

Л.И. Колесникова, О.А. Толпыгина, Н.А. Курашова, Л.А. Гребенкина, М.И. Долгих, Б.Г. Дашиев

КОЭФФИЦИЕНТ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У МУЖЧИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА ПРИ БЕСПЛОДИИ

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

Для расчетов коэффициента окислительного стресса (КОС) у мужчин с бесплодием использовали формулу, в которой учитывали не только накопление первичных и конечных продуктов ПОЛ, но и различные звенья АОЗ (ферменты, жирорастворимые витамины). Расчетный коэффициент КОС свидетельствует о дисбалансе про- и антиоксидантных факторов в процессах липопероксидации и наличии окислительного стресса.

Ключевые слова: бесплодие, мужчины, коэффициент окислительного стресса, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита

COEFFICIENT OF OXIDATIVE STRESS IN MEN OF REPRODUCTIVE AGE WITH INFERTILITY

L.I. Kolesnikova, O.A. Tolpygina, N.A. Kurashova, L.A. Grebenkina, M.I. Dolgikh, B.G. Dashiev

Scientific Center of Family Health Problems and Human Reproduction SB RAMS, Irkutsk

For calculation of the coefficient of oxidative stress (COS) in men with infertility we used the formula taking into account not only the accumulation of primary and final products of lipid peroxidation, but also various parts of antioxidant defence (enzymes, fat-soluble vitamins). Estimated coefficient shows imbalance of pro-and antioxidant factors in the processes of lipid peroxidation and the presence of oxidative stress.

Key words: infertility, men, coefficient of oxidative stress, lipid peroxidation, antioxidant protection

Нарушения репродуктивной функции у мужчин с бесплодием могут быть связаны с изменениями состояния системы «липопероксидация — антиоксидантная защита», которые имеют выраженный дисрегуляторный характер, так как сопровождаются нарастанием токсичных ТБК-активных продуктов ПОЛ и истощением резервов системы АОЗ. Хорошо известно, что именно на этом уровне начинается формирование любого патологического процесса, в том числе и нарушение репродуктивных функций [5, 9]. Чрезмерное образование АФК при недостаточной активности системы АОЗ приводит к окислительному стрессу или нарушению прооксидантно-антиоксидантного баланса в пользу прооксидантных факторов, которые могут вызвать потенциальные повреждения (Sies, 1991), что в свою очередь может вызывать развитие ряда патологических изменений [4, 12].

Сложность и многокомпонентность системы ПОЛ — АОЗ затрудняет количественную оценку окислительного стресса. Эта проблема приводит к трудностям не только трактовки полученных результатов, но и к проводимой антиоксидантной терапии, когда трудно предсказать биологический ответ и терапевтический эффект.

Известно, что предпринимались способы оценки коэффициента окислительного стресса по соотношению прооксидантных и антиоксидантных факторов у пациентов с различными патологиями и показателями контрольной группы [1, 6, 7, 10, 11]. Успешность подобных расчетов у пациентов с различными формами патологических процессов

определялась, главным образом, набором исследованных показателей системы ПОЛ — АОЗ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Всего обследовано 113 мужчин с бесплодием (71 бурятской национальности, 42 — русской) и 34 мужчины контрольной группы (19 бурятской, 15 — русской национальности), имеющих в браке детей.

В качестве материала для исследований использовались сыворотка крови и гемолизат, приготовленный из эритроцитов. Забор крови проводился из локтевой вены, в соответствии с общепринятыми требованиями. Получение информированного согласия на участие в проводимом исследовании являлось обязательной процедурой при включении мужчин в одну из групп.

В ходе исследования проанализированы концентрации продуктов перекисного окисления липидов и компоненты антиоксидантной защиты в крови.

Для оценки состояния процессов ПОЛ определяли концентрации его субстратов с двойными связями (ДвСв) и продуктов окисления — диеновых конъюгатов (ДК) и активных продуктов тиобарбитуровой кислоты (ТБК-АП); активность компонентов антиоксидантной системы защиты организма исследовалась по общей антиокислительной активности сыворотки крови (АОА), в том числе по концентрации природных эндогенных антиоксидантов (α -токоферола и ретинола) и активности супероксиддисмутазы (СОД).

Использован метод индивидуальной оценки окислительного стресса при помощи апробированного метода расчета коэффициента (КОС) по соотношению про- и антиоксидантных факторов [8]. Коэффициент окислительного стресса (КОС), оценивающий дисбаланс процессов ПОЛ — АОЗ, также может применяться для оценки результативности и коррекции антиоксидантной терапии при лечении мужского бесплодия.

Статистический анализ данных проводили с применением программы Statistica 6.1 (Statsoft Inc., США) (правообладатель лицензии — Учреждение Российской академии медицинских наук Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН). Данные представлены в виде среднегрупповых значений показателей и среднеквадратичной ошибки ($M \pm m$, где M — среднее арифметическое, m — ошибка среднего). Для оценки статистически значимых различий полученных данных использовали критерий Стьюдента и Фишера. Выбранный критический уровень значимости принимался менее или равным 0,05.

Исследование проводилось при поддержке гранта Президента РФ НШ-65587.2010.7.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования установлено, что у бурят с бесплодием (табл. 1) уровней жирорастворимых витаминов А и Е, вероятно, достаточно, чтобы снизить активность процессов ПОЛ, о чем свидетельствует более низкий уровень как первичных (ДК) так и конечных продуктов процессов ПОЛ — ТБК-АП (по сравнению с контролем в 1,8 раза ($p = 0,008$)). Об активной работе антиоксидантов свидетельствует не только значимое снижение активности СОД на 9 % ($p = 0,0009$), но и повышение в 1,4 раза уровня общей АОА крови ($p = 0,006$).

Таблица 1
Показатели системы ПОЛ — АОЗ у мужчин-бурят, проживающих в Улан-Удэ

Показатели	Контрольная группа $n = 19$	Группа с бесплодием $n = 31$
Дв. св., усл.ед.	$2,82 \pm 0,18$	$2,33 \pm 0,13^*$
ДК, мкмоль/л	$2,18 \pm 0,14$	$1,81 \pm 0,16$
ТБК-АП, мкмоль/л	$1,08 \pm 0,08$	$0,70 \pm 0,09^*$
АОА, усл.ед.	$9,69 \pm 1,00$	$13,34 \pm 0,77^*$
Токоферол, мкмоль/л	$9,42 \pm 0,70$	$9,37 \pm 0,57$
Ретинол, мкмоль/л	$0,54 \pm 0,04$	$0,62 \pm 0,07$
СОД, усл.ед.	$1,83 \pm 0,01$	$1,67 \pm 0,03$

В группе русских мужчин с бесплодием по сравнению со здоровыми (табл. 2), процессы ПОЛ протекают более интенсивно. Установлено достоверно значимое снижение субстратов окисления — Дв. св. в 1,5 раза ($p = 0,00007$) и концентрации продуктов окисления — ДК на 28 % ($p = 0,02$). Снижение мощности антиоксидантной системы, в частности ретинола — в 1,4 раза ($p = 0,01$), токофе-

рола — в 1,3 раза ($p = 0,002$), приводит к тому, что система АОЗ не справляется с гиперпродукцией активных форм кислорода и, как результат, с процессами окислительной модификации липидов. Об этом свидетельствует установленное повышение в 1,4 раза уровня ТБК-АП ($p = 0,05$), что характеризует активацию процессов ПОЛ без достаточного компенсаторного ответа системы АОЗ.

Таблица 2
Показатели системы ПОЛ — АОЗ у мужчин-русских, проживающих в Улан-Удэ

Показатели	Контрольная группа $n = 15$	Группа с бесплодием $n = 42$
Дв. св., усл.ед.	$3,42 \pm 0,17$	$2,24 \pm 0,15^*$
ДК, мкмоль/л	$2,10 \pm 0,23$	$1,52 \pm 0,12^*$
ТБК-АП, мкмоль/л	$0,85 \pm 0,11$	$1,20 \pm 0,09^*$
АОА, усл.ед.	$16,33 \pm 1,17$	$5,56 \pm 0,72$
Токоферол, мкмоль/л	$11,33 \pm 0,97$	$8,49 \pm 0,38^*$
Ретинол, мкмоль/л	$0,73 \pm 0,09$	$0,54 \pm 0,03^*$
СОД, усл.ед.	$1,77 \pm 0,02$	$1,66 \pm 0,04$

С целью индивидуальной оценки окислительного стресса у мужчин с бесплодием использовали формулу расчета коэффициента окислительного стресса (КОС) [8, 10]. Превалирование прооксидантных факторов над антиоксидантными в современной научной литературе получило название окислительного, или оксидативного стресса [2, 3]. В формуле для расчета величины КОС используются следующие показатели ПОЛ — АОЗ: ДК (мкмоль/л), ТБК-АП (мкмоль/л), активность СОД (усл. ед.), содержание α -токоферола (мкмоль/л), ретинола (мкмоль/л):

$$КОС = \frac{(ДК_i / ДК_n) \times (ТБК - АП_i / ТБК - АП_n)}{(СОД_i / СОД_n) \times (E_i / E_n) \times (A_i / A_n)}$$

где i — уровни показателей обследуемых пациентов; n — уровни показателей контрольной группы; при КОС > 1 регистрируют развитие окислительного стресса.

В формуле рассчитывается отношение показателей системы ПОЛ — АОЗ пациента с мужским бесплодием к среднегрупповым показателям контрольной группы. Эта формула разработана только для индивидуальной оценки состояния системы ПОЛ — АОЗ у конкретного пациента.

В норме коэффициент окислительного стресса стремится к условной 1 [8]. Значение КОС > 1 рассматривается как нарастание степени окислительного стресса. Чем больше величина коэффициента окислительного стресса, тем более интенсивны процессы пероксидации липидов и менее эффективна система АОЗ у обследуемых мужчин.

В качестве примера приведены показатели, рассчитанные для группы пациентов с уже известным диагнозом. Несмотря на выявленные общие тенденции в процессах формирования окислительного стресса у мужчин с бесплодием,

в каждом конкретном случае применение этой формулы позволяет определить индивидуальные особенности процессов ПОЛ — АОЗ у конкретного пациента. Примеры расчета коэффициентов окислительного стресса у пациентов с бесплодием представлены ниже.

Пример № 1

Пациент К., 26 лет (русской национальности).

$ДК = 1,44$ мкмоль/л; $СОД = 1,76$ усл. ед.; $ТБК-АП = 1,44$ мкмоль/л; α -токоферол — $6,45$ мкмоль/л; ретинол — $0,37$ мкмоль/л

$$КОС = \frac{(ДК_i / ДК_n) \times (ТБК - АП_i / ТБК - АП_n)}{(СОД_i / СОД_n) \times (E_i / E_n) \times (A_i / A_n)}$$

$$КОС = \frac{(1,44 / 2,12) \times (1,44 / 0,88)}{(1,76 / 1,76) \times (6,45 / 11,21) \times (0,37 / 0,73)} = \frac{0,68 \times 1,64}{1,00 \times 0,58 \times 0,51} = \frac{1,11}{0,30} = 3,70$$

Пример № 2

Пациент Б., 24 года (бурятской национальности)

$ДК = 1,96$ мкмоль/л; $СОД = 1,75$ усл. ед.; $ТБК-АП = 1,16$ мкмоль/л; α -токоферол — $8,05$ мкмоль/л; ретинол — $0,55$ мкмоль/л

$$КОС = \frac{(ДК_i / ДК_n) \times (ТБК - АП_i / ТБК - АП_n)}{(СОД_i / СОД_n) \times (E_i / E_n) \times (A_i / A_n)}$$

$$КОС = \frac{(1,96 / 2,28) \times (1,16 / 0,65)}{(1,75 / 1,84) \times (8,05 / 8,42) \times (0,55 / 0,46)} = \frac{0,86 \times 1,78}{0,95 \times 0,96 \times 1,21} = \frac{1,53}{1,09} = 1,41$$

Сравнивая приведенные выше примеры, следует отметить, что протекание процессов ПОЛ — АОЗ различается. В примере № 2 достаточно высокое значение числителя дроби (проокислительная составляющая = 1,53) обусловлено относительно высокими значениями отношений $ДК_i / ДК_n$ (0,86) и $ТБК-АП_i / ТБК-АП_n$ (1,78), что отражает не только более высокое, по сравнению с примером № 1, содержание первичных и вторичных продуктов перекисидации, но и более низкую интенсивность протекания реакций липопероксидации. На этих этапах целесообразно применение препаратов, содержащих антиоксидантные ферменты. В примере № 1 приведенная в знаменателе антиоксидантная составляющая (0,30) почти в два раза ниже контрольных значений, именно она в данном случае определяет высокое значение КОС, несмотря на то, что значение супероксиддисмутазной активности практически на уровне контроля. Возможно, это объясняется дисбалансом жирорастворимых витаминов α -токоферола и ретинола ($E_i / E_n = 0,58$; $A_i / A_n = 0,51$). Приведенная формула позволяет оценить, какие изменения происходят на каждом этапе процесса липопероксидации у конкретного пациента.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, с помощью расчета величины окислительного стресса можно оценивать нарушение баланса в системе ПОЛ — АОЗ у пациентов с бесплодием. Кроме того, расчет величины КОС целесообразно использовать для оценки эффективности антиоксидантной терапии при инфертильности мужчин.

Для полного представления о характере перекисных процессов в структуре перекисных повреждений в организме, а также при выборе тактики рациональной антиоксидантной коррекции необходимо комплексное обследование, включающее оценку как начальных, так и конечных продуктов ПОЛ, а также уровня факторов, обеспечивающих защиту от возможных повреждений мембранного аппарата клетки интермедиатами перексидации липидов [9]. Представленная формула для оценки КОС у мужчин с бесплодием вполне отвечает этим требованиям.

ЛИТЕРАТУРА

1. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения). — М.: Медицина. — 1989. — 368 с.
2. Болдырев А.А. Окислительный стресс и мозг // Соросов. образов. журн. — 2001. — Т. 7, № 4. — С. 21 — 28.
3. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах // Соросов. образов. журн. — 2000. — Т. 6, № 12. — С. 13 — 19.
4. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты // Вестн. РАМН. — 1998. — № 7. — С. 43 — 51.
5. Крыжановский Г.Н. Дизрегуляторная патология: Рук. для врачей и биологов. — М., 2002. — С. 18 — 79.
6. Мадаева И.М. Формирование адаптивных и дизадаптивных реакций метаболической системы при обструктивных нарушениях дыхания во время сна: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — Иркутск, 2009. — 42 с.
7. Мальцев Г.Ю., Васильев А.В. Антиоксидантный индекс эритроцитов в мониторинге лечебного питания // Вопр. питания. — 1999. — № 2. — С. 41 — 43.
8. Натяганова Л.В. Роль окислительного стресса в патогенезе лабильной и стабильной артериальной гипертензии у подростков: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Иркутск, 2010. — 21 с.
9. Некоторые клинические и метаболические особенности при бесплодии у мужчин русской и бурятской популяций / Л.И. Колесникова [и др.] // Сиб. мед. журн. — Иркутск, 2011. — № 3. — С. 104 — 105.
10. Окислительный стресс при открытой абдоминальной травме с массивной кровопотерей / С.Б. Матвеев [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. — 2005. — № 1. — С. 14 — 16.
11. Оценка процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у мужчин с

хронической монотрихомонадной инфекцией с помощью коэффициента окислительного стресса / Л.И. Колесникова [и др.] // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. — 2011. — № 1 (77). — С. 74–76.

12. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. Free radicals in Biology and Medicine // Oxford University Press. — 2003. — 936 p.

Сведения об авторах

Колесникова Любовь Ильинична – член.-корр. РАМН, профессор, директор УРАМН НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 20-76-36, 20-73-67; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

Толпыгина Ольга Андреевна – аспирант лаборатории патофизиологии репродукции УРАМН НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН

Курашова Надежда Александровна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории патофизиологии репродукции УРАМН НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН

Гребенкина Людмила Анатольевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии репродукции УРАМН НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН

Долгих Мария Игоревна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории патофизиологии репродукции УРАМН НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН

Дашиев Баир Гомбоевич – врач уролог-андролог центра планирования и репродукции человека республиканского перинатального центра г. Улан-Удэ