

Оцінювання ефективності допоміжних репродуктивних технологій при поєднаних формах безпліддя з урахуванням віку пацієнток

А. О. Щедров^{1,2}

¹Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

²Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика,
м. Київ

Мета дослідження: вивчити роль віку пацієнтів в оцінюванні ефективності допоміжних репродуктивних технологій при поєднаних формах безпліддя.

Матеріали та методи. Нами було обстежено 70 жінок репродуктивного віку, які були розподілені на групи: основну ($n=30$), порівняння ($n=30$) і контрольну ($n=10$). Критерії виключення для основної групи і групи порівняння були загальними: гіпер- і гіпогона-дотропна оваріальна недостатність; видалення одного або обох яєчників в анамнезі; важкий ступінь астенотератозооспермії, азооспермія; єдина причина безпліддя – чоловічий чинник; ожиріння II–III ступеня.

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

Результати. Отримані нами результати свідчать, що зі збільшенням віку хворих закономірно зменшується 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 свідчить про зниження активності процесів фолікуло- та оогенезу, частоти настання вагітності зі збільшенням віку жінок. Зазначені процеси обумовлені морфофункціональними змінами яєчників у жінок старшого віку, зниженням їхнього оваріального резерву, збільшенням частоти анеуплоїдії ооцитів, що може бути однією з причин низької частоти імплантації.

Окрім фізіологічного збільшення частоти елімінації примордіальних 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 генітальний ендометріоз), перенесені оперативні втручання на органах репродуктивної системи.

Висновки. Результати проведених досліджень свідчать, що до інформативних клініко-анамнестичних і гормональних чинників, що визначають результат циклу допоміжних репродуктивних технологій у хворих репродуктивного віку з поєднаними формами безпліддя, належать: вік жінки; індекс маси тіла; наявність трубно-перитонеальної системи.

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

неального 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.

У ході дослідження показана роль віку пацієнток в оцінюванні ефективності допоміжних репродуктивних технологій.

Ключові слова: допоміжні репродуктивні технології, поєднані форми безпліддя, вік пацієнток, ефективність.

На сьогодні одним із напрямів лікування безпліддя є застосування допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ), частота настання вагітності і пологів після якого становлять 29,1% і 21,5% відповідно (дані Європейського суспільства репродукції людини, 2021 р.) [1–4]. Підвищення ефективності ДРТ пов'язане з дослідженнями, що направлені на вивчення регуляторних механізмів репродуктивних процесів, прогнозування їх порушень і визначення підходів до корекції. У цьому плані одне із 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 їхньої 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 жінок репродуктивного віку, які були розподілені на три групи:

- основна група – n=30,
- група порівняння – n=30,
- контрольна група – n=10.

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 у групу порівняння:

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

Критерії включення у контрольну групу:

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

До контрольної групи увійшли пацієнтки, що беруть участь у програмі «Донорство ооцитів».

Критерії виключення з основної групи і групи порівняння:

- гіпер- і гіпогонадотропна оваріальна недостатність;
- видалення одного або обох яєчників в анамнезі;
- важкий ступінь астенотератозоспермії, азооспермія;
- єдина причина безпліддя – чоловічий чинник;
- ожиріння II–III ступеня.

У комплексі проведених досліджень застосовували клінічні, ехографічні, ендокринологічні, морфологічні, статистичні та імунологічні методи, які включали визначення рівня цитокінів 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, фракталіну, 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 у біоптатах ендометрія експресії мРНК хемокінів (MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES, еотаксину, IP-10, IL-8, фракталіну) і їх рецепторів (CXCR1, 2, 3, 4; CX3CR1; CCR1, 3, 4, 5, 7).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Середній вік жінок основної групи становив $32,2 \pm 4,3$ року, тривалість безпліддя – $6,2 \pm 3,7$ року. Відомо, що 46,7% хворих основної групи мали у минулому вагітності (13,3% – пологи, 30,0% – штучні аборти, 3,3% – мимовільні аборти, 3,3% – замерла вагітність).

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%).

Зазначається, що 36,7% пацієнток основної групи перенесли в анамнезі діагностичну та 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. Водночас 63,3% хворих даної групи у минулому мали 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%).

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

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

Отримані нами результати свідчать, що зі збільшенням віку хворих закономірно знижується кількість зростаючих фолікулів ($R_s = -0,32$; $p < 0,05$); отриманих під час пункції яєчників ооцитів ($R_s = -0,33$; $p < 0,01$), зокрема зрілих ($R_s = -0,31$; $p < 0,05$). Це

свідчить про зниження активності процесів фолікуло- та оогенезу, частоти настання вагітності зі 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 примордіальних 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 генітальний ендометріоз), перенесені оперативні втручання на органах репродуктивної системи.

Одним із механізмів порушення фолікуло- та оогенезу є зміна цитокінової 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 (таблиця). Можливо, що збільшення вмісту прозапальних цитокінів негативно впливає на гранульозні клітини, комплекс ооцит-кумулюс, якість ооциту і є одним з механізмів зниження ефективності циклів ЕКЗ. Це свідчить про зменшення оваріального резерву, асоційоване з віком жінки, що супроводжується активацією апоптозу гранульозних клітин фолікула. Виявлене нами посилення експресії тромбоцитарного чинника збільшення 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. Зі збільшенням віку хворих змінюється чутливість ендометрія до хемокинів, що виявлялося в збільшенні в ньому експресії рецептора хемокинів CCR1 і зниженні – рецептора CCR3 (див. таблицю).

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 існує пряма кореляційна залежність між кількістю ооцитів, отриманих при пункції яєчників, і вмістом в них цитокінів IL-10, IFN γ , GM-CSF, MIP-1 β ,

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

Вік хворих	Цитокін (фолікулярна рідина)	Rc	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

RANTES і $TNF\alpha$. У хворих з негативним результатом циклу ДРТ рівень IL-13 у фолікулярній рідині яєчників під час стимуляції у 2 рази вище у пацієнток з вагітністю, що настала після застосування ДРТ.

За допомогою кореляційного аналізу було виявлено достовірний взаємозв'язок між рівнями цитокінів у фолікулярній рідині. Так, вміст IL-10 корелював із 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 вище чинників у тканинах яєчника.

Поліфункціональні цитокіни IL-10, IL-4, IL-13 належать до цитокінів, характерних для 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, NK-клітин, В-лімфоцитів і дендритних клітин. IL-10 здатний також інгібувати апоптоз клітин, індукований $TNF\alpha$ 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 ефект, що інгібує, на продукцію інших цитокінів, стимулюючих початок запального процесу.

Зростання продукції цитокінів, хемокинів і ростових чинників в яєчниках при їх стимуляції, ймовірно, забезпечується високим вмістом і активацією в них ІКК. Окрім цього, секреція цитокінів забезпечується гранульозними клітинами зростаючих фолікулів. $TNF\alpha$, IFN γ , GM-CSF залучені в розвиток і зростання фолікула, сигнальна взаємодія між ооцитом і оточуючими його соматичними (гранульозними) клітинами, баланс процесів проліферації і апоптозу клітин фолікула, регулюють ангіогенез і синтез стероїдних гормонів в яєчнику.

$TNF\alpha$ і IFN γ через активацію проапоптотичних Вах-білків, протеїнкінази С або каспаз можуть індукувати апоптоз клітин фолікула. Ті хемокини, що синтезуються в яєчниках (RANTES, еотаксин, MIP-1 β), володіючи хемоатрактивним ефектом, залучають в тканині яєчника та активують ІКК, які, у свою чергу, секретують цитокіни, хемокини і чинники зростання, забезпечуючи надмірність цитокінової регуляції фолікулогенезу.

Вивчені в дослідженні цитокіни можуть регулювати процес ангіогенезу в яєчнику. Так, $TNF\alpha$ і GM-CSF безпосередньо або за допомогою індукції VEGF (судинно-ендотеліальний чинник зростання) беруть участь в міграції, проліферації ендотеліальних клітин, формуванні капілярних трубок і базальної мембрани. При цьому $TNF\alpha$, IL-10 можуть надавати і антиангіогенний ефект.

Отже, стимуляція яєчників гонадотропінами супроводжується зростанням фолікулів, рекрутуванням і активацією імунокомпетентних клітин з індукцією протизапальних (IL-4, IL-10, IL-13), прозапальних цитокінів (IFN γ ; GM-CSF; $TNF\alpha$) і хемокинів (MIP-1 β ; RANTES), що, ймовірно, необхідно для підтримки балансу апоптозу і проліферації клітин гранулози, регуляції ангіогенезу 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 і 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 з 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 у крові естрадіолу, а також фармакологічні препарати, що використовуються під час стимуляції яєчників (гонадотропіни, агоністи та 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 хворого; 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. У дослідженні продемонстровано роль віку пацієнток в оцінюванні ефективності допоміжних репродуктивних технологій.

An estimation of efficiency of assisted reproductive technologies is at the combined forms of infertility taking into account age of patients

A. O. Shchedrov

The objective: to learn the role of age of patients in the estimation of efficiency of assisted reproductive technologies at the combined forms of infertility.

Materials and methods. By us 70 women of reproductive age, which made the followings groups, were inspected: basic (n=30), comparison (n=30) and control (n=10). Criteria of exception for a basic group and group of comparison were general: hyper- and hypogonadal rovarian insufficiency; a delete of one or both ovaries is in anamnesis; heavy degree of asthenozoospermia, azoospermia only reason of infertility is a masculine factor; obesity of II–III of degree. In the complex of the conducted researches were included clinical, echographic, endocrinology, morphological, statistical and immunological methods which included determination of level of cytokines in a follicle liquid the method of the multiplexed analysis of albumens.

Results. It is got by us results testify that with the increase of age of patients appropriately goes down amount of growings follicles ($R_c = -0,32$; $p < 0,05$); ovaries of oocytes ($R_c = -0,33$; $p < 0,01$) got during puncture, including mature ($R_c = -0,31$; $p < 0,05$). It specifies on the decline of activity of processes of folliculo- and oogenesis, frequency of offensive of pregnancy with the increase of age of women. These processes are conditioned morpho-functional by the changes of ovaries for the women of senior age, by the decline of them ovarian reserve, by the increase of frequency of aneuploidy of oocytes, which can appear one of reasons of low frequency of implantation. Except for the physiology increase of frequency of elimination of primordial follicles in senior reproductive age, by factors which result in the decline of efficiency of gonadotropic stimulation of ovaries for the inspected patients, there could be concomitant gynaecological diseases (chronic salpingo-oophoritis, external genital endometriosis), carried operative interferences on the organs of the reproductive system.

Conclusions. The results of the conducted researches testify that to informing clinical-and-anamnestic and hormonal factors which determine the result of cycle of assisted reproductive technologies for the patients of reproductive age with the combined forms of infertility, take: age of

patient; body index mass; presence tubo-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 rotated role of age of patients in the estimation of efficiency of assisted reproductive technologies.

Keywords: *assisted reproductive technologies, combined forms of infertility, age of patients, efficiency.*

Відомості про автора

Щедров Андрій Олександрович – канд. мед. наук, доц., кафедра акушерства, гінекології, онкогінекології та ендоскопії, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна; тел.: (050) 580-09-76. *E-mail: retyash@email.ua*

Information about the author

Shchedrov Andrey O. – candidate of medical sciences, associate professor, Department of obstetrics, gynaecology, oncogynaecology and endoscopy, Karazin Kharkiv national university; tel.: (050) 580-09-76. *E-mail: retyash@email.ua*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Witz C. A., 2019 Endometriosis and infertility: is there a cause and effect relationship? // *Gynecol. Obstet. Invest.*:53:1:2–11.
2. Paraskos J., Waxman M., Johnson F., 2020 Ultrasound assessment of cervical length in preterm labor / 17th Annual Meeting of the Society of Perinatal Obstetricians // *Am. J. Obstet. Gynecol.*:166:364–72.
3. Olsen J., 2021 Seeking medical help for subfecundity: a study based upon surveys in five European countries // *Fertil. Steril.*:66:1:95–100.
4. Lucena E., 2021 Immune abnormalities in endometriosis compromising fertility in IVF-ET patients // *J. Reprod. Med.*:44:5:458–64.
5. Sallmen M., 2019 Reduced fertility among women exposed to organic solvents // *Am. J. Ind. Med.*:27:5:699–713.
6. Sladek S. M., 2020 Nitric oxide synthase activity in pregnant rabbit uterus decreases on the last day of pregnancy // *Am J Obstet Gynecol.*:169:1285–93.
7. Fracki S., 2021 Analysis of female infertility structural factors // *Ginek. Pol.*:69:12:1126–30.
8. Aral S. O., 2021 The increasing concern with infertility. Why now? // *JAMA.*:250:17:2327–31.
9. Fuortes L., 2019 Association between female infertility and agricultural work history // *Am. J. Ind. Med.*:31:4:445–451.
10. Asukai K., 2020 Occult hyperprolactinemia in infertile women // *Fertil. Steril.*:60:3:423–7.
11. Buckett W., 2021 The epidemiology of infertility in a rural population // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*:76:3:233–7.
12. Choudhury S. D., 2019 Hyperprolactinemia and reproductive disorders – a profile from north east // *J. Assoc. Physicians India.*:43:9:617–8.