

Роль возраста пациенток в оценке эффективности вспомогательных репродуктивных технологий при сочетанных формах бесплодия

М.М. Адамов

Национальная медицинская академия последилового образования имени П.Л. Шупика, г. Киев

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что к информативным клинико-анамнестическим и гормональным факторам, определяющим исход цикла вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) 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. Показана роль возраста пациенток в оценке эффективности ВРТ.

Ключевые слова: бесплодие, возраст, вспомогательные репродуктивные технологии.

На сегодняшний день одним из направлений лечения бесплодия является применение вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), частота наступления беременности и родов после которого составляют соответственно 29,1% и 21,5% (данные Европейского общества репродукции человека, 2011 г.). Повышение эффективности ВРТ связано с исследованиями, направленными на изучение регуляторных механизмов репродуктивных процессов, прогнозирование их нарушений и определение подходов к коррекции. В этом плане одно из центральных мест занимает проблема иммунологической регуляции репродуктивной функции женщины. Известно, что иммунокомпетентные клетки (макрофаги, лимфоциты) и продуцируемые ими цитокины (интерлейкины, ростовые факторы, хемокины) принимают участие в механизмах фолликулогенеза, овуляции, формирования и функционирования желтого тела, циклических морфофункциональных изменений эндометрия, оплодотворения и имплантации [1–6].

Несмотря на значительное число научных публикаций по ВРТ нельзя считать все вопросы полностью решенными, особенно в плане изучения возраста пациенток в оценке их эффективности.

Цель исследования: изучить роль возраста пациенток в оценке эффективности ВРТ при сочетанных формах бесплодия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для достижения поставленной цели нами были обследованы 70 женщин репродуктивного возраста, которые составили следующие группы: основную (n=30), сравнения (n=30) и контрольную (n=10). Исследование проводили на базе клиники репродуктологии «Вера», г. Симферополь.

Критериями включения в основную группу являлись: возраст 25–38 лет; бесплодие (эндокринное, трубно-перитонеальное, сочетанное); программа ВРТ; стимуляция яичников препаратами гонадотропинов; наступление беременности после настоящей программы ВРТ (визуализация плодного яйца при ультразвуковом исследовании (УЗИ) через 3 нед после переноса эмбрионов). Критерии включения в

группу сравнения: возраст 25–38 лет; бесплодие (эндокринное, трубно-перитонеальное, сочетанное); программа ВРТ; отсутствие беременности после настоящей программы ВРТ.

Критерии включения в контрольную группу: возраст 25–32 года; наличие в анамнезе беременности, закончившейся родами. Контрольную группу составили пациентки, принимающие участие в программе «Донорство ооцитов». Критерии исключения для основной группы и группы сравнения были общими: гипер- и гипогонадотропная овариальная недостаточность; удаление одного или обоих яичников в анамнезе; тяжелые степени астеноэрозоспермии, азооспермия; единственная причина бесплодия – мужской фактор; ожирение II–III степени.

В комплекс проведенных исследований были включены клинические, эхографические, эндокринологические, морфологические, статистические и иммунологические, которые включали определение уровня цитокинов в фолликулярной жидкости методом мультиплексного анализа белков: MCP-1 (моноцитарного хемотаксического протеина 1), MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES, эотаксина, IP-10 (интерферон-индуцируемого протеина 10), IL-8, фракталкина, 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) и определение методом PCR в биоптатах эндометрия экспрессии мРНК хемокинов (MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES, эотаксина, IP-10, IL-8, фракталкина) и их рецепторов (CXCR1, 2, 3, 4; CX3CR1; CCR1, 3, 4, 5, 7).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Средний возраст женщин основной группы составил 32,2 \pm 4,3 года, длительность бесплодия – 6,2 \pm 3,7 года. 46,7% больных данной группы имели в прошлом беременность (13,3% – роды, 30,0% – искусственные аборты, 3,3% – самопроизвольные аборты, 3,3% – неразвивающаяся беременность). В структуре сопутствующей гинекологической заболеваемости у пациенток основной группы выявлены: хронический сальпингоофорит (36,7%), лейомиома матки (10,0%), наружный генитальный эндометриоз I–II степени тяжести (23,3%), аденомиоз (6,7%). 36,7% пациенток основной группы перенесли в анамнезе диагностическую и/или операционную лапароскопию, 26,7% – диагностическую и/или операционную гистероскопию.

Средний возраст женщин в группе сравнения составил 33,7 \pm 4,2 года, длительность бесплодия – 5,7 \pm 3,2 года. 63,3% больных данной группы в прошлом имели беременность (26,7% – срочные роды, 16,7% – эктопическую беременность, 43,3% – искусственный аборт, 6,7% – самопроизвольный аборт, 16,7% – неразвивающуюся беременность). В структуре сопутствующей гинекологической заболеваемости у пациенток группы сравнения выявлены: хронический сальпингоофорит (56,7%), лейомиома матки (16,7%), наружный генитальный эндометриоз I–II степени тяжести (26,7%), аденомиоз (13,3%).

Корреляционная зависимость содержания цитокинов в фолликулярной жидкости яичников и экспрессии рецепторов хемокинов в эндометрии от возраста больных с бесплодием

Возраст больных (от 30 до 40 лет)	Цитокин (фолликулярная жидкость)	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
	мРНК (эндометрий)		
	CCR1	0,41	<0,05
	CCR3	-0,42	<0,05

46,7% пациенток группы сравнения перенесли в анамнезе диагностическую и/или операционную лапароскопию, 56,7% – диагностическую и/или операционную гистероскопию.

Контрольную группу составили здоровые женщины, принявшие участие в программе «Донорство ооцитов». Все они состояли в браке, в анамнезе имели роды, закончившиеся рождением здорового ребенка. Средний возраст пациенток составил 29,7±3,9 года.

Полученные нами результаты свидетельствуют, что с увеличением возраста больных закономерно снижается количество растущих фолликулов ($R_c = -0,32$; $p < 0,05$); полученных во время пункции яичников ооцитов ($R_c = -0,33$; $p < 0,01$), в том числе зрелых ($R_c = -0,31$; $p < 0,05$). Это свидетельствует о снижении активности процессов фолликуло- и оогенеза, частоты наступления беременности с увеличением возраста женщин. Данные процессы обусловлены морфофункциональными изменениями яичников у женщин старшего возраста, снижением их овариального резерва, увеличением частоты анеуплоидии ооцитов, что может явиться одной из причин низкой частоты имплантации. Кроме физиологического увеличения частоты элиминации примордиальных фолликулов в старшем репродуктивном возрасте, факторами, приводящими к снижению эффективности гонадотропной стимуляции яичников у обследованных больных, могли быть сопутствующие гинекологические заболевания (хронический сальпингофорит, наружный генитальный эндометриоз), перенесенные оперативные вмешательства на органах репродуктивной системы.

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: IL-1ra, IL-7, IL-9, G-CSF и PDGF BB (таблица). Возможно, что увеличение содержания провоспалительных цитокинов оказывает негативное влияние на гранулезные клетки, комплекс ооцит-кумулус, качество ооцита и является одним из механизмов снижения эффективности циклов экстракорпорального оплодотворения. Это свидетельствует об уменьшении овариального резерва, ассоциированного с возрастом женщины, что сопровождается активацией апоптоза гранулезных клеток фолликула. Выявленное нами усиление экспрессии тромбоцитарного фактора роста в яичнике может быть обусловлено активацией синтеза провоспалительных цитокинов.

С увеличением возраста больных наблюдалось достоверное снижение толщины эндометрия во время переноса эмбрионов ($R_c = -0,33$; $p < 0,05$). Это может быть обусловлено как увеличением частоты переноса эмбрионов на 3-й день развития, так и возрастными морфофункциональными изменениями эндометрия. С увеличением возраста больных изменяется чувствительность эндометрия к хемокинам, что проявлялось в увеличении в нем экспрессии рецептора хемокинов CCR1 и снижении – рецептора CCR3 (см. таблицу).

С помощью корреляционного анализа определено, что количество растущих при гонадотропной стимуляции фолликулов имеет достоверную прямую корреляционную зависимость от содержания в фолликулярной жидкости цитокинов: 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 ($R_c = 0,27$; $p < 0,05$). Выявлено, что имеется прямая корреляционная зависимость между количеством ооцитов, полученных при пункции яичников, и содержанием в них цитокинов IL-10, IFN- γ , GM-CSF, MIP-1 β , RANTES и TNF- α . У больных с отрицательным результатом цикла ВРТ уровень IL-13 в фолликулярной жидкости яичников во время стимуляции в 2 раза выше такового у больных с наступившей после ВРТ беременностью.

С помощью корреляционного анализа была выявлена достоверная взаимосвязь между уровнями цитокинов в фолликулярной жидкости. Так, содержание IL-10 коррелировало с концентрацией IL-6 ($R_c = 0,76$; $p < 0,0001$), эотаксина ($R_c = 0,62$, $p < 0,0001$), MCP-1 ($R_c = 0,62$, $p < 0,0001$) и G-CSF ($R_c = 0,56$; $p < 0,0001$), а содержание IL-2 – с GM-CSF ($R_c = 0,59$; $p < 0,0001$) и IL-15 ($R_c = 0,78$; $p < 0,0001$), что может свидетельствовать о сходных клеточных источниках синтеза приведенных факторов в тканях яичника.

Полифункциональные цитокины IL-10, IL-4, IL-13 относятся к цитокинам, характерным для так называемого Th-2-иммунного ответа, доминирующего при нормальном течении беременности. IL-10 и IL-4 обладают выраженным противовоспалительным эффектом, регуляторными свойствами в отношении цитотоксических и хелперных Т-лимфоцитов, NK-клеток, В-лимфоцитов и дендритных клеток. IL-10 способен также ингибировать апоптоз клеток, индуцированный TNF- α или IFN- γ . IL-13 продуцируется преимущественно активированными Т-клетками и является мощным модулятором активности моноцитов и В-клеток, не оказывая, в отличие от IL-4, прямого биологического влияния на Т-клетки. Кроме этого, существуют данные о способности IL-13 оказывать ингибирующий эффект на продукцию других цитокинов, стимулирующих начало воспалительного процесса.

Возрастание продукции цитокинов, хемокинов и ростовых факторов в яичниках при их стимуляции, вероятно, обеспечивается высоким содержанием и активацией в них ИКК. Кроме этого, секреция цитокинов обеспечивается гранулезными клетками растущих фолликулов. TNF- α , IFN- γ , GM-CSF вовлечены в развитие и рост фолликула, сигнальное взаимодействие между ооцитом и окружающими его соматическими (гранулезными) клетками, баланс процессов пролиферации и апоптоза клеток фолликула, регулируют ангиогенез и синтез стероидных гормонов в яичнике. TNF- α и IFN- γ через активацию проапоптотических Вах-белков, протеинкиназы С или каспаз могут индуцировать апоптоз клеток фолликула. Синтезируемые в яичниках хемокины (RANTES, эотаксин, MIP-1 β), обладая хемоаттрактивным эффектом, привлекают в ткани яичника и активируют иммунокомпонент-

ные клетки (ИКК), которые, в свою очередь, секретируют цитокины, хемокины и факторы роста, обеспечивая избыточность цитокиновой регуляции фолликулогенеза.

Изученные в исследовании цитокины могут регулировать процесс ангиогенеза в яичнике. Так, TNF- α и GM-CSF непосредственно или посредством индукции VEGF (сосудисто-эндотелиальный фактор роста) принимают участие в миграции, пролиферации эндотелиальных клеток, формировании капиллярных трубок и базальной мембраны. При этом TNF- α , IL-10 могут оказывать и антиангиогенный эффект.

Итак, стимуляция яичников гонадотропинами сопровождается ростом фолликулов, рекрутированием и активацией ИКК с индукцией противовоспалительных (IL-4, IL-10, IL-13), провоспалительных цитокинов (IFN- γ ; GM-CSF; TNF- α) и хемокинов (MIP-1 β ; RANTES), что, вероятно, необходимо для поддержания баланса апоптоза и пролиферации клеток гранулезы, регуляции ангиогенеза и стероидогенеза в яичниках.

Выявлена достоверная отрицательная корреляционная зависимость между качеством оплодотворения, частотой дробления эмбрионов с содержанием в фолликулярной жидкости цитокинов GM-CSF, IFN- γ и RANTES и положительная – между количеством перенесенных эмбрионов и содержанием в фолликулярной жидкости IL-15.

Полученные данные свидетельствуют о том, что усиление секреции в яичнике провоспалительных цитокинов может быть одним из механизмов неблагоприятного влияния

стимуляции яичников гонадотропинами на ооцит. В настоящее время предполагается, что стимуляция яичников, ее режимы влияют на «качество» ооцита, потенции его к оплодотворению и темпы раннего развития эмбриона. Негативную роль могут играть высокие концентрации в крови эстрадиола, а также фармакологические препараты, используемые во время стимуляции яичников (гонадотропины, агонисты и антагонисты гонадотропин-рилизинг-гормона), а также возраст пациенток. Полученные результаты подтвердили имеющиеся фундаментальные представления о том, что взаимодействие между ооцитом и соматическими клетками яичника являются критическим для нормального течения оогенеза, оплодотворения и раннего развития эмбриона, особенно у пациенток старшего возраста.

ВЫВОДЫ

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что к информативным клинико-anamnestическим и гормональным факторам, определяющим исход цикла вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) 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. Показана роль возраста пациенток в оценке эффективности ВРТ.

Роль віку пацієнток в оцінюванні ефективності допоміжних репродуктивних технологій при поєднаних формах безпліддя М.М. Адамов

Результати проведених досліджень свідчать, що до інформативних клініко-анамнестичних і гормональних чинників, які визначають результат циклу допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) у хворих репродуктивного віку з поєднаними формами безпліддя, відносять: 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 цитокинів. Показана роль віку пацієнток в оцінці ефективності ДРТ.

Ключові слова: безпліддя, вік, допоміжні репродуктивні технології.

Role age of patients in an estimation of efficiency of auxiliary reproductive technologies at combined barrenness forms M.M. Adamov

Results of the spent researches testify that to informative clinical-anamnestical and to the hormonal factors defining an outcome of cycle ART at patients of reproductive age with combined forms of barrenness, carry: age of the patient; an index of weight of a body; presence tube-peritoneal barrenness factor; level of free testosterone in blood; the progesterone maintenance in blood for 20–22 day menstrual cycle, and also definition in a follicular liquid ovariums cytocines. By us the role of age of patients in an estimation of efficiency of auxiliary reproductive technologies is shown.

Key words: barrenness, age, auxiliary reproductive technologies.

Сведения об авторе

Адамов Михаил Маркович – Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика, 04112, г. Киев, ул. Дорогожицкая, 9. E-mail: madamov@mail.ru

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вовк І.Б. Корекція гормональних порушень при поєднаних формах неплідності / І.Б. Вовк, А.Г. Корнацька // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2011. – № 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. – 2005. – № 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. – 2010. – 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. – 2006. – № 1. – С. 39–45.
5. Корнацька А.Г. Місцевий гуморальний імунітет у жінок з поєднаними формами неплідності / А.Г. Корнацька // Лікар. справа. – 2008. – № 4. – С. 82–84.
6. Основы репродуктивной медицины: Практик. руководство / Под ред. В.К. Чайки. – Донецк: Альматео, 2011. – Р. 6: Бесплодие в браке. – С. 275–321.

Статья поступила в редакцию 17.07.2015