

Вікові аспекти ефективності допоміжних репродуктивних технологій при поєднаних формах безпліддя

О.О. Берестовий

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

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

Матеріали та методи. Для вирішення поставленої мети обстежено 70 жінок репродуктивного віку, які були розподілені на три групи: основну (n=30), групу порівняння (n=30) і контрольну (n=10). До комплексу проведених досліджень були включені клінічні, ехографічні, ендокринологічні, морфологічні, статистичні та імунологічні.

Результати. Зі збільшенням віку хворих закономірно знижується кількість зростаючих фолікулів; отриманих під час пункції яєчників ооцитів, зокрема зрілих. 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.

Стимуляція яєчників гонадотропінами супроводжується зростанням фолікулів, рекрутуванням і активацією імунокомпетентних клітин з індукцією проти-запальних, прозапальних цитокінів і хемокінів. Негативну роль можуть відігравати високі концентрації в крові естрадіолу, а також фармакологічні препарати, що використовуються під час стимуляції яєчників (гонадотропіни, агоністи та антагоністи гонадотропін-рилізінг-гормону), а також вік пацієнток.

Заклучення. До інформативних клініко-анамнестичних і гормональних чинників, що визначають результат циклу допоміжних репродуктивних технологій 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.

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

Ключові слова: безпліддя, вік, допоміжні репродуктивні технології.

На сьогодні одним із напрямів 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 репро-

дукції людини, 2019 р.). Підвищення ефективності ДРТ пов'язане з дослідженнями, направленими на вивчення регуляторних механізмів репродуктивних процесів, прогнозування їхніх порушень і визначення підходів до корекції. 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, хемокіни) беруть участь в механізмах фолікулогенезу, овуляції, формування і функціонування жовтого тіла, циклічних морфофункціональних змін ендометрія, заплідненні та імплантації [1–6].

Не дивлячись на значну кількість наукових публікацій щодо ДРТ, не можна вважати всі питання повністю вирішеними, особливо в 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 обстежено 70 жінок репродуктивного віку, які були розподілені на три групи: основну (n=30), групу порівняння (n=30), контрольну (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 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 в анамнезі вагітності, що закінчилася пологам.

До контрольної групи увійшли пацієнтки, що 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, азооспермія;
- єдина причина безпліддя – чоловічий чинник;
- ожиріння II–III ступеня.

До комплексу проведених досліджень були включені клінічні, ехографічні, ендокринологічні, морфологічні, статистичні і імунологічні, які включали визначення рівня цитокінів у фолікулярній рідині методом мультиплексного аналізу білків (MCP-1 (мо-

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

ноцитарного 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 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; CXCR1; CCR1, 3, 4, 5, 7).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Середній вік жінок в основній групі становив 32,2 $\pm$ 4,3 року, тривалість безпліддя – 6,2 $\pm$ 3,7 року. У минулому 46,7% хворих цієї групи мали 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 та операційну лапароскопію, 26,7% – діагностичну і операційну гістероскопію.

Середній вік жінок у групі порівняння становив 33,7 $\pm$ 4,2 року, тривалість безпліддя – 5,7 $\pm$ 3,2 року. У минулому 63,3% хворих цієї групи 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%). Пацієнтки групи порівняння (46,7%) перенесли в анамнезі діагностичну та операційну лапароскопію, 56,7% – діагностичну та операційну гістероскопію.

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 $\pm$ 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 ($R_c = -0,33$; $p < 0,01$), у тому числі зрілих ($R_c = -0,31$; $p < 0,05$). Це свідчить про зниження активності процесів фолікуло- та оогенезу, частоти настання вагітності зі збільшенням віку жінок. Дані процеси обумовлені морфофункціональними змінами яєчників у жінок старшого віку, зниженням їхнього оваріального резерву, збільшенням частоти анеуплоїдії ооцитів, що може з'явитися 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 та 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 посилення експресії тромбоцитарного чинника зростання в яєчнику може бути обумовлене активацією синтезу прозапальних цитокінів.

Кореляційна залежність вмісту цитокінів у фолікулярній рідині яєчників і 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

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 виражалось збільшенням експресії рецептора хемокинів CCR1 та зниженням 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 ($R_c = 0,38$; $p < 0,01$) та 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 у 2 рази вищий за такий 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 ($R_c = 0,59$; $p < 0,0001$) та 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 належать до цитокінів, характерних для так званої Th-2 імунної відповіді, домінуючої при нормальному перебігу вагітності. IL-10 і IL-4 мають виражений протизапальний ефект, регуляторні властивості щодо цитотоксичних і хелперних Т-лімфоцитів, НК-клітин, В-лімфоцитів і дендритних клітин. IL-10 здатний також інгібувати апоптоз клітин, що індукується 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 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. $TNF\alpha$, $IFN\gamma$, 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 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. Хемокіни (RANTES, зотаксин, MIP-1 β), що синтезуються в яєчниках, володіючи хемоаттрактивним ефектом, залучають в тканині яєчника і активують ІКК, які зі свого боку секретують цитокіни, хемокіни і чинники зростання, забезпечуючи надмірність цитокінової регуляції фолікулогенезу.

Проаналізовані 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 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 імункомпетентних клітин з індукцією протизапальних (IL-4, IL-10, IL-13), прозапальних цитокінів ($IFN\gamma$; GM-CSF; $TNF\alpha$) і хемокінів (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, $IFN\gamma$ и 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 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.

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, 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.

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

Возрастные аспекты эффективности вспомогательных репродуктивных технологий при сочетанных формах бесплодия О.О. Берестовой

Цель исследования: изучение роли возраста пациенток в оценке эффективности вспомогательных репродуктивных технологий при сочетанных формах бесплодия.

Материалы и методы. Для решения поставленной цели нами было обследовано 70 женщин репродуктивного возраста, которых распределили на три группы: основную (n=30), группу сравнения (n=30) и контрольную (n=10). К комплексу проведенных исследований были включены клинические, эхографические, эндокринологические, морфологические, статистические и иммунологические.

Результаты. С увеличением возраста больных закономерно снижается количество растущих фолликулов; полученных во время пункции яичников ооцита, в том числе зрелых. Одним из механизмов нарушения фолликуло- и оогенеза является изменение цитокиновой регуляции этих процессов. С увеличением возраста пациенток происходит увеличение содержания в фолликулярной жидкости яичников провоспалительных цитокинов.

Стимуляция яичников гонадотропинами сопровождается ростом фолликулов, рекрутированием и активацией иммунокомпетентных клеток с индукцией противовоспалительных, провоспалительных цитокинов и хемокинов. Негативную роль могут играть высокие концентрации в крови эстрадиола, а также фармакологические препараты, которые используются во время стимуляции яичников (гонадотропины, агонисты и антагонисты гонадотропин-рилизинг-гормона), а также возраст пациенток.

Заключение. К информативным клинико-анамнестическим и гормональным факторам, которые определяют результат цикла вспомогательных репродуктивных технологий у больных репродуктивного возраста с сочетанными формами бесплодия, относят: возраст больной, индекс массы тела, наличие трубно-перитонеального фактора бесплодия, уровень свободного тестостерона в крови, содержание прогестерона в крови на 20–22-й день менструального цикла, а также определение в фолликулярной жидкости яичников цитокинов. В исследовании показана роль возраста пациенток в оценке эффективности вспомогательных репродуктивных технологий.

Ключевые слова: бесплодие, возраст, вспомогательные репродуктивные технологии.

Age-related aspects of efficiency of auxiliary genesal technologies at the combined forms of infertility O.O. Berestovoy

The objective: to study the role of age of patients in the estimation of efficiency of auxiliary genesal technologies at the combined forms of infertility.

Materials and methods. For the decision of the put purpose we inspected 70 women of genesal age, which made the followings groups: basic (n=30), comparisons (n=30) and control (n=10). To the complex of the conducted researches were included clinical, echographic, endocrinology, morphological, statistical and immunological.

Results. With the increase of age of patients the amount of growings follicles goes down appropriately; ovaries of oocyte got during puncture, including mature. One of mechanisms of violation of folliculogenesis and oogenesis is a change to the cytokine adjusting of these processes. With the increase of age of patients there is an increase of content in the follicle liquid of ovaries of proinflammatory cytokines.

Stimulation of ovaries of гонадотропинами is accompanied by growth of follicles, recruiting and activating of immunocompetency cages with induction of anti-inflammatory, pro inflammatory cytokines and chemokines. A negative role high concentrations can play in blood of estradiol, and also pharmacological preparations which are used during stimulation of ovaries (гонадотропины, agonists and antagonists of гонадотропин-releasing-hormone), and also age of patients.

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

Conclusions. To the informing clinical and anamnestic and hormonal factors which determine the result of cycle of auxiliary genesial technologies for the patients of genesial age with the combined forms of infertility, take: age of patient, index of mass of body, presence of pipe-peritoneal factor of infertility, level free to testosterone in blood, table of contents of progesterone in blood on 20–22 days of menstrual cycle, and also determination in the follicle liquid of ovaries of cytokines. We are rotin the role of age of patients in the estimation of efficiency of auxiliary genesial technologies.

Keywords: *infertility, age, auxiliary genesial technologies.*

Відомості про автора

Берестовий Олег Олександрович – Кафедра акушерства, гінекології та перинатології Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, 01011, м. Київ, вул. Арсенальна, 5. *E-mail: proro-first@nmapo.edu.ua*

Сведения об авторе

Берестовой Олег Александрович – Кафедра акушерства, гинекологии и перинатологии Национального университета здравоохранения Украины имени П.Л. Шупика, 01011, г. Киев, ул. Арсенальная, 5. *E-mail: proro-first@nmapo.edu.ua*

Information about the authors

Berestovoy Oleg O. – Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatology Shupyk National Healthcare University of Ukraine, 01011, Kyiv, 5 Arsenalna Str. *E-mail: proro-first@nmapo.edu.ua*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вовк І. Б. Корекція гормональних порушень при поєднаних формах неплідності / І.Б. Вовк, А.Г. Корнацька // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2013. – № 4. – С. 147–149.
2. Юзько О.М., Юзько Т.А. Лапароскопія в діагностиці та лікуванні жіночої безплідності / О.М. Юзько, Т.А. Юзько // Клініч. анатомія та оперативна хірургія. – 2018. – № 2. – С. 35–36.
3. Anate M. Anovulatory infertility: a report of four cases and literature review / M. Anate, A.W. Olatinwo // Niger. J. Med. – 2020. – Vol. 10, N 2. – P. 85–90.
4. Дубоссарская З.М. Эндокринное бесплодие у женщин: патофизиологические механизмы и подходы к лечению / З.М. Дубоссарская // Лікування та діагностика. – 2016. – № 1. – С. 39–45.
5. Корнацька А.Г. Місцевий гуморальний імунітет у жінок з поєднаними формами неплідності / А.Г. Корнацька // Лікар. справа. – 2018. – № 4. – С. 82–84.
6. Основы репродуктивной медицины: Практ. руководство / Под ред. В.К. Чайки. – Донецк : Альматео, 2012. – Р. 6 : Бесплодие в браке. – С. 275–321.