

М.Ю. Прорубщикова, Л.И. Колесникова, Л.В. Сутурина

## СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ У ЖЕНЩИН, ПРОХОДЯЩИХ ПРОЦЕДУРУ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ

ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН (Иркутск)

*Изучено состояние антиоксидантной системы у 74 пациенток, проходящих лечение бесплодия методом экстракорпорального оплодотворения, в зависимости от эффективности процедуры.*

**Ключевые слова:** перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, микроокружение ооцита

## THE STATE OF ANTIOXIDANT SYSTEM OF THE WOMEN UNDERGOING THE PROCEDURE OF *IN VITRO* FERTILIZATION

M.Yu. Prorubschikova, L.I. Kolesnikova, L.V. Sutura

*Scientific Center of the Family Health and Human Reproduction Problems, Siberian Branch RAMS, Irkutsk*

*The antioxidant system activity was studied in 74 patients undergoing infertility treatment by the vitro fertilization, depending on the effectiveness of the procedure.*

**Key words:** lipid peroxidation, antioxidant defence, oocyte microenvironment

Процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) постоянно происходят в организме и имеют важное значение для обновления состава и поддержания функциональных свойств биомембран, энергетических процессов, клеточного деления, синтеза биологически активных веществ, внутриклеточной сигнализации [1, 6]. Однако в последнее время широко обсуждается вопрос о роли дисбаланса про- и антиоксидантной систем. В настоящее время считается доказанным, что избыточное накопление продуктов свободнорадикального и перекисного окисления является важным этиологическим фактором возникновения практически всех основных болезней человека и животных на разных стадиях их развития [2, 4, 7]. Повреждающему эффекту свободных радикалов (СР), активных форм кислорода (АФК) противостоит система противooksидательной защиты, главным действующим звеном которой являются антиоксиданты — соединения, способные тормозить, уменьшать интенсивность свободнорадикального окисления, нейтрализовывать СР [3, 5, 8].

**Целью** исследования явилась оценка активности антиоксидантной системы организма в сыворотке крови и фолликулярной жидкости у женщин, проходивших лечение бесплодия методом экстракорпорального оплодотворения, в зависимости от эффективности процедуры.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 78 женщин с установленным диагнозом «Бесплодие». Пациентки были включены в научное исследование только после того, как они получили полную информацию о нем и дали осознанное и добровольное согласие на участие. В работе соблюдались этические принципы,

предъявляемые Хельсинкской Декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, 2000 ред.)). Критерием исключения явилось отсутствие сопутствующих гинекологических и соматических заболеваний. Всем пациенткам проведена процедура экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). Индукцию овуляции проводили по общепринятым схемам с использованием агонистов (диферелин) или антагонистов (оргалутран) гонадотропин-рилизинг гормона и рекомбинантных гонадотропинов (пурегон, гонал-ф). В зависимости от исхода программы ЭКО пациентки были разделены на две группы. В первую группу — основную — вошли 34 женщины с клинически подтвержденной беременностью после проведения процедуры ЭКО. Во вторую — группу сравнения — 44 пациентки, у которых беременность после ЭКО не наступила.

Оценку состояния антиоксидантной системы проводили в лаборатории патофизиологии репродукции ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН г. Иркутска. Материалом исследования служили сыворотка крови и фолликулярная жидкость. Забор крови проводили из локтевой вены, натощак, перед проведением трансвагинальной пункции (ТВП). Фолликулярную жидкость получали при пункции доминантных фолликулов во время ТВП.

Оценку общей АОА крови проводили по методу Г.И. Клебанова с соавт. (1988) на спектрофотометре СФ-56, выражали в усл. ед. Определение а-токоферола и ретинола проводили флуориметрическим методом (Черняускене Р.Ч., Варшкявичене З.З., Грибаускас П.С., 1984) на спектрофлуорофотометре Shimadzu RF-1501 (Япония). В качестве внешнего стандарта использовались: D,

L,  $\alpha$ -токоферол фирмы «Serva» и all-trans-retinol фирмы «Sigma».  $\alpha$ -токоферол обладает интенсивной флуоресценцией с максимумом возбуждения при  $\lambda = 294$  нм и флуоресценции — при  $\lambda = 330$  нм; ретинол — с максимумом возбуждения при  $\lambda = 335$  нм и флуоресценции —  $\lambda = 460$  нм. Содержание  $\alpha$ -токоферола и ретинола выражали в мкмоль/л. Измерения содержания восстановленного (GSH) и окисленного (GSSG) глутатиона проводили флуориметрическим методом (Hissin P.Y., Hilf R., 1976) на спектрофлуорофотометре Shimadzu RF-1650 (Япония) при  $\lambda_{\text{ex}} = 350$  нм и  $\lambda_{\text{em}} = 420$  нм. Концентрацию GSH и GSSG выражали в ммоль/л.

В оценке результатов исследований использована интегрированная система для комплексного статистического анализа и обработки данных в среде STATISTICA 6.1 Stat-Soft® Inc., США. Для представления количественных данных приводили описательные статистики: среднее (M), стандартное отклонение ( $\sigma$ ). Для объективной оценки нормальности распределения признаков использовали критерии согласия Шапиро — Уилка и Колмогорова-Смирнова, F-критерия Фишера для дисперсии. Для проверки нулевой статистической гипотезы о наличии различий между группами использовали непараметрические критерии Манна — Уитни, Вальда — Вольфовица и двухвыборочный критерий Колмогорова — Смирнова. Уровнем статистической значимости считали  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе результатов исследования нами получены следующие показатели. Основная группа и группа сравнения были статистически однородны, средний возраст пациенток был  $31,26 \pm 3,93$  года и  $33,16 \pm 4,48$  соответственно, продолжительность бесплодия —  $5,93 \pm 3,51$  года в основной группе и  $7,2 \pm 3,93$  года в группе сравнения. Число полученных в результате стимуляции суперовуляции ооцитов были  $8,65 \pm 5,94$  и  $6,98 \pm 3,77$  соответственно в основной группе и группе сравнения.

Результаты исследования антиоксидантной активности в сыворотке крови пациенток обеих групп представлены в таблице 1. При анализе полученных данных выявлено, что концентрация

витамина А в группе сравнения была достоверно выше, нежели в основной группе и составила  $0,56 \pm 0,17$  мкм/л и  $0,47 \pm 0,12$  мкм/л соответственно. АОА в первой и второй группах была статистически равнозначна и составила  $9,30 \pm 1,06$  усл. ед. и  $8,14 \pm 3,35$  усл. ед. соответственно, концентрация витамина Е ( $6,98 \pm 1,79$  мкм/л и  $6,94 \pm 1,79$  мкм/л), COD ( $1,74 \pm 0,14$  усл. ед. и  $1,71 \pm 0,12$  усл. ед.), GSH ( $2,25 \pm 0,28$  мм/л и  $2,26 \pm 0,33$  мм/л) и GSSG ( $2,02 \pm 0,32$  мм/л и  $2,03 \pm 0,35$  мм/л) также статистически не отличались.

Следует также отметить, что концентрация ретинола в сыворотке крови у женщин первой группы ниже нормы (референтные значения VIT А  $0,50 - 2,27$  мкм/л) в 64,71 % случаев, тогда как во второй группе — только в 34,09 % ( $p < 0,05$ ).

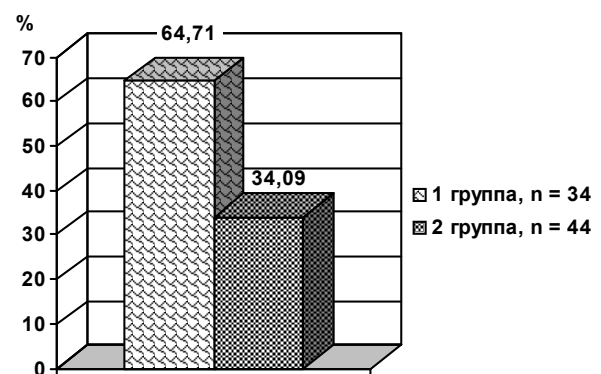


Рис. 1. Процентное соотношение пациенток с концентрацией ретинола в сыворотке крови ниже 0,50 мкм/л.

Показатели антиоксидантной системы организма в фолликулярной жидкости женщин обеих групп отражены в таблице 2. При анализе полученных данных выявлено, что содержание витамина А в первой и второй группах были статистически равнозначны и составляли  $0,48 \pm 0,16$  мкм/л и  $0,48 \pm 0,18$  мкм/л соответственно. Также статистически не отличается концентрация витамина Е ( $6,94 \pm 3,60$  мкм/л и  $6,49 \pm 2,60$  мкм/л). Что касается АОА, у пациенток группы сравнения данный показатель был достоверно выше, нежели у женщин основной группы и составил  $5,79 \pm 1,75$  усл. ед. и  $6,80 \pm 2,14$  усл. ед.

Таблица 1  
Показатели антиоксидантной системы в сыворотке крови у женщин, в зависимости от результатов ЭКО

| № | Показатели    | 1 группа (беременные), n = 34 | 2 группа (небеременные), n = 44 | Значимость параметров                     |
|---|---------------|-------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------------|
| 1 | АОА, усл. ед. | $9,30 \pm 2,48$               | $8,14 \pm 3,35$                 | $pt = 0,09, pf = 0,07$                    |
| 2 | VIT E, мкм/л  | $6,98 \pm 1,79$               | $6,94 \pm 1,79$                 | $pU = 0,95, pW = 0,58, pKS > 0,10$        |
| 3 | VIT A, мкм/л  | $0,47 \pm 0,12$               | $0,56 \pm 0,17$                 | $pU = 0,02^*, pW = 0,02^*, pKS < 0,025^*$ |
| 4 | COD, усл. ед. | $1,74 \pm 0,14$               | $1,71 \pm 0,12$                 | $pU = 0,14, pW = 0,31, pKS < 0,05^*$      |
| 5 | GSH, мм/л     | $2,25 \pm 0,28$               | $2,26 \pm 0,33$                 | $pU = 0,75, pW = 0,93, pKS > 0,10$        |
| 6 | GSSG, мм/л    | $2,02 \pm 0,32$               | $2,03 \pm 0,35$                 | $pt = 0,90, pf = 0,67$                    |

Примечание: \* — статистически значимые показатели ( $p < 0,05$ ).

Таблица 2

Показатели антиоксидантной системы в фолликулярной жидкости у женщин в зависимости от результатов ЭКО

| № | Показатели   | 1 группа (беременные),<br>n = 34 | 2 группа (небеременные),<br>n = 44 | Значимость параметров                |
|---|--------------|----------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|
| 1 | АОА, у.е.    | 5,79 ± 1,75                      | 6,80 ± 2,14                        | pU = 0,01*, pW = 0,05*, pKS < 0,005* |
| 2 | VIT E, мкМ/л | 6,94 ± 3,60                      | 6,49 ± 2,60                        | pU = 0,60, pW = 0,88, pKS > 0,10     |
| 3 | VIT A, мкМ/л | 0,48 ± 0,16                      | 0,48 ± 0,18                        | pU = 0,60, pW = 0,40, pKS > 0,10     |

Примечание: \* – статистически значимые показатели (p &lt; 0,05).

### ВЫВОДЫ

Таким образом, по результатам наших исследований, концентрация ретинола в сыворотке крови и АОА в фолликулярной жидкости пациенток, не получивших эффекта от программы ЭКО, достоверно выше, нежели у беременных женщин.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Барабой В.А., Брехман И.И., Голожин В.Г. Перекисное окисление и стресс. – М.: Наука, 2004. – 148 с.
2. Зборовская И.А., Банникова М.В. Антиоксидантная система организма, ее значение в метаболизме. Клинические аспекты // Вестн. РАМН. – 1995. – № 6. – С. 53–60.
3. Специфичность систем антиоксидантной защиты органов и тканей – основа дифференцированной фармакотерапии антиоксидантами / В.Н. Бобырев [и др.] // Эксперим. и клин. фармакология. – 1994. – № 57 (1). – С. 47–54.

4. Agarwal A., Saleh R.A., Bedaiwy M.A. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction // Fertil Steril. – 2003. – Vol. 79. – P. 829–843..

5. Antioxidants and reactive oxygen species in follicular fluid of women undergoing IVF: relationship to outcome / O. Oyawoye [et al.] // Hum Reprod. – 2003. – Vol. 18. – P. 2270–2274..

6. Gutteridge J.M.C. Lipid peroxidation and anti-oxidation as biomarkers of tissues damage // Clinikal Chemistry, 2005. – Vol. 41, N 12. – P. 1819–1828.

7. Van Blerkom J. Intrafollicular influences on human oocyte developmental competence: perifollicular vascularity, oocyte metabolism and mitochondrial function // Hum Reprod. – 2000. – 15 (Suppl. 2). – P. 173–188..

8. Van Blerkom J. Mitochondria in human oogenesis and preimplantation embryogenesis: engines of metabolism, ionic regulation and developmental competence // Reproduction. – 2004. – Vol. 128. – P. 269–280.

### Сведения об авторах

**Прорубщикова Мария Юрьевна** – аспирант ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 20-76-76; e-mail: maria-up@rambler.ru)

**Колесникова Любовь Ильинична** – директор ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН, член-корр. РАМН, профессор (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 20-76-76, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

**Сутурина Лариса Викторовна** – руководитель отдела охраны репродуктивного здоровья ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН, доктор медицинских наук, профессор (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 20-76-76; e-mail: lsuturina@mail.ru)