

23. Park H., Kaushik V.K., Constant S., Prentki M., Przybytkowski E., Ruderman N.B., Saha A.K., *Coordinate regulation of malonyl-CoA decarboxylase, sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase, acetyl-CoA carboxylase by AMP-activated protein kinase in rat tissues in response to exercise*. J Biol Chem., 2002; 277: 32571–32577.
24. Dyck J.R., Berthiaume L.G., Thomas P.D., Kantor P.F., Barr A.J., Barr R. Singh D., Hopkins T.A., Voilley N., Prentki M., Lopaschuk G.D., *Characterization of rat liver malonyl-CoA decarboxylase and the study of its role in regulating fatty acid metabolism*. Biochem J., 2000; 350: 599–608.
25. Reszko A.E., Kasumov T., David F., Jobbins K.A., Thomas K.R., Hoppel C.L., Brunengraber H., Des Rosiers C., *Peroxisomal fatty acid oxidation is a substantial source of the acetyl moiety of malonyl-CoA in rat heart*. J Biol Chem., 2004; 279: 19574–19579.
26. Saha A.K., Schwarsin A.J., Roduit R., Masse F., Kaushik V., Tornheim K., Prentki M., Ruderman N.B., *Activation of malonyl-CoA decarboxylase in rat skeletal muscle by contraction and the AMP-activated protein kinase activator 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1-beta-D-ribofuranoside*. J Biol Chem., 2000; 275: 24279–24283.
27. Schulz H., *Oxidation of fatty acids in eukaryotes*. Amsterdam: Elsevier, 2007, 131–154.
28. Stanley W.C., *Myocardial energy metabolism during ischemia and the mechanisms of metabolic therapies*. J Cardiovasc Pharmacol Therapeut., 2004; 9(1): S31-S45.
29. Opie L.H., Lopaschuk G.D., *Fuels: aerobic and anaerobic metabolism*. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, 2004, p.306–352.
30. Huss J.M., Kelly D.P., *Nuclear receptor signaling and cardiac energetics*. Circ Res., 2004; 95: 568–578.
31. Madrazo J.A., Kelly D.P., *The PPAR trio: regulators of myocardial energy metabolism in health and disease*. J Mol Cell Cardiol., 2008; 44: 968–975.
32. Son N.H., Park T.S., Yamashita H., Yokoyama M., Huggins L.A., Okajima K., Homma S., Szabolcs M.J., Huang L.S., Goldberg I.J., *Cardiomyocyte expression of PPAR gamma leads to cardiac dysfunction in mice*. J Clin Invest., 2007; 117: 2791–2801.
33. Finck B.N., Kelly D.P., *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 (PGC-1) regulatory cascade in cardiac physiology and disease*. Circulation, 2007; 115: 2540–2548.

EFECTELE SPECIILOR REACTIVE DE OXIGEN ASUPRA SISTEMULUI DE REPRODUCERE FEMININ

Cornelia Lazăr¹ – asist. univ., doctorand,
Svetlana Protopop¹ – conf. univ., dr. șt. med.,
Ana Mișina² – conf. univ., dr. șt. med.,
Olga Tagadiuc¹ – conf. univ., dr. hab. șt. med.

¹Catedra de biochimie și biochimie clinică, IP USMF „Nicolae Testemițanu”,

²Secția de ginecologie chirurgicală, IMSP Institutul Mamei și Copilului

tel.: +373 22 205503, cornelia.lazar@usmf.md

Rezumat

Stresul oxidativ este o consecință a dereglării echilibrului dintre substanțele prooxidante (radicalii liberi) și cele antioxidante. Deși există o multitudine de radicali liberi, cei derivați din oxigen reprezintă cea mai importantă clasă de radicali produși în organismele vii. Stresul oxidativ își cumulează efectele cu stresul nitrozativ datorat formării speciilor reactive de azot. Speciile reactive de azot sunt o familie de molecule derivate din oxid nitric și superoxid, care amplifică leziunile celulare în condiții patologice. S-a demonstrat că multe afecțiuni ale sistemului de reproducere feminin sunt strâns asociate unui stres oxidativ excesiv. Leziunile celulare și tisulare determinate de stresul oxidativ apar atunci când există o supraproducere de specii reactive de oxigen (SRO) sau când organismul nu le poate înlătura din cauza funcționării defectuoase a sistemului antioxidant. Totuși, pe lângă efectele nocive ale SRO, diverse studii efectuate atât pe animale, cât și pe oameni, au demonstrat că în anumite concentrații radicalii liberi au efecte fiziologice, cum ar fi dezvoltarea foliculară, steroidogeneza ovariană, ovulația, formarea corpus luteum, etc. Echilibrul dintre nivelul speciilor reactive ale oxigenului și antioxidanții de la nivelul ovarelor este important pentru menținerea sănătății reproductive feminine. Nivelul fiziologic al SRO modulează funcțiile ovocitului, în timp ce acumularea acestora duce la diferite patologii, inclusiv infertilitate.

Cuvinte-cheie: specii reactive de oxigen, stres oxidativ, patologie reproductivă

Summary. Effects of reactive oxygen species on the female reproductive system

Oxidative stress is the result of disturbance of the balance between prooxidant (free radicals) and antioxidant substances. Although there are a multitude of free radicals, those derived from oxygen are the most important class produced in the living organisms. Oxidative stress increases its effects because of nitrosative stress, due to the formation of reactive ni-

trogen species. Reactive nitrogen species are a family of molecules derived from nitric oxide and superoxide, which increase cell damage in pathology. It has been found that many disorders of the female reproductive system are closely related to excessive oxidative stress. Cellular and tissue injuries caused by oxidative stress occur when there is an overproduction of reactive oxygen species (ROS) or when the body cannot remove them due to the malfunctioning of the antioxidant system. However, in addition to the harmful effects of ROS, various studies performed both in animals and in humans have demonstrated that in certain concentrations free radicals have physiological effects, such as follicular development, ovarian steroidogenesis, ovulation, formation of the corpus luteum, etc. The balance between the level of reactive oxygen species and antioxidants in the ovaries is important for maintaining female reproductive health. Physiological level of ROS modulates oocyte functions, while their accumulation leads to various pathologies, including infertility.

Key words: reactive oxygen species, oxidative stress, reproductive pathology

Резюме. Влияние активных форм кислорода на женскую репродуктивную систему

Окислительный стресс является результатом нарушения баланса между прооксидантами (свободными радикалами) и антиоксидантами. Хотя существует множество свободных радикалов, те, которые производятся из кислорода, являются наиболее важным классом радикалов, вырабатываемым в живых организмах. Окислительный стресс потенцируется нитрозативным стрессом благодаря образованию активных форм азота. Реактивные виды азота представляют собой семейство молекул, полученных из окиси азота и супероксида, которые увеличивают повреждение клеток при патологии. Клеточные и тканевые повреждения, вызванные окислительным стрессом, возникают при перепроизводстве активных форм кислорода (АФК) или когда организм не может удалить их из-за неисправности антиоксидантной системы. Было обнаружено, что многие расстройства женской репродуктивной системы тесно связаны с чрезмерным окислительным стрессом. Клеточные и тканевые повреждения, вызванные окислительным стрессом, возникают при перепроизводстве активных форм кислорода (АФК), или когда организм не может устранить их из-за функциональных нарушений антиоксидантной системы. Тем не менее, различные исследования, проведенные как у животных, так и у людей, продемонстрировали, что помимо вредных эффектов, в определенных концентрациях, свободные радикалы оказывают физиологические эффекты, такие как развитие фолликулов, стероидогенез в яичниках, овуляция, образование желтого тела и т.д. Баланс между уровнем активных форм кислорода и антиоксидантами в яичниках важен для поддержания женского репродуктивного здоровья. Физиологический уровень АФК модулирует функции ооцита, в то время как их накопление приводит к различным патологиям, включая бесплодие.

Ключевые слова: реактивные формы кислорода, окислительный стресс, репродуктивная патология

Introducere. Stresul oxidativ este o noțiune utilizată pentru maladiile care apar datorită moleculelor de oxigen, numite radicali liberi, cu efect dăunător, care apar din cauza dereglării balanței dintre antioxidanți și prooxidanți [1, 2, 3].

Radicalul liber poate fi o grupare de atomi sau un atom, ce conține un electron impar pe stratul extern al învelișului de electroni [4, 5]. Radicalul liber „duce lipsă” de un electron, și are tendința de a fura un electron de la un alt atom, care, astfel, va deveni la rândul lui și el un radical liber [4]. Radicalii liberi au capacitatea de a modifica orice molecule de proteine, glucide, acizi grași sau acizi nucleici [2]. Cei mai importanți radicali din punct de vedere biologic, cu potențial lezional, sunt anionul superoxid ($O_2^{\cdot-}$), radicalul hidroxil (OH^{\cdot}), radicalul peroxil (ROO^{\cdot}), radicalul alcoxil (RO^{\cdot}), radicalul hidroperoxil (HO_2^{\cdot}) [6]. Oxidul nitric (NO^{\cdot}) este și el foarte important, acționând ca mesager intra- și extracelular [7, 8].

Speciile reactive ale oxigenului (SRO), în concentrații adecvate, îndeplinesc funcții benefice în corpul nostru:

- Sunt implicate în nimicirea bacteriilor, astfel asigurând protejarea organismului;
- Sunt mediatori ai fagocitozei;

- Sunt implicate în căile de semnalare hormonală necesare pentru menținerea homeostaziei celulare în organism;

- Reglează expresia genelor [6].

- Oxidul nitric este implicat în relaxarea musculaturii netede vasculare; în concentrații adecvate previne apoptoza celulară, este neurotransmițător în creier [8].

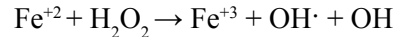
- La nivelul aparatului reproducător feminin anumite SRO sunt necesare pentru buna funcționare a celulelor [9], fiind implicate în steroidogeneza ovariană, ovulație, funcționarea celulelor germinale, medierea semnalelor hormonale etc. [6, 10].

Totuși, producerea excesivă de SRO poate depăși capacitățile de apărare a sistemului antioxidant natural al organismului, creând, astfel, un mediu impropriu pentru reacțiile fiziologice feminine normale. Acest lucru, la rândul său, poate duce la numeroase boli ale aparatului reproducător soldate cu infertilitate inexplicabilă [11].

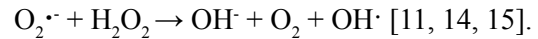
Surse de specii reactive ale oxigenului. Radicalii liberi își au originea din 2 surse: una exogenă (radicalii liberi care se produc în afara organismului, în mediul extern) și alta endogenă (se sintetizează în celulele vii în procesele obișnuite, fiziologice) [11].

Mitocondriile sunt o sursă endogenă de specii reactive de oxigen. Sursa principală de SRO de la nivel mitocondrial este localizată pe membrana internă a mitocondriilor, unde se afla lanțul transportator de electroni. Astfel, se poate produce anionul superoxid, care mai apoi este utilizat pentru generarea de specii mult mai reactive de oxigen, care vor putea leza celulele. În condiții fiziologice, cea mai mare parte din oxigenul molecular este transformat în apă prin intermediul complexului IV mitocondrial și doar o mică parte este transformat în specii reactive cu rol de semnalare intracelulară, a căror acțiune nocivă este blocată de enzimele superoxid dismutaze [12]. În condiții patologice este sporită generarea de radicali liberi mitocondriali prin intermediul diferitor complexe enzimatic, după cum este prezentat în figura 1 [13].

Metalele de tranziție pot crește gravitatea leziunilor celulare în cadrul stresului oxidativ prin faptul că acestea sunt implicate în producerea de specii foarte reactive de oxigen, așa cum este radicalul hidroxil ($\text{OH}\cdot$), una dintre reacțiile de sinteză a acestuia fiind reacția Fenton:



Radicalul hidroxil mai poate fi produs și prin reacția Haber-Weiss:



La pH fiziologic fierul este în formă oxidată. Conversia acestuia în formă redusă îi permite participarea în reacția Fenton. Aceasta conversie se realizează cu ajutorul unui antioxidant, spre exemplu cu ajutorul acidului ascorbic, care reduce ionul feric la ion feros, permițându-i mai apoi ca să fie utilizat în reacții de producere a radicalilor hidroxil. Reacția Fenton, care are loc în sistemele biologice, este considerată una dintre cele mai importante reacții care ar explica leziunile oxidative [15].

Nitric oxid sintaza (NOS) este o enzimă implicată în sinteza oxidului nitric (NO) din L-arginină conform reacțiilor din figura 2. În reacție sunt utilizați 1,5 moli de NADPH și 2 moli de oxigen pentru a transforma L-arginina în L-citrulină, cu producerea concomitentă de NO. Pe lângă producerea de NO, această enzimă, în condiții patologice, poate să producă și anionul superoxid [16].

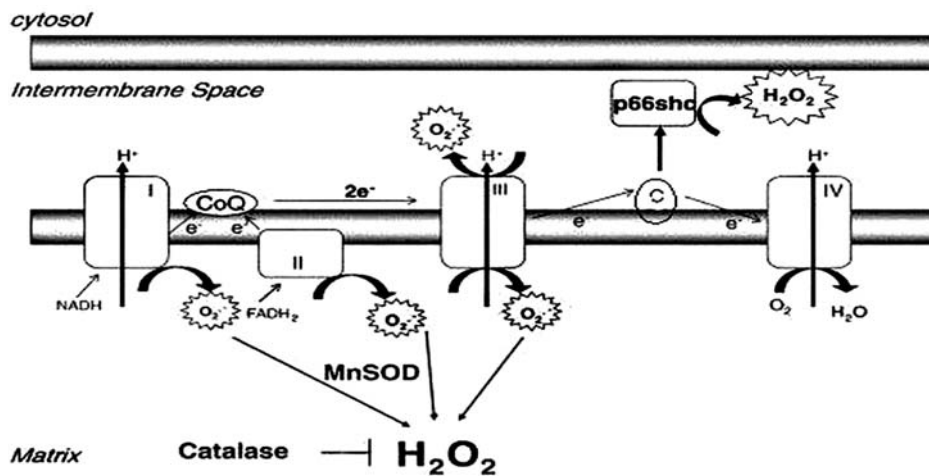


Fig. 1. Producerea de specii reactive ale oxigenului la nivel lanțului transportator de electroni mitocondrial, conform Chandel N.S., et al., 2007 [13]

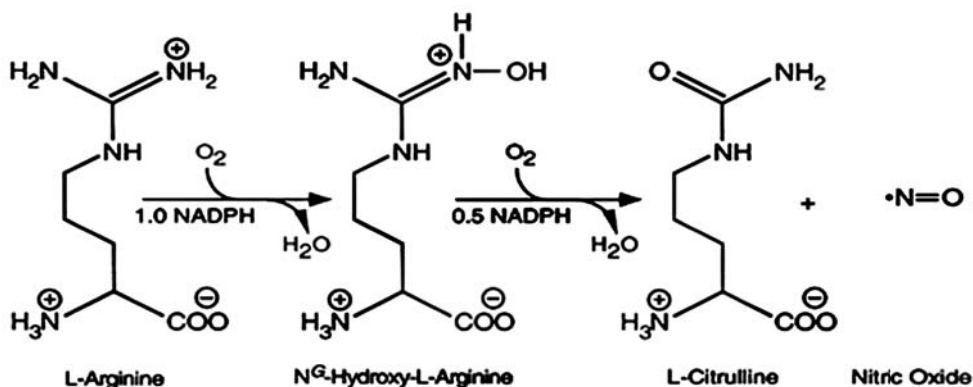


Fig. 2. Producerea oxidului nitric din L-arginină, conform Andrew P.J., et al., 1999 [16]

Există mai multe forme de nitric oxid sintaze: endotelială, neuronală, inductibilă [7]. Totuși, s-a demonstrat că în condiții patologice, cum ar fi hipoxia, NO poate fi generat spontan, fără intervenția NOS, și anume prin reducerea nitritului [17]. Și xantin oxidaza poate fi implicată în generarea de NO prin reducerea nitritului. Xantin oxidaza este o enzimă care participă în catabolismul purinelor până la acidul uric [18].

Macrofagele și neutrofilele sunt activate în procesele inflamatorii. Mecanismul principal de acțiune al acestora este determinat de activarea enzimei NADPH oxidaza. Activarea acesteia este însoțită de generarea de anion superoxid, utilizând oxigen molecular. NADPH oxidaza este un complex enzimatic ce conține mai multe subunități, după cum este arătat în figura 3. Două subunități transmembranare, gp91phox și p22phox, alcătuiesc flavocitocromul b558, nucleul catalitic al complexului. Acest heterodimer catalizează transferul electronilor de la NADPH citozolică la oxigenul molecular, generând astfel anionul superoxid. Flavocitocromul b558 este reglat prin asocierea cu subunitățile p47phox, p67phox și p40phox împreună cu GTP-aza RAC. Aceste subunități de reglare sunt prezente în citoplasma celulelor inactive și sunt translocate la miezul catalitic după stimulare (microbi, mediatori ai inflamației) [19].

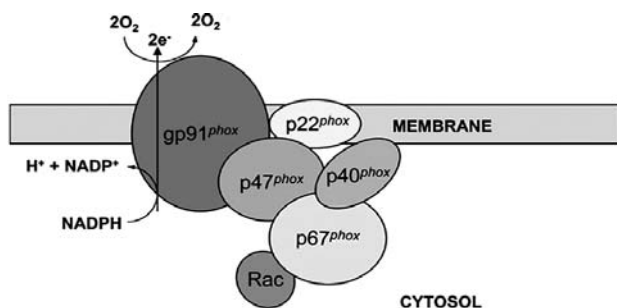


Fig. 3. Structura și activitatea NADPH oxidazei, conform Gardiner G.J., et al., 2013 [19]

Modificări induse de SRO. Leziunile determinate de stresul oxidativ pot fi clasificate în: leziuni ale ADN-ului, ale lipidelor și ale proteinelor [11].

Membranele lipidice sunt printre structurile celulare cele mai sensibile la acțiunea SRO, putând fi supuse peroxidării. Peroxidarea lipidelor reprezintă un proces de degradare care este consecința producerii și propagării reacțiilor radicalilor liberi, implicând primar acizii grași polinesaturați membranari. Prima etapă, inițierea, include atacul unui metabolit reactiv al oxigenului capabil de a sustrage un atom de hidrogen de la gruparea metilen a lipidului. Radicalul de acid gras rămas este stabilizat prin rearanjamentul structurii moleculare, formând o dienă conjugată. Când oxigenul este în cantități suficiente, radicalul acidului gras va reacționa cu el și va forma $ROO\cdot$ pe parcursul celei de-a doua etape, de propagare. Acest radical, singur, la rândul lui, este capabil de a sustrage alt atom de hidrogen de la molecula de acid gras din vecinătate, cu formarea unui nou radical, care de asemenea va suporta un rearanjament molecular și va interacționa cu oxigenul. $ROO\cdot$ devine un lipid hidroperoxid, care poate mai departe să se descompună într-o aldehydă sau să formeze diferiți produși. O singură inițiere poate duce la o reacție în lanț, rezultând peroxidarea tuturor lipidelor membranare nesaturate [15].

Leziunile oxidative ale proteinelor presupun agregare, fragmentare, scindare, modificarea unor grupe funcționale. Consecințele lezării proteinelor celulare ca răspuns la stresul oxidativ sunt pierderea activității biologice a acestora cu alterarea funcțiilor celulare. Producții oxidării proteice pot fi aldehide, compuși ceto, compuși carbonilici, 3-nitrotirozina etc. Datorită faptului că procesul de carbonilare este unul ireversibil, detecția proteinelor carbonilate este pe larg recunoscută a fi un indice al nivelului de oxidare proteică și stres oxidativ din țesutul examinat [20, 21].

Structura unor derivați carbonil, produși prin oxidarea directă a catenei laterale a aminoacizilor (2-pirolidona din rest prolil, semialdehida glutamică din rest arginil și prolil, semialdehida aminoacidică din resturi lizil, acidul 2-amino-3-cetobutiric din rest treonil) este prezentată în figura 4 [22].

ADN-ul poate fi lezat de către SRO prin modifi-

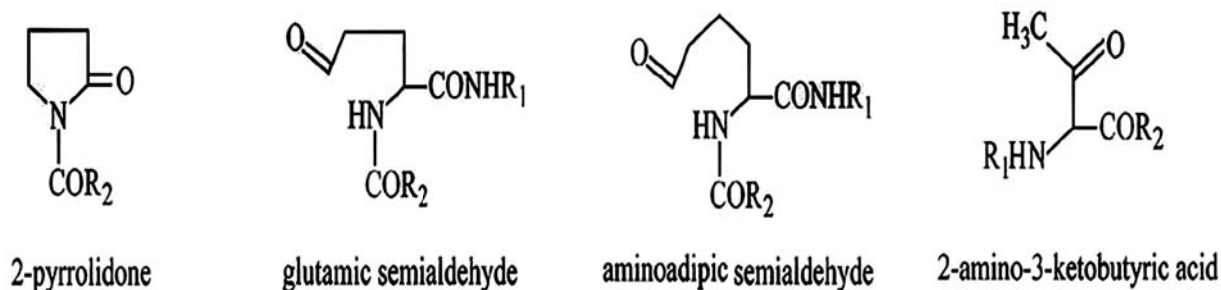


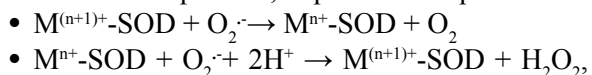
Fig. 4. Structura derivaților carbonil, conform Dalle-Donne I., et al., 2003 [22]

cări ale bazelor, rupturi ale catenelor polinucleotidice, pierderi ale purinelor (situri apurine), leziuni ale dezoxiribozei, și, de asemenea, prin afectarea sistemului implicat în repararea ADN.

Nu toate SRO pot cauza leziuni ale ADN-ului. Principalul rol îi revine radicalului hidroxil, care poate duce la formarea de produși ai oxidării, așa ca 8-hidrodezoxiguanozina, 8- (sau 4-, 5-) hidroxiadenina, 5-hidroxiimetiluracilul și alții. În concentrații fiziologice, interacțiunea directă dintre ADN și alte SRO mai puțin reactive, așa ca $O_2^{\cdot-}$ și H_2O_2 , nu provoacă leziuni, dar, oricum, aceste specii servesc ca sursă pentru intermediari ce pot provoca prejudicii [15].

Sisteme de protecție împotriva speciilor reactive de oxigen. Există diferite mecanisme de protecție care apără celulele de potențialul distrugător al radicalilor liberi. Dintre acestea fac parte enzimele antioxidante: glutatation peroxidaza, catalaza, superoxid dismutaza și altele, cât și molecule antioxidante ca glutatationul, vitamina E și C. Stresul oxidativ apare atunci când nivelul de antioxidanți descrește, iar cel de oxidanți crește [23].

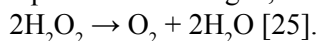
Superoxid dismutazele sunt un grup de enzime cu structură și masă moleculară diferită, care au acțiune specifică asupra radicalului superoxid. Sunt cunoscute trei forme ale superoxid dismutazei: Cu-Zn SOD, care este localizată în citoplasmă, Mn-SOD, ce este localizată în mitocondrii și EC-SOD, care este localizată extracelular. SOD catalizează reacția de dismutare a anionului superoxid, după cum este prezentat:



unde M este metalul din structura enzimei superoxid dismutaza [24].

Sinteza enzimei are loc în dependență de necesitățile celulei, determinându-se că biosinteza SOD este crescută la produceri sporite de $O_2^{\cdot-}$ [23].

Produsul final al acțiunii superoxid dismutazelor H_2O_2 poate fi scindat cu ajutorul catalazei, care acționează la concentrații mari de peroxid de hidrogen. Catalaza este o enzimă a cărei activitate se desfășoară atât în celulele plantelor, cât și animalelor [15]. În celulă catalaza este responsabilă de micșorarea cantității de peroxid de hidrogen, conform reacției:



Glutatation peroxidazele (GPx) sunt enzime selenium dependente ce asigură protecția proteinelor, lipidelor și a acizilor nucleici de acțiunea speciilor reactive de oxigen. Ele sunt localizate în mitocondrii și citoplasmă. Glutatation peroxidaza prezintă șase izoforme (GPx-1 – GPx-6). Toate izoenzimele GPx folosesc glutatation redus (GSH) pentru a cataliza reducerea H_2O_2 [26].

GPx își fac efectele conform reacțiilor:

- $H_2O_2 + 2GSH \rightarrow GSSG + 2H_2O$ sau
 - $R\text{-OOH} + 2GSH \rightarrow R\text{-OH} + GSSG + H_2O$,
- unde R-OOH poate fi un hidroperoxid derivat din lipide (în rezultatul procesului de peroxidare a lipidelor membranare) [24].

Glutatation peroxidazele participă la reducerea hidroperoxidizilor organici la alcoolii corespunzători, folosind molecula de glutatation redus (GSH) [27]. Reducerea glutatationului oxidat (GSSG) se realizează cu utilizarea de NADPH, care este obținut la nivel celular în primul rând ca urmare a activității enzimei glucozo-6-fosfat dehidrogenaza (G6PDH) [28].

GSH este o tripeptidă formată din acid glutamic, cisteină și glicină, purtând denumirea de γ glutamil-cisteinil-glicină, având funcții numeroase în activitatea metabolică celulară și rol de protecție contra radicalilor liberi. Această moleculă este localizată atât în spațiul intracelular, cât și în spațiul extracelular pentru a fi utilizată de către alte celule și țesuturi. Este cel mai abundent tiol localizat intracelular, 85-90% fiind prezent în citoplasmă. Glutatationul este o moleculă antioxidantă puternică ce ajută și la menținerea altor antioxidanți în forme adecvate, ce ar asigura protecția celulară. Această moleculă poate exista sub două forme: oxidată (GSSG) și redusă (GSH). Speciile reactive de oxigen și azot determină transformarea formei reduse în oxidată [29]. Raportul GSH/GSSG este utilizat pentru aprecierea stării redox celulare [30]. Sinteza glutatationului este catalizată de două enzime din citoplasmă: γ -glutamyl-cistein sintetaza și glutatation sintetaza. Organul principal în care se sintetizează cantități suficiente de GSH, care să poată fi și exportate spre alte organe, este ficatul. Sinteza glutatationului are loc intracelular, pe când scindarea acestuia are loc exclusiv în spațiul extracelular, și anume pe suprafața celulelor care exprimă enzima γ -glutamyl transpeptidaza. Glutatationul este cofactor pentru anumite enzime, incluzând glutatation S-transferazele, glutatation peroxidazele, glutatation reductazele. GSH formează cu NO un conjugat, S-nitrozo-glutatation, care este apoi degradat de sistemul tioredoxinei. Glutatationul transformă formele oxidate și inactive ale vitaminelor C și E în forme reduse, necesare pentru protecția contra speciilor reactive de oxigen [29]. Glutatationul previne oxidarea grupelor -SH ale proteinelor, participă în transportul cuprului, putând acționa ca agent chelant pentru ionii de cupru, preîntâmpinând participarea acestora în reacția Haber-Weis [15].

Vitamina E (α -tocoferol) este o moleculă care poate participa la neutralizarea radicalilor liberi, fiind liposolubilă, se poate insera în membrana celulară și poate proteja lipidele de peroxidare, împiedicând propagarea lanțului de reacții oxidative [24].

Vitamina C (ascorbatul) este o substanță ce asigu-

ră o protecție antioxidantă, având și un rol important în regenerarea vitaminei E [24]. Însă, în concentrații semnificative, în prezența metalelor de tranziție, vitamina C poate acționa și ca prooxidant, generând radicali care vor contribui la amplificarea stresului oxidativ cu lezarea structurilor celulare [15].

Influența SRO asupra sistemului reproducător feminin. Ovarul este un organ activ din punct de vedere metabolic și servește ca rezervor de celule germinale pe parcursul perioadei reproductive a femeilor. Conține aproximativ 300.000 de foliculi primordiali [31].

SRO în sistemul reproducător feminin sunt implicate în procese fiziologice precum: dezvoltarea foliculilor, steroidogeneză ovariană, ovulație, formarea corpus luteum, luteoliză, funcționarea celulelor germinale, menținerea sarcinii [6].

SRO sunt generate în ovar datorită metabolismului crescut în timpul etapelor finale ale foliculogenezei și în timpul ovulației. Această acumulare, posibil, este datorată activității scăzute a antioxidantilor enzimatici [32-36]. Astfel, un nivel crescut al SRO a fost raportat în foliculii antrali în timpul etapelor finale ale foliculogenezei, stare ce poate fi asociată cu maturarea finală a ovocitelor [37-40]. În foliculul preovulator, SRO sunt considerate a fi inductori importanți ai ovulației [41]. Ovulația este esențială pentru reproducere și începe prin creșterea eliberării de hormon luteinizant, care determină importante modificări fiziologice ce au ca rezultat eliberarea unui ovul matur [42]. Surse de SRO în timpul ovulației pot fi leucocitele, care sunt localizate în jurul foliculului preovulator [43], iar hormonul luteinizant este implicat în activarea leucocitelor polimorfonucleare, amplificând producerea ovariană de SRO [44].

În procesul ovulației anionul superoxid, care este format împreună cu alte substanțe, determină ruperea pereților foliculari [45]. Mai multe studii au demonstrat intensificarea procesului de peroxidare a lipidelor în foliculul Graaf preovulator [46].

Pe lângă funcțiile fiziologice exercitate de SRO în timpul ovulației, trebuie să se ia în considerare, în mod serios, potențialele efecte negative ale acestora, în special atunci când concentrațiile SRO ating niveluri ridicate [37]. Dacă are loc o supraproducere de specii reactive de oxigen atunci poate fi inhibată dezvoltarea ovocitului [47]. Stimularea ovariană repetată cu gonadotropine exogene induce stres oxidativ în ovare și ovulația unor ovocite necalitative [48]. Pentru a preîntâmpina leziunile oxidative, celulele foliculare ovariene sunt dotate cu un sistem antioxidant atât enzimatic (constituit în principal din Cu, Zn-SOD și Mn-SOD), cât și neenzimatic (vitaminele A, C, E și glutatiunul) [6]. Studii pe șoareci sugerează că uti-

lizarea de antioxidanți este benefică pentru a depăși efectele nocive ale stresului oxidativ asupra ovocitelor [49].

După ovulație se formează corpus luteum, care produce progesteron, un hormon esențial pentru menținerea sarcinii [50]. Una din enzimele implicate în procesul de steroidogeneză ovariană este o monooxigenază, care necesită citocromul P450. Reacția care implică activitatea acestei enzime este inevitabil însoțită de producere de SRO ca produși secundari. Astfel, celulele implicate în steroidogeneză sunt posibile surse de SRO, iar acestea, la rândul lor, influențează sinteza de progesteron. *In vitro*, concentrații mici de peroxid de hidrogen stimulează secreția de progesteron, pe când concentrațiile crescute au efect inhibitor [6]. Progesteronul, la rândul său, este de asemenea capabil să moduleze generarea SRO. Există o corelație semnificativă între valorile serice de progesteron, activitatea enzimei SOD și concentrațiile SRO. Astfel, s-a determinat o creștere a activității antioxidante la nivelul ovarelor în faza luteală, cu scopul de a păstra activitatea corpus luteum [6, 50]. Studii pe animale au arătat o descreștere a concentrației speciilor reactive de oxigen în faza luteală în comparație cu concentrațiile de SRO găsite în faza foliculară [51]. Descreșterea activității enzimei SOD și creșterea concentrației de SRO în corpus luteum are efect luteolitic [6].

Studii efectuate pe șobolani au demonstrat că și NO poate inhiba steroidogeneza ovariană, cu micșorarea cantității de progesteron [52]. Creșterea cantității de NO inhibă steroidogeneza ovariană și la oameni [53, 54] și bovine [55]. Această inhibiție poate fi realizată prin fixarea NO de enzimele responsabile de steroidogeneză și anume prin fixarea de gruparea hem a citocromului P450 [7, 56] sau prin activarea guanilatciclazei, cu creșterea concentrației de GMPc. Se sugerează că GMPc acționează prin blocarea evenimentelor inițiale celulare care conduc la maturarea celulelor granuloase [57].

S-a constatat că și în timpul unei sarcini normale are loc generarea de specii reactive de oxigen. Producerea de SRO pe parcursul sarcinii este considerat un fenomen normal și este susținută de producerea de peroxizi lipidici și radicali liberi la nivelul placentei [58]. Radicalii liberi produși au rolul de a stimula diferențierea și proliferarea celulelor trofoblastice, la fel, aceștia influențează reactivitatea vasculară, exercitând efecte vasoactive [59]. Totuși, o supraproducere de SRO poate determina stres oxidativ [60], cu efecte negative asupra capacității de reproducere, și anume, cu oprirea în dezvoltare a embrionului [61].

Concluzii

Speciile reactive ale oxigenului pot avea implicații atât fiziologice, cât și patologice la nivelul sistemului reproducător feminin. O supraproducere de SRO va declanșa stresul oxidativ cu efecte negative asupra capacității de reproducere a femeilor. O bună cunoaștere și înțelegere a mecanismelor de producere a SRO, cât și a efectelor lor, poate contribui la preîntâmpinarea apariției afecțiunilor ginecologice soldate cu infertilitate.

Bibliografie

- Kalogeris T., Baines C.P., Krenz M., Korthuis R.J., *Cell Biology of Ischemia/Reperfusion Injury*. Int Rev Cell Mol Biol, 2012; 298: 229-317.
- Burton G.J., Jauniaux E., *Oxidative Stress*. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2010; 25: 287-299.
- Al-Gubory K.H., Fowler P.A., Garrel C., *The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes*. Int J Biochem Cell Biol, 2010; 42: 1634-1650.
- Chen H., Yoshioka H., Kim G.S., Jung J.E., Okami N., Sakata H., Maier C.M., Narasimhan P., Goeders C.E., Chan P.H., *Oxidative Stress in Ischemic Brain Damage: Mechanisms of Cell Death and Potential Molecular Targets for Neuroprotection*. Antioxidants & Redox Signaling, 2011; 14(8): 1505-1517.
- Pourova J., Kottova M., Voprsalova M., Pour M., *Reactive oxygen and nitrogen species in normal physiological processes*. Acta Physiol, 2010; 198(1): 15-35.
- Rizzo A., Roscino M.T., Binetti F., Sciorisci R.L., *Role of reactive oxygen species in female reproduction*. Reprod Dom Anim, 2012; 47: 344-352.
- Basini G., Grasselli F., *Nitric oxide in follicle development and oocyte competence*. Reproduction, 2015; 150: R1-R9.
- Chatterjee A., Black S.M., Catravas J.D., *Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiological regulation*. Vascular Pharmacology, 2008; 49: 134-140.
- Chandra A., Surti N., Kesavan S., Agarwal A., *Significance of oxidative stress in human reproduction*. Arch Med, 2009; 5: 528-542.
- Gonzalez-Fernandez R., Gaytan F., Martinez-Galisteo E., Porras P., Padilla C.A., Sanchez Criado J.E., Barcena J.A., *Expression of glutaredoxin (thioltransferase) in the rat ovary during the oestrous cycle and postnatal development*. J Mol Endocrinol, 2005; 34: 625-635.
- Agarwal A., Aponte-Mellado A., Premkumar B.J., Shaman A., Gupta S., *The effects of oxidative stress on female reproduction: a review*. Reproductive Biology and Endocrinology, 2012; 10:49.
- Turrens J.F., *Mitochondrial formation of reactive oxygen species*. J Physiol, 2003; 552: 335-344.
- Chandel N.S., Budinger S.G.R., *The cellular basis for diverse responses to oxygen*. Free Radical Biology & Medicine, 2007; 42: 165-174.
- Kehrer J.P., *The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity*. Toxicology, 2000; 149: 43-50.
- Kohen R., Nyska A., *Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification*. Toxicolopathol, 2002; 30: 620-650.
- Andrew P.J., Mayer B., *Enzymatic function of nitric oxide synthases*. Cardiovascular Research, 1999; 43: 521-531.
- Cortese-Krott M.M., Fernandez B.O., Kelm M., Butler A.R., Feelisch M., *On the chemical biology of the nitrite/sulfide interaction*. Nitric Oxide, 2015; 46: 14-24.
- Godber B.L., Doel J.J., Sapkota G.P., Blake D.R., Stevens C.R., Eisenthal R., Harrison R., *Reduction of nitrite to nitric oxide catalyzed by xanthine oxidoreductase*. Journal of Biological Chemistry, 2000; 275: 7757-7763.
- Gardiner G.J., Deffit S.N., McLetchie S., Pérez L., Walline C.C., Blum J.S., *A role for NADPH oxidase in antigen presentation*. Frontiers in Immunology, 2013; 4: 1-6.
- Dalle-Donne I., Aldini G., Carini M., Colombo R., Rossi R., Milzani A., *Protein carbonylation, cellular dysfunction, and disease progression*. J Cell Mol Med, 2006; 10: 389-406.
- Dalle-Donne I., Scaloni A., Giustarini D., Cavarra E., Tell G., Lungarella G., Colombo R., Rossi R., Milzani A., *Proteins as biomarkers of oxidative/nitrosative stress in diseases: The contribution of redox proteomics*. Mass Spectrom Rev, 2005; 24: 55-99.
- Dalle-Donne I., Rossi R., Giustarini D., Milzani A., Colombo R., *Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress*. Clinica Chimica Acta, 2003; 329: 23-38.
- El-Bahr S.M., *Biochemistry of Free Radicals and Oxidative Stress*. Science International, 2013; 1: 111-117.
- Birben E., Sahiner U.M., Sackesen C., Erzurum S., Kalayci O., *Oxidative Stress and Antioxidant Defense*. WAO Journal, 2012; 5: 9-19.
- Kunwar A., Prizadarsini K.I., *Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health*. Journal of Medical and Allied Sciences, 2011; 1(2): 53-60.
- Lei X.G., Cheng W.H., McClung J.P., *Metabolic regulation and function of glutathione peroxidase-1*. Annu Rev Nutr, 2007; 27: 41-61.
- Herbette S., Roeckel-Drevet P., Drevet J.R., *Seleno-independent glutathione-peroxidases. More than simple antioxidant scavengers*. FEBS Journal, 2007; 274: 2163-2180.
- Negrei C., Bălănescu A., Ilie M., Margină D., Bălălău D., Baconi D., Bojincă V., Bergheta F., Opriș D., Predețeanu D., Ionescu R., *Relevanța determinării unor parametri de stres oxidativ asupra diagnosticării afecțiunilor cardiovasculare asociate poliartritei reumatoide*. Revista Medicină Internă, 2009; 5: 1-7.
- Wu G., Fang Y.-Z., Yang S., Lupton J.R., Turner N.D., *Glutathione Metabolism and Its Implications for Health*. In J. Nutr., 2004; 134: 489-492.
- Hrbac J., Kohen R., *Biological redox activity: Its importance, methods for its quantification and implication for health and disease*. Drug Develop Res, 2000; 50: 516-527.
- Tatone C., Emidio G.D., Vitti M., Carlo M.D., Santini Jr. S., D'Alessandro A.M., Falone S., Amicarelli

- F., *Sirtuin Functions in Female Fertility: Possible Role in Oxidative Stress and Aging*. Oxid Med Cell Longev, 2015.
32. Chaube S.K., Prasad P.V., Thakur S.C., Shrivastava T.G., *Hydrogen peroxide modulates meiotic cell cycle and induces morphological features characteristics of apoptosis in rat oocytes cultured in vitro*. Apoptosis, 2005; 10: 863–75.
33. Tripathi A., Premkumar K.V., Pandey A.N., Khatun S., Mishra S.K., Shrivastav T.G., Chaube S.K., *Melatonin protect against clomiphene citrate-induced generation of free radicals and egg apoptosis in rat*. Eur J Pharmacol, 2011; 667: 419–424.
34. Tripathi A., Khatun S., Pandey A.N., Mishra S.K., Chaube R., Shrivastav T.G., Chaube S.K., *Intracellular levels of hydrogen peroxide and nitric oxide in oocyte at various stages of meiotic cell cycle and apoptosis*. Free Radic Res, 2009; 43: 287–294.
35. Tiwari M., Prasad S., Tripathi A., Pandey A.N., Singh A.K., Shrivastav T.G., Chaube S.K., *Involvement of reactive oxygen species in meiotic cell cycle regulation and apoptosis in mammalian oocytes*. Reactive Oxygen Species, 2016; 1: 110–116.
36. Behrman H.R., Kodaman P.H., Preston S.L., Gao S., *Oxidative stress and the ovary*. J Soc Gynecol Investig, 2001; 8: 40–42.
37. Agarwal A., Gupta S., Sharma R.K., *Role of oxidative stress in female reproduction*. Reprod Biol Endocrinol, 2005; 3: 28.
38. Pandey A.N., Tripathi A., Premkumar K.V., Shrivastav T.G., Chaube S.K., *Reactive oxygen and nitrogen species during meiotic resumption from diplotene arrest in mammalian oocytes*. J Cell Biochem, 2010; 111: 521–528.
39. Fujii J., Iuchi Y., Okada F., *Fundamental role of reactive oxygen species and protective mechanism in the female reproductive systems*. Reprod Biol Endocrinol, 2005; 3: 43–52.
40. Basini G., Simona B., Santini S.E., Grasselli F., *Reactive oxygen species and antioxidant defences in swine follicular fluids*. Reprod Fert Dev, 2008; 20: 269–274.
41. Ruder E.H., Hartman T.J., Goldman M.B., *Impact of oxidative stress on female fertility*. Curr Opin Obstet Gynecol, 2009; 21: 219–222.
42. Shkolnik K., Tadmor A., Ben-Dor S., Nevo N., Galiani D., Dekel N., *Reactive oxygen species are indispensable in ovulation*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011; 108: 1462–1467.
43. Brannstrom M., Mayrhofer G., Robertson S.A., *Localization of leukocyte subsets in the rat ovary during preovulatory period*. Biol Reprod, 1993; 48: 277–286.
44. Shirai F., Kawaguchi M., Yutsudo M., Dohi Y., *Human peripheral blood polymorphonuclear leukocytes at the ovulatory period are in an activated state*. Mol Cell Endocrinol, 2002; 196: 21–28.
45. Kodaman P.H., Behrman H.R., *Endocrine-regulated and protein kinase c-dependent generation of superoxide by rat preovulatory follicles*. Endocrinology, 2001; 142: 687–693.
46. Jozwik M., Wolczynski S., Szamatowicz M., *Oxidative stress markers in preovulatory follicular fluid in humans*. Mol Hum Reprod, 1999; 5: 409–413.
47. Guerin P., El Moutassim S., Menezo Y., *Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings*. Hum Reprod Update, 2001; 7: 175–189.
48. Chao H.T., Lee S.Y., Lee H.M., Liao T.L., Wei Y.H., Kao S.H., *Repeated ovarian stimulations induce oxidative damage and mitochondrial DNA mutations in mouse ovaries*. Ann N Y Acad Sci, 2005; 1042: 148–156.
49. Lian H.Y., Gao Y., Jiao G.Z., Sun M.J., Wu X.F., Wang T.Y., Li H., Tan J.H., *Antioxidant supplementation overcomes the deleterious effects of maternal restraint stress-induced oxidative stress on mouse oocytes*. Reproduction, 2013; 146: 559–568.
50. Sugino N., *Roles of reactive oxygen species in the corpus luteum*. Anim Sci J, 2006; 77: 556–565.
51. Rizzo A., Roscino M.T., Minoia G., Trisolini C., Spedicato M., Mutinati M., Pantaleo M., Jirillo F., Sciorsci R.L., *Serum levels of reactive oxygen species (ROS) in the bitch*. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2009; 31: 310–313.
52. Shahpar S., Minoo I., Vahid N., Goudarz S.H., *Physiological effects of NO-cGMP pathway on ovarian steroidogenesis in rat*. Pakistan Journal of Biological Sciences, 2007; 10: 1175–1179.
53. Rosselli M., Keller P.J., Dubey R.K., *Role of nitric oxide in the biology, physiology and pathophysiology of reproduction*. Human Reproduction Update, 1998; 4: 3–24.
54. Tobai H., Nishiya I., *Nitric oxide mediates inhibitory effect of interleukin-1b on estrogen production in human granulosa-luteal cells*. Journal of Obstetrics and Gynaecology Research, 2001; 27: 53–59.
55. Faes M.R., Caldas-Bussiere M.C., Viana K.S., Dias B.L., Costa F.R., Escocard R.M., *Nitric oxide regulates steroid synthesis by bovine antral granulosa cells in a chemically defined medium*. Animal Reproduction Science, 2009; 110: 222–236.
56. Hanke C.J., Drewett J.G., Myers C.R., Campbell W.B., *Nitric oxide inhibits aldosterone synthesis by a guanylyl cyclase-independent effect*. Endocrinology, 1998; 139: 4053–4060.
57. Ishimaru R.S., Leung K., Hong L., La Polt P.S., *Inhibitory effects of nitric oxide on estrogen production and cAMP levels in rat granulosa cell cultures*. Journal of Endocrinology, 2001; 168: 249–255.
58. Little R.E., Gladen B.C., *Levels of lipid peroxides in uncomplicated pregnancy: a review of the literature*. Reprod Toxicol, 1999; 13: 347–352.
59. Myatt L., Cui X., *Oxidative stress in the placenta*. Histochem Cell Biol, 2004; 122: 369–382.
60. Garrel C., Fowler P.A., Al-Gubory K.H., *Developmental changes in antioxidant enzymatic defences against oxidative stress in sheep placentomes*. J Endocrinol, 2010; 205: 107–116.
61. Nasr-Esfahani M.H., Aitken J.R., Johnson M.H., *Hydrogen peroxide levels in mouse oocytes and early cleavage stage embryos developed in vitro or in vivo*. Development, 1990; 109: 501–507.