

БИОХИМИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2021

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

АКТИВНОСТЬ СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОНА В КРОВИ ЖЕНЩИН С ИЗБЫТОЧНОЙ МАССОЙ ТЕЛА В ПОСТМЕНОПАУЗЕ

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», 664003, г. Иркутск, Россия

Одним из важных компонентов системы антиоксидантной защиты является система глутатиона, активность которой при избыточном весе меняет направленность в зависимости от гендерной и этнической принадлежности. Результаты исследований с участием женщин с избыточной массой тела и возрастным дефицитом эстрогенов не представляются однозначными. В исследовании приняли участие 61 женщина, находящиеся в постменопаузальном периоде, которые после клинико-anamnestического обследования были разделены на 2 группы: контроль (ИМТ = 19-24,9 кг/м²) и группа с избыточной массой тела (ИМТ = 25-29,9 кг/м²). Критериями исключения из исследования были: применение заместительной гормонотерапии, применение препаратов антиоксидантного ряда, заболевания эндокринного генеза, обострение хронических заболеваний, преждевременная ранняя менопауза, хирургическая менопауза. В крови определяли параметры липидного профиля с расчетом коэффициента атерогенности; уровни восстановленного и окисленного глутатиона с расчетом их соотношения, активность глутатион S-трансферазы и глутатионредуктазы. У женщин с избыточной массой тела выявлено повышение уровня триацилглицеролов ($p=0,041$) и холестерина в липопротеинах очень низкой плотности ($p=0,044$). При оценке активности системы глутатиона у женщин основной группы по сравнению с контролем отмечено повышение активности глутатион-S-трансферазы ($p=0,023$) и глутатионредуктазы ($p=0,022$), однако уровни восстановленного и окисленного глутатиона, а также их соотношение не отличаются от контрольных значений. Полученные результаты свидетельствуют об активации ферментативного звена системы глутатиона в ответ на изменения липидного статуса у женщин с избыточной массой тела, находящихся в постменопаузальном периоде.

Ключевые слова: постменопауза; глутатион; избыточная масса тела.

Для цитирования: Семёнова Н.В., Мадаева И.М., Колесникова Л.И. Активность системы глутатиона в крови женщин с избыточной массой тела в постменопаузе. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66 (10): 581-585.

DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-10-581-585>

Для корреспонденции: Семёнова Наталья Викторовна, д-р биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. патофизиологии; e-mail: natkor_84@mail.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 09.02.21

Принята к печати 14.04.21

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

GLUTATHIONE SYSTEM ACTIVITY IN THE BLOOD OF OVERWEIGHT POSTMENOPAUSAL WOMEN

Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, 664003, Russian Federation

One of the important components of the antioxidant defense system is the glutathione system, the activity of which, when overweight, changes direction depending on gender and ethnicity. The results of studies involving overweight menopausal women are mixed. The study involved 61 postmenopausal women, who, after clinical and anamnesic examination, were divided into 2 groups: control (BMI = 19-24.9 kg / m²) and overweight group (BMI = 25-29.9 kg/m²). The use of hormone replacement therapy; the use of antioxidant drugs; diseases of endocrine genesis; exacerbation of chronic diseases; premature early menopause; surgical menopause was the exclusion criteria for women from the study. The lipid profile parameters with the calculation of the atherogenic coefficient; reduced and oxidized glutathione levels with the calculation of their ratio, the glutathione S-transferase and glutathione reductase activities were determined in the blood. Overweight women showed an increase in the triacylglycerols ($p = 0.041$) and cholesterol in very low density lipoproteins levels ($p = 0.044$). When assessing the glutathione system activity in women of the main group, compared with the control, an increase in the glutathione-S-transferase ($p = 0.023$) and glutathione reductase ($p = 0.022$) activities was noted, however, the reduced and oxidized glutathione levels, as well as their ratio did not differ from the control values. The results obtained indicate the activation of the glutathione system enzymatic link in response to changes in lipid status in postmenopausal women with overweight.

Key words: postmenopause; glutathione; overweight.

For citation: Semenova N.V., Madaeva I.M., Kolesnikova L.I. Glutathione system activity in the blood of overweight postmenopausal women. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2021; 66 (10): 581-585 (in Russ.). DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-10-581-585>

For correspondence: Semenova N.V., PhD, research scientist of the pathophysiology laboratory; e-mail: natkor_84@mail.ru

Information about authors:

Semenova N.V., <http://orcid.org/0000-0002-6512-1335>;

Madaeva I.M., <http://orcid.org/0000-0003-3423-7260>;

Kolesnikova L.I., <http://orcid.org/0000-0003-3354-2992>.

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Received 09.02.2021

Accepted 14.04.2021

Введение. Менопауза представляет собой естественный физиологический процесс, являясь при этом критическим периодом в жизни женщины в связи с инволюционной гормональной перестройкой, прежде всего гипострогенией, способствующей развитию целого ряда расстройств [1]. Эстрогеновая недостаточность, нарастающая по мере прогрессирования менопаузы, может стать причиной увеличения веса, изменения липидного профиля [2-4], что в свою очередь может стать причиной интенсификации процессов липопероксидации, для инактивации токсичных продуктов которых в организме существует система антиоксидантной защиты (АОЗ) [5]. Результаты проведенных ранее исследований показали, что снижение антиоксидантного статуса в менопаузе может быть связано с возрастным снижением уровня эстрогенов, мелатонина, витаминов, глутатиона, активности антиоксидантных ферментов [3, 6–10]. Однако есть исследования, результаты которых демонстрируют повышение антиоксидантного статуса и снижение окислительного повреждения [11, 12].

Одним из наиболее важных гидрофильных антиоксидантов является глутатион. Его антиоксидантное действие реализуется за счет участия в работе антиоксидантных ферментов путем прямого взаимодействия с супероксидными радикалами, конкурируя с супероксиддисмутазой, а также самопроизвольно взаимодействуя с различными пероксидами и свободными радикалами органических соединений, образующихся под действием активных форм кислорода [13]. Более того, предполагается, что снижение клеточного глутатиона ниже порогового уровня составляет апоптотический сигнал, который инициирует активацию рецептора смерти или передачу сигналов митохондрий апоптоза [14]. Глутатион-опосредованное восстановление гидропероксидов требует ферментативного катализа глутатионпероксидазой. Глутатион S-трансферазы детоксифицируют ксенобиотические соединения, катализируя конъюгацию глутатиона с неполярными субстратами. После восстановления окислителей или детоксикации токсичных веществ глутатион переходит в окисленную форму, восстановление которой катализируется НАДФН-зависимой глутатионредуктазой и системой тиоредоксина [15]. Результаты проведенных ранее исследований по изучению активности глутатионовой системы при избыточном весе не представляются однозначными [16, 17] и требуют дальнейшего исследования проблемы для последующей разработки методов коррекции метаболических нарушений.

Целью данной работы явилась оценка активности системы глутатиона в крови у женщин с избыточной массой тела в постменопаузе.

Материал и методы. Исследование с участием женщин, находящихся в постменопаузальном периоде ($n=61$), было проведено на базе «Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека». Исследование соответствует этическим нормам Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964 г., последний пересмотр Форталеза, Бразилия, 2013 г.). Каждая женщина подписала информированное согласие на участие в проводимом исследовании.

Всем женщинам было проведено клинико-анамнестическое обследование, определение активности компонентов системы глутатиона. Для включения женщин в исследование были использованы следующие критерии: возраст старше 50 лет, отсутствие менструальной функции более 24 мес, тонкий нефункциональный эндометрий, М-эхо 0,3 см или меньше, отсутствие фолликулярного аппарата яичников, уровень фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) >20 мЕд/мл, индекс лютеинизирующего гормона /ФСГ <1 [18].

Критериями исключения из исследования были: применение заместительной гормонотерапии, применение препаратов антиоксидантного ряда, заболевания эндокринного генеза, обострение хронических заболеваний; преждевременная ранняя менопауза, хирургическая менопауза.

В зависимости от индекса массы тела (ИМТ) женщины были разделены на две группы: контрольная ($n=21$) с нормальным весом (ИМТ = 19-24,9 кг/м²) и основная ($n=40$) с избыточной массой тела (ИМТ = 25–29,9 кг/м²).

Для проведения биохимических исследований была использована венозная кровь, забор которой проводили с 8.00 до 9.00 ч натощак в соответствии с общепринятыми требованиями. Кровь центрифугировали 10 мин при 1500 об/мин., а эритроциты трижды промывали 0,9% NaCl. Определение параметров липидного профиля в сыворотке крови проводили немедленно. Плазму крови для определения активности глутатионредуктазы, глутатион S-трансферазы и эритроциты для определения уровня глутатиона хранили замороженными при -40°C , но не более одного месяца.

На спектрофлуорофотометре «SHIMADZU RF-1501» (Япония) определяли содержание восстановленного и окисленного глутатионов (GSH и GSSG, мкмоль/л) – методом P.J. Hişin и R. Hilf [19]. Активность глутатионредуктазы (усл.ед.) определяли спектрофотометрическим методом с использованием коммерческих наборов «Randox» (Великобритания) на автоматическом анализаторе «BTS-330» (Польша). Активность глутатион S-трансферазы (нг/мл) определяли иммуноферментным анализом с использованием наборов «ImmunDiagnostik» (Германия) на анализаторе «BioTek EL × 808» (США).

Параметры липидного обмена определяли согласно рекомендациям В.С. Камышникова [20] на анализаторе BTS-330 (Польша) с использованием коммерческих наборов Bio Systems (Испания).

Полученные данные обрабатывали в программе STATISTICA 10. Данные представлены в виде среднего арифметического \pm стандартное отклонение ($m \pm \sigma$) (для возраста и ИМТ); медианы, первого и третьего квартилей ($Me [Q1; Q3]$) (для биохимических показателей). При анализе межгрупповых различий для независимых выборок использовали критерий Манна-Уитни (U-Test). Критический уровень значимости принимался за 5% (0,05).

Результаты. Параметры липидного профиля в исследуемых группах представлены в таблице. У женщин с избыточной массой тела выявлено достоверно значимое повышение уровня триацилглицеролов ($p=0,039$) и

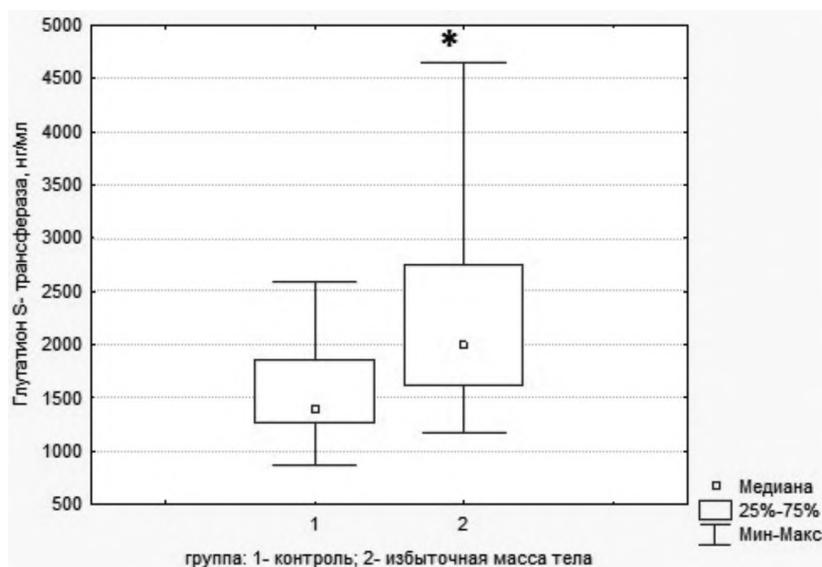


Рис. 1. Активность глутатион-S-трансферазы в исследуемых группах. Здесь и на рис. 2: * - статистически значимые различия между группами, $p < 0,05$.

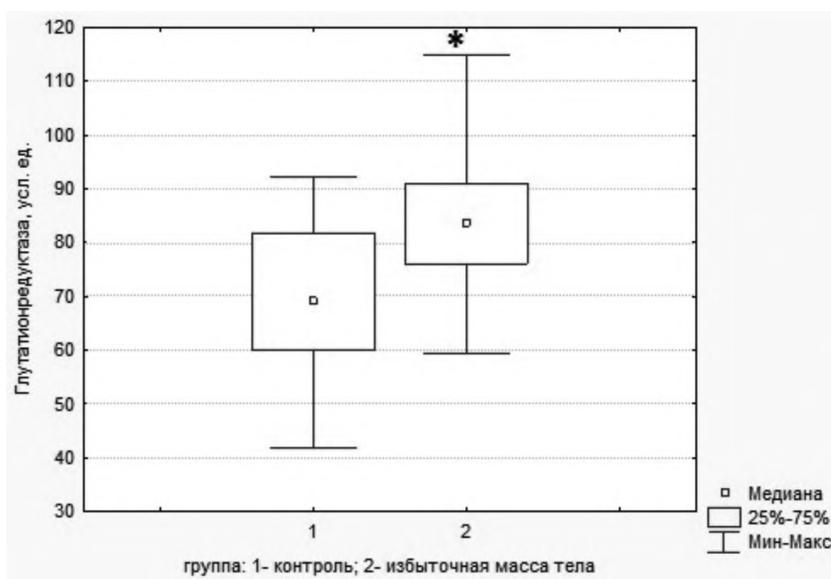


Рис.2. Активность глутатионредуктазы в исследуемых группах.

Основные характеристики и показатели липидного профиля в исследуемых группах

Показатель	Контроль, n=21	Избыточная масса тела, n=40
	<i>m ± σ</i>	
Возраст, годы	54,24±4,54	55,73±4,02
Рост, м	1,61±0,04	1,62±0,07
Вес, кг	60,16±5,87	70,27±6,35*
ИМТ, кг/м ²	22,95±1,63	27,08±1,31*
	Me [Q1;Q3])	
Общий холестерол, ммоль/л	4,91 [4,43; 5,33]	4,90 [4,09; 5,89]
Триацилглицеролы, ммоль/л	0,87 [0,65; 1,27]	1,01 [0,63; 1,55]*
Холестерол липопротеинов высокой плотности, ммоль/л	1,24 [1,04; 1,49]	1,15 [0,94; 1,35]
Холестерол липопротеинов низкой плотности, ммоль/л	3,35 [2,66; 3,59]	3,24 [2,67; 3,86]
Холестерол липопротеинов очень низкой плотности, ммоль/л	0,40 [0,30; 0,58]	0,49 [0,39; 0,81]*
Коэффициент атерогенности	2,90 [2,27; 4,44]	3,25 [2,51; 4,15]

Примечание. *- статистически значимые различия между группами ($p < 0,05$).

холестерола в липопротеидах очень низкой плотности ($p=0,044$).

При оценке активности системы глутатиона у женщин основной группы по сравнению с контролем отмечено повышение активности глутатион-S-трансферазы ($p=0,023$) (рис. 1) и глутатионредуктазы ($p=0,022$) (рис. 2).

Уровни восстановленного и окисленного глутатиона (2,64 [2,49; 3,19] и 1,94 [1,70; 2,41] соответственно) в группе женщин с избыточной массой тела не отличались от контрольных значений (2,59 [2,36; 3,09] и 1,83 [1,59; 2,18] соответственно). Наравне с этим, не выявлено достоверных различий по соотношению GSH / GSSG между основной группой и контролем (1,16 [1,09; 1,68] и 1,47 [1,36; 1,55] соответственно).

Обсуждение. Полученные в данном исследовании результаты свидетельствуют об изменении липидного профиля у женщин с избыточной массой тела в постменопаузе, что согласуется с рядом исследований [2, 3]. К настоящему времени было проведено несколько исследований влияния жировых отложений на антиоксидантный статус и развитие окислительного стресса [21-23]. Результаты большинства исследований демонстрируют корреляцию высокого уровня жира в организме с низкой антиоксидантной активностью и высоким окислительным стрессом [24-26], хотя в некоторых исследованиях показан противоположный эффект или отсутствие разницы [16,27,28]. Среди представленных работ мы не нашли исследований на выборке женщин, находящихся в постменопаузальном периоде и имеющих избыточную массу тела, что затрудняет сопоставимость полученных результатов.

Известно, что результатом окисления полиненасыщенных жирных кислот является образование высокотоксичных альдегидов, таких как транс-4-гидрокси-2-ноненаль и транс-4-оксо-2-ноненаль, образующих аддукты белков и ДНК. При избытке жировых отложений в организме происходит избыточное образование альдегидов, инактивация которых происходит посредством их конъюгации с глутатионом. Данная реакция катализируется глутатион-S-трансферазой. Результаты данного исследования демонстрируют активацию ферментов, участвующих в работе глутатионовой системы, в ответ на изменения липидного профиля при избыточной массе тела, что может свидетельствовать о возможной интенсификации процессов липопероксидации с образованием токсичных альдегидов. В данном случае повышение активности глутатион-S-трансферазы необходимо для процессов детоксикации, а глутатионредуктазы – для своевременного восстановления окисленной формы глутатиона. Учитывая контрольные уровни как восстановленной, так и окисленной форм глутатиона у женщин с избыточной массой тела в постменопаузе, можно предположить, что активность глутатион-S-трансферазы и глутатионредуктазы достаточна для поддержания тиол-дисульфидного равновесия. Учитывая неотъемлемые изменения в липидном метаболизме у женщин с наступлением менопаузы возможен факт активации ферментов глутатиона при избыточной массе тела в качестве защитной реакции на изменения липидного профиля в сторону накопления липопротеинов очень низкой плотности в постменопаузе. Дальнейшее повышение массы тела и уровня атерогенных фракций липопротеидов с развитием ожирения может повлечь более интенсивное образование продуктов липопероксидации, приводящее к истощению системы антиоксидантной защиты. Для

подтверждения этого необходимо провести дополнительное аналогичное исследование с участием группы женщин с ожирением, что является лимитацией настоящей работы.

Выводы:

1. Изменения липидного профиля у женщин с избыточной массой тела в постменопаузе обусловлены повышением уровня триацилглицеролов и холестерина в липопротеинах очень низкой плотности.

2. Избыточная масса тела у женщин в постменопаузе сопровождается тиол-дисульфидным равновесием с активацией ферментативного звена системы глутатиона.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1, 3-12, 14-17, 19, 21-28 см. REFERENCES)

2. Семёнова Н.В., Мадаева И.М., Даренская М.А., Гаврилова О.А., Жамбалова Р.М., Колесникова Л.И. Липидный профиль у женщин двух этнических групп в климактерическом периоде. *Acta Biomedica Scientifica*. 2018; 3(3): 93-8.
13. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Колесников С.И. Свободнорадикальное окисление: взгляд патофизиолога. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16(4): 16-29.
18. Сухих Г.Т., Сметник В.П., Юренина С.В., Ермакова Е.И., Чернуха Г.Е., Якушевская О.В. Менопауза и климактерическое состояние у женщин. Клинические рекомендации. М.: НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова; 2016.
20. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. 3-е изд. М.: МЕД-пресс-информ; 2009.

REFERENCES

1. Lumsden M.A., Sassarini J. The evolution of the human menopause. *Climacteric*. 2019; 22(2): 111-6.
2. Semenova N.V., Madaeva I.M., Darenskaya M.A., Gavrilova O.A., Zhambalova R.M., Kolesnikova L.I. Lipid profile in menopausal women of two ethnic groups. *Acta Biomedica Scientifica*. 2018; 3(3): 93-8. (in Russian)
3. Taleb-Belkadi O., Chaib H., Zemour L., Azzedine F., Belkacem C., Khedidja M. Lipid profile, inflammation, and oxidative status in peri- and postmenopausal women. *Gynecol. Endocrinol.* 2016; 32(12): 982-5.
4. Do K.A., Green A., Guthrie J.R., Dudley E.C., Burger H.G., Dennerstein L. Longitudinal study of risk factors for coronary heart disease across the menopausal transition. *Am. J. Epidemiol.* 2000; 151(6): 584-93.
5. Coyoy A., Guerra-Araiza C., Camacho-Arroyo I. Metabolism regulation by estrogens and their receptors in the central nervous system before and after menopause. *Horm. Metab. Res.* 2016; 48: 489-96.
6. Cervellati C., Bergamini C.M. Oxidative damage and the pathogenesis of menopause related disturbances and diseases. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2016; 54(5): 739-53.
7. Chen J.-T., Kotani K. Serum γ -glutamyltranspeptidase and oxidative stress in subjectively healthy women: an association with menopausal stages. *Aging Clin. Exp. Res.* 2015; 28(4): 619-24.
8. Ogunro P.S., Bolarinde A.A., Owa O.O., Salawu A.A., Oshodi A.A. Antioxidant status and reproductive hormones in women during reproductive, perimenopausal and postmenopausal phase of life. *Afr. J. Med. Med. Sci.* 2014; 43(1): 49-57.
9. Singh S., Singh S., Kumar B. Oxidative stress and superoxide dismutase (SOD) activity in postmenopausal women. *Inter. J. Sci. Res.* 2016; 5(1): 819-21.
10. Kolesnikova L., Semenova N., Madaeva I., Suturina L.V., Solodova E.I., Grebenkina L.A. et al. Antioxidant status in peri- and postmenopausal women. *Maturitas*. 2015; 81(1): 83-7.
11. Victorino V.J., Panis C., Campos F.C., Cayres R.C., Colado-Simao A.N., Oliveira S.R. et al. Decreased oxidant profile and increased an-

- tiioxidant capacity in naturally postmenopausal women. *Age (Dordr)*. 2013; 35:1411–21.
12. Wiacek M., Zubrzycki I.Z., Bojke O., Kim H.J. Menopause and age-driven changes in blood level of fat- and water-soluble vitamins. *Climacteric*. 2013; 16(6): 689-99.
 13. Kolesnikova L.I., Darenskaya M.A., Kolesnikov S.I. Free radical oxidation: a pathophysiological's view. *Bulleten' sibirskoy meditsiny*. 2017; 16(4): 16-29. (in Russian)
 14. Circu M., Aw T.Y. Glutathione and modulation of cell apoptosis. *Biochim. Biophys. Acta*. 2012; 1823(10): 1767-77.
 15. Wang X., Hai C. Redox modulation of adipocyte differentiation: hypothesis of Redox Chain and novel insights in to intervention of adipogenesis and obesity. *Free Rad. Biol. Med*. 2015; 89: 99–125.
 16. Adenan D.M., Jaafar Z., Jayapalan J.J., Abdul Aziz A. Plasma antioxidants and oxidative stress status in obese women: correlation with cardiopulmonary response. *PeerJ*. 2020; 19(8): e9230.
 17. Langhardt J., Flehmig G., Klötting N., Lehmann S., Ebert T., Kern M. et al. Effects of weight loss on glutathione peroxidase 3 serum concentrations and adipose tissue expression in human obesity. *Obes. Facts*. 2018; 11(6): 475-90.
 18. Sukhikh G.T., Smetnik V.P., Yureneva S.V., Ermakova E.I., Chernukha G.E., Yakushevskaja O.V. Menopause and climacteric state in women. Clinical guidelines. [Menopauza i klimaktericheskoe sostojanie u zhenshin. Klinicheskie rekomendatsii]. Moscow: NMIC AGP im. V.I. Kulakova; 2016. (in Russian)
 19. Hisin P.J., Hilf R. Fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Anal. Biochem*. 1976; 74(1): 214–26.
 20. Kamyshnikov V.S. Reference book on clinical and biochemical research and laboratory diagnostics. [Spravochnik po kliniko-biohimicheskim issledovaniyam i laboratnoy diagnostike]. 3rd ed. Moscow: MEDpress-inform; 2009. (in Russian)
 21. Savini I., Catani M.V., Evangelista D., Gasperi V., Avigliano L. Obesity-associated oxidative stress: strategies finalized to improved oxstate. *Int. J. Mol. Sci*. 2013; 14: 10497–538.
 22. Lubrano C., Valacchi G., Specchia P., Gnessi L., Rubanenko E.P., Shuginina E.A. et al. Integrated haematological profiles of redox status, lipid and inflammatoryprotein biomarkers in benign obesity and unhealthy obesity with metabolic syndrome. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2015; 2015: 490613.
 23. Lechuga-Sancho A.M., Gallego-Andujar D., Ruiz-Ocaña P., Visiedo F.M., Saez-Benito A., Schwarz M. et al. Obesity induced alterations in redox homeostasis and oxidative stress a represent from an early age. *PLoS ONE*. 2018; 13:e0191547.
 24. Amirkhizi F., Siassi F., Djalali M., Shahraki S.H. Impaired enzymatic antioxidant defense in erythrocytes of women with general and abdominal obesity. *Obes. Res. Clin. Pract*. 2014; 8(1):e26-34.
 25. Hermsdorff H.H.M., Puchau B., Volp A.C.P., Barros K.B., Bressan J., Zulet M.Á. et al. Dietary total antioxidant capacity is inversely related to central adiposity as well as to metabolic and oxidative stress markers in healthy young adults. *Nutrition & Metabolism*. 2011; 8:59.
 26. Jankovica A., Korac A., Srdic-Galic B., Buzadzic B., Otasevic V., Stancic A. et al. Differences in the redox status of human visceral and subcutaneous adipose tissues – relationships to obesity and metabolic risk. *Metabolism: Clinical and Experimental*. 2014; 63:661–71.
 27. Amaya-Villalva M.F., González-Aguilar G., Rouzaud-Sández O., Gorinstein S., Astiazarán-García H., Robles-Sánchez M. Obesity-related indicators and the irrelationship with serum antioxidant activity levels in Mexican adults. *Nutricion Hospitalaria*. 2015; 31:1989–95.
 28. Čolak E., Pap D., Nikolić L., Vicković S. The impact of obesity to antioxidant defense parameters in adolescents with increased cardiovascular risk. *J. Med. Biochem*. 2019; 39:1–9.