

**Щербина М. О.,**

*доктор медичних наук, професор,  
завідувач кафедри акушерства та гінекології № 1  
Харківського національного медичного університету*

**Граділь О. Г.,**

*аспірант кафедри акушерства та гінекології № 1  
Харківського національного медичного університету*

## СУЧАСНІ АСПЕКТИ ПРОВЕДЕННЯ ОВАРІАЛЬНОЇ СТИМУЛЯЦІЇ В УМОВАХ ОКИСЛЮВАЛЬНОГО СТРЕСУ

**Анотація.** Вивчено вміст мелатоніну і 8-ізопростана в сироватці крові та фолікулярної рідини на тлі оваріальної стимуляції у 66 пацієнток, страждаючих на безпліддя, яких було розділено на 2 рівноцінні групи. Контрольну групу склали 33 здорові жінки репродуктивного віку. Виявлено, що мелатонін має виражену антиоксидантну дію, тим самим збільшує кількість отриманих ооцитів у поганих відповідачів, а 8-ізопростан є достовірним показником окислювального стресу і роботи антиоксидантної системи в сироватці крові та фолікулярній рідині. Використання антагоністів і агоністів гонадотропних рилізінг гормонів з метою індукції супероуляції веде до посилення процесів окислювального стресу в фолікулярній рідині.

**Ключові слова:** безпліддя, окислювальний стрес, мелатонін, 8-ізопростан, оваріальна стимуляція, екстракорпоральне запліднення, ЕКЗ.

**Постановка проблеми.** Жіноче безпліддя – актуальна проблема сучасності, яка обумовлює розвиток та необхідність вдосконалення допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ). Найбільш ефективним з них визнане екстракорпоральне запліднення (ЕКЗ). Основним і невід’ємним етапом ЕКЗ є контрольована оваріальна стимуляція (КОС) [1, 3]. Цей період можна охарактеризувати як основний і найбільш відповідальний, тому що з метою формування фолікулярного пула, стимуляції розвитку фолікулярної когорти і отримання максимальної кількості ооцитів, проводиться

медикаментозний вплив на фолікулярний апарат [4]. Це можливо лише при умові збереженого репродуктивного потенціалу жінки – оваріального резерву, показника, що відображає величину фолікулярного пула яєчників і якість ооцитів [2, 7]. При його виснаженні стандартні протоколи ЕКЗ малодієві та потребують удосконалення.

Згідно з останніми дослідженнями при дозріванні яйцеклітини в фолікулярній рідині відбувається активація окислювальних процесів, при індукції супероуляції перекисне окислення ліпідів і білків збільшується в десятки разів [5].

Перекисне окислення пов’язане з утворенням цілого ряду реакційно здатних форм кисню (ROS), що володіють широким спектром дії. Для запобігання шкідливої дії ROS і підтримки клітинного гомеостазу функціонує антиоксидантна система (АОС), яка складається з ферментативної та не ферментативної ланки, включає в себе цілий ряд сполук, в тому числі і гормони. Дисбаланс між активністю процесів перекисного окислення і системою АОС називається окислювальний стрес (ОС). В даний час відомо, що окислювальний стрес супроводжується руйнівною цитотоксичною дією, активацією апоптозу [5]. Генерація вільних радикалів навіть при мінімальних проявах ОС є мембранопорушуючим фактором. Тому дуже важливо при проведенні оваріальної стимуляції забезпечити високий рівень антиоксидантного захисту організму.

В організмі існують потужні важелі антиоксидантної впливу. Одним з найпотужніших компо-

ментів АОС є мелатонін. Мелатонін – це гормон шишкоподібної залози, що секретується в нічний час доби і регулює цілий ряд важливих центральних і периферичних функцій [6]. На додаток до опосередкованого рецепторному впливу, активно вивчається дія мелатоніну в якості прямого інгібітора вільних радикалів, що значно розширює розуміння його механізмів дії, які приносять користь репродуктивній фізіології.

**Метою дослідження** стало покращення результативності методик ДРТ, шляхом вивчення активності процесів окиснювального стресу в фолікулярній рідині під час дозрівання яйцеклітини при проведенні КОС, що являється етапом протоколу ЕКЗ.

**Методи дослідження.** У дослідженні взяло участь 66 жінок репродуктивного віку з безпліддям без супутньої соматичної патології, яким показано застосування методик ДРТ, та 33 здорові жінки, що звернулися з метою донорства яйцеклітини і склали контрольну (III) групу. 66 пацієток з безпліддям різного генезу включені в дослідження за наявності одного з критеріїв «поганих відповідачів»: пізній репродуктивний вік, отримання 3-х і менше ооцитів у попередніх циклах ЕКЗ, зниження показників оваріального тесту (Антимюллерів гормон (АМГ) менше 1,1 нг/мл, число антральних фолікулів (ЧАФ) менше 5 згідно УЗД).

Методом випадкового поділу «погані відповідачі» поділені на 2 рівні групи. У I групі (n=33) середній вік склав  $36,61 \pm 4,54$  років, тривалість безпліддя склала  $8,64 \pm 4,41$  років, індекс маси тіла  $24 \pm 3,54$ . Цій групі пацієток була проведена КОС без попередньої гормональної підготовки з використанням антагоністів гонадотропних рилинг гормонів (ант-ГтРГ) в 69,7% (n=23), агоністів ГтРГ 30,3% (n=10). У II групі (n=33) середній вік склав  $35,30 \pm 5,13$  років, тривалість безпліддя склала  $9,97 \pm 5,16$  років, індекс маси тіла  $24,26 \pm 5,34$ , використовувався протокол з ант-ГтРГ в 81,8% (n=27), агоністами ГтРГ в 18,18% (n=6). Враховуючи потужний антиоксидантний ефект мелатоніну, з метою зниження шкідливого впливу окислювального стресу на зріючу яйцеклітину, пацієтки цієї групи отримували превентивний курс гормонотерапії: мелатонін в таблетках по

3 мг, за схемою 3 мг вранці та 6 мг ввечері на протязі 4 тижнів до початку проведення КОС.

Усім пацієткам, згідно стандартного протоколу, проводилось визначення рівня гормонів функціонування репродуктивної системи, щитовидної та надниркової залози. З метою оцінки оваріального резерву виконувалось визначення АМГ.

Для оцінки мелатонінутворюючої функції епіфіза визначали концентрацію мелатоніну в сироватці крові, взятої з кубітальної вени в 6.00 ранку натщесерце до проведення КОС. Одночасно проводився набір крові для визначення концентрації 8-ізопростану. При отриманні яйцеклітин під час трансвагінальної пункції також визначався рівень мелатоніну та 8-ізопростану в фолікулярній рідині. Визначення концентрації мелатоніну (МЛТ) і 8-ізопростану проводилося імуноферментними методами з використанням наборів Melatonin ELISA Kit, 8-Isoprostane EIA Kit, IBL (Німеччина). Оскільки відомо, що продукція мелатоніну починається тільки з фази глибокого сну (п'ята фаза), усі пацієтки дотримувалися стандартного режиму сну (8 годин за відсутності освітлення), та збалансованого харчування.

Отримані дані були статистично оброблені з обчисленням середнього арифметичного значення, середньоквадратичного відхилення. Достовірність відмінностей між групами визначалася за допомогою t-критерію Стьюдента. Відмінності вважали статистично значущими при  $p < 0,05$ . Всі обчислення проводили з використанням програмного забезпечення Excel XP, Statistica-6.0.

**Виклад основного матеріалу дослідження.** У обстежених групах нами було виявлено статистично значущі відмінності в гормональних показниках, а саме ФСГ, АМГ, МЛТ в сироватці крові, МЛТ та 8-ізопростан в фолікулярній рідині. Середні рівні МЛТ у сироватці крові у «поганих відповідачів» на старті протоколу I і II групі склали  $20,94 \pm 4,42$  пг/мл та  $24,78 \pm 4,75$  пг/мл відповідно, що є в 1,85 і 1,54 рази нижче контрольної групи  $37,05 \pm 3,32$  пг/мл,  $p < 0,001$ . Середні рівні МЛТ у фолікулярній рідині у «поганих відповідачів» I і II групі склали  $28,92 \pm 8,14$  пг/мл та  $33,66 \pm 9,66$  пг/мл відповідно, порівняно з контрольною групою  $66,29 \pm 6,12$  пг/мл,  $p < 0,001$ . Рівні МЛТ у фоліку-

лярній рідині мали сильний зворотній кореляційний зв'язок з показниками окиснювального стресу у вигляді рівнів 8-ізопростану в фолікулярній рідині, що складали в I групі  $363 \pm 64,38$  пг/мл, в II групі  $318,98 \pm 83,17$  пг/мл, у контрольній групі  $188,01 \pm 10,5$  пг/мл.

Звертають на себе увагу достовірні відмінності показників, що відображають стан овариального резерву жінки, ФСГ і АМГ в I і II групі порівняно з контрольною. Високі показники ФСГ визначались у «поганих відповідачів» I і II групі  $12,97 \pm 10,05$  мМО/мл і  $9,28 \pm 3,53$  мМО/мл відповідно, що майже в 2 рази вище, ніж у здорових жінок  $5,1 \pm 1,91$  мМО/мл,  $p < 0,001$ . Рівні ФСГ мали зворотню кореляційну залежність з рівнем АМГ в цих же групах. При рівнях АМГ більше  $1,1$  нг/мл у більшості випадків спостерігалась достатня відповідь на КОС.

Після проведення КОС кількість яйцеклітин, отриманих під час пункції, у «поганих відповідачів» в I групі ( $2,0 \pm 3,01$ ) в 2,3 рази нижче, ніж у пацієток, які отримували превентивну терапію мелатоніном ( $4,81 \pm 3,4$ ), і в 4,5 рази нижче за контрольну групу ( $17,48 \pm 7,43$ ),  $p < 0,001$ .

**Висновки.** Використання ант-ГТРГ і агоністів ГТРГ з метою індукції суперовуляції веде до посилення процесів окиснювального стресу в фолікулярній рідині, які шкідливо впливають на яйцеклітину, тим самим знижуючи результативність ЕКЗ. 8-ізопростан достовірний показник окиснювального стресу та роботи антиоксидантної системи, його зміст має зворотню кореляційну залежність з рівнями МЛТ та кількістю отриманих яйцеклітин після КОС. Мелатонін має виражену антиоксидантну дію, тим самим збільшує кількість отриманих ооцитів у пацієток зі зниженими показниками овариального резерву. Можна вважати доцільним призначення мелатоніну з протекторною антиоксидантною метою у комплексі з підготовчими заходами до проведення ЕКЗ. Для формування повноцінного уявлення о процесах окиснювального стресу в фолікулі під час проведення КОС, та його впливу на якість дозрілої яйцеклітини, доцільно оцінювати не тільки кількість отриманих життєздатних яйцеклітин, а й подальшу їх поведінку, як в якості заплідненої яйцеклітини, так і на ста-

дії ембріотрансферу, ембріону в матці, плоду та перебігу вагітності. Доцільним можна вважати поодинокі дослідження фолікулярної рідини в усіх пропунктованих фолікулах та вивчення інших показників АОС.

### Література:

1. Боярский К.Ю. Фолликулогенез и современная овариальная стимуляция / К.Ю. Боярский // Пробл. репрод. – 2002. – № 1. – С. 36–43.
2. Боярский, К.Ю. Функциональные тесты, определяющие овариальный резерв / К.Ю. Боярский // Пробл. репрод. – 1998. – № 3. – С. 3.
3. Кулаков В.И. Экстракорпоральное оплодотворение и его новые направления в лечении женского и мужского бесплодия / под ред. В.И. Кулакова. – М. : МИА. – 2000. – 336 с.
4. Мишиева Н.Г. Бесплодие у женщин позднего репродуктивного возраста: принципы диагностики и лечения в зависимости от овариального резерва / Н.Г. Мишиева. – М., 2008. – 36 с.
5. Galano A. Dun Xian Tan et al. Melatonin as a natural ally against oxidative stress: a physicochemical examination. Review article // Journal of Pineal Research / J. Pineal Res. 2011, 51:1–16.
6. Tamura et al. The role of melatonin as an antioxidant in the follicle. Journal of Ovarian Research 2012, 5:5.
7. Veleva Z. An initial low response predicts poor outcome in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection despite improved ovarian response in consecutive cycles / Z. Veleva // Fertil Steril. – 2005. – Vol. 83. – P.1384–1390.

### Щербина Н. А., Градиль О. Г. Современные аспекты проведения овариальной стимуляции в условиях окислительного стресса

**Аннотация.** Изучено содержание мелатонина и 8-изопростана в сыворотке крови и фолликулярной жидкости на фоне контролируемой овариальной стимуляции у 66 пациенток, страдающих бесплодием, которые были разделены на 2 равноценные группы. Контрольную группу составили 33 здоровые женщины репродуктивного возраста. Обнаружено, что мелатонин оказывает выраженное антиоксидантное действие, тем самым увеличивает количество полученных ооцитов у плохих ответчиков, а 8-изопростан является достоверным показателем окислительного стресса и работы антиоксидантной системы в сыворотке крови и фолликулярной жидкости. Использование антагонистов и агонистов гонадотропных гормо-

нов с целью индукции суперовуляции ведет к усилению процессов окислительного стресса в фолликулярной жидкости.

**Ключевые слова:** бесплодие, окислительный стресс, мелатонин, 8-изопростан, овариальная стимуляция, экстракорпоральное оплодотворение, ЭКО.

**Scherbina M., Gradil O. The modern aspects IVF the background of oxidative stress**

**Summary.** The content of melatonin and 8-isoprostane in serum and follicular fluid on a background of ovarian stimulation in 66 that had patients suffering from infertility, which were

divided into two equivalent groups. Control group consisted of 33 healthy women of reproductive age. It was found that melatonin has a significant antioxidant action, thereby increasing the number of oocytes obtained from poor responders, and 8-isoprostane a reliable indicator of oxidative stress and the antioxidant system in blood serum and follicular fluid. The use of agonists and antagonists of gonadotropin hormones to induce superovulation leads to increased oxidative stress in the follicular fluid.

**Key words:** infertility, oxidative stress, melatonin, 8-isoprostane, ovarian stimulation, in vitro fertilization.