



РОЛЬ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В ГЕНЕЗІ ЕНДОМЕТРІОЗУ

ВСТУП

Ендоменіоз, на жаль, сьогодні став звичним діагнозом у структурі гінекологічних захворювань, набув статусу «тихої епідемії» та може сміливо вважатися хворобою цивілізації. В даний час ендометріоз розглядають як системний патологічний процес (ендометріодна хвороба), в який залучені суміжні органи і системи організму жінки. У розвитку ендометріозу певну роль відіграють генетичні фактори. Ендоменіоз розглядається як типовий представник мультифакторних захворювань, генна природа якого складна і різноманітна. Вона включає гени системи детоксикації ксенобіотиків, гени, відповідальні за імунний статус, ендокринні функції, гени міжклітинних взаємодій, проонкогени та інші.

АНАЛІЗ ЛІТЕРАТУРНИХ ДАНИХ

Забруднення навколишнього середовища сприяє зростанню поширення низки хвороб, у тому числі й ендометріозу. Так, висока частота розвитку захворювання в економічно розвинених країнах, а також досліді, проведені на експериментальних моделях, свідчать про те, що ендометріоз можна вважати екогенетичною хворобою. Потраплення в організм великої кількості ксенобіотиків порушує злагоджену роботу системи детоксикації організму, результатом чого є надлишкове утворення вільних радикалів зі шкідливими наслідками на клітинному рівні [1–3, 7, 8, 11].

Система захисту організму від токсичних речовин складається з фази активації ксенобіотиків, у якій провідне місце займає система цитохрому P450 (CYP); фази нейтралізації, яка здійснюється трансферазами і епоксидгідролазами, і фази виведення з організму. Нерідко проміжні продукти біотрансформації можуть бути дуже токсичними, мати більш виражену мутагенну, канцерогенну дію, ніж вихідні сполуки. За здатністю метаболізувати ксенобіотики розрізняються в індивідів через наявність поліморфних варіантів генів, що є причиною зниження активності або відсутності продукту гена, що в багатьох дослідженнях пов'язують з

підвищеним ризиком розвитку цілого ряду захворювань, в тому числі й ендометріозу [1, 5, 6, 10, 14, 15].

CYP2D6 – фермент першої фази біотрансформації ксенобіотиків. Метаболізує 20–25% лікарських препаратів та токсичних речовин. У різних осіб активність цього ферменту може сильно варіювати. Це пов'язано з тим, що ген CYP2D6 є високо поліморфним: описано більше 70 його алельних варіантів. Найбільш клінічно значимими є мутантні алелі CYP2D6*3 і CYP2D6*4, оскільки вони, у зв'язку з відсутністю ферментативної активності, відповідальні за формування у людини фенотипу «повільних метаболізаторів», який характеризується уповільненням кліренсу лікарських препаратів і зміною відповіді організму на дію ксенобіотиків. 75–90% усіх «повільних метаболізаторів» за CYP2D6 є носіями мутантних алелів CYP2D6*3 і CYP2D6*4. Частота алеля CYP2D6*4 в європейських популяціях досить висока і варіює від 20 до 25% [6–8, 12, 16]. У жителів України розповсюдженість генотипів по алельному варіанту *4 гена CYP2D6 становить відповідно: wt/wt – 64,79%, wt/*4 – 31,35% та *4/*4 – 3,86% [4]. Отримана частота суттєво не відрізняється від частоти у білих європейців.

Глутатіон-S-трансферази (GSTs) є ферментами другої фази метаболізму ксенобіотиків. У людини виділяють кілька класів глутатіон-S-трансфераз: alpha (A), kappa (K), mu (M), omega (O), pi (P), theta (T). Ці ферменти каталізують реакцію кон'югації окисненого глутатіону через сульфгідрильні групи з електрофільними центрами великої різноманітності субстратів, тим самим залучаючись у процес захисту організму проти екзогенних субстратів, таких як канцерогени, лікарські препарати та токсини навколишнього середовища, а також продукти ендогенного походження. Найбільш значущим для генетичних і біомедичних досліджень є функціонально неактивні варіанти генів GSTM1 та GSTT1, які мають значний розмір делеції, внаслідок чого відповідні білкові продукти не синтезуються. Такі генетичні варіанти знижують чутливість індивідів до токсинів, ендогенних метаболітів і



Н.Ф. ЗАХАРЕНКО

к. мед. н., старший науковий співробітник відділу ендокринної гінекології Інституту педіатрії, акушерства та гінекології НАМН України

Т.Ф. ТАТАРЧУК

д. мед. н., професор, член-кор. НАМН України, заступник директора з наукової роботи, завідувача відділенням ендокринної гінекології Інституту педіатрії, акушерства та гінекології НАМН України

Н.В. КОВАЛЕНКО

лікар гінекологічного відділення
КМЛ № 9



РИСУНОК 1. РОЗПОДІЛ ГЕНОТИПІВ ЗА АЛЕЛЬНИМИ ВАРІАНТАМИ ГЕНА CYP2D6*4 У ЖІНОК, ХВОРИХ НА ЕНДОМЕТРИОЗ

лікарських речовин. За даними різних авторів, функціонально неактивний варіант гена GSTM1 у гомозиготному стані присутній у 40–50% білих європейців [8–10]. Для населення України частота цього генотипу становить 49% [2].

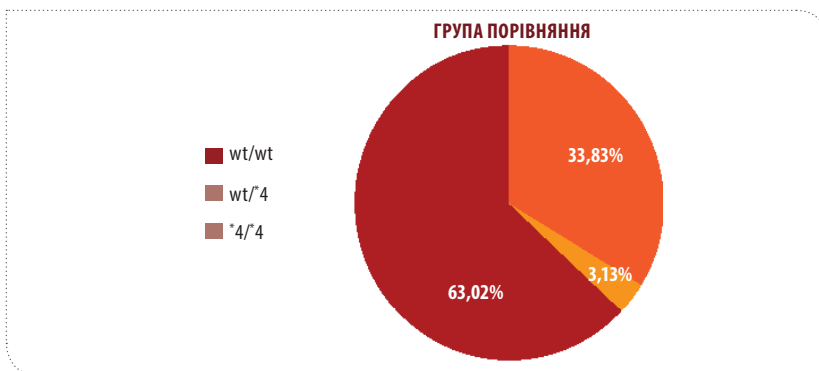


РИСУНОК 2. РОЗПОДІЛ ГЕНОТИПІВ ЗА АЛЕЛЬНИМИ ВАРІАНТАМИ ГЕНА CYP2D6*4 У ЖІНОК З ГРУПИ ПОРІВНЯННЯ

Виявлено, що 15–30% європеїдів, 22–29% негроїдів і 38–58% монголоїдів є гомозиготними по функціонально неактивному алелю GSTT1 [8, 16, 17]. Для населення України частота цього генотипу становить 19% [2].

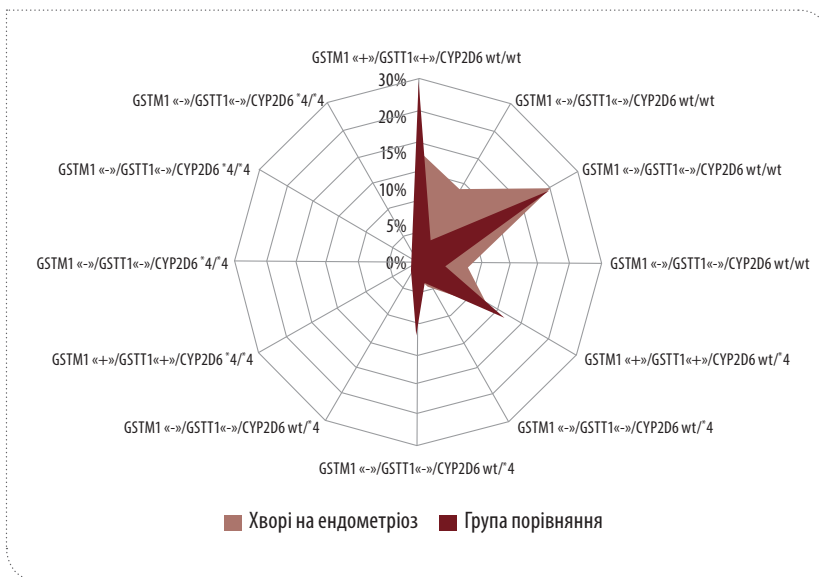


РИСУНОК 3. ЧАСТОТА ВИЯВЛЕННЯ АСОЦІАЦІЙ ПОЛІМОРФНИХ ВАРІАНТІВ ГЕНІВ GSTM1, GSTT1 ТА CYP2D6*4 У ХВОРИХ НА ЕНДОМЕТРИОЗ ТА У ГРУПИ ПОРІВНЯННЯ

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Нами було проведено порівняння частот алельних варіантів генів GSTM1, GSTT1, CYP2D6 у жінок з ендометріозом (139 осіб) та практично здорових жінок (192 жінки контрольної групи).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У жінок, хворих на ендометріоз, «дикий тип» гена CYP2D6 в гомозиготному стані (wt/wt) було виявлено у 65,47% випадків, гетерозиготи (wt/*4) склали 26,62%, гомозиготи по алелю *4 (*4/*4) – 7,91% (рис. 1).

У жінок з групи порівняння ці показники склали відповідно 63,02%, 33,85% і 3,13% (рис. 2).

При аналізі частот поєднань алельних варіантів генів GSTM1, GSTT1 та CYP2D6 *4 у хворих на ендометріоз та в групі порівняння було виявлено достовірну різницю між частотами поєднань генотипів GSTM1 «+» /GSTT1 «+» /CYP2D6 wt/wt у хворих на ендометріоз та в групі порівняння – 17,27% у хворих на ендометріоз та 27,08% в групі порівняння ($\chi^2 = 3,86$; відносний ризик [BP] = 0,56, 95% довірчий інтервал [ДІ] 0,33–0,97), (протективний генотип); GSTM1 «+» /GSTT1 «-» /CYP2D6 wt/wt та GSTM1 «+» /GSTT1 «+» /CYP2D6 *4/*4 – підвищений ризик розвитку захворювання ($\chi^2 = 6,20$; BP = 2,88, 95% ДІ 1,30–6,41) та ($\chi^2 = 3,93$; BP = 8,62, 95% ДІ 1,03–72,04) відповідно (рис. 3).

Було виявлено вірогідну різницю поєднань алельних варіантів генів GSTT1 та CYP2D6 між жінками, хворими на ендометріоз, та контрольною групою: асоціації алельних варіантів GSTT1 «-» /CYP2D6 wt/wt та GSTT1 «+» /CYP2D6 *4/*4 при ендометріозі зустрічались вірогідно частіше, ніж в контрольній групі – для асоціації алельних варіантів GSTT1 «-» /CYP2D6 wt/wt – в 22,30% випадків у хворих на ендометріоз та в 10,42% випадків у контрольній групі ($\chi^2 = 8,74$; BP = 2,47, 95% ДІ 1,34–4,55); для асоціації алельних варіантів GSTT1 «+» /CYP2D6 *4/*4 – в 7,19% випадків у хворих на ендометріоз та в 1,56% випадків у контрольній групі ($\chi^2 = 5,37$; BP = 4,88, 95% ДІ 1,32–18,09).

При аналізі частот поєднань алельних варіантів генів GSTM1, GSTT1 та CYP2D6 *4 у хворих на ендометріоз та в групі порівняння було виявлено достовірну різницю між частотами поєднань генотипів GSTM1 «+» /GSTT1 «+» /CYP2D6 wt/wt у хворих на ендометріоз та в групі порівняння – 17,27% у хворих на ендометріоз та 27,08% в групі порівняння ($\chi^2 = 3,86$; BP = 0,56, 95% ДІ 0,33–0,97), (протективний генотип); GSTM1 «+» /GSTT1 «-» /CYP2D6 wt/wt та GSTM1 «+» /GSTT1 «+» /CYP2D6 *4/*4 – підвищений ризик розвитку захворювання ($\chi^2 = 6,20$; BP = 2,88, 95% ДІ 1,30–6,41) та ($\chi^2 = 3,93$; BP = 8,62, 95% ДІ 1,03–72,04) відповідно. Тобто наявність нефункціональної алелі генів 1 або 2 фази детоксикації ксенобіотиків підвищує ризик розвитку ендометріозу.

Клінічні ефекти нефункціональних алельних варіантів ферментів CYP2D6 та GSTs проявляються, як правило, якщо є надлишок субстрату, в метаболізмі якого вони беруть

ТАБЛИЦЯ. ПОКАЗНИКИ ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНИХ ПРОЦЕСІВ У ЖІНОК ДОСЛІДНИХ ТА КОНТРОЛЬНОЇ ГРУП (M ± m)

Показник	Групи			
	I (n = 65)	II (n = 62)	III (n = 25)	IV (n = 65)
ДК, мкмоль/мл	27,6 ± 3,04*	28,6 ± 2,01*	29,2 ± 0,8*	9,8 ± 1,6
МДА, мкмоль/л	20,86 ± 0,6*	20,77 ± 1,01*	21,02 ± 0,93*	11,2 ± 0,9
СОД, УО/мл/хв	4,01 ± 0,33*	4,30 ± 0,25*	3,97 ± 0,84*	6,8 ± 0,8
ВГ, мкмоль/мл	2,1 ± 0,26*	2,24 ± 0,18*	2,02 ± 1,70; T = 1,2	3,5 ± 0,6

* різниця вірогідна відносно показника контрольної групи (p < 0,05)

участь. У зв'язку з цим нам здалось доцільним дослідити стан процесів перекисного окислення ліпідів у жінок досліджуваних груп: I групу склали жінки з аденоміозом, II групу – із зовнішнім генітальним ендометріозом, III групу – із екстрагенітальним ендометріозом, IV була групою контролю.

Стан прооксидантних процесів оцінювали за вмістом в крові первинних та вторинних продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) – дієнових кон'югатів (ДК) та малонового діальдегіду (МДА). Про активність антиоксидантних процесів робили висновок за вмістом супероксиддисмутази (СОД) та відновленого глутатіону (ВГ). Середні показники вмісту як ДК, так і МДА у жінок усіх основних груп були достовірно вищими порівняно з групою контролю. Так, у жінок з аденоміозом ці показники становили 27,6 ± 3,04 та 20,86 ± 0,6 мкмоль/л відповідно, у жінок II дослідної групи 28,6 ± 2,01 та 20,77 ± 1,01 мкмоль/л, а в III групі – 29,2 ± 0,8 та 21,2 ± 0,93 мкмоль/л відповідно. При цьому дані показники практично не різнилися між групами з різними формами ендометріозу (таблиця, p < 0,05).

Середні показники СОД у жінок з різними формами ендометріозу суттєво не відрізнялися, проте були вірогідно нижчими в порівнянні з групою контролю. Так, у жінок I дослідної групи цей показник склав 4,01 ± 0,33 ударний об'єм (УО)/мл/хв, у II групі – 4,30 ± 0,25 УО/мл/хв, в III – 3,97 ± 0,84 УО/мл/хв, тоді як у групі контролю – 6,8 ± 0,8 УО/мл/хв (таблиця, p < 0,05).

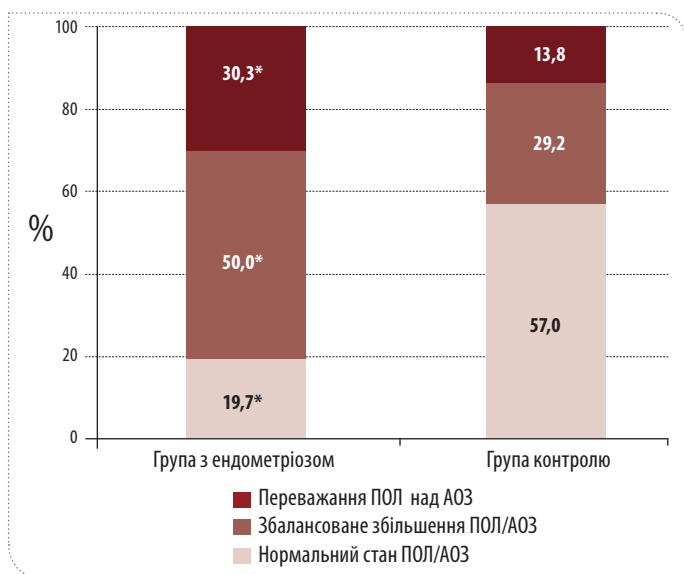


РИСУНОК 5. ЧАСТОТА СПІВВІДНОШЕННЯ АКТИВНОСТІ ПОЛ/АО3 У ЖІНОК З ЕНДОМЕТРІОЗОМ ДО ТА ПІСЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ ПРЕПАРАТУ МАЛЬТОФЕР

* різниця вірогідна відносно показників після завершення дослідження (p < 0,05)

Показники відновленого глутатіону також були нижчими порівняно з групою контролю і склали: у жінок I дослідної групи 2,1 ± 0,26 УО/мл/хв (p < 0,05), в II групі – 2,24 ± 0,18 УО/мл/хв (p < 0,05), в III групі – 2,02 ± 1,70 УО/мл/хв (p < 0,05, t = 1,2), тоді як у групі контролю цей показник склав 3,5 ± 0,6 УО/мл/хв (таблиця).

Отримані результати показали, що у жінок з ендометріозом, незалежно від локалізації ендометріюїдних вогнищ, активність процесів ПОЛ є вищою в порівнянні з контрольною групою здорових жінок.

Важливим та інформативним є визначення співвідношення активності прооксидантних та антиоксидантних процесів, що є маркером тривалості перебування в стані хронічного стресу та наближення до стадії дистресу або кризи.

Підвищення концентрації ДК та МДА в поєднанні з підвищеними концентраціями СОТ та ВГ вказує на помірну тривалість перебування в стані хронічного стресу та успішне протистояння антиоксидантного захисту надлишку вільно радикальних сполук. У тому випадку, коли рівні МДА підвищені в два та більше разів, а рівні СОД та ВГ є зниженими, можна говорити про виснаження антиоксидантних систем внаслідок тривалого перебування в стані хронічного стресу, тобто про наближення до зриву адаптації.

Переважає ПОЛ над антиоксидантним захистом (АОЗ) спостерігалось у 46 випадках (30,2%) жінок дослідних груп та у 9 випадках (13,8%) жінок контрольної групи (рис. 4, p < 0,05). Отже, достовірно більша частка жінок з ендометріозом характеризувалась наявністю вираженого тканинного стресу.

Напружений, але збалансований стан процесів ПОЛ та АОЗ спостерігався у 26 пацієток до застосування препаратів тривалентного заліза та у 28 пацієток після застосування препарату Мальтофер (p > 0,05). Однак варто відмітити суттєве збільшення частки пацієток з нормальним станом співвідношення ПОЛ/АОЗ (7 проти 16) після прийому тривалентного заліза. Прояви оксидативного стресу після застосування препарату Мальтофер мали місце лише у 11,54% пацієток (проти 32,6% на початку дослідження).

ВИСНОВОК

Отримані результати дослідження дозволяють зробити висновок, що одним із шляхів нівелювання оксидативного стресу у жінок з ендометріозом можна вважати застосування препаратів тривалентного заліза, зважаючи на особливість його засвоєння та мінімізацію ризику поглиблення оксидативного стресу, а також враховуючи роль зв'язаного заліза в окисно-відновних процесах організму.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. **Иващенко Т.Э., Швед Н.Ю., Беспалова О.Н. и др.**
Генетические основы предрасположенности к акушерской и гинекологической патологии // Молекулярная медицина. – 2007. – № 3. – С. 19–26.
Ivashchenko T.E., Swed N.Y., Bepalova O.N. et al.
«Genetic basis of susceptibility to obstetrical and gynecological pathology.» Molecular Medicine, 3(2007):19-26.
2. **Горovenko Н.Г., Подольська С.В.**
Роль генетично обумовлених змін системи детоксикації у розвитку патологічних станів // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика. – 2010. – Вип.19. – Кн.3. – С. 88–94.
Horovenko N.G., Podolskaya S.
«The role of genetically determined changes of detoxification system in the development of pathological conditions.» Collected Works of employees of the NMAPE named after P.L. Shupyk, 19(Book 3) (2010):88-94.
3. **Крамарева Н.Л.**
Значение компонентов иммунной системы и генетических факторов в патогенезе и терапии наружного генитального эндометриоза // Автореферат дисс. ... на стиск. Уч. ст. канд. мед. наук. СПб. – 2002. – 24 с.
Kramareva N.L.
«Role of components of the immune system and genetic factors in the pathogenesis and treatment of external genital endometriosis.» Author's abstract ... thesis for a PhD. St. Petersburg, (2002): 24 p.
4. **Левкович Н.М., Россоха З.І., Горovenko Н.Г.**
Аналіз частоти алельного варіанту *4 гена CYP2D6 у жителів України // Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика. – 2010. – Вип. 19. – Кн. 3. – С. 224–234.
Levkovich N.M., Rossokha Z.I., Horovenko N.G.
«Analysis of the frequency of allelic variant * 4 gene CYP2D6 in population of Ukraine.» Collected Works of employees of the NMAPE named after P.L. Shupyk, 19(Book 3) (2010):224-234.
5. **Кулинский В.И., Колесниченко Л.С.**
Система глутатиона I. Синтез, транспорт, глутатионтрансферазы, глутатионпероксидазы // Биомедицинская химия. – 2009. – Т. 55. – № 3. – С. 255–277.
Kulinskiy V.I., Kolesnichenko L.S.
«Glutathione system I. Synthesis, transport, glutathione, glutathione peroxidase.» Biomedical Chemistry, 55(3) (2009):255-277.
6. **Курашвили В.А., Майлэм Л.**
Новые возможности предотвращения оксидативного стресса // Журнал натуральной медицины. – 2001. – № 1. – С. 91–142.
Kurashvili V.A., Maylem L.
«New in preventing of the oxidative stress.» Journal of Natural Medicine, 1(2001):91-142.
7. **Нагорная Н.В., Четверик Н.А.**
Оксидативный стресс: влияние на организм человека, методы оценки // Современная педиатрия. – 2010. – № 2. – С. 89–93.
Nagornaya N.V., Chetverik N.A.
«Oxidative stress: effects on the human body, evaluation methods.» Contemporary Pediatrics, 2(2010):89-93.
8. **Arand M., Muhlbauer R., Hengstler J., Jager E., Fuchs J., Winkler L., Oesch F.A.**
«A Multiplex Polymerase Chain Reaction Protocol for the Simultaneous Analysis of the Glutathione S-Transferase GSTM1 and GSTT1 Polymorphisms.» Analytical Biochemistry, 236(1996):184-186.
9. **Borghese B., Vaiman D., de Ziegler D. et al.**
«Endometriosis and genetics: what responsibility for the genes?» J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod, 39(3) (2010):196-207
10. **Fauconnier A., Chapron C., Dubuisson J.B., Vieira M., Dousset B., Breart F.A.**
«Relation between pain symptoms and the anatomic location of deep infiltrating endometriosis.» 78(4) (2002):719-726.
11. **Dun E.C., Taylor R.N., Wieser F.**
«Advances in the genetics of endometriosis.» Genome Med, 2(10) (2010):75.
12. **Gupta S. et al.**
«Role of oxidative stress in endometriosis.» Reproductive BioMedicine Online, 13(1) (2006):126-134.
13. **Garte S., Gaspari L., Alexandrie A.K. et al.**
«Metabolic gene polymorphism frequencies in control population.» Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev, 10(2001):1239-1248.
14. **Geisser P.**
«Iron Therapy with Special Emphasis on Oxidative Stress.» Dtsch.med.Wschr, 121(1996):1301-1302.
15. **Stefansson H., Geirsson R.T., Steinthorsdottir V. et al.**
«Genetic factors contribute to the risk of developing endometriosis.» Hum. Reprod, 17(2002):555-559.
16. **Tempfer C.B., Simoni M., Destenaves B., Fauser B.C.**
«Functional genetic polymorphisms and female reproductive disorders: part II – endometriosis.» Hum Reprod Update, 15(1) (2009):97-118.
17. **Zhou S.F.**
«Polymorphism of human Cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: Part I.» Clin. Pharmacogenet, 48(11) (2009):689-732.

РОЛЬ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА В ГЕНЕЗЕ ЭНДОМЕТРИОЗА

Н.Ф. Захаренко, к. мед. н., старший научный сотрудник отдела эндокринной гинекологии Института педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины
Т.Ф. Татарчук, д. мед. н., профессор, член-корр. НАМН Украины, зам. директора по научной работе, заведующая отделением эндокринной гинекологии Института педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины
Н.В. Коваленко, доктор гинекологического отделения КГБ № 9

Было проведено сравнение частот аллельных вариантов генов GSTM1, GSTT1, CYP2D6 у женщин с эндометриозом (139 человек) и практически здоровых женщин (192 женщины контрольной группы), а также изучено состояние процессов перекисного окисления липидов у женщин исследуемых групп.

Полученные результаты показали, что у женщин с эндометриозом, независимо от локализации эндометриозных очагов, активность процессов перекисного окисления липидов выше по сравнению с контрольной группой здоровых женщин. Это свидетельствует о важности оксидативного стресса в формировании эндометриоза. Также полученные результаты исследования позволяют сделать вывод, что одним из путей нивелирования оксидативного стресса у женщин с эндометриозом можно считать применение препаратов трехвалентного железа (Мальтофер), ввиду особенности их усвоения и минимизации риска усиления оксидативного стресса.

Ключевые слова: эндометриоз, оксидативный стресс, перекисное окисление липидов, трехвалентное железо, Мальтофер.

ROLE OF OXIDATIVE STRESS IN GENESIS OF ENDOMETRIOSIS

N.F. Zakharenko, PhD, Senior Researcher of the Endocrine Gynecology Department, Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology of the NAMS of Ukraine
T.F. Tatarchuk, MD, professor, corresponding member of the NAMS of Ukraine, Deputy Director for Research Work, Head of the Endocrine Gynecology Department, Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology of the NAMS of Ukraine

N.V. Kovalenko, doctor of the Gynecological Department, Clinical City Hospital number 9, Kiev

A comparison of frequencies of allelic variants of genes GSTM1, GSTT1, CYP2D6 in women with endometriosis (139 women) and healthy women (192 women in the control group) was made, and the state of lipid peroxidation in women studied groups was study.

The results showed that activity of lipid peroxidation higher in women with endometriosis, regardless of the site of endometriotic lesions, compared with the control group of healthy women. This demonstrates the importance of oxidative stress in the endometriosis formation.

Also, the results of research suggest that one way of leveling oxidative stress in women with endometriosis can be used of ferric drugs (Maltofer), due to the peculiarities of their digestion and minimize the risk of oxidative stress worsening.

Key words: endometriosis, oxidative stress, lipid peroxidation, ferric iron, Maltofer.