

Шляхи підвищення ефективності допоміжних репродуктивних технологій при поєднаних формах безпліддя з урахуванням імунологічних факторів

С. Ю. Вдовиченко, І. В. Микієвич

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

Мета дослідження: вивчити роль цитокінів в ефективності гонадотропної стимуляції яєчників у циклі допоміжних репродуктивних технологій і його результатах у подружніх пар репродуктивного віку з поєднаними формами безпліддя. **Матеріали та методи.** Було обстежено 70 подружніх пар репродуктивного віку, яких розподілили на групи, а саме: основну (n=30), порівняння (n=30) і контрольну (n=10). Критеріями включення в основну групу були: вік від 25 до 38 років; безпліддя (ендокринне, трубно-перитонеальне, поєднане); програма допоміжних репродуктивних технологій; стимуляція яєчників препаратами гонадотропінів; настання вагітності після справжньої програми допоміжних репродуктивних технологій (візуалізація плодового яйця при ультразвуковому дослідженні через 3 тиж після перенесення ембріонів).

У комплекс проведених досліджень були включені клінічні, ехографічні, ендокринологічні, морфологічні, статистичні та імунологічні методи.

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. Наразі 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-релізінг-гормону).

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.

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

явність 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.

Ключові слова: поєднані форми безпліддя, допоміжні репродуктивні технології, ефективність, імунологічні фактори.

На сьогодні одним з напрямків лікування безпліддя є застосування 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.) [1–5].

Підвищення ефективності ДРТ пов'язане з дослідженнями, направленими на вивчення регуляторних механізмів репродуктивних процесів, прогнозування їх порушень і визначення підходів до корекції [6–10]. У цьому плані одне з центральних місць посідає проблема імунологічної регуляції репродуктивної функції жінки. Відомо, що імунокомпетентні клітини (макрофаги, лімфоцити) і продуковані ними цитокіни (інтерлейкіни, ростові чинники, хемокини) беруть участь в механізмах фолікулогенезу, овуляції, формування і функціонування жовтого тіла, циклічних морфофункціональних змінах ендометрія, заплідненні та імплантації [11–16].

Незважаючи на значну кількість наукових публікацій щодо ДРТ, не можна вважати всі питання повністю вирішеними, особливо в плані підвищення їх ефективності з урахуванням основних імунологічних чинників.

Мета дослідження: вивчити роль цитокінів в ефективності гонадотропної стимуляції яєчників у циклі ДРТ і його результатах у подружніх пар репродуктивного віку з поєднаними формами безпліддя.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для вирішення поставленої мети нами обстежено 70 подружніх пар репродуктивного віку, які були розподілені на наступні групи: основну (n=30), порівняння (n=30) і контрольну (n=10).

Критерії включення в основну групу:

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

Критерії включення в контрольну групу:

- вік від 25 до 32 років;
- наявність вагітності, що закінчилася пологами, в анамнезі.

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

Критерії виключення для основної групи і групи порівняння:

- гіпер- і гіпогонадотропна оваріальна недостатність;
- видалення одного або обох яєчників в анамнезі.

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 (MCP-1 (моноцитарного хемотаксичного протеїну 1), MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES, еотаксину, IP-10 (інтерферон-індукованого 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 еспресії 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 основної групи становив 32,2 $\pm$ 4,3 року, тривалість безпліддя – 6,2 $\pm$ 3,7 року. Вагітності у минулому були у 46,7% хворих даної групи (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 виявлено:

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

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

Середній вік жінок групи порівняння становив 33,7 $\pm$ 4,2 року, тривалість безпліддя – 5,7 $\pm$ 3,2 року. Вагітність у минулому мали 63,3% хворих даної групи (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 виявлено:

- хронічний сальпінгофорит (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.

Як було зазначено вище, до контрольної групи увійшли 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 становив 29,7 $\pm$ 2,9 року.

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 ($R_c=0,38$; $p<0,01$) и 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 та TNF α . У хворих з негативним результатом циклу ДРТ рівень IL-13 у фолікулярній рідині яєчників під час стимуляції у 2 рази вище за таке у хворих з вагітністю, що настала після застосування 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 звязаних 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 мають виражений протизапальний ефект та регуляторні властивості щодо цитотоксичних і хелперних Т-лімфоцитів, NK-клітин, В-лімфоцитів і дендритних клітин. IL-10 здатний також інгібувати апоптоз клітин, індукований $TNF\alpha$ або $IFN\gamma$. 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. Водночас існують дані про здатність IL-13 надавати ефект, що інгібує, на продукцію інших цитокінів, стимулюючих початок запального процесу.

Зростання продукції цитокінів, хемокинів і зростових чинників в яєчниках при їх стимуляції, ймовірно, забезпечується високим вмістом і активацією. Окрім цього, секреція цитокінів забезпечується гранульозними клітинами зростаючих фолікулів. $TNF\alpha$, $IFN\gamma$, GM-CSF залучені в розвиток і зростання фолікула, сигнальна взаємодія між ооцитом і що оточують його соматичними (гранульозними) клітинами, баланс процесів проліферації й апоптозу клітин фолікула регулюють ангиогенез і синтез стероїдних гормонів в яєчнику. $TNF\alpha$ і $IFN\gamma$ через активацію проапоптотичних Вах-білків, протеїнкінази С або каспаз можуть індукувати апоптоз клітин фолікула. Ті, що синтезуються в яєчниках хемокини (RANTES, еотаксин, MIP-1 β), володіючи хемоаттрактивним ефектом, залучають у тканини яєчника і активують, які зі свого боку секретують цитокіни, хемокини і чинники зростання, забезпечуючи надмірність цитокінової регуляції фолікулогенезу.

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

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.

Завершальним етапом дослідження була розробка за допомогою аналізу дискримінанта критеріїв прогнозування ефективності циклу ДРТ. Були виявлені три

групи чинників, що дозволяє прогнозувати настання вагітності після циклу ДРТ. До 1-ї групи чинників належать клінічні (вік, індекс маси тіла хворих, наявність трубно-перитонеального чинника безпліддя), до 2-ї групи – гормональні (вміст в крові вільного тестостерону і прогестерону), до 3-ї групи – імунологічні (вміст у фолікулярній рідині яєчників цитокінів IL-2, IL-4, IL-9, IL-13, IL-1ra, TNF α і GM-CSF), причому найбільш важливе прогностичне значення має рівень IL-13.

Отже, у ході справжнього дослідження виявлено значення цитокінів в ефективності циклу ДРТ у хворих репродуктивного віку з поєднаними формами безпліддя і визначені клінічні, гормональні та імунологічні чинники, що дозволяють прогнозувати його результат.

ВИСНОВКИ

Результати проведених досліджень свідчать, що до інформативних клініко-анамнестичних і гормональних чинників, які 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 у крові на 20–22-й день менструального циклу, а також визначення у фолікулярній рідині яєчників цитокінів.

Ways of increase of efficiency of assisted reproductive technologies are at the combined forms of infertility taking into account immunological factors S. Yu. Vdovychenko, I. V. Mikiievich

The objective: to learn the role of cytokines in efficiency of gonadotropic stimulation of ovaries in the loop of assisted reproductive technologies and his results at the matrimonial pair of reproductive age with 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). Plugging criteria in a basic group were: age 25–38 years; infertility (endocrine, pipe peritoneal, combined); program of assisted reproductive technologies; stimulation of ovaries by preparations of gonadotropins; an offensive of pregnancy is after the real program of assisted reproductive technologies (visualization of ovum at ultrasonic research in 3 weeks after transference of embryos). In the complex of the conducted researches were included clinical, echographic, endocrinology, morphological, statistical and immunological methods.

Results. Findings testify that strengthening of secretion in the ovary of pro-inflammatory cytokines can be one of mechanisms of unfavorable influence of stimulation of ovaries of gonadotropins 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).

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.

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 the patient; body mass index; 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.

Keywords: the combined forms of infertility, assisted reproductive technologies, efficiency, are immunological factors.

Відомості про авторів

Вдовиченко Сергій Юрійович – д-р мед. наук, проф., професор кафедри акушерства, гінекології та медицини плода, Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика, м. Київ. *E-mail: vdovichenki@gmail.com*

ORCID: 0000-0002-9205-510X

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 authors

Vdovychenko Serhii Yu. – d.med.s., professor, professor of departments of obstetrics, gynaecology and medicine of fetus of Shupyk National Healthcare University of Ukraine of MH Ukraine, Kyiv. *E-mail: vdovichenki@gmail.com*

ORCID: 0000-0002-9205-510X

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

ORCID: 0009-0007-0779-173X

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- 1 Суслікова Л. В., 2017. Сучасні допоміжні репродуктивні технології в Україні / Л. В. Суслікова. // Мистецтво лікування. Журнал сучасного лікаря : 4 : 13–5.
2. Goffeng AR., 2020. Fetal fibronectin and microorganisms in vaginal fluid of women with complicated pregnancies // Acta. Obstet. Gynecol. Scand.:76:521-9.
3. Goldenberg RL., 2019. Bed rest in pregnancy // Obstet. Gynecol.:84:131-4-9.
4. Goldenberg RL., 2021. The preterm prediction study: fetal fibronectin testing and spontaneous preterm birth. NICHD Maternal Fetal Medicine Units Network // Obstet. Gynecol.:87:643-51.
5. Gordts S., 2019. [Treatment of sterility in endometriosis] : [article in German] / S. Gordts // Gynakologe.: 22: 5: 315–9.
6. Gray R. H., 2021. Selected topics in the epidemiology of reproductive outcomes / R. H. Gray, S. Becker // Epidemiol. Rev.: 22: 1: 71–5.
7. Gutmann J. N., 2019. Imaging in the evaluation of female infertility / J. N. Gutmann // J. Reprod. Med.: 37: 1: 54–61.
8. Hargreave T. B., 2022. Investigating and managing infertility in general practice / T. B. Hargreave, J. A. Mills // B.M.J.: 316: 7142: 1438–41.
9. Hauth JC., 2022. Reduced incidence of preterm delivery with metronidazole and erythromycin in women with bacterial vaginosis // New England Journal of Medicine.: 333 (26): 1732-41.
10. Havlik M., 2021. [Personal experience with laparoscopic treatment of sterility] : [article in Czech] / M. Havlik, I. Sabo // Ceska Gynecol.: 65: 1: 48–50.
11. 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.
12. Heat B.H., Carter I.L., 2020. A modified somatotype method // Amer.J. Physic. Anthropology.: 27: 1: 57–74.
13. Hull M. G., 2020. Effectiveness of infertility treatments: choice and comparative analysis / M. G. Hull // Int. J. Gynaecol. Obstet.: 47: 2: 99–108.
14. Baram D, Tourtelot E., 2021. Psychological adjustment following unsuccessful in vitro fertilization. J Psychosom Obstet Gynaecol : 8 : 181.
15. Callan, V. J., Hennessey, J. F., 2022. The psychological adjustment of women experiencing infertility. British Journal of Medical Psychology : 61 : 137-40.
16. Kainz K., 2020. The role of the psychologist in the evaluation and treatment of infertility. Womens Health Issues : 11: 481-5.