

Нові етіологічні та патогенетичні аспекти передчасного зниження оваріального резерву

С.І. Жук, В.М. Воробей-Вихівська

Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, м. Київ

МЦ «Мать и дитя», м. Київ

У статті розглянуто питання передчасного зниження оваріального резерву як чинника, що негативно впливає на результативність програм допоміжних репродуктивних технологій. Описані основні етіологічні та патогенетичні чинники даного патологічного стану. Представлені результати дослідження впливу генетичних поліморфізмів системи гемостазу на особливості оваріального резерву. Виявлено високу частоту поширення поліморфізму гена інгібітор активатора плазміногена 1 у жінок з передчасним зниженням оваріального резерву.

Ключові слова: безпліддя, оваріальний резерв, гени системи гемостазу, інгібітор активатора плазміногена 1.

Проблема репродуктивного здоров'я в Україні за останні десятиліття набула великого значення. Лікування та профілактика безпліддя залишається одним із провідних завдань акушерів-гінекологів та репродуктологів. Проводяться численні дослідження щодо встановлення патогенетичних особливостей різних форм безпліддя та пошуку методів лікування. Усе більшого поширення серед лікувальних методик набувають допоміжні репродуктивні технології (ДРТ). Сьогодні проведення запліднення *in vitro* можна вважати рутинною лікувальною тактикою. В Україні щорічно проводять, за даними різних авторів, від 10 до 15 тис. циклів IVF. Накопичено значний досвід вітчизняних спеціалістів. Постійно вдосконалюються лікувальні методики, ведеться науковий пошук для підвищення результативності ДРТ.

Пацієнти, що звертаються до клінік репродуктивних технологій, як правило, мають тривалу історію захворювання та значний «стаж» безпліддя. Багаторічне обстеження та лікування приводить до того, що переважна більшість пацієнток звертаються до репродуктолога у віці більше 30 років. Необізнаність населення у питаннях репродуктивного здоров'я також є причиною пізнього звернення до фахівців. Крім того, існує соціальний фактор пізнього початку лікування безпліддя. У сучасному суспільстві все більш популярною стає тенденція відстроченого материнства. Жінки все частіше відкладають планування вагітності на старший вік, вважаючи першочерговим завданням свою соціальну реалізацію та забезпечення стабільного фінансового становища.

Таким чином, за нашими даними, 68% пацієнток клініки репродукції – жінки старше 30 років. Саме на четверте десятиліття життя жінки припадає період фізіологічного згасання фертильності, що пов'язано зі зменшенням кількості ооцитів в яєчниковій тканині та зниженням їхньої якості. Термін «оваріальний резерв» запропоновано Navot та співавторами в 1987 році [6]. Сьогодні цим поняттям визначають кількість і якість фолікулів, що знаходяться в яєчниках на цей час. Для оцінювання оваріального резерву використовують непрямі методи, а саме – підрахунок антральних фолікулів та визначення рівня фолікулостимулювальних гормонів (ФСГ) на 2–5-й день менструального циклу та визначення рівня антимюллерового гормону (АМГ), що є сталим показником та не залежить від фази менструального циклу. Різне зниження оваріального резерву починається в середньому у віці 36 років. Різноманітні патологічні

чинники як ендогенні, так і екзогенні, призводять до того, що природний запас ооцитів вичерпується ще раніше. До таких чинників прийнято відносити перенесені хірургічні втручання на яєчниках, ендометріодні та дермоїдні кісти яєчників, хронічні запальні захворювання жіночої статеві системи, шкідливі звички та екологічна ситуація. Тому репродуктологи часто стикаються з проблемою зниженого оваріального резерву та «бідної» відповіді на стимуляцію не тільки у жінок пізнього репродуктивного віку, а й у більш молодих пацієнток.

Особливий інтерес становить можливість генетичної детермінації об'єму оваріального резерву та швидкості його вичерпання, про що свідчить спадковий характер пізнього чи раннього настання менопаузи. Численні дослідження вказують на те, що більшість параметрів оваріального резерву співпадають з індивідуальним біологічним віком жінки [5] і можуть бути прогностичним маркером настання менопаузи. Так, група голландських учених на основі популяційних досліджень створили модель, яка може передбачити можливе настання менопаузи за одноразовим визначенням АМГ. Так, якщо у жінки віком 37 років спостерігається низький рівень АМГ, то настання менопаузи у неї припадає на вік 41–44 роки, що на 7–10 років раніше, ніж у загальній популяції (51 рік), і, навпаки, якщо у жінки віком 42 роки спостерігається високий рівень АМГ, то настання менопаузи у неї може припадати на вік 51–53 роки, що на 2 роки пізніше, ніж у популяції [4, 7]. Оскільки настання менопаузи є прямим наслідком закінчення фолікулярного пулу, а спадковий характер тривалості менструальної функції та віку її згасання не викликає сумніву, то необхідність вивчення спадкового фактора в етіології передчасного виснаження оваріального резерву є очевидним.

Однак механізми передачі таких спадкових особливостей на сьогодні чітко не визначені. Вочевидь, науковий пошук варто проводити як в напрямку виявлення факторів, що визначають об'єм початкової закладки ооцитів, так і в напрямку вивчення генетичних особливостей, що могли б впливати на механізми витрати оваріального резерву протягом життя. Дане дослідження було сконцентровано саме в останньому напрямку.

Перспективним напрямком наукових досліджень сьогодні стало вивчення порушень системи гемостазу у жінок, що проходять лікування безпліддя з допомогою IVF. Попередні дослідження свідчать, що у жінок з обтяженим репродуктивним анамнезом значно частіше, ніж в загальній популяції, зустрічається спадкова схильність до тромбофілії. Мова йде про поліморфізм генів системи гемостазу. У загальній клінічній практиці мають значення мутації генів протромбіну, V, VII та XIII факторів згортання крові, β -ланцога фібриногену, інгібітору активатора плазміногена 1, інтегрину A2 та інтегрину V3. За результатами наших попередніх досліджень у жінок з обтяженим репродуктивним анамнезом достовірно частіше, ніж в загальній популяції, зустрічаються поліморфні варіанти генів та XIII фактора згортання крові (F13A1: 9G>T) – 49,1%, β -ланцога фібриногену (FGB: -455 G>A) – 58,2%, інгібітору активатора плазміногена 1 (PAI-1: -675 5G>4G) – 74,5% та інтегрину A2 (ITG A2: 807 C>T) – 60%.

Частота виявлення поліморфізму генів системи гемостазу у дослідній та контрольній групах

Вид мутації	Поширеність серед жінок з передчасним зниженням оваріального резерву, n=33			Поширеність серед жінок з нормальним оваріальним резервом, n=32		
	Загалом у групі	В тому числі гомозиготних	В тому числі гетерозиготних	Загалом у групі	В тому числі гомозиготних	В тому числі гетерозиготних
F2:20210 G>A	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)
F5: 1691 G>A	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)
F7: 10976 G>A	6(18,1%)	0(0%)	6(18,1%)	8(25,5%)	0(0%)	8(25,5%)
F13A1: 9G>T	18(54,5%)	6(18,2%)*	12(36,3%)	14(43,7%)	0(0%)	14(43,7%)
FGB: -455 G>A	21(63,6%)	0(0%)	21(63,6%)	20(62,5%)	4(12,5%)	16(50,5%)
PAI-1: -675 5G>4G	30(90,9%)*	12(36,3%)	18(54,5%)	22(68,7%)	6(18,7%)	16(50,7%)
ITG A2: 807 C>T	24(72,7%)	9(27,2%)	15(45,4%)	24(75,0%)	4(12,5%)	20(62,5%)
ITG B3: 1565 T>C	9(27,2%)	0(0%)	9(27,2%)	8(25,0%)	0(0%)	8(25%)

Примітки: * – p<0,05, точний критерій Фішера.

Порушення мікроциркуляції, зумовлене такою спадковою схильністю, може впливати як на ріст та рецептивність ендометрія, так і на фолікулогенез.

Мета дослідження: вивчення можливого впливу поліморфізму генів системи гемостазу на передчасне зниження оваріального резерву.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У дослідженні брали участь 65 жінок. У дослідну групу ввійшли 33 жінки у віці від 27 до 36 років. Середній вік склав 27,07±0,29 року. Середня тривалість безпліддя за свідченнями пацієнток становила 7,62±0,25 року. Первинне безпліддя було діагностовано у 24 жінок (72,7%), вторинне – у 9 жінок (27,3%). При цьому пологів в анамнезі не було в жодній жінки, оскільки вагітності у 7 з них були позаматковими, а у 2 – завершувалися мимовільним перериванням на ранніх термінах вагітності. У всіх жінок було діагностовано передчасне зниження оваріального резерву.

Групу контролю склали 32 жінки такого самого віку із нормальним оваріальним резервом. Середній вік жінок контрольної групи склав 31,4±0,31 року, середня тривалість безпліддя – 6,03±0,21 року. У цій групі також переважало первинне безпліддя (24 жінки, 75%). Вторинне безпліддя спостерігалось у 8 жінок (25%), 4 з них мали в анамнезі пологи, що закінчилися народженням здорових дітей, а 4 – передчасне переривання вагітності на ранніх термінах.

До комплексу обстеження пацієнток було включено обстеження на поліморфізм генів системи гемостазу.

Статистичний аналіз отриманих результатів проводили за допомогою програми Statistica 5. Кількісні показники представлені як середні ± стандартне відхилення. Категоріальні показники представлені як кількість пацієнтів в даній категорії (%). Частота виявлення мутацій генів системи гемостазу у дослідній та контрольній групах порівнювалася з допомогою критерія Фішера.

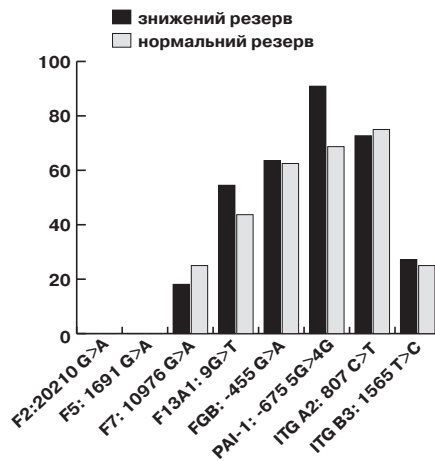
РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Найбільш суттєва різниця в генотипах жінок двох груп була виявлена в частоті поширеності поліморфізму гена інгібітору активатора плазміногена 1 (PAI-1: -675 5G>4G). Так, серед жінок із передчасним зниженням оваріального резерву ця мутація виявлялася у 90,9% випадків (у 30 жінок), в той час як серед жінок з нормальним оваріальним резервом вона була виявлена у 68,7% випадків (22 жінки) (p<0,05). При цьому в дослідній групі дещо частіше, ніж в контрольній, виявляли гомозиготний варіант: 36,3% (12 жінок) проти 18,7% (6 жінок) відповідно (p>0,05). Частота виявлення поліморфізму гена інтегрину A2 (ITG A2: 807 C>T) у дослідній та контрольній групі суттєво не відрізнялися і склали відповідно 72,7% та 75% (по 24 жінки в кожній групі) (p>0,05). Однак в дослідній групі частіше, ніж в контрольній, зустрічалися го-

мозиготи – 27,2% проти 12,5% (9 та 4 жінки відповідно). Поліморфізм гена фібриногену (FGB: -455 G>A) також зустрічався з майже однаковою частотою в дослідній та контрольній групах – 63,6% (21 жінка) та 62,5% (20 жінок) відповідно. При цьому в дослідній групі зустрічався лише гетерозиготний варіант, а в контрольній 4 (12,5%) жінки виявилися гомозиготними за даною мутацією (p>0,05). Поліморфізм гена інтегрину B3 виявлений в обох групах лише в гетерозиготному варіанті з приблизно однаковою частотою – 27,2% (9 жінок) та 25% (8 жінок) в дослідній та контрольній групах відповідно (p>0,05). Привертає увагу також різниця в поширеності поліморфізму XIII фактора згортання крові у дослідній та контрольній групах – 54,5% (18 жінок) проти 43,7% (14 жінок). При цьому в дослідній групі частота гомозиготної мутації складала 18,2% (12 жінок), в той час як в контрольній групі гомозиготи не зустрічалися (p<0,05). Поліморфізм генів протромбіну і V фактора згортання крові в обох групах не зустрічалися (таблиця, малюнок).

Щоб пояснити роль спадкових особливостей функціонування системи гемостазу в передчасному виснаженні оваріального резерву, варто згадати фізіологічні особливості овогенезу від формування первинного пулу фолікулів до овуляції.

Як відомо, міграція первинних статевих клітин з ентодерми жовткового мішка в гонади починається з 7–8-го тижня вагітності, з 16-го тижня у яєчниках дівчинки визначаються ооцити. На 20-му тижні вагітності кількість статевих клітин сягає свого максимуму (близько 7 млн), після чого настає масивна атрезія фолікулів, і на момент пологів їх залишається близько 1 млн. На момент менархе в яєчниках залишається від 270 до 500 тис. фолікулів [5]. У репродуктивному віці в яєчнику визна-



Частота поліморфізму генів системи гемостазу у жінок із передчасним зниженням оваріального резерву та у жінок із нормальним оваріальним резервом

чаються фолікули на різних стадіях розвитку. Зростання фолікулів від примордіальної стадії до овуляції домінують фолікула залишається найбільш важливою частиною вивчення репродуктивної активності. За життя у жінки овулюють близько 400 фолікулів, інші атрезуються. Зменшення кількості фолікулів шляхом атрезії відбувається зі швидкістю приблизно 1 тис. фолікулів на місяць.

Зрозуміло, що для нормального функціонування гонад необхідне адекватне кровопостачання [4, 7], яке пов'язане із системними і локальними коливаннями рівнів статевих гормонів. Однією з причин порушення формування закладки оваріального резерву можуть бути особливості мікроциркуляції, пов'язані зі спадковою тромбофілією.

Формування жовтого тіла супроводжується фізіологічним крововиливом в порожнину фолікула, формуванням згустка крові та подальшим його розсмоктуванням з участю процесів фібринолізу. Після закінчення функціонування жовтого тіла на його місці утворюється біле тіло, що пізніше перетворюється на сполучнотканинний рубець. Таким чином, чим повільніше відбувається в організмі деградація фібрину, тим активнішими будуть процеси рубцювання і тим більший об'єм яєчникової тканини буде заміщено сполучнотканинними елементами. Як відомо, носії поліморфізму гена інгібітору активатора плазміногена 1 схильні саме до зниження фібринолітичної активності. Таким чином, генетично зумовлена особливість функціонування системи гемостазу може впливати на характер змін в тканині яєчника протягом онтогенезу. Дана гіпотеза потребує підтвердження дослідженням на більших вибірках та подальшого поглибленого вивчення.

У той самий час зниження концентрації XIII фактора згортання крові, що зумовлено поліморфізмом F13A1: 9G>T, сприяє більшому об'єму первинного крововиливу під час овуляції та на

початкових етапах формування жовтого тіла. Очевидно, у жінок з таким генотипом при кожній овуляції яєчникова тканина зазнає суттєвіших уражень. Слід наголосити, що значення в даному випадку має тільки гомозиготний варіант поліморфізму.

ВИСНОВКИ

Питання етіології та патогенезу передчасного зниження оваріального резерву залишається відкритим і потребує глибокого наукового підходу до його вирішення. Одним з можливих етіологічних факторів даного явища можуть бути генетично обумовлені особливості системи гемостазу, а саме дисбаланс між процесами утворення фібрину та його деградації. Поліморфізм гена інгібітору активатора плазміногена 1 (PAI-1: -675 5G>4G), а особливо його гомозиготний варіант з високою вірогідністю має вплив на передчасне зниження оваріального резерву.

Висока частота виявлення гетерозиготних поліморфізмів генів фібриногену, інтегрину A2 та XIII фактора згортання крові як в дослідній, так і в контрольній групі, за відсутності суттєвих відмінностей між групами підтверджує роль даних мутацій у жінок з обтяженим репродуктивним анамнезом загалом, що співпадає з результатами попередніх досліджень та свідчить про відсутність їхнього очевидного впливу на передчасне зниження оваріального резерву. У той самий час гомозиготний варіант поліморфізму F13A1: 9G>T вірогідно має патогенетичне значення для передчасного зниження оваріального резерву.

Необхідні подальші дослідження в цьому напрямку. У даний час ведеться робота по збільшенню дослідної та контрольної груп для підвищення точності результатів дослідження. Після формування чіткого уявлення про роль і місце даних мутацій в патогенезі передчасного зниження оваріального резерву визначення поліморфізму PAI-1: -675 5G>4G та F13A1: 9G>T у молодих жінок дозволить останнім вчасно оптимізувати планування сім'ї.

Новые этиологические и патогенетические аспекты преждевременного снижения оваріального резерва С.И. Жук, В.М. Воробей-Виховская

В статье рассмотрен вопрос преждевременного снижения оваріального резерва как фактора, который негативно влияет на результативность программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Описаны основные этиологические и патогенетические факторы данного патологического состояния. Представленные результаты исследования влияния генетических полиморфизмов системы гемостазу на особенности оваріального резерва. Обнаружена высокая частота распространения полиморфизма гена ингибитора активатора плазминогена 1 у женщин с преждевременным снижением оваріального резерва.

Ключевые слова: бесплодие, оваріальный резерв, гены системы гемостазу, ингибитор активатора плазминогена 1.

New etiologic and pathogenetic aspects of premature reduce ovarian reserve S.I. Zhuk, V.M. Vorobej-Vihovskaya

In the article the question of premature decline of ovarian reserve is considered as a factor which negatively influences on effectiveness of the IVF programs. The basic etiologic and nosotropic factors of this pathosis are described. The results of research of influence of the gemostatic system's genetic polymorphisms on the feature of ovarian reserve are presented. Found out high-frequency of distribution of polymorphism of gene of serpin 1 for women with the premature decline of ovarian reserve.

Key words: infertility, ovarian reserve, genes of the gemostatic system, serpin 1.

Сведения об авторах

Жук Светлана Ивановна – Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика, 04112, г. Киев, ул. Дорогожицкая, 9. E-mail: Zhuksvitlana@ukr.net

Воробей-Виховская Вера Николаевна – Медицинский центр «Мать и дитя», 04114, г. Киев, ул. Макеевская, 8. E-mail: vevorobej@yandex.ru

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Жук С.І., Воробей-Вихівська В.М. Поширеність мутацій генів системи гемостазу у жінок з обтяженим репродуктивним анамнезом //Здоров'я жінки, № 7. – 2014.
2. Зелінський О.О., Чумак З.В., Шаповал М.В. Оваріальний резерв як прогностичний маркер визначення періоду настання менопаузи //Здоров'я України. Тематичний номер. Грудень 2011 р. – С. 14–15.
3. Стрелко Г.В. Клінічне значення оцінки оваріального резерву в жінок, які страждають на безпліддя //Здоров'я України. Тематичний номер. Березень 2012 р. – С. 35–36.
4. De Vet A., Laven J.S., De Jong F. Antimullerian hormone serum levels: a

- putative marker for ovarian aging. *Fertil Steril.* – 2002; 77: 357–362.
5. Ennis S., Ward D., Murray A. Nonlinear association between CGG repeat number and age of menopause in FMR1 premutation carriers // *Eur. J. Hum. Genet.* – 2006. – Vol. 14. – P. 25–255.
6. Navot D., Rosenwaks Z, Margalioth E.J. Prognostic assessment

- of female fecundity // *Lancet*, 1987; 2:645–647.
7. Van Disseldorp J., Faddy M.J., Themmen A.P., de Jong F.H., Peeters P.H., van der Schouw Y.T., Broekmans F.J. Relationship of serum antimullerian hormone concentration to age at menopause // *J Clin Endocrinol Metab.*, 2008, Jun; 93 (6): 212–934.

Статья поступила в редакцию 13.10.2014