

DOI: 10.52705/2788-6190-2024-01-14
УДК 618.17-02:618.177-089.888.11

Роль віку пацієнтів в оцінюванні ефективності допоміжних репродуктивних технологій при поєднаних формах безпліддя

І. В. Микієвич

Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика,
м. Київ

Мета дослідження: аналіз ролі віку жінок та чоловіків в оцінюванні ефективності допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) при поєднаних формах безпліддя.

Матеріали та методи. Обстежено 70 подружніх пар репродуктивного віку, яких було розподілено на групи: основну ($n=30$), порівняння ($n=30$) і контрольну ($n=10$). У комплекс проведених досліджень були включені клінічні, ехографічні, ендокринологічні, морфологічні, статистичні й імунологічні, які включали визначення рівня цитокінів у фолікулярній рідині методом мультиплексного аналізу білків.

Результати. Отримані дані свідчать про те, що посилення секреції в яєчнику прозапальних цитокінів може бути одним із механізмів несприятливого впливу стимуляції яєчників гонадотропінами на ооцит.

Сьогодні вважають, що стимуляція яєчників, її режими впливають на «якість» ооциту, потенції його до запліднення і темпи раннього розвитку ембріона. Негативну роль можуть відігравати високі концентрації в крові естрадіолу, а також фармакологічні препарати, що використовуються під час стимуляції яєчників (гонадотропіни, агоністи і антагоністи гонадотропін-рилізінг гормону), а також вік пацієнток.

Отримані результати підтвердили наявні фундаментальні уявлення про те, що взаємодія між ооцитом і соматичними клітинами яєчника є критичними для нормального перебігу оогенезу, запліднення і раннього розвитку ембріона, особливо у пацієнток старшого віку.

Заключення. До інформативних клініко-анамнестичних і гормональних чинників, що визначають результат циклу ДРТ у хворих репродуктивного віку з поєднаними формами безпліддя, належать: вік хворої, індекс маси тіла, наявність трубно-перитонеального чинника безпліддя, рівень вільного тестостерону в крові, вміст прогестерону в крові на 20–22-й день менструального циклу, а також визначення у фолікулярній рідині яєчників цитокінів. Показана роль віку пацієнток в оцінюванні ефективності ДРТ.

Ключові слова: безпліддя, чоловіки, жінки, допоміжні репродуктивні технології, вік.

Перинатологія та репродуктологія: від наукових досліджень до практики | **Perinatology and reproductology:** from research to practice

На сьогодні одним з напрямів лікування безпліддя є вживання допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ), частота настання вагітності і пологів після якого становлять відповідно 29,1% і 21,5% (дані Європейського суспільства репродукції людини, 2021 р.) [1–4]. Підвищення ефективності ДРТ пов'язане з дослідженнями, направленими на вивчення регуляторних механізмів репродуктивних процесів, прогнозування їх порушень і визначення підходів до корекції. Одне з центральних місць посідає проблема імунологічної регуляції репродуктивної функції жінки [5–8].

Відомо, що імунокомпетентні клітини (макрофаги, лімфоцити) і продуковані ними цитокіни (інтерлейкіни, ростові чинники, хемокини) беруть участь у механізмах фолікулогенезу, овуляції, формування і функціонування жовтого тіла, циклічних морфофункціональних змін ендометрія, запліднення та імплантації [9–12].

Незважаючи на значне число наукових публікацій щодо ДРТ, не можна вважати всі питання повністю вирішеними, особливо у плані вивчення віку пацієнток в оцінюванні їх ефективності.

Мета дослідження: вивчити роль віку пацієнток в оцінюванні ефективності ДРТ при поєднаних формах безпліддя.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для вирішення поставленої мети було обстежено 70 подружніх пар репродуктивного віку. Учасники дослідження були розподілені на три групи:

- основна група – 30 пацієнток,
- група порівняння – 30 пацієнток,
- контрольна група – 10 пацієнток.

Критерії включення в основну групу:

- вік 25–38 років;
- безпліддя (ендокринне, трубно-перитонеальне, поєднане);
- програма ДРТ;
- стимуляція яєчників препаратами гонадотропінів;
- настання вагітності після справжньої програми ДРТ (візуалізація плодового яйця при ультразвуковому дослідженні через 3 тиж після перенесення ембріонів).

Критерії включення в групу порівняння:

- вік 25–38 років;
- безпліддя (ендокринне, трубно-перитонеальне, поєднане);
- програма ДРТ;
- відсутність вагітності після справжньої програми ДРТ.

Критерії включення в контрольну групу:

- вік 25–32 роки;
- наявність вагітності, що закінчилася пологами, в анамнезі.

До контрольної групи увійшли жінки, які беруть участь у програмі «Донорство ооцитів». Критерії виключення для основної групи і групи порівняння були загальними: гіпер- і гіпогонадотропна оваріальна недостатність; видалення одного або обох яєчників в анамнезі; важкі ступені астенотератозооспермії, азооспермії; єдина причина безпліддя – чоловічий чинник; ожиріння II–III ступеня.

У комплекс проведених досліджень були включені клінічні, ехографічні, ендокринологічні, морфологічні, статистичні й імунологічні, які включали визначення рівня цитокинів у фолікулярній рідині методом мультиплексного аналізу білків

(MCP-1 (моноцитарного хемотаксичного протеїну 1), MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES, еотаксину, IP-10 (індукованого для інтерферону протеїну 10), IL-8, фракталкіну, TNF α , IL-1 β , IL-2, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-12, IL-13, IL-15, IL-10, IL-1ra) і визначення методом PCR в біоптатах ендометрія експресії мРНК хемокинів (MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES, еотаксину, IP-10, IL-8, фракталкіну) та їх рецепторів (CXCR1, 2, 3, 4; CX3CR1; CCR1, 3, 4, 5, 7).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Середній вік жінок в основній групі становив 32,2 $\pm$ 4,3 року, тривалість безпліддя – 6,2 $\pm$ 3,7 року. Визначено, що у 46,7% хворих цієї групи у минулому були вагітності (13,3% – пологи, 30,0% – штучні аборти, 3,3% – мимовільні аборти, 3,3% – вагітність, що не розвивається).

У структурі супутньої гінекологічної захворюваності у пацієнток основної групи виявлені:

- хронічний сальпінгоофорит (36,7%),
- лейоміома матки (10,0%),
- зовнішній генітальний ендометріоз I–II ступеня тяжкості (23,3%),
- аденоміоз (6,7%).

Крім того, 36,7% пацієнток основної групи перенесли в анамнезі діагностичну й операційну лапароскопію, 26,7% – діагностичну й операційну гістероскопію.

Середній вік жінок у групі порівняння становив 33,7 $\pm$ 4,2 року, тривалість безпліддя – 5,7 $\pm$ 3,2 року. У 63,3% хворих цієї групи у минулому були вагітності (26,7% – термінові пологи, 16,7% – ектопічну вагітність, 43,3% – штучний аборт, 6,7% – мимовільний аборт, 16,7% – вагітність, що не розвивається).

У структурі супутньої гінекологічної захворюваності у пацієнток групи порівняння виявлені:

- хронічний сальпінгоофорит (56,7%),
- лейоміома матки (16,7%),
- зовнішній генітальний ендометріоз I–II ступеня тяжкості (26,7%),
- аденоміоз (13,3%).

Крім того, 46,7% пацієнток групи порівняння перенесли в анамнезі діагностичну й операційну лапароскопію, 56,7% – діагностичну й операційну гістероскопію.

До контрольної групи увійшли здорові жінки, що взяли участь у програмі «Донорство ооцитів». Усі вони були у шлюбі, в анамнезі мали пологи, що закінчилися народженням здорової дитини. Середній вік пацієнток становив 29,7 $\pm$ 3,9 року.

Отримані результати свідчать, що зі збільшенням віку хворих закономірно знижується кількість зростаючих фолікулів ($R_c = -0,32$; $p < 0,05$); отриманих під час пункції яєчників ооцитів ($R_c = -0,33$; $p < 0,01$), зокрема зрілих ($R_c = -0,31$; $p < 0,05$). Це вказує на зниження активності процесів фолікуло- і оогенезу, частоти настання вагітності із збільшенням віку жінок. Ці процеси обумовлені морфофункціональними змінами яєчників у жінок старшого віку, зниженням їх оваріального резерву, збільшенням частоти анеуплоїдії ооцитів, що може бути однією з причин низької частоти імплантації.

Окрім фізіологічного збільшення частоти елімінації прімордіальних фолікулів у старшому репродуктивному віці, чинниками, що призводять до зниження ефективності гонадотропної стимуляції яєчників в обстежених хворих, могли бути супутні гінекологічні захворювання (хронічний сальпінгоофорит, зовнішній геніталь-

ний ендометріоз), перенесені оперативні втручання на органах репродуктивної системи.

Одним із механізмів порушення фолікуло- й оогенезу є зміна цитокинової регуляції цих процесів. Зі збільшенням віку пацієнток відбувається збільшення вмісту у фолікулярній рідині яєчників прозапальних цитокінів: IL-1ra, IL-7, IL-9, G-CSF і Pdgf BB. Можливо, що збільшення вмісту прозапальних цитокінів негативно впливає на гранульозні клітини, комплекс ооцит-кумулюс, якість ооциту і є одним з механізмів зниження ефективності циклів екстракорпорального запліднення. Це свідчить про зменшення оваріального резерву, асоційоване з віком жінки, що супроводжується активацією апоптозу гранульозних клітин фолікула. Виявлене посилення експресії тромбоцитарного чинника росту в яєчнику може бути обумовлене активацією синтезу прозапальних цитокінів.

Зі збільшенням віку хворих спостерігалось достовірне зниження товщини ендометрія під час перенесення ембріонів ($R_c = -0,33$; $p < 0,05$). Це може бути обумовлено як збільшенням частоти перенесення ембріонів на 3-й день розвитку, так і віковими морфофункціональними змінами ендометрія. Із збільшенням віку хворих змінюється чутливість ендометрія до хемокинів, що виявлялося у збільшенні експресії рецептора хемокинів CCR1 і зниженні – рецептора CCR3 (таблиця).

Кореляційна залежність вмісту цитокінів у фолікулярній рідині яєчників і експресії рецепторів хемокинів в ендометрії від віку хворих з безпліддям

Вік хворих	Цитокін (фолікулярна рідина)	R_c	P
	IL-1ra	0,31	<0,01
	IL-7	0,33	<0,01
	IL-9	0,28	<0,05
	G-CSF	0,33	<0,01
	PDGF-BB	0,41	<0,01
	mPHK (ендометрій)		
	CCR1	0,41	<0,05
	CCR3	0,42	<0,05

За допомогою кореляційного аналізу визначено, що кількість зростаючих при гонадотропній стимуляції фолікулів має достовірну пряму кореляційну залежність від вмісту у фолікулярній рідині цитокінів: IL-10 ($R_c = 0,31$; $p < 0,05$), IFN γ ($R_c = 0,32$; $p < 0,05$), MIP-1 β ($R_c = 0,32$; $p < 0,05$), RANTES ($R_c = 0,38$; $p < 0,01$) і TNF α ($R_c = 0,27$; $p < 0,05$). Виявлено, що є пряма кореляційна залежність між кількістю ооцитів, отриманих при пункції яєчників, і вмістом в них цитокінів IL-10, IFN γ , GM-CSF, MIP-1 β , RANTES і TNF α У хворих з негативним результатом циклу ДРТ рівень IL-13 у фолікулярній рідині яєчників під час стимуляції в 2 рази вище за таку у хворих з вагітністю, що настала після ДРТ.

За допомогою кореляційного аналізу був виявлений достовірний взаємозв'язок між рівнями цитокінів у фолікулярній рідині. Так, вміст IL-10 корелював з концентрацією IL-6 ($R_c = 0,76$; $p < 0,0001$), еотаксину ($R_c = 0,62$, $p < 0,0001$), MCP-1 ($R_c = 0,62$; $p < 0,0001$) і G-CSF ($R_c = 0,56$; $p < 0,0001$), а вміст IL-2 – з GM-CSF ($R_c = 0,59$; $p < 0,0001$) і IL-15 ($R_c = 0,78$; $p < 0,0001$), що може свідчити про схожі клітинні джерела синтезу зазначених чинників у тканинах яєчника.

Поліфункціональні цитокіни IL-10, IL-4, IL-13 відносять до цитокінів, характерних для так званої Th-2 імунної відповіді, домінуючої при нормальному перебігу вагітності. IL-10 і IL-4 володіють вираженим протизапальним ефектом, регуляторними властивостями відносно цитотоксичних і хелперних Т-лімфоцитів, НК-клітин, В-лімфоцитів і дендритних клітин. IL-10 здатний також інгібувати апоптоз клітин, індукований TNF α або IFN γ . IL-13 продукується переважно активованими Т-клітинами і є потужним модулятором активності моноцитів і В-клітин, не надаючи, на відміну від IL-4, прямого біологічного впливу на Т-клітини. Окрім цього існують дані про здатність IL-13 надавати інгібувальний ефект на продукцію інших цитокінів, що стимулюють початок запального процесу.

Збільшення продукції цитокінів, хемокинів і ростових чинників в яєчниках при їх стимуляції, ймовірно, забезпечується високим вмістом і активацією в них імункомпетентних клітин (ІКК). Окрім цього, секреція цитокінів забезпечується гранульозними клітинами зростаючих фолікулів. TNF α , IFN γ та GM-CSF залучені в розвиток і ріст фолікула. Сигнальна взаємодія між ооцитом і оточуючими соматичними (гранульозними) клітинами, баланс процесів проліферації і апоптозу клітин фолікула регулюють ангиогенез і синтез стероїдних гормонів в яєчнику. TNF α і IFN γ через активацію проапоптотичних Вах-білків, протейінази С або каспаз можуть індукувати апоптоз клітин фолікула. Хемокини, що синтезуються в яєчниках (RANTES, зотаксин), володіючи хемоатрактивним ефектом, залучають в тканини яєчника і активують ІКК, які своєю чергою секретують цитокіни, хемокини і чинники зросту, забезпечуючи надмірність цитокінової регуляції фолікулогенезу.

Проаналізовані в дослідженні цитокіни можуть регулювати процес ангиогенезу в яєчнику. Так, TNF α і GM-CSF, безпосередньо або за допомогою індукції VEGF (судинно-ендотеліальний чинник зросту) беруть участь у міграції, проліферації ендотеліальних клітин, формуванні капілярних трубок і базальної мембрани. Водночас TNF α та IL-10 можуть надавати і антиангіогенний ефект.

Отже, стимуляція яєчників гонадотропінами супроводжується збільшенням фолікулів, рекрутуванням і активацією ІКК з індукцією протизапальних (IL-4, IL-10, IL-13), прозапальних цитокінів (IFN γ , GM-CSF, TNF α) і хемокинів (MIP-1 β , RANTES), що, ймовірно, необхідно для підтримки балансу апоптозу і проліферації клітин гранульози, регуляції ангиогенезу і стероїдогенезу в яєчниках.

Виявлена достовірна негативна кореляційна залежність між якістю запліднення, частотою дроблення ембріонів із вмістом у фолікулярній рідині цитокінів GM-CSF, IFN γ і RANTES та позитивна – між кількістю перенесених ембріонів і вмістом у фолікулярній рідині IL-15.

Отримані дані свідчать про те, що посилення секреції в яєчнику прозапальних цитокінів може бути одним із механізмів несприятливого впливу стимуляції яєчників гонадотропінами на ооцит. На сьогодні передбачається, що стимуляція яєчників, її режими впливають на «якість» ооциту, потенції його до запліднення і темпи раннього розвитку ембріона. Негативну роль можуть відігравати високі концентрації в крові естрадіолу, а також фармакологічні препарати, що використовуються під час стимуляції яєчників (гонадотропіни, агоністи і антагоністи гонадотропін-рилізінг-гормону), а також вік пацієнток. Отримані результати підтвердили наявні фундаментальні уявлення про те, що взаємодія між ооцитом і соматичними клітинами яєчника є критичними для нормального перебігу оогенезу, запліднення і раннього розвитку ембріона, особливо у пацієнток старшого віку.

ВИСНОВКИ

Результати проведених досліджень свідчать, що до інформативних клініко-анамнестичних і гормональних чинників, що визначають результат циклу ДРТ у хворих репродуктивного віку з поєднаними формами безпліддя, належать:

- вік хворої;
- індекс маси тіла;
- наявність трубно-перитонеального чинника безпліддя;
- рівень вільного тестостерону у крові;
- вміст прогестерону в крові на 20–22-й день менструального циклу;
- визначення у фолікулярній рідині яєчників цитокінів.

Була продемонстрована роль віку пацієнток в оцінюванні ефективності допоміжних репродуктивних технологій.

A role of age of patients is in the estimation of efficiency of assisted reproductive technologies at the combined forms of infertility

I. V. Mikiievich

The objective: to learn the role of age of women and men in the estimation of efficiency of assisted reproductive technologies (ART) at the combined forms of infertility.

Materials and methods. 70 matrimonial pair of reproductive age, which made the followings groups, were inspected: basic (n=30), comparison (n=30) and control (n=10). In the complex of the conducted researches were included clinical, echographic, endocrinology, morphological, statistical and immunological which included determination of level of cytokines in a follicle liquid the method of the multiplexed analysis of albumens.

Results. Findings testify that strengthening of secretion in the ovary of прозапальних cytokines can be one of mechanisms of unfavorable influence of stimulation of ovaries of gonadotropin on an oocyte. It is presently foreseen that stimulation of ovaries, its modes influence on «quality» of oocyte, potency of him to the impregnation and rates of early development of embryo. A negative role high concentrations can play in blood of estradiol, and also pharmacological preparations, which are used during stimulation of ovaries (gonadotropins, agonists and antagonists of gonadotropin-releasing hormone), and also eyelids of patients.

The got results were confirmed by present fundamental pictures that co-operation between an oocyte and somatic cages of ovary is critical for normal motion of oogenesis, impregnation and early development of embryo, especially for the patients of older age.

Conclusions. To informing clinical-and-anamnestic and hormonal factors which determine the result of cycle of ART for the patients of reproductive age with the combined forms of infertility, take: age of sick; index of mass of body; presence pipe peritoneal factor of infertility; a level of free testosterone is in blood; a table of contents of progesterone is in blood on 20–22 days of menstrual cycle, and also determination in the follicle liquid of ovaries of cytokines. By us the rotined role of age of patients in the estimation of efficiency of ART.

Keywords: infertility, men, women, assisted reproductive technologies, age.

Відомості про автора

Микієвич Ігор Володимирович – аспірант, кафедра урології та акушерства, гінекології та медицини плода, Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика, м. Київ. *E-mail:* Igorko9826@gmail.com

ORCID: 0009-0007-0779-173X

Information about the author

Mikiievich Igor V. – graduate student of departments of urology and obstetrics, gynaecology and medicine of fetus, Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv. *E-mail:* Igorko9826@gmail.com

ORCID: 0009-0007-0779-173X

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Goffeng AR., 2020. Fetal fibronectin and microorganisms in vaginal fluid of women with complicated pregnancies // *Acta. Obstet. Gynecol. Scand.*:76:521-529.
2. Goldenberg RL., 2019. Bed rest in pregnancy // *Obstet. Gynecol.*:84:131-134-139.
3. Goldenberg RL., 2021. The preterm prediction study: fetal fibronectin testing and spontaneous preterm birth. NICHD Maternal Fetal Medicine Units Network // *Obstet. Gynecol.*:87:643-651.
4. Gordts S., 2019. [Treatment of sterility in endometriosis] : [article in German] / S. Gordts // *Gynakologe.*: 22: 5: 315–319.
5. Gray R. H., 2021. Selected topics in the epidemiology of reproductive outcomes / R. H. Gray, S. Becker // *Epidemiol. Rev.*: 22: 1: 71–75.
6. Gutmann J. N., 2019. Imaging in the evaluation of female infertility / J. N. Gutmann // *J. Reprod. Med.*: 37: 1: 54–61.
7. Hargreave T. B., 2022. Investigating and managing infertility in general practice / T. B. Hargreave, J. A. Mills // *B.M.J.*: 316: 7142: 1438–1441.
8. Hauth JC., 2022. Reduced incidence of preterm delivery with metronidazole and erythromycin in women with bacterial vaginosis // *New England Journal of Medicine.*: 333 (26): 1732-1741.
9. Havlik M., 2021. [Personal experience with laparoscopic treatment of sterility] : [article in Czech] / M. Havlik, I. Sabo // *Ceska Gynekol.*: 65: 1: 48–50.
10. Hays RM., 2019. Agents 'affecting the renal conservation of water. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. Gilman AG, Rall TW, Nies AS (eds). – New York : Pergamon Press,; 741.
11. Heat B.H., Carter I.L., 2020. A modofied somatotype method // *Amer.J. Physic. Anthropology.*: 27: 1: 57–74.
12. Hull M. G., 2020. Effectiveness of infertility treatments: choice and comparative analysis / M. G. Hull // *Int. J. Gynaecol. Obstet.*: 47: 2: 99–108.