

КЛІНІЧНА ЕНДОКРИНОЛОГІЯ

ВПЛИВ ТЕРАПІЇ L-АРГІНІНОМ НА РІВЕНЬ СТАБІЛЬНИХ МЕТАБОЛІТІВ ЦИКЛУ ОКСИДУ АЗОТУ, МАРКЕРИ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ ТА ПОКАЗНИКИ ЯЄЧНИКОВОЇ ГЕМОДИНАМІКИ У ЖІНОК ХВОРИХ НА СИНДРОМ ПОЛІКІСТОЗНИХ ЯЄЧНИКІВ*

Архипкіна Т. Л., Карпенко Н. О., Любимова Л. П., Тяжелова О. В., Белкіна І. О., Лізогубова М. Г., Гавриш Т. С.

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», м. Харків
tanya_arhipkina@hotmail.com

Найбільш поширеною патологією, що супроводжується змінами менструального циклу, фолікуло- і стероїдогенезу є синдром полікістозних яєчників (СПКЯ) [1]. Порушення розвитку домінантного фолікула залежить не тільки від рівня гормонального та метаболічного стану, але й від властивостей ендотелію та балансу ендотеліальних факторів, контролюючих тонус судин, що забезпечують кровопостачання фолікула на кожній окремій стадії розвитку [2]. Серед усіх факторів, які синтезуються ендотелієм, роль модератора основної функції ендотелію належить ендотеліальному фактору релаксації, тобто оксиду азоту (NO) [3, 4].

NO продукується з L-аргініну за участю фермента цитозоля — NO-синтази (NOS) [5]. Існують два класи NO-синтаз названі за типом клітин, де вони були вперше виявлені: cNOS конститутивні

(eNOS-ендотеліальна, nNOS-нейрональна), які експресуються постійно і потребують кальцій/кальмодулін як кофактор та індукційна (iNOS-макрофагальна), яка не залежить від кальцію, активізується під впливом бактеріальних ендотоксинів і запальних цитокінів, виробляючи NO в 1000 разів більше в порівнянні з eNOS. Наслідком підвищення активності індукційної NO-синтази є збільшення кровотоку в місцях запалення. Оскільки великі дози NO токсичні для клітин, цю форму ферменту вважають патологічною на відміну від конститутивних форм. В судинній мережі iNOS може індукуватися як в макрофагах, так і лімфоцитах, ендотеліальних клітинах, клітинах гладкої мускулатури або фібробластах [6].

До теперішнього часу вважалося, що eNOS в основному утворюється в ендотеліальних клітинах, однак, з'явилися дока-

*Роботу виконано в межах планової наукової тематики ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» «Визначення ролі ендотеліальної дисфункції в розвитку порушень системи репродукції та обґрунтування підходів до їх терапії» (державний реєстраційний № 0114U001201).

Установою, що фінансує дослідження є НАМН України.

Автори гарантують відповідальність за все, що опубліковано в статті.

Автори гарантують відсутність конфлікту інтересів та власної фінансової зацікавленості при виконанні роботи та написанні статті.

Рукопис надійшов до редакції 15.11.2016.

зи, що eNOS може індукуватися і в інших клітинах і тканинах [7]. До того ж eNOS і nNOS існують також в індукційних формах, а iNOS в деяких тканинах експресується конститутивно [8]. NO має вільнорадикальну природу, період напіврозпаду молекули NO коливається від 6 до 30 секунд, після чого вона метаболізується. Визначення кінцевих метаболітів (нітритів і нітратів (NOx)), які розглядаються як стійкі кінцеві продукти NO, набуло широкого поширення в експериментальних та клінічних роботах для оцінки загального синтезу NO [9].

NO є високо реактивною сигнальною молекулою, яка має модулюючий і пусковий вплив на багато сторін діяльності органів і тканин. NO здатний регулювати активність факторів росту стимулюючи ангіогенез та збільшуючи зростання капілярів. Він присутній у всіх ендотеліальних клітинах незалежно від розмірів і функції судин. У нормально функціонуючому ендотелії низькі рівні NO постійно вивільняються для підтримки кровоносних судин в стані дилатації і забезпечення неадгезивності ендотелію по відношенню до формених елементів крові. Захисна функція NO полягає в запобіганні пошкодження ендотелію та збереженні його фізіологічного стану [10].

При впливі різних чинників, здатність ендотеліальних клітин звільняти релаксуючі фактори зменшується, тоді як утворення судинозвужувальних факторів зберігається, тобто формується стан, який визначається як ендотеліальна дисфункція [11]. При дисфункції ендотелію дефіцит NO викликає порушення іонного складу клітин, стимулюються коагуляційні механізми, тобто прискорюються адгезія і агрегація тромбоцитів, підвищується тонус і посилюється скорочення гладких м'язів судин. У той же час надмірне виділення NO робить його токсичним та може стимулювати апоптоз і нейродегенеративні процеси [12].

Основний механізм дії NO наступний: будучи неполярною молекулою він проникає в клітину-мішень за механізмом дифузії, впливаючи при цьому на регуляторні ферменти. В результаті відбувається хімічна модифікація певних білків клітини. Утворюючись у відповідь на дію сигнального фак-

тору, NO стає вторинним месенджером для власної та сусідніх клітин. Мішені впливу NO залежать від його кількості та оточуючих умов. Місцевий рівень NO детермінований балансом між інтенсивністю його синтезу, екзогенним утворенням та інтенсивністю інактивації. В організмі людини NO часто виконує роль біологічного «диригента» в різних фізіологічних процесах: бере участь в регуляції артеріального тиску, згортанні крові, клітинної проліферації, забезпеченні передачі нервового імпульсу, а в імунній системі сприяє знищенню пухлинних і бактеріальних клітин [13]. Як видно з вищесказаного, функції, які виконує NO в різних органах і тканинах, неоднозначні: вони в значній мірі визначаються як видом синтази, так і органом, де відбувається синтез NO.

Таким чином, NO відіграє важливу роль в різних фізіологічних станах і продукується різними клітинами людини, в тому числі й ендотелієм судин яєчників [14, 15]. Про участь NO в модуляції функції яєчників наголошує ряд дослідників, які довели його значення в регуляції стероїдогенезу, розвитку фолікулів, овуляції, лютеїнової функції та лютеїнової регресії [16, 17]. Відомо, що протягом фолікулярного циклу концентрація нітратів в плазмі крові досягає пікового рівня при настанні овуляції [18] та зменшується одразу після овуляції [19]. За ствердженням N. Vonello, а згодом ці дані були підтвержені іншими дослідниками, саме NO запускає збільшення надходження крові, що є важливим для того, щоб відбулась овуляція [20, 21]. У той же час багатьма дослідженнями доведено, що NO відіграє важливу роль в формуванні ановуляції та патогенезі СПКЯ [22, 23].

Враховуючи роль NO у розвитку та прогресуванні захворювань у жінок репродуктивного віку, проводиться вивчення шляхів впливу на ці процеси, а саме існує можливість корекції обміну NO за допомогою додаткового призначення або його самого [24, 25], або його донаторів [26].

Згідно сучасних уявлень єдиним субстратом для фермента NO-синтази, який виступає у ролі каталізатора при синтезі NO в клітинах ендотеліальної оболонки судин

є L-аргінін [27]. Амінокислота L-аргінін надходить в організм у складі хліба, яєць, м'яса, риби, морепродуктів, водоростей, арахісу. Біосинтез її в організмі недостатній. При наявності інфекцій, травм, запалення ендогенний синтез L-аргініну не забезпечує фізіологічної потреби, тому, відповідно до міжнародної класифікації, L-аргінін належить до групи умовно незамінних амінокислот [28].

Плейотропні функції L-аргініну можна умовно розділити на імунологічні і гормональні. У першому випадку ефект L-аргініну полягає в підвищенні активності T-клітин, N-кілерів і зниженні активності NADPH-оксидази, зменшенні кількості асиметричного диметиларгініна, мієлопероксидази, гомоцистеїну (ГЦ) та ендотеліну-1 (ЕТ-1). Гормональна активність препарату обумовлена збільшенням виділення інсуліну, в результаті чого збільшується активність eNOS та гормону росту, який також посилює активність eNOS, сприяє зменшенню кількості вільних радикалів поряд з підвищенням активності антиоксидантної системи, стимулює утворення пролактину, глюкагону, адреналіну і норадреналіну, є біологічним медіатором та має багатий спектр дії [29, 27].

Результати метааналізу свідчать, що ефект L-аргініну залежить від початко-

вого стану ендотелію [30]. Застосування L-аргініну не здатно збільшити ендотеліальну вазодилатацію у здорових індивідів з нормальною функцією ендотелію, тоді як при порушенні його функції препарат може бути ефективним.

Деякими авторами зроблено припущення про можливість використання L-аргініну у хворих зі СПКЯ з метою покращення аргінін-оксид-азотного шляху перетворення, поліпшення фолікулогенезу та гемодинамічних показників [26].

З огляду на великий досвід застосування препарату L-аргініну (Тівортін®) в терапевтичній і акушерській [31] практиці для лікування ендотеліальної дисфункції [32], в поєднанні з переконливим теоретичним обґрунтуванням ролі NO в патогенезі деяких захворювань репродуктивної системи [33, 34] ми вважали за доцільне дослідити клінічну ефективність L-аргініну в лікуванні ендотеліальної дисфункції у жінок, хворих на СПКЯ.

Мета роботи: дослідити вміст стійких кінцевих продуктів NO (нітрат-нітритів) та L-аргініну в сироватці крові; оцінити вплив терапії L-аргініном на рівень NOx, показники ендотеліальної дисфункції та яєчникової гемодинаміки у жінок хворих на СПКЯ.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У клініці ДУ ПЕП обстежено 60 жінок — у віці від 18 до 24 років (середній вік $21,4 \pm 0,2$ років). Основну групу склали 40 жінок, яким, на підставі критеріїв Роттердамського консенсусу 2003 року (хронічна ановуляція, гіперандрогенія, ехографічні ознаки полікістозних яєчників) [35], поставлено діагноз СПКЯ. У зв'язку з тим, що одним з факторів, які призводять до формування ендотеліальної дисфункції вважається ожиріння [36], а надлишок маси тіла має місце у 50–80% хворих зі СПКЯ [37], обстежені нами пацієнтки були розподілені на дві групи: першу групу склали 20 жінок з нормальною масою тіла (індекс маси тіла (ІМТ) $21,6 \pm 0,2$ кг/м²), другу групу — 20 пацієнток з надмірною вагою та ожирінням I–II ст. (ІМТ $28,9 \pm 0,6$ кг/м²). Контрольну

групу склали 20 здорових жінок з нормальною менструальною та дітородною функцією.

У всіх обстежених було виключено наявність соматичної патології: захворювання печінки, легенів, патологію щитовидної залози, гіперпролактинемію, вроджену дисфункцію кори наднирників, ознаки серцево-судинної патології.

ІМТ по G. Brey розраховували за формулою: маса тіла (кг)/довжина тіла (м²) [38].

У сироватці крові досліджували спектрометрично вміст стабільних метаболітів циклу оксиду азоту (NOx) [39] та концентрацію аргініну джерела — NO в організмі [40].

Для визначення в сироватці крові рівнів ЕТ-1 використовували імуоферментний набір для кількісного визначення ЕТ-1 (1-21)

(«Biomedica Gruppe» Австрія), судинного ендотеліального фактору росту (VEGF) — імуноферментний набір «Human VEGF» фірми Invitrogen (США), ГЦ — імуноферментний набір «Architect system» (Німеччина).

Біофізичні методи вивчення яєчників були представлені трансвагінальним ультрасонографічним дослідженням (УЗД) з доплерометричним визначенням яєчникового кровотоку на 5–7 день менструального циклу за допомогою апарату Philips HD-11 з використанням вагінальних датчиків які працюють в частотному діапазоні від 4 до 9 МГц у тріплексному режимі. Об'єм яєчників розраховували на підставі трьох вимірювань за формулою: $V = 0,523 \times L \times W \times T$, де L — довжина, W — ширина, T — товщина. СПКЯ діагностували за умов збільшення обсягу яєчників понад 9 см^3 та наявність периферичних гіпоехогенних структур (фолікулів) діаметром 6–10 мм (в одному зрізі мало бути понад 8 фолікулів, що не розвиваються, за відсутності ознак росту домінантного фолікула) [41].

При доплерометричному дослідженні оцінювали такі показники як пікова систолічна швидкість (ПСШ), кінцева діастолічна швидкість (КДШ) кровотоку та індекс резистентності (PI).

L-аргінін (Тівортін®) призначали в 2 етапи: спочатку внутрішньовенно кра-

пельно по 4,2 г на добу протягом 10 днів, потім у вигляді розчину для перорального прийому по 5 мл 3 рази на добу протягом 30 днів. Ультразвукове дослідження та доплерометрію проводили до початку терапії та після її завершення на 5–7 день менструального циклу.

Проведені дослідження відповідають морально-етичним нормам та принципам Гельсінської декларації, Конвенції Ради Європи та відповідних законів України щодо дотримання прав людини.

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням пакета статистичних розрахунків «STATISTICA». Аналіз передбачав оцінку нормальності розподілу досліджуваних змінних за допомогою тесту Колмогорова-Смірнова, розраховувалися основні статистичні параметри ряду: M_e , Q_{25} , Q_{75} . Значимість відмінностей визначали з використанням U -критерія Вілкінсона-Манна-Уїтні. При порівняльному аналізі відносних величин використовували критерій χ^2 . Різниця вважалася значущою при $p < 0,05$, χ^2 вище 3,84; тенденція до зміни показника розглядалася при $0,05 < p < 0,1$. Для виявлення зв'язку між показниками використовували рангову кореляцію Спірмена. Розбіжності вважалися статистично значущими при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В ході проведеної роботи встановлено, що у хворих зі СПКЯ середня концентрація сумарної кількості нітрат-нітритів-NOx, які є непрямими показниками вмісту NO в сироватці крові, вірогідно перевищувала ($p < 0,001$) показники здорових жінок. При цьому не виявлено суттєвих відмінностей ($p > 0,05$) в концентрації NOx у хворих на СПКЯ з нормальною та надмірною вагою. При визначенні частоти підвищення NOx, встановлено, що у 14 (70%) обстежених першої групи значення медіани NOx в 1,4 рази, а у 16 (80%) обстежених другої групи в 1,6 рази перевищувало показник здорових жінок (табл. 1).

Підвищений рівень NOx в крові мож-

на пояснити компенсаторним посиленням експресії індукцибельної NO-синтази. Вважають, що iNOS виробляється лише при ряді патологічних станів, в тому числі і при оксидативному стресі, викликаючи утворення NO в кількостях, що значно перевищують нормальні величини [42]. Внаслідок надлишку NO пригнічується активність функціонуючої в фізіологічних умовах eNO-синтази, пошкоджуються ендотеліальні клітини за рахунок пригнічення мітохондрій і синтезу ДНК [43]. Крім того, підвищені рівні NOx можуть виникати внаслідок посилення оксидативної інактивації в нітрат, нітрит і піроксинітрит. Накопичення NOx має токсичний ушкоджувальний ефект на органи і ткани-

ни та підсилює процес апоптозу. Однак до теперішнього часу немає розуміння про взаємодію між цими ізоформами [44].

Слід зазначити, що на тлі вираженого підвищення метаболітів NO у хворих зі СПКЯ встановлено значне зниження аргініну в сироватці крові як при нормальній масі тіла ($p < 0,001$), так і при ожирінні ($p < 0,001$) (див. табл. 1). Зниження вмісту аргініну в крові може бути пов'язано з недостатнім його надходженням з їжею, неефективним всмоктуванням в кишківнику, а також з утилізацією аргініну мікрофлорою, підвищенням активності аргінази, високим рівнем ліпопротеїдів низької щільності, що порушує метаболізм і мембранний транспорт L-аргініну. Незалежно від при-

чин, зниження вмісту аргініну супроводжується порушенням базальної виробки NO в ендотелії, що призводить до пошкодження судинного ендотелію [9].

Численні наукові дослідження і наші власні спостереження свідчать про наявність ендотеліальної дисфункції у хворих зі СПКЯ навіть у молодому віці.

Так само, як і NO, маркерами ендотеліальної дисфункції є ендотеліни, серед яких найбільший внесок в активність ендотеліальної системи вносить ET-1, що виробляється в ендотелії судин й вважається одним з найбільш потужних вазоконстрикторів [45]. В групі обстежених нами хворих зі СПКЯ виявлено значне ($p < 0,001$) підвищення в сироватці крові ET-1 незалежно

Т а б л и ц я 1

Показники ендотеліальної функції хворих зі СПКЯ до та після лікування L-аргініном, (Me, Q₂₅, Q₇₅)

Показник	Хворі зі СПКЯ				Контроль, n = 20
	ІМТ < 25, n = 20		ІМТ > 25, n = 20		
	до лікування	після лікування	до лікування	після лікування	
L-аргінін, мкмоль/л	176,0 170,5–189,5 $p_{1-p_5} < 0,001$	298,0 262,0–323,5 $p_{2-p_5} < 0,001$ $p_{1-p_2} < 0,001$	153,0 137,0–166,0 $p_{3-p_5} < 0,001$	300,8 259,5–326,1 $p_{4-p_5} < 0,001$ $p_{3-p_4} < 0,001$	216,0 203,4–235,8
NO _x , мкмоль/л	4,5 4,2–5,5 $p_{1-p_5} < 0,001$	4,2 3,6–4,6 $p_{2-p_5} < 0,01$ $p_{1-p_2} < 0,01$	5,1 4,7–5,4 $p_{3-p_5} < 0,001$	3,9 3,7–4,2 $p_{4-p_5} < 0,05$ $p_{3-p_4} < 0,001$	3,6 3,1–3,9
ET-1, фмоль/мл	1,10 1,06–2,35 $p_{1-p_5} < 0,001$	0,78 0,75–1,5 $p_{2-p_5} > 0,05$ $p_{1-p_2} < 0,001$	1,60 1,05–2,93 $p_{3-p_5} < 0,001$	1,07 0,7–1,95 $p_{4-p_5} < 0,05$ $p_{3-p_4} < 0,01$	0,83 0,64–1,02
VEGF, пг/мл	210,0 152,1–257,1 $p_{1-p_5} < 0,001$	109,2 89,9–128,8 $p_{2-p_5} < 0,001$ $p_{1-p_2} < 0,001$	240,3 198,6–270,0 $p_{3-p_5} < 0,001$	134,1 116,5–173,3 $p_{4-p_5} < 0,001$ $p_{3-p_4} < 0,001$	73,0 60,4–100,7
Гомоцистеїн, мкмоль/л	10,4 8,9–11,2 $p_{1-p_5} < 0,001$	5,7 4,9–6,5 $p_{2-p_5} < 0,001$ $p_{1-p_2} < 0,001$	10,9 9,7–12,6 $p_{3-p_5} < 0,001$	7,2 6,3–8,6 $p_{4-p_5} < 0,05$ $p_{3-p_4} < 0,05$	8,1 7,2–9,6

П р и м і т к а. p_{1-p_2} — значущість відмінностей в першій групі з показниками до лікування; p_{1-p_5} — значущість відмінностей між першою групою до лікування та групою контролю; p_{2-p_5} — значущість відмінностей між першою групою після лікування та групою контролю; p_{3-p_4} — значущість відмінностей в другій групі з показниками до лікування; p_{3-p_5} — значущість відмінностей між другою групою до лікування та групою контролю; p_{4-p_5} — значущість відмінностей між другою групою після лікування та групою контролю.

від наявності або відсутності ожиріння (див. табл. 1). Данні літератури вказують на інгібуючий вплив NO на синтез ET-1 і наявність зворотного кореляційного зв'язку між ними [46]. Однак, в нашому дослідженні ми не виявили взаємозв'язку між підвищеним рівнем ET-1 і NOx ($r=0,19$; $p>0,05$). Отже, можливо припустити, що у молодих жінок на початковій стадії формування СПКЯ існує дисбаланс ендотеліального контролю судинного тону.

Ще одним маркером пошкодження ендотелію є VEGF, який виробляється в ендотелії та являє собою потужний ангіогенний білок, що виступає в якості важливого регулятора ангіогенезу і васкулогенезу, ініціює процеси ремоделювання існуючих судин і формування нових колатералей та впливає на проникність судин [47]. VEGF є важливим для репродуктивної системи оскільки дефекти ангіогенезу можуть спри-

яти виникненню різних дисфункцій, в тому числі ановуляції та безпліддя [48].

У хворих зі СПКЯ встановлено значно підвищений рівень VEGF в сироватці крові, який позитивно корелює з іншими патогенетчними маркерами СПКЯ: об'ємом яєчників ($r=0,74$; $p<0,05$), підвищеною кількістю антральних фолікулів ($r=0,61$; $p<0,05$) та ПСШ кровотоку в інтраоваріальних артеріях ($r=0,59$; $p<0,05$). Встановлено наявність прямого кореляційного зв'язку між підвищеним вмістом NOx і концентрацією VEGF ($r=0,67$; $p<0,05$). Наявність даної кореляції підтверджує можливість розгляду цих показників як маркерів дисфункції ендотелію при СПКЯ.

ГЦ на сьогодні розглядається як медіатор пошкодження судинного ендотелію. Існують дані які вказують, що при гіпергомоцистеїемії відбувається порушення біодоступності NO. Гіпергомоцистеїемія, яка має

Т а б л и ц я 2

Ультразвукові та доплерометричні характеристики яєчників хворих зі СПКЯ до та після лікування L-аргініном, (Me, Q₂₅, Q₇₅)

Показник	Хворі зі СПКЯ				Контроль, n = 20
	ІМТ < 25, n = 20		ІМТ > 25, n = 20		
	до лікування	після лікування	до лікування	після лікування	
Правий яєчник					
Об'єм яєчників, см ³	14,5 12,9–18,0 $p_{1-p5} < 0,001$	12,5 10,2–14,1 $p_{2-p5} < 0,01$ $p_{1-p2} < 0,001$	14,5 12,8–19,1 $p_{3-p5} < 0,001$	12,7 10,8–15,5 $p_{4-p5} < 0,001$ $p_{3-p4} < 0,01$	9,1 7,2–10,0
Кількість антральних фолікулів	15,0 14,0–17,0 $p_{1-p5} < 0,001$	9,5 9,0–11,0 $p_{2-p5} < 0,001$ $p_{1-p2} < 0,001$	15,5 14,0–18,0 $p_{3-p5} < 0,001$	10,0 9,0–11,5 $p_{4-p5} < 0,001$ $p_{3-p4} < 0,001$	6,0 5,0–7,0
ПСШ кровотоку, см/с	19,4 14,7–23,0 $p_{1-p5} < 0,001$ $p_{1-p2} < 0,001$	12,1 9,1–14,3 $p_{2-p5} < 0,01$	21,3 16,5–24,0 $p_{3-p5} < 0,001$ $p_{3-p4} < 0,001$	13,2 10,6–15,7 $p_{4-p5} < 0,001$	10,0 8,4–10,2
КДШ кровотоку, см/с	7,3 6,3–9,2 $p_{1-p5} < 0,001$	5,7 4,7–7,0 $p_{2-p5} < 0,001$ $p_{1-p2} < 0,001$	7,5 6,3–10,0 $p_{3-p5} < 0,001$	5,3 4,7–6,6 $p_{4-p5} < 0,001$ $p_{3-p4} < 0,001$	4,1 3,6–4,6
PI	0,59 0,56–0,66 $p_{1-p5} < 0,05$	0,51 0,48–0,58 $p_{2-p5} < 0,05$ $p_{1-p2} < 0,001$	0,6 0,55–0,63 $p_{3-p5} < 0,05$	0,51 0,48–0,55 $p_{4-p5} < 0,01$ $p_{3-p4} < 0,001$	0,56 0,53–0,61

Початок. Закінчення на наст. стор.

Ультразвукові та доплерометричні характеристики яєчників хворих зі СПКЯ до та після лікування L-аргініном, (Me, Q₂₅, Q₇₅)

Показник	Хворі зі СПКЯ				Контроль, n = 20
	ІМТ < 25, n = 20		ІМТ > 25, n = 20		
	до лікування	після лікування	до лікування	після лікування	
Лівий яєчник					
Об'єм яєчників, см ³	13,4 12,0–16,3 <i>p</i> _{1-<i>p</i>5} < 0,001	11,4 9,2–12,5 <i>p</i> _{2-<i>p</i>5} < 0,001 <i>p</i> _{1-<i>p</i>2} < 0,001	15,3 12,8–16,9 <i>p</i> _{3-<i>p</i>5} < 0,001	11,8 10,6–14,1 <i>p</i> _{4-<i>p</i>5} < 0,001 <i>p</i> _{3-<i>p</i>4} < 0,001	7,8 6,2–9,6
Кількість антральних фолікулів	16,0 14,5–18,0 <i>p</i> _{1-<i>p</i>5} < 0,001	10,0 9,0–12,0 <i>p</i> _{2-<i>p</i>5} < 0,001 <i>p</i> _{1-<i>p</i>2} < 0,001	17,0 15,0–18,0 <i>p</i> _{1-<i>p</i>5} < 0,001	10,0 9,0–12,0 <i>p</i> _{2-<i>p</i>5} < 0,001 <i>p</i> _{3-<i>p</i>4} < 0,001	6,0 5,0–7,0
ПСШ кровотоку, см/к	18,2 15,3–23,0 <i>p</i> _{1-<i>p</i>5} < 0,001	13 11,3–16,4 <i>p</i> _{2-<i>p</i>5} < 0,001 <i>p</i> _{1-<i>p</i>2} < 0,001	17,1 13,9–18,0 <i>p</i> _{3-<i>p</i>5} < 0,001	11,2 9,3–13,3 <i>p</i> _{4-<i>p</i>5} < 0,01 <i>p</i> _{3-<i>p</i>4} < 0,001	9,0 8,0–10,5
КДШ кровотоку, см/с	7,6 6,1–9,2 <i>p</i> _{1-<i>p</i>5} < 0,001	6,2 4,9–7,5 <i>p</i> _{2-<i>p</i>5} < 0,001 <i>p</i> _{1-<i>p</i>2} < 0,05	6,6 5,6–7,7 <i>p</i> _{3-<i>p</i>5} < 0,001	5,3 4,4–6,4 <i>p</i> _{4-<i>p</i>5} < 0,001 <i>p</i> _{3-<i>p</i>4} < 0,001	3,8 3,5–4,5
PI	0,59 0,57–0,61 <i>p</i> _{1-<i>p</i>5} < 0,05	0,47 0,44–0,51 <i>p</i> _{2-<i>p</i>5} < 0,001 <i>p</i> _{1-<i>p</i>2} < 0,001	0,6 0,55–0,63 <i>p</i> _{1-<i>p</i>5} < 0,05	0,46 0,43–0,50 <i>p</i> _{2-<i>p</i>5} < 0,001 <i>p</i> _{3-<i>p</i>4} < 0,001	0,56 0,54–0,59

Примітка. *p*_{1-*p*2} — значущість відмінностей в першій групі з показниками до лікування; *p*_{1-*p*5} — значущість відмінностей між першою групою до лікування та групою контролю; *p*_{2-*p*5} — значущість відмінностей між першою групою після лікування та групою контролю; *p*_{3-*p*4} — значущість відмінностей в другій групі з показниками до лікування; *p*_{3-*p*5} — значущість відмінностей між другою групою до лікування та групою контролю; *p*_{4-*p*5} — значущість відмінностей між другою групою після лікування та групою контролю.

тривалий перебіг, при наявності дисбалансу в антиоксидантній системі організму, призводить до зниження регенеративних можливостей еластичності судинної стінки [49].

У обстежених хворих зі СПКЯ середній рівень ГЦ в сироватці крові достовірно (*p* < 0,05) перевищував показники здорових жінок, а у 50% пацієток вже в молодому віці мала місце гіпергомоцистеїнемія. Частота виявлення підвищеного рівня NOx в групах хворих з гіпергомоцистеїнемією була вірогідно вищою ніж в групах жінок з нормогомоцистеїнемією ($\chi^2 = 4,7$; *p* < 0,05), але кореляційного взаємозв'язку між ГЦ та метаболітами NO (*r* = 0,17; *p* > 0,05) встановити не вдалося. Порушення секреції та взаємовідносин цих показників також вказує на на-

явність дисрегуляції ендотеліальної функції при СПКЯ.

У хворих зі СПКЯ мало місце вірогідне збільшення об'єму яєчників (*p* < 0,001) та кількості антральних фолікулів (*p* < 0,001) в порівнянні з показниками контрольної групи. При цьому нами не виявлено вірогідних розбіжностей між даними показниками в обох групах жінок зі СПКЯ (табл. 2).

При вивченні гемодинамічних показників встановлено, що у хворих зі СПКЯ з різною масою тіла в ранній фолікулярній фазі ПСШ кровотоку в судинах в середині яєчників значно перевищувала показник контрольної групи (табл. 2). Отримані результати узгоджуються з даними інших дослідників, які пропонують розглядати збільшену

ПСШ кровотоку в яєчниках в якості діагностичного критерія СПКЯ [50, 51].

Крім того, у хворих зі СПКЯ виявлено підвищення КДШ кровотоку та PI, який відображає опір судинної стінки. Всі ці показники вірогідно ($p < 0,05$) перевищують відповідні показники здорових жінок (див. табл. 2).

З'ясувалося, що у жінок зі СПКЯ існує суттєвий позитивний кореляційний зв'язок між рівнем NOx та ПСШ кровотоку ($r = 0,83$; $p < 0,05$), і зворотній з PI ($r = -0,69$; $p < 0,05$), що можна пояснити розладами мікроциркуляції в яєчниках і порушенням перфузії.

Використання Тівортину призводить до підвищення ($p < 0,001$) плазмової концентрації L-аргініну. Позитивний ефект Тівортину обумовлений перш за все нормалізацією синтезу NOx, про що свідчить зменшення концентрації в сироватці крові сумарної кількості нітрат-нітритів ($p < 0,001$) (див. табл. 1).

Терапія L-аргініном призводить до поліпшення функції ендотелію, що асоціюється з достовірним зниженням концентрації ET-1 ($p < 0,001$), VEGF ($p < 0,001$) та ГЦ ($p < 0,001$), при цьому найбільш виразне зниження ГЦ спостерігається у хворих з фоновим рівнем ГЦ понад 10 мкмоль/л.

При проведенні оцінки впливу L-аргініну на показники УЗД і доплерографії яєчників встановлено, що на тлі лікування зменшується пікова систолічна ($p < 0,001$) і кінцева дістолічна ($p < 0,001$) швидкості кровотоку, знижу-

ється PI ($p < 0,001$) і, як наслідок, відбувається зменшення кількості антральних фолікулів, з'являються фолікули діаметром до 8–10 мм, що свідчить про збільшення середніх розмірів фолікулів.

Отже отримані нами дані вказують на підвищену концентрацію в сироватці крові стабільних метаболітів NO — нітритів і нітратів та зниження L-аргініну — основного субстрату для синтезу NO. Виявлені зміни є факторами розвитку ендотеліальної дисфункції, яка має місце у хворих зі СПКЯ навіть у молодому віці. Перетворення L-аргініну в NO відіграє ключову роль у підтримці нормального функціонування ендотелію. Для нормалізації функції ендотелію в терапевтичній практиці широко застосовуються препарати L-аргініну. Механізм, що лежить в основі його дії є мультифакторним, а використання найбільш ефективно при субклінічному рівні ураження судин. Отримані нами дані вказують на те, що позитивний ефект L-аргініну обумовлений перш за все зниженням синтезу NOx, що призводить до нормалізації ендотеліального контролю судинного тонуусу і кровотоку. Виразний терапевтичний ефект можна пояснити тим, що пацієнти, що були відібрані для обстеження, перебували на більш ранній стадії розвитку ендотеліальної дисфункції і тому мали потенціал для відновлення. Включення препаратів, що містять в складі L-аргінін матиме позитивний вплив на стан ендотеліальної функції при проведенні комплексного лікування хворих зі СПКЯ.

ВИСНОВКИ

1. У хворих зі СПКЯ незалежно від маси тіла в сироватці крові значно підвищений вміст стабільних метаболітів NO (нітрат — нітритів) та знижена концентрація вмісту L-аргініну, що свідчить про порушення секреції NO, як однієї з найважливіших субстанцій яка продукується ендотелієм судин.
2. Використання Тівортину призводить до підвищення вмісту в крові L-аргініну, зниження NOx, сприяє поліпшенню функції ендотелію,

- про що свідчить зниження в крові ендотеліну-1, судинного ендотеліального фактора росту та гомоцистеїну.
3. На тлі терапії Тівортиним в яєчниках зменшується кількість антральних фолікулів та покращується гемодинаміка в інтраоваріальних судинах: знижується пікова систолічна та кінцева діастолічна швидкості кровотоку, індекс резистентності.
4. Фармакологічні властивості L-аргініну полягають в безпосередньому впливі на

функцію ендотелію, що робить засто-
сування цього негормонального препа-

рату перспективним
лікуванні хворих зі СПКЯ.

ЛІТЕРАТУРА (REFERENCES)

- Azizova MJe. *Kazanskij Med Zhurn* 2015; 1:77-80.
- Keller J, Mandela M, Casson P, Osol G. *Endocrinology* 2011; 152(12):4927-4936. doi.org/10.1210/en.2011-1424
- Petrishhev NN. Disfunkcija jendotelija. Prichiny, mehanizmy, farmakologicheska korrekcija, *Sankt-Peterburg*, 2003: 184 p.
- Rosselli M, Keller PJ, Dubey RK. *Hum Reprod* 1998; 4(1):3-24. doi.org/10.1093/humupd/4.1.3
- Ghasemi A, Zahediasl S. *Iran Biomed J* 2011; 15(3):59-65.
- Jefremova UP, Lychkovs'ka NE, Fafula RV, Vorobec' ZD. *Eksperym ta Klinich Fiziologija i Biohimija* 2012; 1:68-73.
- Bryan NS, Bian K, Murad F. *Front Biosci* 2009; 14:1-18. doi.org/10.2741/3228
- Lubos E, Handy DE, Loscalzo J. *Front Biosci* 2009; 13:5323-5344.
- Lapshina LA, Kravchun PG, Titova AJu, Glebova OV. *Ukr Med Chasopys* 2009; 6:49-53.
- Markov H. M. *Kardiologija* 2005; 12:62-72.
- El'skij VN, Vatutin NG, Kalinkina NV, Salahova AM. *Zhurn AMN Ukrai'ny* 2008; 14(1):51-62.
- Popova AA, Majanskaja SD, Berezikova EN. *Sibirskoe Med Obozrenie* 2010; 4:7-11.
- Palmer MJ, Rees KU, Ashtin OS, et al. *Biochem Biophys* 2007; 153(3):1251-1257.
- Najati V, Ilkhanipour M, Saleni S, Sadeghi-Hashjin G. *Pakistan J Biol Sci* 2008; 11(2):250-254. doi.org/10.3923/pjbs.2008.250.254
- Tatanini C, Busini G, Gasseli F, Tirelli M. *J Animal Sci* 2003; 81(14):E1-7.
- Maul H, Longo M, Saade G, Garfield R. *Curr Pharm Des* 2003; 9(5):359-380. doi.org/10.2174/1381612033391784
- Sundaresan NR, Saxena VK, Sastry KVH, et al. *Animal Reprod Sci* 2007; 101(3-4):351-357. doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.01.011
- Ekerhovd E, Enskog A, Caidahl K, et al. *Hum Reprod* 2001; 16(7):1334-1339. doi.org/10.1093/humrep/16.7.1334
- Maul H, Longo M, Saade G, Garfield R. *Curr Pharm Des* 2003; 9(5):359-380. doi.org/10.2174/1381612033391784
- Bonello N, McKie K, Jasper M, et al. *Biol Reprod* 1996; 54(2):436-445. doi.org/10.1095/biolreprod54.2.436
- Tessaro I, Luciano AM, Franciosi F, et al. *J Animal Sci* 2011; 89(8):2389-2396. doi.org/10.2527/jas.2010-3714
- Hassani F, Karami M, Reza M, et al. *J Title* 2012; 6(2): 111-116.
- Blashkiv TV, Serdjuk ON, Voznesenskaja TJu, Portnichenko AG. *Problemy Reprodukcii* 2012; 18(3):11-16.
- Grishhenko VI, Grishhenko NG, Zagrebel'naja IV, et al. *Med Aspekty Zdorov'ja Zhenshhiny* 2010; 28(1):5-12.
- Kuz'myna YJu. *Teoretych Eksperym Medycyna* 2012; 56(3):67-70.
- Kozub NI, Sokol MP. *Tavrisheskij Med-Biol Vestn* 2013; 16(2; 1):87-71.
- Treshhynskaja MA. *Ukr Med Chasopys* 2011; 5:97-109.
- Pokrovskij VI, Vinogradov NA. *Terapevt Arh* 2005; 1:82-87.
- Daly JM, Reynolds J, Sigal RK, et al. *Crit Care Med* 1990; 18(2):86-93.
- Bai Y, Sun L, Yang T, et al. *Am J Clin Nutr* 2009; 89(1): 77-84. https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.26544
- Kaminskij VV, Dubov AM, Tkachenko RA, et al. *Zdorov'e Zhenshhiny* 2014; 10:99-100.
- Babushkina AV. *Ukr Med Chasopys* 2010; 75(1):24-30.
- Tatarchuk TF, Zaharenko NF, Tutchenko TI. *Re-prod Jendokrinol* 2013; 11(3):36-42. doi.org/10.18370/2309-4117.2013.11.36-42
- Boris EN, Suslova LV, Kaminskij VV, et al. *Reprod Jendokrinol* 2015; 21(1):60-63. doi.org/10.18370/2309-4117.2015.21.60-63
- The Rotterdam ESHRE/ ASRM- sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod* 2004; 19(1):41-47. doi.org/10.1093/humrep/deh098
- Meyer ML, Malek AM, Wild RA, et al. *Hum Reprod Update* 2012; 18:112-126. doi.org/10.1093/humupd/dmr046
- Dedov II, Butrova SA. *Ozhirenie i Metabolizm* 2006; 1:30-40.
- Khaodhiar L, Mc Cowen KC, Blackburn GL. *Clin Cornerstone* 1999; 2(1):17-31. doi.org/10.1016/S1098-3597(99)90002-9
- Patent 31600*. Sposib kil'kisnogo viznachennja ni-tritanionu v biologichnij ridini.
- Alejnikova TL, Rubcova GV, Pavlova NA. Rukovodstvo k prakticheskim zanjatijam po biohimii, *Moskva*, 2000: 128 p.
- Dedov II, Mel'nichenko GA. Sindrom polikistoznyh jaichnikov: rukovodstvo dlja vrachej, *Moskva*, 2007: 368 p.
- Li H, Forstermann U. *J Pathol* 2000; 190(3):244-254. doi.org/10.1002/(SICI)1096-9896(200002)190:3<244::AID-PATH575>3.0.CO;2-8
- Wu CC, Yen MH. *J Biomed Sci* 1997; 4(5):249-255.

44. Duckles SP, Miller VM. *Pflugers Arch* 2010; 459(6):841-851.
45. Shah R. *Eur J Internal Med* 2007; 18:271-282. doi.org/10.1016/j.ejim.2007.04.002
46. Lisa K, Wedgwood S, Steinhorn RH, Black SM. *Am J Physiol — Lung Cell Med Physiol* 2004; 286(5):984-991.
47. Gavrilenko TI, Ryzhkova NA, Parhomenko AN. *Ukr Kardiolog Zhurn* 2011; 4: 87-95.
48. Tepljashina EA, Pozhilenkova EA, MV, Salmina AB. *Ros Vestn Akushera-Ginekologa* 2011; 3:5-9.
49. Faldetta C, Laureti O, Desideri G, et al. *Diabetologia* 2002; 45(8):120-127. doi.org/10.1007/s00125-002-0854-1
50. El Behery MM, Diab AE, Mowafy H, et al. *J Gynecol Obstet* 2011; 112(2): 119-121.
51. Záčková T, Järvelä IY, Tapanainen JS, Feyereisl J. *Reprod Biol Endocrinol* 2009; 7:151-159. doi.org/10.1186/1477-7827-7-151

ВПЛИВ ТЕРАПІЇ L-АРГІНІНОМ НА РІВЕНЬ СТАБІЛЬНИХ МЕТАБОЛІТІВ ЦИКЛУ ОКСИДУ АЗОТУ, МАРКЕРИ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ ТА ПОКАЗНИКИ ЯЄЧНИКОВОЇ ГЕМОДИНАМІКИ У ЖІНОК ХВОРИХ НА СИНДРОМ ПОЛІКІСТОЗНИХ ЯЄЧНИКІВ

Архипкіна Т. Л., Карпенко Н. О., Любимова Л. П., Тяжелова О. В., Белкіна І. О., Лізогубова М. Г., Гавриш Т. С.

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», м. Харків
tanya_arhipkina@hotmail.com

Встановлено, що у хворих зі СПКЯ мав місце значно підвищений вміст стабільних метаболітів NO та знижена концентрація вмісту L-аргініну в сироватці крові. Використання Тивортину призводить до підвищення вмісту в крові L-аргініну, зниження NOx та сприяє поліпшенню функції ендотелія, шляхом зниження в крові ендотеліну-1, судинного ендотеліального фактору росту та гомоцистеїну. На тлі терапії в яєчниках зменшується кількість антральних фолікулів, покращується гемодинаміка у судинах всередині яєчників: знижується пікова систолічна та кінцева діастолічна швидкості кровотоку, індекс резистентності.

К л ю ч о в і с л о в а : синдром полікістозних яєчників, стабільні метаболіти циклу NO, L-аргінін, ендотелін-1.

ВЛИЯНИЕ ТЕРАПИИ L-АРГИНИНОМ НА УРОВЕНЬ СТАБИЛЬНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ЦИКЛА ОКСИДА АЗОТА, МАРКЕРЫ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ И ПОКАЗАТЕЛИ ЯИЧНИКОВОЙ ГЕМОДИНАМИКИ У ЖЕНЩИН С СИНДРОМОМ ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ

Архипкина Т. Л., Карпенко Н. А., Любимова Л. П., Тяжёлова О. В., Белкина И. О., Лизогубова М. Г., Гавриш Т. С.

ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины», г. Харьков
tanya_arhipkina@hotmail.com

Установлено, что у женщин с СПКЯ значительно повышено содержание стабильных метаболитов NO и снижена концентрация L-аргинина в сыворотке крови. Применение Тивортин приводит к повышению содержания в крови L-аргинина, снижению NOx и способствует улучшению функции эндотелия, за счёт снижения в крови эндотелина-1, эндотелиального фактора роста и гомоцистеина. На фоне терапии в яичниках уменьшается количество антральных фолликулов, улучшается гемодинамика в яичниковых сосудах: снижается пиковая систолическая и конечная диастолическая скорости кровотока, индекс резистентности.

К л ю ч е в ы е с л о в а : синдром поликистозных яичников, стабильные метаболиты цикла NO, L-аргинин, эндотелін-1.

**EFFECT OF L-ARGININE THERAPY ON THE LEVEL OF STABLE METABOLITES
OF NITRIC OXIDE CYCLE, ENDOTHELIAL DYSFUNCTION MARKERS
AND INDICATORS OF OVARIAN HEMODYNAMICS AT WOMEN WITH
POLYCYSTIC OVARY SYNDROME**

**T. L. Arkhypkina, N. A. Karpenko, L. P. Lyubimova, O. V. Tyazhelova, I. O. Belkina,
M. H. Lizogubova, T. S. Gavrish**

*SI «V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of the NAMS of Ukraine», Kharkiv
tanya_arhipkina@hotmail.com*

It was found that women with PCOS have hier levels of the NO metabolites and lowered concentration of the L-arginine in the blood serum. Application Tivortin leads to an increase L-arginine, reduces of NOx and improves endothelial function by reducing endothelin-1, endothelial growth factor and homocysteine in blood. The therapy leads to decreases number of antral follicles in the ovaries, improves hemodynamics in the ovarian vessels: reduced peak systolic and end diastolic velocity, resistance index.

K e y w o r d s: polycystic ovary syndrome, stable NO metabolites, L-arginine, endothelin-1.