

М.Ю. Прорубщикова, Л.И. Колесникова, Л.В. Сутурина**ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРОКСИДАЦИИ ЛИПИДОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И Фолликулярной жидкости пациенток с бесплодием и различными исходами экстракорпорального оплодотворения****ФБГУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН (Иркутск)**

В статье представлены результаты исследования показателей пероксидации липидов в сыворотке крови и фолликулярной жидкости 78 пациенток с различными результатами ЭКО. Отмечено повышение продуктов перекисного окисления липидов у женщин с неудачами ЭКО.

Ключевые слова: бесплодие, экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО), перекисное окисление липидов (ПОЛ)

LIPID PEROXIDATION PARAMETERS IN BLOOD SERUM AND FOLLICILE LIQUID OF INFERTILE PATIENTS WITH DIFFERENT IVF RESULTS**M.Yu. Prorubschikova, L.I. Kolesnikova, L.V. Suturina****Scientific Center of the Family Health and Human Reproduction Problems, Siberian Branch RAMS, Irkutsk**

The article presents the results of investigation of lipid peroxidation parameters in blood serum and follicle liquid of 78 patients with different IVF results. The increase of lipid peroxidation products is shown in women with unsuccessful IVF procedure.

Key words: infertility, in vitro fertilization (IVF), lipid peroxidation

Процесс перекисного окисления липидов является важной причиной накопления клеточных дефектов [6]. Основным субстратом ПОЛ являются полиненасыщенные цепи жирных кислот, входящих в состав клеточных мембран, а также липопротеинов [1, 3, 5]. Атака кислородными радикалами приводит к образованию гидрофобных радикалов, взаимодействующих друг с другом и в результате повреждающих клетку [2, 9]. Активность антиоксидантной системы организма очень важна в плане защиты клеток при любых стрессовых ситуациях [4, 7].

Эмбриональное развитие сопряжено с увеличением ненасыщенности липидов эмбриональных тканей, что делает эмбриогенез особенно чувствительным к повреждающему действию свободных радикалов и роль антиоксидантной защиты при этом трудно переоценить [8, 10, 11].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 78 женщин с установленным диагнозом «Бесплодие». В работе соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинской Декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, 2000 ред.)). 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 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.

Для выявления причин бесплодия пациенткам проводили общеклиническое, гормональное, гинекологическое обследование, УЗИ органов малого таза. Мужчины проходили стандартную схему обследования.

В оценке результатов исследований использовали интегрированную систему 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 (σ). 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. Для качественных данных были определены частоты (%), о значимости различий судили на основании анализа таблиц сопряженности. 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 $31,26 \pm 3,93$ год и $33,16 \pm 4,48$ года, соответственно, продолжительность бесплодия составила $5,93 \pm 3,51$ лет в

основной группе и $7,2 \pm 3,93$ лет в группе сравнения. В таблице 1 представлены основные причины бесплодия.

Как видно из таблицы, доминирующим этиологическим фактором бесплодия в обеих группах являлся трубно-перитонеальный. На втором месте — мужской фактор бесплодия. Следует отметить, что статистически значимого различия между одноименными показателями, перечисленными в вышеуказанной таблице, нет ($p > 0,05$).

При проведении УЗИ органов малого таза, ведется подсчет антральных фолликулов, что является простым и доступным методом оценки овариального резерва. Результаты исследования представлены в таблице 2.

Индукцию овуляции проводили по общепринятым схемам с использованием агонистов (диферелин) или антагонистов (оргалутран) гонадотропин-рилизинг гормона и гонадотропинов (пурегон, гонал-ф, менопур). В зависимости от возраста и овариального резерва, женщинам назначали короткий или длинный протокол стимуляции (таблица 3). Средняя курсовая доза гонадотропинов в первой группе составила — $1724,12 \pm 547,82$ и $1902,17 \pm 713,94$ — во второй соответственно ($p > 0,05$). В качестве триггера овуляции использовали овитрель в дозе 250 мкг (6500 ME).

Число полученных в результате стимуляции суперовуляции ооцитов было $8,65 \pm 5,94$ и $6,98 \pm 3,77$ соответственно в основной группе и группе сравнения ($p > 0,05$). Как видно из вышесказанного, группы статистически равнозначны.

В день проведения трансвагинальной пункции (ТВП), женщинам проводилось также специальное обследование. Перед ТВП проводили забор крови из локтевой вены, натошак. Фолликулярную жидкость получали при пункции доминантных фолликулов во время ТВП. В полученных образцах определяли интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ).

Интенсивность процессов ПОЛ оценивали по содержанию его продуктов — по показателю ненасыщенности субстратов пероксидации — сопряженным двойным связям (DS), диеновых конъюгатов (DK), кетодиенов и сопряженных триенов (КД и СТ), а также по содержанию ТБК-активных продуктов ПОЛ.

При исследовании состояния перекисного окисления липидов в сыворотке крови, выявлены следующие показатели. Содержание двойных связей в первой и второй группах было статистически равнозначно и составило $2,39 \pm 1,06$ усл. ед. и $2,68 \pm 0,95$ усл. ед. соответственно, концентрация диеновых конъюгатов также статистически не от-

Причины бесплодия

Таблица 1

Показатели	МКБ	Деление на группы			
		1 группа (n = 34)		2 группа (n = 44)	
		абс.	%	абс.	%
Женское бесплодие трубного происхождения	N97.1	25	73,53	34	77,24
Наружный генитальный эндометриоз	N80.2, N80.3	2	5,88	6	13,64
Аденомиоз	N80.0	2	5,88	4	9,09
Миома тела матки	D25.0	5	14,71	11	25
СПКЯ	E28.2	4	11,76	4	9,09
Женское бесплодие, связанное с отсутствием	N97.0	1	2,94	2	4,55
Женское бесплодие, связанное с мужским фактором	N97.4	16	47,06	17	38,64

Примечание: статистически значимого различия между одноименными показателями нет ($p > 0,05$).

Овариальный резерв

Таблица 2

Показатели	Количество антральных фолликулов	Деление на группы			
		1 группа (n = 34)		2 группа (n = 44)	
		абс.	%	абс.	%
Бедный овариальный резерв	< 4	9	26,47	11	25
Достаточный овариальный резерв	4–7	7	20,59	15	34,09
Хороший овариальный резерв	8–10	12	35,29	14	31,82
Чрезмерный овариальный резерв	> 10	6	17,65	4	9,09

Примечание: статистически значимого различия между одноименными показателями нет ($p > 0,05$).

Таблица 3

Протоколы стимуляции

Показатели	Деление на группы			
	1 группа (n = 34)		2 группа (n = 44)	
	абс.	%	абс.	%
Длинный протокол	23	67,65	28	65,12
Короткий протокол	11	32,35	15	34,88

Примечание: статистически значимого различия между одноименными показателями нет ($p > 0,05$).

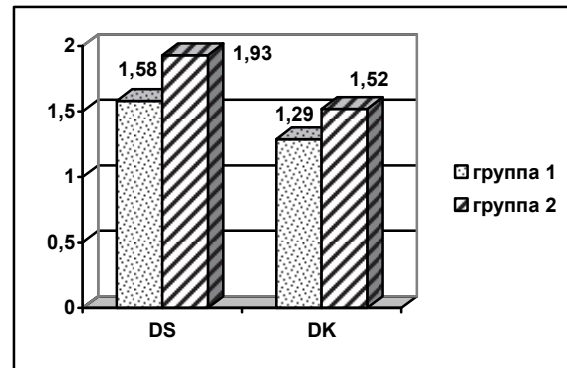
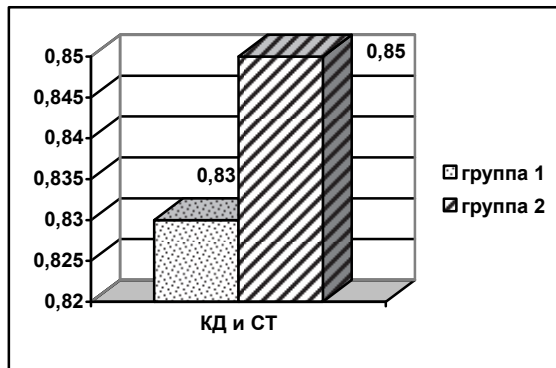


Рис. 1. Значимые показатели ПОЛ в сыворотке крови и фолликулярной жидкости.

личалась ($1,76 \pm 0,69$ мкМ/л и $1,83 \pm 0,69$ мкМ/л). Что касается таких продуктов ПОЛ, как кетодиены и сопряженные триены, у пациенток группы сравнения данные показатели были достоверно выше, нежели у женщин основной группы и составили $0,85 \pm 0,62$ усл. ед. и $0,83 \pm 0,39$ усл. ед. Разница концентраций ТБК-активных продуктов перекисаии липидов, по нашим данным, была статистически незначима.

При исследовании процессов ПОЛ в фолликулярной жидкости выявлены приведенные ниже данные. Показатели двойных связей в группе сравнения были достоверно выше, нежели в основной группе и составили $1,93 \pm 1,17$ усл. ед. и $1,58 \pm 1,12$ усл. ед. соответственно, концентрация диеновых конъюгатов также статистически достоверно выше была у женщин группы сравнения ($1,52 \pm 0,74$ мкМ/л и $1,29 \pm 0,73$ мкМ/л). Что касается кетодиенов и сопряженных триенов, у пациенток обеих групп достоверных различий в данных показателях нет, содержание ТБК-активных продуктов ПОЛ было статистически незначимым. Значимые показатели состояния ПОЛ в сыворотке крови и фолликулярной жидкости представлены на рисунке 1.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, согласно данным нашего исследования, концентрация продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови и фолликулярной жидкости пациенток с бесплодием и неудачами программ ЭКО достоверно выше, чем у женщин, забеременевших после данной процедуры. Влияние оксидативного стресса на резуль-

таты применения современных вспомогательных репродуктивных технологий требует дальнейшего изучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барабой В.А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов // Успехи соврем. биологии. — 1991. — Т. 111, № 6. — С. 923—931.
2. Барабой В.А., Брехман И.И., Голожин В.Г. Перекисное окисление и стресс. — М.: Наука, 2004. — 148 с.
3. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биомембранах. — М.: Наука. — 2003. — С. 230—272.
4. Зборовская И.А., Банникова М.В. Антиоксидантная система организма, ее значение в метаболизме. Клинические аспекты // Вестн. РАМН. — 1995. — № 6. — С. 53—60.
5. Коган А.Х., Кудрин А.Н., Николаев С.М. Свободнорадикальное окисление липидов в норме и патологии. — М.: Медицина, 1986. — С. 68—71.
6. Петрович Ю.А., Гуткин Д.В. Свободнорадикальное окисление и его роль в патогенезе воспаления, ишемии и стресса // Патол. физиол. и эксперим. терапия. — 2005. — № 5. — С. 85—92.
7. 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.
8. 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.

9. Gutteridge J.M.C. Lipid peroxidation and antioxidation as biomarkers of tissues damage // Clinical Chemistry. — 2005. — Vol. 41, № 12. — P. 1819–1828.

10. Van Blerkom J. Intrafollicular influences on human oocyte developmental competence: perifollicular vascularity, oocyte metabolism and mitochondrial

function // Hum. Reprod. — 2000. — Vol. 15 (Suppl 2). — P. 173–188..

11. 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