

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

СИСТЕМА L-АРГИНИН/ МОНООКСИД АЗОТА
У ЖЕНЩИН В ПОСТМЕНОПАУЗЕ

Н. И. КИСЕЛЕВА

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Реферат

Целью исследования явилось изучение состояния системы L – аргинин / монооксид азота у женщин с хирургической и естественной менопаузой. Обследованы 213 женщин перименопаузального возраста, разделенных на три группы: I группа – 98 женщин с хирургической менопаузой, II группа – 75 женщин с естественной менопаузой, контрольная группа – 40 женщин позднего репродуктивного и пременопаузального возрастов.

Ключевые слова: менопауза, монооксид азота, хирургическая менопауза, L-аргинин.

У женщин с хирургической и естественной менопаузой выявлены нарушения в системе L-аргинин/ монооксид азота, характеризующиеся снижением синтеза монооксида азота (на 26,7% и на 16,2% соответственно) вследствие дефицита субстрата для NO синтаз – L-аргинина (снижение на 44,0% и 34,3% соответственно). Снижение образования NO является причиной уменьшения выраженности вазодилатирующего эффекта монооксида азота на сосудистую стенку, что подтверждается неадекватной (6,0 (3,1; 9,3)% и 8,6 (5,6; 13,3)% соответственно) реакцией плечевой артерии на напряжение сдвига.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы активно проводятся исследования относительно роли системы L-аргинин/монооксид азота (NO) в регуляции физиологических процессов и в формировании эндотелиальной дисфункции [3], но результаты их неоднозначны. Одни авторы считают, что система L-аргинин/NO не причастна к нарушению функционального состояния эндотелия у женщин в постменопаузе, так как синтез NO не меняется или возрастает [1, 2, 4]. Другие исследователи полагают [5], что дисфункция этой системы - ведущая причина нарушений функционального состояния эндотелия и развития осложненного течения постменопаузы.

Все это обуславливает дальнейшее изучение вопроса о роли свободного L-аргинина и, в целом, системы L-аргинин / NO в возникновении дисфункции эндотелия у женщин с хирургической и естественной менопаузой.

Цель исследования - изучить состояние системы L – аргинин / монооксид азота у женщин с хирургической и естественной менопаузой.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами обследовано 213 женщин перименопаузального возраста, разделенных на три группы:

I группа – 98 женщин с хирургической менопаузой,

II группа – 75 женщин с естественной менопаузой, контрольная группа – 40 женщин позднего репродуктивного и пременопаузального возрастов.

Критериями включения в I группу были: возраст 44-57 лет, двусторонняя овариэктомия в анамнезе. Средний возраст женщин на момент обследования составил $50,8 \pm 3,3$ года, возраст проведения оперативного вмешательства – $49,1 \pm 3,1$ года, длительность менопаузы – $1,0 (0,8; 1,7)$ год.

Критерии включения пациенток во II группу обследования: возраст 44-57 лет, аменорея 1 год и более, наличие клинических и лабораторных (уровень фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) в крови более 30 МЕ/л) признаков эстрогенного дефицита. Средний возраст пациенток на момент обследования составил $50,5 \pm 3,1$ лет, возраст наступления менопаузы – $49,2 \pm 3,3$ года, длительность менопаузы – $1,3 (1,0; 3,0)$ года.

Критериями включения пациенток в контрольную группу исследования явились: возраст 43-55 лет, наличие менструаций. На момент обследования средний возраст женщин данной группы – $48,8 \pm 3,0$ лет.

Из исследования были исключены женщины с артериальной гипертензией II-III степени, ишемической болезнью сердца, острыми инфекционными заболеваниями, сопутствующими заболеваниями в стадии декомпенсации, острыми нарушениями мозгового кровообращения или преходящими нарушениями мозгового кровообращения в анамнезе, инфарктом миокарда и онкологическими заболеваниями в анамнезе, нарушениями со стороны свертывающей системы крови, ожирением (индекс массы тела более 40,0), приемом каких-либо гормональных препаратов в течение 6

месяцев до начала обследования. Все пациентки дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Определение нитратов и нитритов в плазме крови осуществляли по методу Грисса в модификации И.С. Веремей и соавторов (2000) [95]. Принцип метода основан на использовании в качестве восстановителя нитратов в нитриты однократной навески цинковой пыли, обработанной аммиачным комплексом сульфата меди с последующим фотометрическим определением нитрит-ионов в реакции Грисса.

Содержание свободного аргинина (наряду с другими аминокислотами) определяли по стандартной методике обращеннофазной хроматографии с предколоночной дериватизацией 0,4% офталевым альдегидом и 0,3% 3-меркаптопропионовой кислотой в 0,4М Натриум-буфере, рН 9,4 и детектированием по флуоресценции (231/445 нм). Оценка полученных значений производилась программой AgilentChemStation V.04.02 путем сравнения результатов анализа исследуемых биологических объектов со стандартной калибровочной кривой искусственной смеси аминокислот. Последняя содержала равные количества определяемых соединений по 500 нмоль/мл каждого и обрабатывалась так же, как соответствующие пробы (плазмы или ткани). Использовался концентрат стандартной смеси физиологических аминокислот (кислых, нейтральных и основных) фирмы «Aldrich» (США).

Изучение сосудодвигательной функции эндотелия проводили, используя пробы с реактивной гиперемией (временная окклюзия сосуда) и нитроглицерином методом доплерографии с применением линейного датчика 7,5 МГц ультразвукового аппарата «Fucuda» [241].

Дилатация плечевой артерии на фоне реактивной гиперемии более чем на 10% от исходного диаметра считалась нормальной ее реакцией, указывающей на сохранность функции эндотелия. Незначительная степень вазодилатации плечевой артерии или парадоксальная ее вазоконстрикция в ответ на кратковременную окклюзию считались патологическими и свидетельствовали о дисфункции эндотелия.

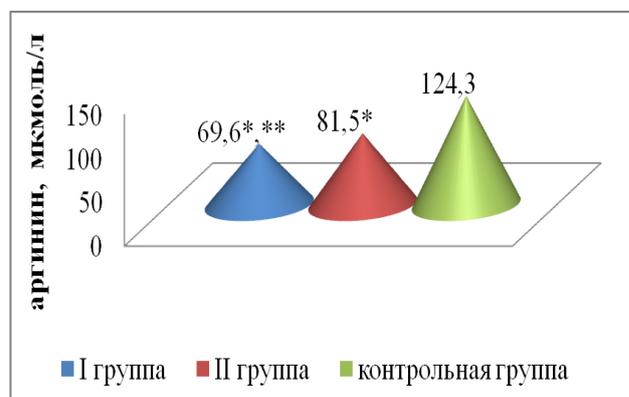
Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета прикладных программ «STATISTICA 6.0», Microsoft Excel. Были использованы модули Basic Statistic/Tables, Nonparametrics. В случае распределения признака, отличного от нормального, результаты представляли как Me (25%; 75%), где Me – медиана, а (25%, 75%) – 25-й и 75-й процентиля. При сравнении двух независимых групп по количественному признаку, не подчиняющемуся нормальному распределению, использовали U-критерий Манна-Уитни. Для сравнения количественного признака в трех и более независимых группах пользовались методом Крускала-Уоллиса. В случае выявления различий проводили попарное сравнение групп с помощью теста Манна-Уитни, применяя поправку Бонферрони. Для анализа взаимосвязи признаков применяли метод непараметрического корреляционного анализа (ранговая корреляция по Спирмену – R). Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости р принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Данные о содержании аргинина в сыворотке крови у обследованных женщин приведены на рисунке 1.

Как видно из данных, представленных на рисунке 1, у женщин с хирургической менопаузой медианное значение уровня свободного аргинина в сыворотке крови было на 14,7% ниже ($p < 0,05$), чем у женщин с естественной менопаузой и на 44,0% ниже по сравнению с женщинами контрольной группы ($p < 0,05$). У женщин с естественной менопаузой медиана аргинина составила 81,5 (61,9; 100,9) мкмоль/л, что на 34,3% меньше аналогичного показателя контрольной группы.

Снижение содержания свободного аргинина у пациенток с хирургической и естественной менопаузой,



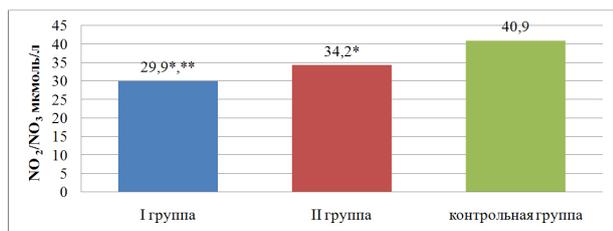
* – статистически значимые ($p < 0,001$) различия при сравнении показателя с контрольной группой; ** – при сравнении показателя между I и II группами ($p < 0,05$)

Рис. 1 – Содержание аргинина у обследованных женщин

более выраженное при тотальной овариэктомии, может приводить к снижению синтеза NO и, как следствие, к формированию и прогрессированию дисфункции эндотелия, к развитию менопаузальных нарушений.

Данные о содержании стабильных продуктов деградации монооксида азота ($\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$) в плазме крови у обследованных женщин приведены на рисунке 2.

Как видно из данных, представленных на рисунке 2, у женщин с хирургической и естественной менопаузой по сравнению с женщинами позднего репродуктивного и пременопаузального возрастов имеет место статистически значимое снижение содержания стабильных продуктов деградации NO в плазме крови. Так, у пациенток с естественной менопаузой медиана концентрации $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ была на 16,2% ниже, чем в контрольной группе ($p < 0,05$), а у пациенток с хирургической менопаузой – на 26,7% ниже ($p < 0,001$). Возможно, это обусловлено имеющимся у женщин в постменопаузе дефицитом эстрогенов. В условиях гипоестрогемии, возникающей в результате возрастного угасания функции яичников или вследствие



* – статистически значимые (p<0,001) различия при сравнении показателя с контрольной группой;
 ** – при сравнении показателя между I и II группами (p<0,05)

Рис. 2 – Содержание стабильных продуктов деградации монооксида азота (NO₂/NO₃) у обследованных женщин

овариэктомии, потеря защитного эффекта эстрогенов приводит к нарушению функционального состояния и структурной целостности эндотелия, и, как следствие, к дисфункции эндотелия, характеризующейся нарушением продукции и/или действия NO в эндотелиоцитах.

Необходимо отметить, что содержание стабильных продуктов деградации NO зависит от типа менопаузы. Так, у женщин с хирургической менопаузой имеет место самое низкое значение медианного показателя продукции метаболитов NO - 29,90 (20,80; 37,78) мкмоль/л, которое статистически значимо ниже (p<0,001) по сравнению с показателем у женщин с естественной менопаузой (p<0,001) и у женщин позднего репродуктивного и перименопаузального возрастов. Это можно объяснить тем, что у пациенток после билатеральной овариэктомии эндокринная перестройка происходит в более быстрые сроки и сопровождается более выраженным дефицитом эстрогенов, чем у пациенток с естественной менопаузой, при которой

угасание функции яичников происходит постепенно.

Снижение образования NO может служить причиной уменьшения выраженности вазодилатирующего эффекта монооксида азота на сосудистую стенку. Исследование вазорегулирующей функции эндотелия сосудов с применением ультразвука высокого разрешения в пробах с реактивной гиперемией и приемом нитроглицерина проведено у 98 женщин с хирургической (I группа), у 69 женщин с естественной (II группа) менопаузой (таблица 1). Контрольную группу составили 27 женщин позднего репродуктивного и перименопаузального возрастов.

Как видно из данных, представленных в таблице 1, статистически значимых различий по исходному диаметру плечевой артерии и исходной скорости кровотока между группами обследованных женщин не выявлено.

Проба с реактивной гиперемией у женщин контрольной группы приводила к увеличению диаметра плечевой артерии на 15,2 (11,4; 20,0) % (p<0,001) и скорости кровотока в ней на 20,7 (3,4; 32,0)% (p<0,01) по сравнению с исходным уровнем, что свидетельствует о сохранении вазорегулирующей функции эндотелия сосудов.

У пациенток с хирургической менопаузой через 15 сек после кратковременной окклюзии сосуда происходило максимальное, на 6,0 (3,1; 9,3)% (p<0,001), увеличение диаметра плечевой артерии по сравнению с исходным состоянием и увеличение скорости кровотока на 6,7 (4,0; 17,1)% (p=0,005). Однако, медианное значение дилатации, вызванной потоком, в этой группе пациенток было в 2,5 раза меньше (p<0,001), чем у пациенток контрольной группы и в 1,4 раза меньше (p<0,01), чем у пациенток с естественной менопаузой.

Таблица 1. Показатели эндотелий зависимой (ЭЗВД) и эндотелий независимой вазодилатации (ЭНЗВД) у обследованных пациенток (Me(25%; 75%))

Показатели ЭЗВД и ЭНЗВД	Группы обследованных пациенток		
	I группа (n=98)	II группа (n=69)	Контрольная группа (n=27)
Исходный диаметр плечевой артерии, см	0,36 (0,34; 0,39) p*=0,1 p*=0,06	0,35 (0,33; 0,37) p*=0,09	0,35 (0,30; 0,36)
Дилатация, вызванная потоком (ЭЗВД), %	6,0 (3,1; 9,3) p*<0,001 p*<0,01	8,6 (5,6; 13,3) p*<0,001	15,2 (11,4; 20,0)
Дилатация, вызванная нитроглицерином (ЭНЗВД), %	21,1 (16,7; 27,7) p*=0,09 p*=0,1	21,6 (17,6; 31,4) p*=0,9	23,0 (20,0; 29,0)
Исходная скорость кровотока, мм/мин	19,4 (16,4; 22,4) p*=0,79 p*=0,55	19,8 (17,1; 23,2) p*=0,77	19,8 (16,6; 22,4)
Изменения скорости кровотока при реактивной гиперемии, %	6,7 (4,0; 17,1) p*<0,01 p*=0,007	12,1 (2,6; 29,9) p*=0,5	20,7 (3,4; 32,0)

P – вероятность справедливости нулевой гипотезы:

* – при сравнении с пациентками контрольной группы (U-критерий Манна-Уитни);

• - при сравнении с пациентками II группы (U-критерий Манна-Уитни).

Медиана изменения скорости кровотока при реактивной гиперемии у пациенток с хирургической менопаузой была в 3,1 раза меньше ($p < 0,01$), чем у пациенток позднего репродуктивного и пременопаузального возрастов и в 1,8 раза меньше ($p = 0,007$), чем у пациенток с естественной менопаузой.

У женщин с естественной менопаузой проба с реактивной гиперемией приводила к увеличению ($p < 0,001$) диаметра плечевой артерии на 8,6 (5,6; 13,3)% и скорости кровотока в ней на 12,1 (2,6; 29,9)% ($p < 0,001$) по сравнению с исходным уровнем. Медианное значение дилатации, вызванной потоком, в этой группе пациенток было в 1,8 раза меньше ($p < 0,001$), чем у женщин контрольной группы, а медианное значение изменения скорости кровотока при реактивной гиперемии статистически значимо не отличалось от показателя контрольной группы ($p = 0,5$).

После проведения теста с нитроглицерином во всех группах обследованных женщин в одинаковой степени происходило увеличение диаметра плечевой артерии и по показателю ЭНЗВД статистически значимых различий между ними не выявлено. Медианное значение увеличения диаметра плечевой артерии в ответ на прием нитроглицерина свидетельствует о сохранении ЭНЗВД у пациенток с хирургической и естественной менопаузой, позднего репродуктивного и пременопаузального возрастов.

Таким образом, у пациенток с хирургической и естественной менопаузой имеет место снижение чувствительности плечевой артерии к напряжению сдвига, действующего на эндотелий, то есть увеличение скорости кровотока не приводит к соразмерному увеличению диаметра сосуда. Это свидетельствует о нарушении вазорегулирующей функции эндотелия и срыве адаптационно-компенсаторных механизмов в условиях одномоментного или постепенного выключения гормональной функции яичников. При этом у пациенток с хирургической менопаузой отмечалась более выраженная неадекватная реакция плечевой артерии на напряжение сдвига по сравнению с пациентками с естественной менопаузой.

Снижение ЭЗВД при сохранении ЭНЗВД может свидетельствовать о том, что в основе нарушения дилатации плечевой артерии в пробе с реактивной гиперемией у пациенток с хирургической и естественной менопаузой лежит нарушение спонтанного и рецептор-стимулированного высвобождения NO в ответ на увеличение напряжения сдвига, действующего на эндотелий плечевой артерии, вследствие дисфункции эндотелия.

Необходимо отметить, что у женщин с хирургической менопаузой нарушения ЭЗВД были выявлены в 1,3 раза чаще, чем у женщин с естественной менопаузой: 77,6% и 62,3% случаев соответственно, $p = 0,03$. Следовательно, нарушения вазорегулирующей функции эндотелия отмечаются у значительного числа женщин в постменопаузе и с большей частотой у пациенток, которые перенесли тотальную овариэктомию. Это объясняется, прежде всего, реакцией эндотелия крове-

носных сосудов на выраженную гипоэстрогению в условиях отсутствия физиологической адаптации женского организма к новым условиям.

Нами установлено наличие прямой статистически значимой корреляционной связи между ЭЗВД и уровнем аргинина ($R = 0,30$, $p = 0,02$), что, возможно, свидетельствует о роли дефицита аргинина в развитии нарушений вазорегулирующей функции эндотелия у женщин с хирургической и естественной менопаузой.

Таким образом, снижение уровня свободного аргинина и продукции NO у пациенток с хирургической и естественной менопаузой, более выраженное при тотальной овариэктомию, свидетельствует о формировании дисфункции эндотелия в условиях дефицита эстрогенов, приводящей к развитию климактерического синдрома, сердечно-сосудистых заболеваний.

ВЫВОДЫ

1. При климактерическом синдроме у женщин с хирургической и естественной менопаузой выявляются нарушения в системе L-аргинин / монооксид азота, характеризующиеся снижением синтеза монооксида азота (на 26,7% и на 16,2% соответственно) вследствие дефицита субстрата для NO синтаз – L-аргинина (снижение на 44,0% и 34,3% соответственно).
2. Снижение функциональной активности эндотелиальной системы синтеза монооксида азота у пациенток с хирургической и естественной менопаузой приводит к нарушению вазорегулирующей функции эндотелия сосудов в виде неадекватной (6,0 (3,1; 9,3)% и 8,6 (5,6; 13,3)% соответственно) реакции плечевой артерии на напряжение сдвига.
3. Характер функциональных расстройств эндотелия сосудистого русла зависит от типа менопаузы, что подтверждается статистически более значимыми изменениями маркеров дисфункции эндотелия и более высокой частотой встречаемости повреждений эндотелия у пациенток с хирургической менопаузой по сравнению с женщинами с естественной менопаузой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дисфункция эндотелия и артериальная гипертензия: терапевтические возможности / В.С. Задюченко [и др.] // Русский медицинский журнал. – 2002. – Т. 10, № 1. – С. 10–15.
2. Ельчанинов, Д.В. Атерогенные нарушения у женщин с климактерическим синдромом в ранний период постменопаузы и их динамика на фоне лечения фитогормонами / Д.В. Ельчанинов, Л.В. Аккер // Современные проблемы науки и образования [Электронный ресурс]. – 2011. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/100-5237>. – Дата доступа: 17. 07. 2013.
3. Покровская, Т.Г. Комбинированная фармакологическая коррекция метаболического пути L-аргинина/NO при моделировании дефицита оксида азота: автореф. дис.

- канд. мед. наук: 14.00.25 / Т.Г. Покровская; Курск. гос. мед. ун-т. – Курск, 2009. – 43 с.
4. Boger, R.H. The pharmacodynamics of L-arginine / R.H. Boger // J. Nutr. – 2007. – Vol. 137, № 6. – P. 1650S–1655S.
5. The acute estrogenic dilation of rat aorta is mediated solely by selective estrogen receptor α agonists and is abolished by estrogen deprivation / C. Bolego [et al.] // J. Pharm. And Exp. Ther. – 2005. – Vol. 313. – P. 1203–1208.

L-ARGININE / MONOXIDE NITROGEN SYSTEM OF POSTMENOPAUSAL WOMEN

N. I. KISELEVA

Educational Institution «Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University»

Abstract

The aim of this study was to examine the state of the L - arginine / nitrogen monooxide in women with surgical and natural menopause. The study included 213 perimenopausal women, divided into three groups: I group - 98 women with surgical menopause, II group - 75 women with natural menopause, control group - 40 women of late reproductive and premenopausal ages. In women with surgical and natural menopause were revealed changes in the L-arginine / nitric oxide system, characterized by decreased synthesis of nitrogen monooxide (26,7% and 16,2% respectively) due to lack of substrate for NO synthase - L-arginine (a decrease of 44,0% and 34,3% respectively). Reduction of NO formation is the cause of reduced severity of vasodilatory effect of monoxide nitrogen on the vascular wall, as evidenced by inadequate (6,0 (3,1; 9,3)% and 8,6 (5,6; 13,3)% respectively) reaction of the brachial artery shear stress.

Key words: menopause, nitrogen monoxide, surgical menopause, L-arginine.