

## ОБЩИЙ АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС И НЕФЕРМЕНТАТИВНОЕ ЗВЕНО СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У ЖЕНЩИН В МЕНОПАУЗЕ

Семёнова Н.В., Мадаева И.М., Шолохов Л.Ф., Колесникова Л.И.

*ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»,  
Иркутск, e-mail: natkor\_84@mail.ru*

45 женщин, у которых спектрофлуориметрическими и иммуноферментными методами были оценены общая антиокислительная активность сыворотки крови и параметры неферментативного звена системы антиоксидантной защиты: восстановленный и окисленный глутатион,  $\alpha$ -токоферол, ретинол, мелатонин приняли участие в проспективном нерандомизированном исследовании. Уровень мелатонина определяли в 06.00–07.00 ч; 12.00–13.00 ч; 18.00–19.00 ч; 23.00–00.00 ч. Общеклиническое обследование позволило разделить участников исследования на две группы – перименопауза и постменопауза. Статистический анализ различий между и внутри групп был проведен с использованием непараметрических критериев. В результате проведенного исследования установлено: у женщин в постменопаузе по сравнению с женщинами перименопаузального периода ниже содержание  $\alpha$ -токоферола (в 1,37 раза ( $p < 0,05$ )), ретинола (в 1,14 раза ( $p < 0,05$ )), GSSG (в 1,16 раза ( $p < 0,05$ )), мелатонина в 12.00–13.00 ч., 18.00–19.00 ч. и 23.00–00.00 ч. в 1,94 раза ( $p < 0,05$ ), в 3,22 раза ( $p < 0,05$ ) и в 1,54 раза ( $p < 0,05$ ) соответственно. Уровень общей антиокислительной активности сыворотки крови не имел различий между изучаемыми группами. Полученные результаты могут являться показанием к назначению антиоксидантной терапии у женщин в менопаузе в целях профилактики и коррекции окислительного стресса.

**Ключевые слова:** антиоксидантная защита, менопауза, мелатонин, глутатион, ретинол,  $\alpha$ -токоферол

## TOTAL ANTIOXIDANT STATUS AND NON-ENZYMATIC LINK OF ANTIOXIDANT PROTECTION SYSTEM IN MENOPAUSAL WOMEN

Semenova N.V., Madaeva I.M., Sholokhov L.F., Kolesnikova L.I.

*Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk,  
e-mail: natkor\_84@mail.ru*

45 menopausal women were participants in a prospective nonrandomized study. The total antioxidant activity and non-enzymatic link of the antioxidant defense system parameters (reduced and oxidized glutathione,  $\alpha$ -tocopherol, retinol, melatonin) were evaluated by spectrophotometric and immunoenzymatic methods. Melatonin level was determined at 06.00-07.00h; 12.00-13.00h; 18.00-19.00h; 23.00-00.00h. Participants were divided into two groups – perimenopause and postmenopause. Statistical analysis was performed using nonparametric criteria. As a result of the study, it was found that in postmenopausal women as compared to perimenopausal ones, the  $\alpha$ -tocopherol, retinol, GSSG levels are lower by 1.37 times ( $p < 0.05$ ), 1.14 times ( $p < 0.05$ ), 1.16 times ( $p < 0.05$ ) respectively. Melatonin levels in postmenopausal women are lower at 12.00-13.00h, 18.00-19.00h and 23.00-00.00h by 1.94 times ( $p < 0,05$ ), 3.22 times ( $p < 0,05$ ) and 1.54 times ( $p < 0,05$ ) respectively. There were no intergroup differences in the total antioxidant activity of blood serum level. The results obtained can be an indication to the appointment of antioxidant therapy in menopausal women in order to prevent and correct oxidative stress.

**Keywords:** antioxidant protection, menopause, melatonin, glutathione, retinol,  $\alpha$ -tocopherol

В тканях живого организма непрерывно протекают процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ), интенсивность которых регулируется системой антиоксидантной защиты (АОЗ), состоящей из множества компонентов, способных предотвращать возможные повреждения структур клетки [1]. Соотношение между активностью свободнорадикальных процессов и компонентов системы АОЗ определяет не только интенсивность метаболизма, но и адаптационные возможности организма, а также в случае дисбаланса в работе системы «ПОЛ-АОЗ» в сторону интенсификации процессов липопероксидации, риск формирования окислительного стресса [2, 3]. В настоящее время показано, что такой

физиологический процесс, как старение, сопровождается развитием окислительного стресса, что связано с нарушением регуляторного механизма, осуществляющего контроль над клеточным уровнем свободных радикалов. Однако причина дисрегуляции окислительно-восстановительного баланса до настоящего времени не ясна [1]. К настоящему времени проведено достаточно много исследований, касающихся оценки состояния системы АОЗ у женщин менопаузального возраста, однако их результаты не только неоднозначны, но и противоречивы [4–6]. Актуальность таких исследований определяется необходимостью разработки профилактических и лечебных мероприятий по коррекции ме-

табolicеских нарушений у женщин данной возрастной группы. Таким образом, целью данного исследования явилась сравнительная оценка общего антиоксидантного статуса и содержания некоторых компонентов неферментативного звена системы АОЗ у женщин в разных фазах климактерического периода.

### Материалы и методы исследования

В исследовании в качестве добровольцев приняли участие 45 женщин, территорией проживания которых был г. Иркутск. Каждой женщиной было подписано информированное согласие на участие в проводимом исследовании, протокол которого был одобрен Комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ.

Результаты клиничко-анамнестического обследования позволили разделить обследуемых на две группы:

– *перименопаузальный период* (n = 19). Среднее значение возраста в данной группе составило  $49,08 \pm 2,84$  лет, ИМТ –  $27,18 \pm 4,58$  кг/м<sup>2</sup>;

– *постменопаузальный период* (n = 26). Среднее значение возраста в данной группе составило  $57,16 \pm 1,12$  лет, ИМТ –  $27,96 \pm 3,57$  кг/м<sup>2</sup>.

В качестве критериев исключения при проведении исследования были использованы обострение хронических заболеваний, ожирение, заболевания эндокринного генеза, применение заместительной гормональной терапии, преждевременная ранняя менопауза, хирургическая менопауза.

При анализе медицинской документации у женщин обследуемых групп были выявлены некоторые соматические заболевания (рис. 1).

Выраженность климактерического синдрома определялась количественной оценкой с использованием модифицированного менопаузального индекса Купперман – Уваровой (1983). Полученные результаты представлены на рис. 2.

Параметры системы АОЗ (ретинол, альфа-токоферол, общую антиокислительную активность

(АОА)) определяли в сыворотке крови, забор которой осуществляли рано утром, натощак, из локтевой вены. Гемолизат, приготовленный из эритроцитов, служил материалом для определения восстановленного и окисленного глутатионов (GSH и GSSG). Содержание ретинола и альфа-токоферола определяли методом Р.Ч. Черняускене с соавт. (1984); GSH и GSSG – методом P.J. Hisin и R. Hilf (1976); общую АОА сыворотки крови – методом Г.И. Клебанова с соавт. (1988). Концентрацию ретинола и альфа-токоферола выражали в мкмоль/л, GSH и GSSG – в ммоль/л, уровень общей АОА сыворотки крови – в усл. ед. Измерительными приборами служили спектрофотометр «Shimadzu RF-1650» (Япония) и спектрофлуорофотометр «Shimadzu RF-1501» (Япония).

Концентрация мелатонина определялась иммуноферментным методом в нестимулированной слюне. Временными точками для сбора биологического материала с использованием специальных пробирок (SaliCaps, IBL) были 6.00–7.00 ч, 12.00–13.00 ч, 18.00–19.00 ч, 23.00–00.00 ч. Слюна немедленно замораживалась и хранилась при температуре –20°С. Забор слюнной жидкости производился в зимнее время года (январь-февраль). Измерительным прибором для определения концентрации гормона в пг/мл с использованием коммерческих наборов Buhlmann (Швейцария) служил анализатор «Микропланшетный ридер EL×808» (США).

Статистическая обработка данных была проведена с использованием программы «Statistica 6.1». Оценка на нормальность распределения количественных признаков показала неправильное распределение, вследствие чего для анализа различий между группами были применены непараметрические критерии, а именно Mann – Whitney Test; Kolmogorov – Smirnov Two-Sample Test; Wald – Wolfowitz Runs Test. Оценка различий количественных показателей внутри изучаемых групп была проведена с использованием W-критерия Вилкоксона. Анализ взаимосвязей количественных признаков внутри групп был проведен с использованием корреляционного анализа Спирмана с определением коэффициента корреляции (r).

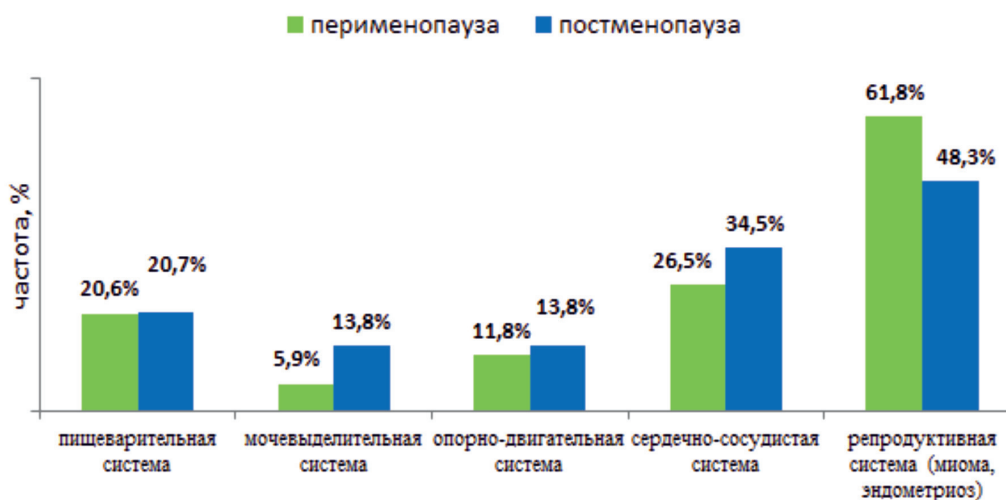


Рис. 1. Структура выявленных заболеваний у женщин в пери- и постменопаузе

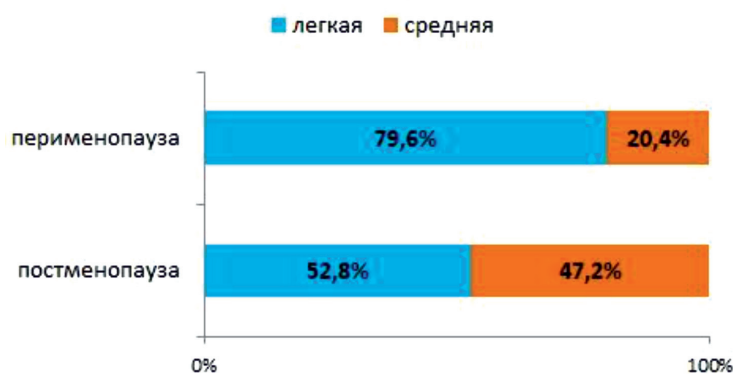


Рис. 2. Сравнительная оценка тяжести климактерического синдрома между обследуемыми группами

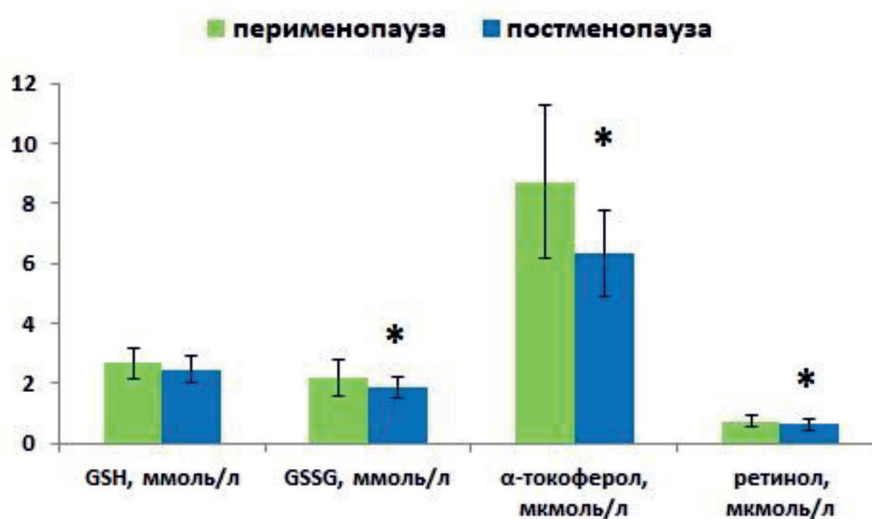


Рис. 3. Параметры неферментативного звена системы АОЗ у женщин в разных фазах климактерического периода. Примечание: \* – статистически значимые межгрупповые различия

### Результаты исследования и их обсуждение

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о более низком содержании α-токоферола (в 1,37 раза ( $p < 0,05$ )), ретинола (в 1,14 раза ( $p < 0,05$ )) и GSSG (в 1,16 раза ( $p < 0,05$ )) в группе женщин постменопаузального периода по сравнению с перименопаузой (рис. 3). Уровень общей АОА сыворотки крови не отличался между фазами климактерия и составил  $15,89 \pm 7,99$  усл. ед. в перименопаузе и  $14,29 \pm 5,98$  усл. ед. в постменопаузе.

Полученные данные, демонстрирующие более низкое содержание α-токоферола и ретинола в постменопаузе согласуются с рядом исследований [4, 5]. Вероятнее всего, это связано с их расходом на инактивацию

продуктов ПОЛ, интенсивность которого нарастает с возрастом [7]. Вследствие недостатка в организме α-токоферола происходит дестабилизация клеточных мембран, снижается их текучесть и продолжительность жизни эритроцитов. Дефицит в мембранах клеток витамина Е приводит к распаду ненасыщенных жирных кислот, а также к уменьшению их белкового состава [1]. Влияние α-токоферола на репродуктивную систему несомненно вследствие его участия в стимуляции стероидогенеза в яичниках, а также биосинтеза белка в эндометрии и других органах-мишенях стероидных гормонов. Таким образом, недостаточный уровень данного антиоксиданта в организме способствует нарушению и угасанию репродуктивной функции [8, 9].

Функциональные взаимосвязи между параметрами системы АОЗ в исследуемых группах

Корреляционная связь	Перименопауза	Постменопауза
$\alpha$ -токоферол – ретинол	0,47	0,58
$\alpha$ -токоферол – GSH	0,38	
Ретинол – GSH	0,52	
GSH – мелатонин 12.00–13.00	0,48	
GSSG – мелатонин 06.00–07.00	0,40	
Общая АOA – GSSG		-0,36
Ретинол – мелатонин 23.00–00.00		-0,34

Другим жирорастворимым, не менее эффективным антиоксидантом является ретинол. С одной стороны, он взаимодействует со свободными радикалами различных видов, с другой стороны – обеспечивает стационарный уровень  $\alpha$ -токоферола посредством усиления его антиоксидантного действия [10]. Это подтверждают и выявленные в данном исследовании функциональные взаимосвязи между данными антиоксидантами (таблица).

Еще одной функцией ретинола является способность совместно с аскорбатом участвовать в ингибировании включения селена в состав глутатионпероксидазы. Фермент разлагает гидроперекиси, тем самым препятствуя их вовлечению в окислительный цикл и, наряду с токоферолом, практически полностью подавляет чрезмерную активацию свободнорадикальных процессов в биологических мембранах [11]. Взаимосвязь  $\alpha$ -токоферола и ретинола с глутатионовой системой подтверждается их корреляциями с GSH у женщин в перименопаузе.

К настоящему времени показано, что старение ассоциировано с прогрессирующим окислением глутатиона и других тиоловых соединений, следствием чего является снижение уровня GSH и, соответственно, соотношения GSH/GSSG [6]. В данном исследовании не выявлено изменений в уровне GSH у женщин постменопаузального возраста, однако содержание GSSG у них увеличено. Данный факт может быть следствием изменения в работе энзимного звена глутатионовой системы – повышения активности глутатионпероксидазы, либо снижения активности глутатионредуктазы [12].

Одним из представительных антиоксидантов является гормон мелатонин, обладающий более выраженными антиоксидантными свойствами, чем у витамина E и глутатиона, и его антиоксидантный эффект реализуется как путем прямого действия на свободные радикалы, так и через

активацию ферментативного звена системы АОЗ, катализируя работу каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы [1]. Подтверждением этого являются и выявленные корреляционные взаимосвязи между мелатонином и глутатионом у женщин в перименопаузе.

Результаты исследования циркадных ритмов секреции мелатонина у женщин в разных фазах климактерического периода представлены на рис. 4. Полученные данные подтверждают хронобиологические аспекты секреции мелатонина, продемонстрированные в многочисленных исследованиях, согласно которым у здоровых людей уровень гормона начинает повышаться в вечернее время, достигая максимума в ночное время суток [13]. Достоверно значимые различия между ранними утренними часами и дневными, а также вечерними и ночными часами выявлены в обеих исследуемых группах. Более того, у женщин в перименопаузе обнаружен более высокий уровень мелатонина в ночное время по сравнению с ранними утренними часами ( $10,84 \pm 7,33$  пг/мл против  $5,93 \pm 4,51$  пг/мл соответственно ( $p < 0,05$ )).

При оценке циркадной ритмики секреции мелатонина в зависимости от фазы климактерия выявлено, что у женщин в постменопаузальном периоде уровень гормона в дневные, вечерние и ночные часы значимо снижен по сравнению с группой женщин в перименопаузе (в 1,94 раза ( $p < 0,05$ ), в 3,22 раза ( $p < 0,05$ ) и в 1,54 раза ( $p < 0,05$ ) соответственно), что согласуется с результатами проведенных ранее исследований, где показано возрастзависимое уменьшение уровня мелатонина. Учитывая функциональные изменения в эпифизе при старении, полученные результаты подтверждают данные о возрастном снижении основной функции шишковидной железы [14].



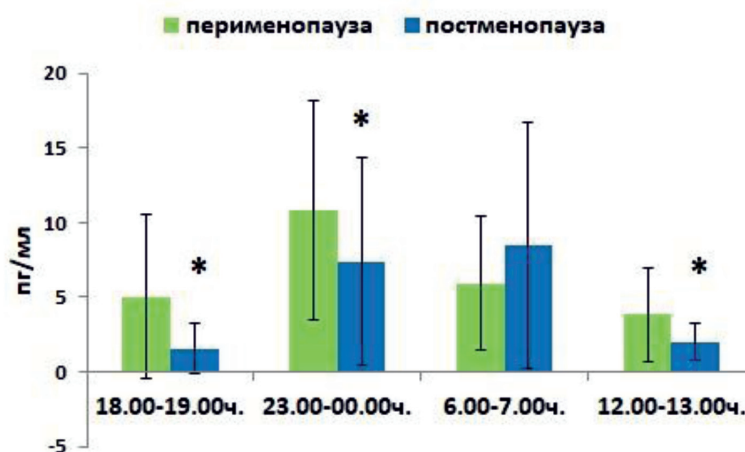


Рис. 4. Циркадная ритмика секреции мелатонина у женщин в разных фазах климактерического периода. Примечание. \* – статистически значимые межгрупповые различия

Принимая во внимание отсутствие достоверно значимых различий по структуре соматической патологии между исследуемыми группами, результаты настоящего исследования согласуются с одним из заключений научной литературы, постулирующем следующее: в органах и тканях без возрастной патологии при старении происходит снижение активности энзимных и неэнзимных компонентов системы АОЗ, что может отражать возрастное уменьшение интенсивности окислительного метаболизма. В случае наличия какого-либо заболевания отмечается повышение активности антиоксидантов, свидетельствуя об интенсификации свободнорадикальных процессов, либо отсутствие каких-либо изменений в соответствующих органах и тканях [15].

### Заключение

Полученные в ходе данного исследования результаты свидетельствуют о снижении ресурсов неферментативного звена системы АОЗ, таких как  $\alpha$ -токоферол, ретинол, мелатонин, у женщин по мере прогрессирования климактерического периода, что может являться показанием к назначению антиоксидантной терапии у данной когорты населения в целях профилактики и коррекции окислительного стресса.

Исследование выполнено благодаря финансовой поддержке Совета по грантам Президента РФ (МК–3615.2017.4).

### Список литературы

1. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З., Бондарь И.А., Труфакин В.А. Окислительный стресс. Патологические состояния и заболевания. – Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2017. – 284 с.
2. Kolesnikova L.I., Darenskaya M.A., Grebenkina L.A., Dolgikh M.I., Semenova N.V. Adaptive reactions of lipid metabolism in indigenous and non-indigenous female individuals of

tofararian population living under extreme environmental conditions. Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology, 2014, vol. 50, no. 5, pp. 392–398.

3. Kolesnikova L.I., Darenskaya M.A., Grebenkina L.A., Sholokhov L.F., Semenova N.V., Dolgikh M.I., Osipova E.V. Features of compensatory-adaptive reactions of an organism in female representatives of the evenk ethnoses. Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology, 2016, vol. 52, no. 6, pp. 440–445.

4. Mata-Granados J.M., Cuenca-Acebedo R., Luque de Castro M.D., Quesada Gomez J.M. Lower vitamin E serum levels are associated with osteoporosis in early postmenopausal women: a cross-sectional study. Journal of Bone and Mineral Metabolism, 2013, vol. 31, no. 4, pp. 455–460.

5. Ziaei S., Kazemnejad A., Zareai M. The effect of vitamin E on hot flashes in menopausal women. Gynecology and Obstetrics Investigation, 2007, vol. 64, no. 4, pp. 204–207.

6. Droge W., Schipper H.M. Oxidative stress and aberrant signaling in aging and cognitive decline. Aging Cell, 2007, no. 6, pp. 361–370.

7. Колесникова Л.И., Мадаева И.М., Семёнова Н.В., Осипова Е.В., Даренская М.А. Гендерные особенности процессов свободно-радикального окисления липидов при возрастных гормонально-дефицитных состояниях // Вестник РАМН. – 2016. – Т. 71, № 3. – С. 248–254.

8. Agarwal A., Sharma R., Gupta S., Harlev A., Ahmad G., du Plessis S.S., Esteves S.C., Wang S.M., Durairajanayagam D. (Eds.) Oxidative Stress in Human Reproduction: Shedding Light on a Complicated Phenomenon, NY: Springer, 2017, 190 p.

9. Kolesnikova L.I., Kolesnikov S.I., Darenskaya M.A., Grebenkina L.A., Nikitina O.A., Lazareva L.M., Suturina L.V., Danusevich I.N., Druzhinina E.B., Semendyaev A.A. Activity of LPO processes in women with polycystic ovarian syndrome and infertility. Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2017, vol. 162, no. 3, pp. 320–322.

10. Казимирко В.К., Мальцев В.И., Бутылин В.Ю., Горобец Н.И. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная терапия. – Киев: Морион, 2004. – 160 с.

11. Kancheva V.D., Kasaikina O.T. Bio-antioxidants – a chemical base of their antioxidant activity and beneficial effect on human health. Current Medicinal Chemistry, 2013, vol. 20, no. 37, pp. 4784–4805.

12. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Колесников С.И. Свободнорадикальное окисление: взгляд патофизиолога // Биолетень сибирской медицины. – 2017. – Т. 16, № 4. – С. 16–29.

13. Анисимов В.Н., Виноградова И.А. Старение женской репродуктивной системы и мелатонин. – СПб., 2008. – 180 с.

14. Tamura H., Takasaki A., Taketani T., Tanabe M., Lee L., Tamura I., Maekawa R., Aasada H., Yamagata Y., Sugino N. Melatonin and female reproduction. Journal of Obstetrics and Gynaecology Research, 2014, vol. 40, no. 1, pp. 1–11.

15. Кольцов В.К. Свободнорадикальная теория старения: исторический очерк // Успехи геронтологии. – 2000. – № 4. – С. 33–40.