15 ± 0,10	2,148 ± 0,17	2,404 ± 0,21
GSSG, ммоль/л	1,97 ± 0,11	2,034 ± 0,18	2,032 ± 0,17
GSH / GSSG	1,09 ± 0,02	1,056	1,18

мента за счет повышения своей функциональной активности.

В этом плане отмечаемое нами статистически значимое повышение величин GSH/GSSG у мужчин с патоспермией в сочетании с СД 1 также может свидетельствовать о компенсаторном увеличении вклада SH-групп глутатиона в антирадикальную защиту. У пациентов группы сравнения повышение концентрации GSH наблюдается в условиях ненарушенного эндокринного статуса и при отсутствии острых заболеваний, которые могут стать причиной выраженного дефицита в подсистеме АОЗ. Хорошо известно, что глутатион-редуктаза в эритроцитах, потребляя НАДФН, генерируемый в окислительной фазе пентозофосфатного шунта, восстанавливает GSSG в GSH, который является важнейшим компонентом АОЗ не только эритроцитов, но и других клеток.

Таким образом, в результате проведенного исследования было установлено, что у мужчин с СД 1 типа и патоспермией повышение степени окисленности липидов (Дв. св.), активация их перекисидации на этапе образования ТБК-активных продуктов (МДА) сопровождается снижением общей АОА сыворотки крови. Вместе с тем, на фоне подъема интенсивности окислительных процессов отмечалась стабилизация активности СОД и системы глутатиона. Данные изменения показателей в системе АОЗ являются отражением компенсаторной реакции организма, направленной на подавление процессов ПОЛ, при сниженной реактивности организма у больных с патоспермией и СД 1 типа. На основании вышеизложенного можно сделать заключение, что оценка характера взаимоотношений в системе ПОЛ – АОЗ у больных с СД 1 типа и патоспермией позволяет определить некоторые механизмы формирования бесплодия у мужчин.

При оценке антиокислительного статуса в исследуемых группах отмечено снижение общей антиокислительной активности у больных СД 1 типа по сравнению с группами сравнения. При оценке

содержания витаминов А, Е и активности фермента супероксиддисмутаза в исследуемых группах достоверных различий не установлено. Следует отметить более высокое содержание витамина А у больных с патоспермией с СД 1 типа, что могло быть следствием проводимой витаминотерапии. При оценке состояния системы глутатиона различий между окисленной и восстановленной формами в анализируемых группах не установлено. Однако в группе больных СД 1 типа и патоспермией был установлен более высокий коэффициент соотношения GSH/GSSG по сравнению с группами сравнения, что является компенсаторным механизмом, направленным на частичное сдерживание повреждающего воздействия продуктов ПОЛ на сперматогенез.

Особенностью состояния системы ПОЛ у больных с СД 1 типа без нарушений сперматогенеза является ее активация на первичном этапе (ДК и КТ) с последующим снижением на уровне конечных продуктов. А у больных с патоспермией с СД 1 типа характерна ее активация на конечных этапах.

При сопоставлении системы антиокислительной защиты с активностью процессов ПОЛ выявлено снижение антиокислительной активности у больных с патоспермией и СД 1 типа на конечных этапах, что может быть связано с ее истощением. Антиоксидантный эффект у больных данной группы больше обусловлен системой глутатиона.

Данные изменения показателей в системе АОЗ являются отражением компенсаторной реакции организма, направленной на подавление процессов ПОЛ, при сниженной реактивности организма у больных с патоспермией и СД 1 типа.

Таким образом, в ходе проведенного исследования установлено, что наиболее значимые изменения в системе ПОЛ – АОЗ установлены в группе больных с патоспермией и СД 1 типа по сравнению с таковыми показателями как в группе с СД 1 типа без патоспермии, так и в контрольной. Полученные данные подтверждают факты активации процессов ПОЛ у больных СД 1 типа. Оценка характера вза-

имоотношений в системе ПОЛ – АОЗ у больных с патоспермией и нарушением углеводного обмена позволяет выявить некоторые механизмы формирования бесплодия у мужчин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алипов В.И., Корхов В.В. Алкоголизм и материнство. – Л. : Знание, 2004. – 352 с.
2. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом / под ред. И.И. Дедова, М.В. Шестаковой. – М., 2006. – 2 изд. – 112 с.
3. Балашова Т.С., Голега Е.Н., Рудько И.А., Балаболкин М.И. и др. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита эритроцитов у больных сахарным диабетом // Терапевтический архив. – 1993. – № 10. – С. 23–27.
4. Васильева Е.М., Баканов М.И., Поддубная А.Е. Перекисное окисление липидов при неврологической патологии // Клин. лабор. диагностика. – 2005. – № 2. – С. 8–12.
5. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Мажуль Л.М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой // Вопр. мед. химии. – 1987. – № 1. – С. 118–122.
6. Долгов В.В., Луговская С.А. Лабораторная диагностика мужского бесплодия. – М. – Тверь : ООО «Издательство Триада», 2006. – 145 с.
7. Дубинина Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состоянии окислительного стресса // Вопр. мед. химии. – 2001. – № 6. – С. 561–581.
8. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньшиков Е.Б. Окислительный стресс: Биохимический и патофизиологический аспекты. – М. : МАИК «Наука/Интерпериодика». – 2001. – 343 с.
9. Колесниченко Л.С. и др. Глутатион и ферменты его метаболизма у больных сахарным диабетом 2 типа // Сибирский медицинский журнал. – 2009. – № 2. – С. 56–58.
10. Кулаков В.И., Леонова Б.В., Кузьмичева Л.Н. Лечение женского и мужского бесплодия.

Вспомогательные репродуктивные технологии. – М. : Медицинское информационное агентство, 2005. – 229 с.

11. Меньшикова Е.Б. и др. Окислительный стресс. Патологические состояния и заболевания. – Новосибирск : Наука, 2008. – 284 с.
12. Миронова И.И., Романова Л.А., Долгов В.В. Общеклинические исследования: моча, кал, ликвор, эякулят. – М. : КЛД, 2005. – 206 с.
13. Нишлаг Э., Бере Г.М. Андрология. Мужское здоровье и дисфункция репродуктивной системы. – М. : ООО «Медицинское информационное агентство», 2005. – 554 с.
14. Сазонтова Т.Г., Архипенко Ю.В. Значение баланса прооксидантов и антиоксидантов – равнозначных участников метаболизма // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 2007. – № 3. – С. 2–18.
15. Тиктинский О.Л., Михайличенко В.В. Андрология. – СПб. : Медиа Пресс, 1999. – 464 с.
16. Gotto A.M.Jr. et al. The ILIB Lipid Handbook for Clinical Practice. Blood Lipids and Coronary Heart Disease. – L. – N.-Y., 2000. – P. 248.
17. Januszewski A.S. et al. Role of lipids in chemical modification of proteins and development of complications in diabetes // Biochem. Soc. Trans. – 2003. – Vol. 31, N 6. – P. 1413–1416.
18. Lankin V. The enzymatic systems in the regulation of free radical lipid peroxidation // Free Radicals, Nitric Oxide, and Inflammation: Molecular, Biochemical, and Clinical Aspects. – Amsterdam: IOS Press, 2003. – 23 p.
19. Vessby J. et al. Oxidative stress and antioxidant status in type 1 diabetes mellitus // J. Intern. Med. – 2002. – Vol. 251, N 1. – P. 69–76.
20. Wood L.G., Lee D.A. Fitzgerald Improved antioxidant and fatty acid status of patients with cystic fibrosis after antioxidant supplementation in linked to improved lung function // Am. J. Clinical Nutrition. – 2003. – Vol. 77. – P. 150–159.
21. Yahia D.A. et al. Tissue antioxidant status differs in spontaneously hypertensive rats fed fish protein or casein // J. Nutr. – 2003. – Vol. 133. – P. 479–482.

Сведения об авторах

Беленькая Лилия Васильевна – м.н.с. лаборатории эндокринологии Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (664007, г. Иркутск, ул. Ямская, д. 7, кв. 43; тел.: 8 (914) 870-79-00; e-mail: Drblv@mail.ru)
Колесникова Любовь Ильинична – д.м.н., член-корр. РАМН, директор Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 20-73-67; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)
Шолохов Леонид Федорович – д.м.н. заведующий лабораторией физиологии и патологии эндокринной системы Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 20-73-67; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)
Сутуринна Лариса Викторовна – д.м.н., профессор, заведующая лабораторией гинекологической эндокринологии Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 20-73-67; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)
Бардымова Татьяна Прокопьевна – д.м.н., профессор, заведующая лабораторией эндокринологии Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 20-73-67; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)
Сафроненко Александр Викторович – м.н.с. лаборатории гинекологической эндокринологии Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 20-73-67; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)
Гребенкина Людмила Анатольевна – зав. лабораторией патофизиологии репродукции Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 20-73-67; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)
Власов Борис Яковлевич – д.м.н., профессор, старший научный сотрудник лаборатории физиологии и патологии эндокринной системы Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 20-73-67; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)