



ОЦІНКА ПОКАЗНИКІВ ЦИТОКІНОВОГО ПРОФІЛЮ В ЖІНОК ПІСЛЯ ДРТ ЗАЛЕЖНО ВІД МЕТОДУ ПРЕГРАВІДАРНОЇ ПІДГОТОВКИ ТА ПІД ЧАС ВАГІТНОСТІ, ЯКА УСКЛАДНИЛАСЬ ВІДШАРУВАННЯМ ХОРІОНА

Н.В. Литвин¹, Н.І. Генік¹, Т.Л. Шемелько²

¹Івано-Франківський національний медичний університет

²Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика

Резюме

Метою дослідження була оцінка показників цитокінового профілю в жінок під час вагітності, яка настала завдяки допоміжним репродуктивним технологіям, залежно від методу прегравідарної підготовки та клінічних проявів відшарування хоріона. Цитокіновий профіль із визначенням у плазмі крові IL-1 β , TNF- α , IL-4, TGF- β_1 проводився імуноферментним методом у 100 жінок із безпліддям, яке ліковане в рамках програми запліднення *in vitro*, та наявністю чинників ризику відшарування хоріона. Залежно від способу прекоцепційної підготовки та ведення вагітності жінок було розділено на дві клінічні групи: до першої клінічної групи (групи порівняння) увійшли 50 жінок, які отримали стандартну схему ведення вагітності до та після програми запліднення *in vitro*; до другої (основної групи) — 50 пацієнток, яким проводилась запропонована прегравідарна підготовка. До контрольної групи увійшли 30 жінок, вагітність яких настала в природному циклі, без порушення репродуктивної функції, без соматичної та гінекологічної патологій. У ранні терміни вагітності, ускладненої відшаруванням хоріона, спостерігаються найбільш виражені порушення продукції прозапальних цитокінів — гіперсекреція IL-1 β , TNF- α та відмічена тенденція до зниження концентрації протизапальних цитокінів IL-4 та TGF- β_1 , що можуть бути маркерами порушення процесів імплантації та плацентації.

Ключові слова

Безпліддя, невиношування вагітності, відшарування хоріона, допоміжні репродуктивні технології, цитокіни.

Сучасний стан репродуктивного здоров'я населення, зумовлений комплексом соціальних, економічних і медичних аспектів, характеризу-

© Н.В. Литвин, Н.І. Генік, Т.Л. Шемелько

ється зростанням частоти безпліддя в шлюбі (від 10-15 до 18-20% у різних країнах світу) [1, 2]. За даними вітчизняних авторів, кожна п'ята сімейна пара в Україні не може мати дітей [3].

Для подружніх пар, що зіткнулися з проблемою безпліддя, часто єдиною можливістю стати батьками є застосування допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) — методів терапії безпліддя [4]. Запліднення *in vitro* (ЗІВ) і ембріотрансфер (ЕТ) розглядаються як одні з найбільш перспективних методів ДРТ. Активне впровадження в клінічну практику програми ЗІВ робить актуальним підвищення її ефективності та безпеки для здоров'я матері та майбутньої дитини [5, 6].

Водночас результати численних досліджень вказують на обтяжений перебіг вагітності після застосування ЗІВ, що зумовлює проблему пошуку оптимальних підходів до тактики ведення і розродження, що забезпечують мінімізацію перинатальних втрат [7, 8]. За даними літератури, вагітність після ЗІВ порівняно з фізіологічною супроводжується високим ризиком невиношування (26-66%), а також формуванням плацентарної недостатності, тривалий і декомпенсований перебіг якої впливає на перинатальне благополуччя [9, 10].

Чільне місце в структурі невиношування вагітності в пацієнок після ЗІВ посідають імунологічні чинники. Долучення імунної системи до управління різними біологічними процесами зумовлює необхідність розгляду функціональної активності її компонентів у пацієнок із безпліддям. Значна частота невиношування вагітності після застосування ЗІВ знижує загальну ефективність лікування безпліддя [11].

У наш час інтенсивно досліджуються імунологічні механізми, що лежать в основі порушень репродуктивної функції [12]. Також приділяється значна увага імунним взаємовідносинам у системі «мати — плід». У науковій літературі обговорюються численні теорії імунологічної толерантності під час вагітності, що настала внаслідок ЗІВ [13].

Вважається, що імунологічні чинники можуть призводити до порушень репродуктивного процесу на усіх його стадіях: фолікулогенезу, овуляції, імплантації. Імунологічні порушення можуть бути долучені в етіологію і патогенез різних форм безпліддя, в тому числі нез'ясованого генезу. Результати фундаментальних досліджень дозволили встановити тісний зв'язок між взаємодією гіпоталамо-гіпофізарно-яєчникової та імунної систем у гормональній, овуляторній функції яєчників, морфофункціональних змінах ендометрія, заплідненні, ембріогенезі [14, 15].

Дослідження імунологів підтверджують важливу роль імунологічних порушень на рівні між-

клітинних зв'язків у генезі порушень гестаційного процесу. Йдеться про зміни цитокинового профілю, зокрема при невиношуванні [16]. Згідно із сучасними уявленнями, концепція імунного забезпечення вагітності зводиться до дисбалансу між Th1 та Th2 материнської імунної відповіді в бік пригнічення Th1 клітинної активності та збільшення Th2 клітинної реактивності. Нормальний баланс між Th1 та Th2 сприяє більш успішній інвазії трофобласта, а надлишкова продукція прозапальних цитокинів Th1 обмежує інвазію трофобласта та затримує розвиток плаценти, а отже, знижує продукцію гормонів та протеїнів вагітності. Також Th1-цитокіни посилюють протромбінову активність та запускають механізми коагуляції, спричиняючи тромбози та відшарування трофобласта [17, 18].

Поряд із тим, відомо, що серед інших медіаторів міжклітинної взаємодії особлива роль належить так званім ростовим факторам, серед яких на увагу заслуговує TGF- β — цитокин імуносупресивної дії. Фізіологічний рівень цього імуносупресивного цитокину, необхідний для нормального перебігу вагітності, забезпечується завдяки інтенсивному синтезу на рівні фетоплацентарного комплексу. TGF- β регулює процеси інвазії трофобласта, маючи імуносупресивні властивості, синтез прозапальних цитокинів, знижує їх продукцію в амніоні та клітинах децидуальної оболонки та пригнічує активовані лімфокинами NK-клітини [19], у зв'язку з чим є актуальним дослідження його впливу на вагітність.

Аналіз даних наукових джерел дозволяє стверджувати, що причини і патогенетичні механізми невиношування вагітності в I триместрі в жінок після ЗІВ остаточно не з'ясовані, що потребує їх поглибленого дослідження для вибору оптимальних методів терапії, розробки обґрунтованої профілактики і підвищення ефективності ДРТ у цілому.

Мета дослідження — оцінка показників цитокинового профілю в жінок під час вагітності, яка настала завдяки допоміжним репродуктивним технологіям, залежно від методу прегравідарної підготовки та клінічних проявів відшарування хоріона.

Матеріали та методи

Для розв'язання поставлених завдань нами було проведено поглиблене клінічне та лабораторно-інструментальне обстеження 100 жінок із безпліддям, яке ліковане в рамках програми



ЗІВ, та наявністю чинників ризику відшарування хоріона, встановлених ретроспективно, з вивченням 542 медичних карт стаціонарних хворих, що містили дані, які свідчили про наявність відшарування хоріона у вагітних. Дані ретроспективного аналізу засвідчили, що важливими чинниками розвитку ретрохоріальних гематом у жінок з індукованою вагітністю можуть слугувати: вік жінок старше від 30 років ($OR=4,43$; 95%, $CI(2,65-7,43)$); наявність трубно-перитонеального фактора безпліддя, поєданого з ендокринним дисбалансом, встановленим у даній категорії пацієнток ($OR=5,8$; 95%, $CI(3,90-8,63)$), який проявляється зростанням частки оперативних втручань на органах малого таза ($OR=7,27$; 95%, $CI(4,66-11,35)$) та внутрішньоматкових втручань ($OR=5,5$; 95%, $CI(3,47-8,72)$); синдром полікістозних яєчників ($OR=3,83$; 95%, $CI(2,35-6,24)$), обтяжений акушерський анамнез (невиношування вагітності в анамнезі) ($OR=3,77$; 95%, $CI(2,23-6,36)$), 3 і більше невдалих спроб ЗІВ ($OR=5,39$; 95%, $CI(3,37-8,64)$), метод програми допоміжних репродуктивних технологій ЗІВ з ембріотрансфером у стимульованому циклі ($OR=4,59$; 95%, $CI(3,14-6,69)$).

Жінок залежно від способу прекоцепційної підготовки та ведення вагітності було розділено на дві клінічні групи: до першої клінічної групи (групи порівняння) увійшли 50 жінок, які отримали стандартну схему ведення вагітності до та після ЗІВ; до другої (основної групи) — 50 пацієнток, яким проводилась запропонована прегравідарна підготовка, яка включала призначення полівітамінного препарату з лікувальним вмістом фолієвої кислоти, амінокислоти L-аргініну аспартату, гепато-кардіопротекторного препарату з імуномодулюючими властивостями, омега-3-жирних кислот, гормональну підтримку з використанням дідрогестерону та антиагрегантного препарату ацетилсаліцилової кислоти. Підхід до оптимізації прегравідарної підготовки з використанням даного комплексу базувався на таких позитивних фармацевтичних ефектах вказаних препаратів. Амінокислота L-аргініну аспартату справляє антигіпоксичну, цитопротекторну, антиоксидантну, дезінтоксикаційну та мембраностабілізуючу дію. Гепато-кардіопротекторний препарат тіотриазолін — протиішемічну, антиоксидантну, мембраностабілізуючу та імуномодулюючу дію. Омега-3-жирні кислоти мають гіполіпі-

демічні властивості, а також помірну антикоагулянтну, антиагрегантну, протизапальну та імуномодулюючу дію. Для дідрогестерону, крім гормонорегулюючого впливу, характерним є імуномодулюючий ефект. Ацетилсаліцилова кислота використовувалась з метою покращення реологічних властивостей крові.

На етапі позитивного результату ДРТ комплекс медикаментозних середників містив полівітамінний препарат із підвищеним вмістом фолієвої кислоти, омега-3-жирні кислоти та гормональну підтримку дідрогестероном до 12 тижнів вагітності, ацетилсаліцилова кислота призначалась із 12 до 36 тижнів гестації. До контрольної групи увійшли 30 жінок, вагітність яких настала в природному циклі, без порушення репродуктивної функції, без соматичної та гінекологічної патології.

Цитокіновий профіль із визначенням у плазмі крові IL-1 β , TNF- α , IL-4, TGF- β_1 проводився імуноферментним методом із використанням наборів реагентів «Вектор Бест» (Росія) та RayBio® (США) на аналізаторі Immulite 2000 (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., США). Дані дослідження виконано на час прегравідарної підготовки та на момент надходження в клініку для включення в програму ДРТ, після позитивного результату ЗІВ — настання вагітності — обстеження проводились на 5-8-й та 11-13-й тижні гестації.

Усі види статистичної обробки виконано за допомогою стандартного пакета Statistica for Windows 6.0. Вірогідність отриманих результатів визначали за допомогою критерія Стьюдента.

Результати та їх обговорення

Середній вік жінок в основній групі становив $30,9 \pm 4,7$ року та групі порівняння — $31,5 \pm 5,0$ року, в контрольній групі — $24,3 \pm 4,1$ року. У 58% пацієнток основної групи та 56% групи порівняння спостерігалось поєднання трубно-перитонеального фактора безпліддя з ендокринним фактором. Також встановлено значний відсоток ендокринної дисфункції в основній досліджуваній групі — у 26,0% жінок, у групі порівняння — в 30,0%. Причому найчастішою патологією ендокринної дисфункції серед обстежених був синдром полікістозних яєчників — 21,0% випадків. Оперативні втручання з приводу гінекологічної патології перенесли 72% пацієнток досліджуваних груп. Аналізуючи результативність

програм ЗІВ, встановлено, що невдалі спроби в основній групі спостерігались у 10% випадків, у групі порівняння — у 20%, біохімічну вагітність діагностовано в 6 та 4% в основній групі та групі порівняння відповідно. Клінічну вагітність діагностовано в 42 (84%) пацієнток основної групи та 38 (76%) жінок групи порівняння.

Під час визначення сироваткового рівня цитокінів найбільшу частку відхилень виявлено саме в ранні терміни вагітності в тих пацієнток, де перший триместр ускладнився розвитком ретрохоріальних гематом.

Як засвідчили наші дослідження, вже на преконцепційному етапі в основній групі та групі порівняння показники прозапальних цитокінів переважали в 3 та 5 разів відповідно показники групи контролю ($p < 0,05$). Слід відмітити, що в групі порівняння спостерігалась тенденція до зростання в периферичній крові концентрації IL-1 β (до $17,53 \pm 1,86$ пг/мл) ($p < 0,05$) у 1,7 раза, TNF- α (до $21,10 \pm 2,14$ пг/мл) — у 1,5 раза та зниження в 1,2 раза вмісту IL-4 ($33,17 \pm 0,86$ пг/мл) відносно даних основної групи, хоча вірогідної різниці результатів між досліджуваними групами щодо даного показника не виявлено. Дані наведено в табл. 1.

Отже, слід звернути увагу на той факт, що в жінок із групи ризику при виникненні відшарування хоріона мало місце значуще підвищення рівня IL-1 β , TNF- α та депресія IL-4, для якого характерна імуносупресивна активність, що в подальшому забезпечує імплантацію ембріона. Отримані результати вказують на додаткову активацію Th1 і відносну вибіркочову супресію Th2 типу імунної відповіді в даній категорії пацієнток ще на догестаційному етапі.

За даними літературних джерел, IL-1 β належить до так званих «ранніх» цитокінів,

що синтезуються безпосередньо після впливу екзогенного та ендогенного стимулу. Для IL-1 β характерною є пірогенна властивість та активність, індукція синтезу білків гострої фази, посилення експресії молекул клітинної адгезії на ендотелій судин, активація Т- та В-, а також цитотоксичних популяцій лімфоцитів, системи комплементу та основних ростків гемопоезу, стимуляція синтезу імуноглобулінів та проліферація фібробластів, індукція циклооксигенази і продукція метаболітів арахідонової кислоти [16].

Дослідженнями інших авторів також встановлені ознаки системної запальної реакції в першому триместрі вагітності, що перебігала з формуванням таких ускладнень, як гестоз, плацентарна дисфункція (ПД), затримка росту плода тощо [5]. Зокрема, формування ПД пов'язують із підвищенням активності Th1-лімфоцитів та натуральних кілерів, що зумовлює пошкодження плацентарної та ембріональної тканини продуктами активації цих клітин (IL-1 β , TNF- α) та неповноцінності Th2-відповіді, яка ослаблена та пригнічує несприятливі клітинно-опосередковані реакції материнського організму відносно плода [14]. Слід відмітити, що ризик розвитку ПД підвищується, якщо гіперпродукція вищеперерахованих цитокінів, що мають фетодеструктивні властивості, супроводжується посиленням синтезом прозапальних медіаторів, що продукуються клітинами вродженого імунітету (IL-1 β , TNF- α). Саме тому інтерлейкіни IL-1 β , TNF- α отримали визначення «абортотогенних» цитокінів, оскільки численними дослідженнями доведена їх роль у перериванні вагітності [18].

Отримані нами результати частково узгоджуються з даними інших авторів відносно змін цитокінового профілю сироватки крові при реалізованих патологічних станах. Так, О.В. Макаров та співавт. повідомляють про зростання вмісту IL-1 β , TNF- α та IL-10, що супроводжується зниженням концентрації IL-4 при діагностованій ПД, що асоціюється переважно з умовно-патогенною мікрофлорою уrogenітального тракту (*M. hominis* та *U. urealyticum*) та ендотоксинемією [20].

Відсутність моделюючої перебудови імунної системи материнського організму та порушення цитокінового балансу з переважанням Th1 є причиною різних ускладнень гестаційного процесу та ранніх втрат вагітності. Продемонстровано підвищення вмісту прозапальних

Таблиця 1

Рівень сироваткових цитокінів у жінок обстежуваних груп у догестаційний період ($M \pm m$, пг/мл)

Показники	Досліджувані групи		
	Основна група (n=50)	Група порівняння (n=50)	Контрольна група (n=30)
Інтерлейкін-1 β	10,30 \pm 0,88*	17,53 \pm 1,86* $^{\circ}$	3,19 \pm 0,78
TNF- α	13,96 \pm 1,02*	21,10 \pm 2,14* $^{\circ}$	4,95 \pm 0,86
Інтерлейкін-4	3,78 \pm 0,69	3,17 \pm 0,86	3,97 \pm 0,54

Примітки: *різниця статистично значуща відносно показників контрольної групи ($p < 0,05$); $^{\circ}$ різниця статистично значуща відносно показників основної групи ($p < 0,05$).



цитокинів TNF- α , IL-1 β у сироватці крові при загрозі переривання вагітності. Надлишковий синтез IL-1 β та TNF- α зумовлює зрушення в системі гемостазу, активуючи згортання крові, що постачає ембріон. Високі рівні TNF- α та IL-1 β порушують процеси нормальної інвазії ворсин трофобласта в стінку матки, що сприяє відшаруванню хоріона та перериванню вагітності в I триместрі. Активація імунотетентних клітин ендометрія та переключення на Th1-залежний тип імунної відповіді в ранні терміни вагітності призводить до порушення гестаційної перебудови спіральних артерій та неповної заміни їх м'язового шару фібриноідом. Це сприяє збереженню здатності спіральних артерій відповідати вазоконстрикцією на судинозвужувальні стимули, що зумовлює локальну ішемію хоріона та є пусковим моментом у розвитку ендотеліальної дисфункції в плацентарному комплексі та порушення його функції [13].

Відшарування хоріона та ретрохоріальні гематоми діагностовано в основній групі в 7 (16,7%) жінок, що у 2,4 раза менше, ніж у групі порівняння — 15 (39,5%) жінок. Аналізуючи перебіг вагітності в жінок основної групи з відшаруванням хоріона, слід відмітити прогресування вагітності в 71,4% випадків, причому в групі порівняння в жінок із ретрохоріальними гематомами вагітність прогресувала тільки в 3 (20,0%) жінок ($p < 0,05$). Мимовільне переривання вагітності в першій половині вагітності серед пацієнток основної групи відбулося тільки в 5 (11,9%) випадках, причому в групі порівняння цей показник становив 34,2% ($p < 0,05$).

У першій половині вагітності нами проведено динамічний моніторинг за показниками прозапальних цитокинів (IL-1 β , TNF- α) та протизапального IL-4. Дані наведено в табл. 2.

Аналізуючи отримані дані слід відмітити, що середні показники IL-1 β в основній групі становили $11,44 \pm 1,29$ пг/мл проти $28,09 \pm 3,84$ пг/мл групи порівняння, що в 2,5 рази перевищують такі показники основної групи. У 68,2% випадків середнє значення IL-1 β у жінок із вагітністю, що ускладнилась відшаруванням хоріона, становило $34,11 \pm 4,0$ пг/мл.

Так, вміст IL-1 β у групі з ретрохоріальними гематомами був статистично значуще вищим у 3,1 раза ($p < 0,05$), ніж у групі без епізодів кров'янистих виділень, що, очевидно, є переконливим свідченням активації системи вро-

Таблиця 2

Рівень сироваткових цитокинів у жінок обстежуваних груп у першому триместрі гестації (M \pm m, пг/мл)

Показники	Досліджувані групи		
	Основна група (n=42)	Група порівняння (n=38)	Контрольна група (n=30)
5-8 тижнів вагітності			
Інтерлейкін-1 β	$11,44 \pm 1,29^*$	$28,09 \pm 3,84^{*o}$	$4,91 \pm 0,14$
TNF- α	$15,71 \pm 1,80^*$	$34,28 \pm 4,83^{*o}$	$6,79 \pm 0,15$
Інтерлейкін-4	$3,70 \pm 0,97$	$3,06 \pm 1,36^*$	$6,53 \pm 1,55$
Показники	Основна група (n=37)	Група порівняння (n=26)	Контрольна група (n=30)
	11-13 тижнів вагітності		
Інтерлейкін-1 β	$10,03 \pm 1,16^*$	$25,14 \pm 5,14^{*o}$	$5,76 \pm 0,13$
TNF- α	$13,36 \pm 1,43^*$	$29,09 \pm 5,57^{*o}$	$7,57 \pm 0,20$
Інтерлейкін-4	$4,51 \pm 1,14$	$3,77 \pm 1,79^*$	$7,26 \pm 1,57$

Примітки: *різниця статистично значуща відносно контрольної групи ($p < 0,05$); ^o різниця статистично значуща відносно основної групи ($p < 0,05$).

дженого імунітету та прозапальної спрямованості імунної регуляції.

Вказані зміни вмісту IL-1 β у жінок, вагітність яких перервалася у I триместрі, порівняно з аналогічними показниками при пролонгованій вагітності свідчать про порушення механізмів імунологічної та ендокринної регуляції, оскільки описано стимулюючий вплив IL-1 β на продукцію простагландину E₂ та β -ХГЛ, що супроводжувалося в групі пацієнток із ретрохоріальними гематомами дефіцитом β -ХГЛ (у 21,4% спостережень) та підтверджується зворотним кореляційним зв'язком ($r = -0,55$, $p < 0,05$).

Як відомо, ембріон, завершуючи інвазію, секретує власний IL-1 β і, можливо, низку інших цитокинів, індукує рецептори до IL-1 β в оточуючій стромі, що і забезпечує процес імплантації [21]. Таким чином, значуще високий рівень IL-1 β може бути маркером порушення процесів імплантації та плацентації, а також слугувати критерієм передчасного відшарування хоріона та формування ретрохоріальних гематом.

Нами виявлено також збільшення концентрації й інших прозапальних цитокинів, таких як TNF- α . В основній групі жінок, вагітність яких ускладнилась відшаруванням хоріона, спостерігалось підвищення показників у 4,2 раза ($p < 0,05$) відносно групи контролю; в жінок з індукованою вагітністю, яка перебігала без явищ загрози, показники TNF- α перевищували показники групи контролю

в 1,5 раза, що свідчить про виражену напруженість імунної системи в жінок із безпліддям, яке ліковане за допомогою ЗІВ. Аналізуючи результати групи порівняння, слід зауважити, що в даній категорії жінок, в яких діагностовано ретрохоріальні гематоми, рівні TNF- α перевищували показники групи контролю у 8 разів та в 5 разів показники основної групи ($p < 0,05$), у пацієток без кровомазання — у 2,2 раза відносно групи контролю ($p < 0,05$). Середні значення показників TNF- α у вагітних з ускладненим перебігом гестаційного періоду основної групи та групи порівняння становили $28,44 \pm 3,84$ пг/мл та $53,96 \pm 6,89$ пг/мл відповідно. Таким чином, предиктором переривання індукованої вагітності в ранні терміни є високий вміст TNF- α ($p < 0,05$). Слід зауважити, що простежується сильний кореляційний зв'язок між рівнями IL-1 β та TNF- α ($r = 0,98$, $p < 0,05$).

Провівши порівняльний аналіз результатів рівнів прозапальних цитокінів між жінками, в яких проводилась індуція суперовуляції з переносом ембріонів у «свіжому» циклі, та тими, в яких був застосований кріопротокोल, встановлено їх вірогідне підвищення в термінах гестації 5-8 тижнів ($p < 0,05$). У кріопротоколі, в якому гормональне навантаження є меншим, відмічались нижчі рівні цитокінів, які у 12 (44,4%) наближались до показників групи контролю. Виявлено негативний кореляційний зв'язок між рівнями прозапальних цитокінів та рівнем прогестерону ($r = -0,67$, $p < 0,05$), сильний позитивний зв'язок встановлено між протизапальним IL-4 та рівнем прогестерону ($r = 0,75$, $p < 0,05$), що свідчить про імуносупресивні властивості прогестерону в збереженні вагітності.

Окрім того, в ранні терміни вагітності, які ускладнились ретрохоріальною гематомою та мимовільним викиднем, спостерігалася тенденція до зниження рівня IL-4 у 3,3 раза ($p < 0,05$). В основній групі та групі порівняння середні значення показників IL-4 становили $1,77 \pm 0,24$ пг/мл та $1,22 \pm 0,19$ пг/мл відповідно.

Відповідно до отриманих даних, формування імплантаційної нездатності ендометрія асоціювалося з різноспрямованими змінами — гіперсекрецією та стабільно високим вмістом у сироватці крові протягом усього періоду спостереження рівня як прозапальних IL-1 β та TNF- α , так і тенденцією до зниження концентрації протизапального IL-4 у ранні терміни гестації.

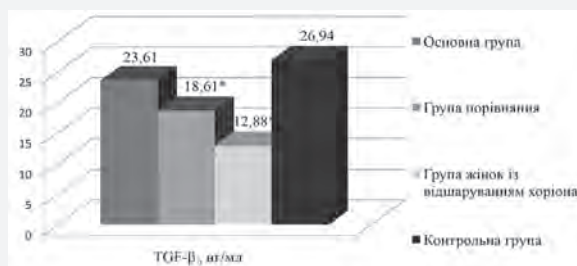
У нормі трофобласт та фетоплацентарні макрофаги синтезують TNF- α та IL-1 β , що впли-

вають на функціональну активність ендотелію, також їх продукція у ворсинчастому трофобласті збільшується при гіпоксії. Можна припустити, що збільшення продукції TNF- α призводить до зміни функції ендотелію, збільшення продукції ендотеліну-1 та зменшення синтезу оксиду азоту в даній категорії пацієток, що і підтверджується в нашому дослідженні: встановлено сильний позитивний кореляційний зв'язок TNF- α з ендотеліном-1 ($r = 0,89$, $p < 0,05$) та від'ємний із рівнем оксиду азоту ($r = -0,77$, $p < 0,05$).

Таким чином, високі рівні IL-1 β та TNF- α можуть бути маркером порушення процесів імплантації та плацентарної, а зниження рівня IL-4 є прогностично несприятливими чинником. Тоді як у жінок з успішною спробою ЗІВ та переносом ембріона підвищений рівень IL-4 супроводжується високим показником результативності програми ЗІВ та подальшим сприятливим перебігом гестаційного періоду.

У зв'язку з тим, що ендотелій бере безпосередню участь у підтримці судинного гомеостазу, а також процесах васкуляризації при становленні фетоплацентарного кровообігу, дисфункція ендотелію може зумовлювати неповноцінність ангиогенезу, що робить суттєвий внесок у порушення продукції факторів росту на етапі плацентарної в пацієток із безпліддям, включених у програму ЗІВ, а також не забезпечує адекватної відповіді на вироблення ангиогенних факторів іншими джерелами, насамперед трофобластом. Як демонструють наукові дослідження, реалізація патологічних станів під час вагітності може сприяти порушенню процесів інвазії трофобласта та плацентарної, пов'язаної з дисбалансом продукції регуляторів ангиогенезу — стимуляторів та інгібіторів васкуляризації [21].

У літературі відсутні дані, що доводять долученість TGF- β_1 у патогенез ретрохоріальних гематом та ранніх викиднів, що їх супроводжують, тоді як дефіцит даного фактора асоціюється з формуванням перинатальної патології, що клінічно маніфестує в другій половині вагітності. Рівень TGF- β_1 розглядається як ранній прогностичний маркер, що характеризує початкові ознаки порушення у функціонуванні системи «мати — плацента — плід», які виникають на доклінічному етапі ускладнень [14]. Очевидно, ізольовані зміни синтезу TGF- β_1 не приводять до реалізації механізмів відторгнення, проте знижена продукція трансформуючого фактора росту є маркером неповноцінної інвазії цитрофобласта та плацентарної дисфункції в жінок, вагітність яких перервалася на ранніх термінах.

**Рисунок**Рівень TGF- β_1 у першому триместрі вагітності, нг/мл

Примітка: * — різниця статистично значуща відносно контрольної групи ($p < 0,05$).

Дизайн нашого дослідження передбачав вивчення та оцінку рівня трансформуючого фактора росту β_1 у взаємозв'язку з патологічними перинатальними наслідками вагітності, зокрема утворення ретрохоріальних гематом, та подальшим розвитком плацентарної дисфункції.

Під час аналізу продукції TGF- β_1 залежно від наслідків вагітності встановлено, що в групі жінок, у яких вагітність перервалася, має місце зниження у 2,5 рази рівня даного цитокіну, що може бути додатковим чинником, який сприяє розвитку мікроциркуляторних та гемодинамічних порушень та робить власний внесок у збільшення коагуляційного потенціалу, зумовлюючи в тому числі й порушення процесів плацентажії. Дані наведено на рисунку.

Під час фізіологічної вагітності середній показник TGF- β_1 у 5-8 тижнів гестації становив $26,94 \pm 0,55$ нг/мл, тоді як у жінок групи порівняння його показники зменшились практично в 1,5 рази порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$) та становили $18,61 \pm 0,51$ нг/мл. Аналізуючи отримані результати рівнів TGF- β_1 , встановлено, що в жінок із ретрохоріальними гематомами та ранніми репродуктивними втратами він становив $10,64 \pm 0,51$ нг/мл, у 36,4% жінок із відшаруванням хоріона, в яких вагітність прогресувала, рівень TGF- β_1 — $18,29 \pm 0,9$ нг/мл.

У групі жінок, які отримували запропонований алгоритм підготовки до програми ЗІВ, рівень TGF- β_1 наближався до показників групи контролю.

Проведені дослідження продемонстрували, що в ранні терміни вагітності, ускладненої відшаруванням хоріона, спостерігаються найбільш виражені порушення продукції TGF- β_1 , який є основним носієм мітогенного сигналу клітин та має здатність стимулювати ріст тканин, у тому числі судинного русла. Зміна продукції даного фактора, що здійснює вплив насамперед на ріст та розвиток плаценти, призводить до морфоло-

гічних та функціональних змін із порушенням трофічної, ендокринної та метаболічної функцій даного органа [21].

Таким чином, рівень циркулюючого в крові імуносупресорного цитокіну TGF- β_1 є важливим маркером імунологічного гомеостазу в материнському організмі, завдяки якому забезпечується адекватне функціонування складної біологічної системи «мати — плацента — плід». Тому зниження його рівня з ранніх термінів вагітності може проявлятися порушенням інвазії трофобласта, що може сприяти передчасному відшаруванню хоріона, розвитку первинної плацентарної недостатності та в подальшому призводити до прогресування гестаційних ускладнень, таких як загроза переривання вагітності, дистрес плода, затримка внутрішньоутробного росту плода, а також більш тяжких проявів прееклампсії.

Виходячи з отриманих даних, слід зробити такі висновки: зміна балансу прозапальних цитокінів здатна індукувати структурні та функціональні зміни в ендотеліальних клітинах. Окрім того, посилена продукція прозапальних цитокінів на тлі недостатньої експресії протизапальних IL-4 та TGF- β , що мають імуносупресивний ефект, може призводити до неадекватної запальної відповіді з боку материнського організму і, як наслідок, до порушення інвазивної здатності трофобласта.

Висновки

Отримані дані дозволяють стверджувати, що в пацієток із безпліддям, лікованим за допомогою ДРТ, та ретрохоріальними гематомами в першому триместрі вагітності спостерігається зростання рівня прозапальних цитокінів — IL-1 β , TNF- α з одночасним зниженням рівня протизапальних IL-4 та TGF- β . Це свідчить, що в такій групі вагітних виникає дисбаланс не тільки в метаболічному та гормональному гомеостазі, але й імунорегуляторній ланці імплантацийних механізмів, причому у вагітних з ознаками ретрохоріальної гематоми дані показники зростають ще більш виражено.

Таким чином, отримані нами результати демонструють значущі порушення імунних реакцій, зумовлені дисбалансом продукції цитокінів, що в майбутньому може ініціювати реалізацію механізмів невиношування, вимагає розширення меж наукового пошуку та є перспективним напрямком подальших досліджень.

Надійшла до редакції 09.12.2017 р.

Список використаної літератури

1. Inhorn M.C., Patrizio P. Infertility around the globe: new thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century // Hum. Reprod. Update. — 2015. — Jul-Aug. — Vol. 21 (4). — P. 411-26.
2. Petraglia F., Serour G.I., Chapron C. The changing prevalence of infertility // Int. J. Gynaecol. Obstet. — 2013. — Vol. 123 (Suppl. 2). — P. S4-8.
3. Гайдай І. Народжуваність в Україні: сучасні тенденції та регіональні аспекти // Глав. врач. — 2011. — № 7. — С. 53-59.
4. Юзько О.М., Юзько Т.А., Руденко Н.Г. Стан і перспективи розвитку допоміжних репродуктивних технологій лікування безпліддя в Україні // Жіночий лікар. — 2015. — № 5 (85). — С. 17-20.
5. Говоруха І.Т. Перебіг та завершення вагітності у жінок після застосування допоміжних репродуктивних технологій // Неонатологія, хірургія та перинат. медицина. — 2012. — № 2 (4). — С. 111-115.
6. Неверова Е.Н., Николаева Е.В. Экстракорпоральное оплодотворение — эффективный метод лечения бесплодия // Оренбур. мед. вестн. — 2015. — № 3 (1). — С. 23-25.
7. Авраменко Н.В. Вспомогательные репродуктивные технологии // Запорож. мед. журн. — 2014. — № 3. — С. 95-100.
8. Дахно Ф.В., Камінський В.В. Допоміжні репродуктивні технології лікування безпліддя: навч. посіб. — К., 2011. — 320 с.
9. Жук С.И. Проблемы невынашивания беременности после экстракорпорального оплодотворения // Здоровье женщины. — 2006. — № 2. — С. 40-43.
10. Калинина Е.А. Осложнения вспомогательных репродуктивных технологий / А.Н. Абубакиров, Л.В. Адамян, О.В. Азиев и др. Гинекология: Нац. руководство. 2-е изд., перераб. и доп. — М.: ГЭОТАР-Медиа. — С. 603-607.
11. Alecsandru D., Garc a-Velasco J.A. Immunology and human reproduction // Curr. Opin. Obstet. Gynecol. — 2015, Jun. — Vol. 27 (3). — P. 231-234.
12. Вдовиченко Ю.П., Адамов М.М. Роль иммунологических факторов в повышении эффективности вспомогательных репродуктивных технологий при сочетанных формах бесплодия // Здоровье женщины. — 2013. — № 7. — С. 168-170.
13. Кожекина Ю.Н., Ковалёв В.В. Современные представления об иммунологических основах невынашивания в программах вспомогательных репродуктивных технологий (обзор литературы) // Урал. мед. журн. — 2012. — № 11. — С. 1-14.
14. Сегедій Л.І. Імунологічне забезпечення фізіологічного перебігу вагітності та імунопатогенетичні аспекти репродуктивних втрат (огляд літератури) // Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. — 2016. — № 1. — С. 123-128.
15. Matthiesen L., Kalkunte S., Sharma S. Multiple pregnancy failures: an immunological paradigm // Am. J. Reprod. Immunol. — 2012, Apr. — Vol. 67 (4). — P. 334-340.
16. Нефедова Д.Д., Линде В.А., Левкович М.А. Иммунологические аспекты беременности (обзор литературы) // Мед. вестн. Юга России. — 2013. — № 4. — С. 16-21.
17. Сидельникова В.М. Подготовка и ведение беременности у женщин с привычным невынашиванием: метод. пособ. и клин. протоколы. 3-е изд. — М.: МЕДпресс-информ, 2013. — 219 с.
18. Bara ao R.I. Immunology of pregnancy // Invest. Clin. — 2011, Jun. — № 52 (2). — С. 175-194.
19. Андреева Е.С., Степанькова Е.А. Особенности течения беременности и состояние плода у пациенток с угрозой прерывания в I триместре, осложнившейся отслойкой хориона // Вестн. Смол. гос. мед. акад. — 2010. — № 4. — С. 11-13.
20. Макаров О.В., Бахарева И.В., Ганковская Л.В., Романовская В.В. Молекулярные механизмы инфекционного невынашивания беременности // Рос. мед. журнал. — 2009. — № 2. — С. 24-28.
21. Шарфи Ю.Н. Цитокины и факторы роста как маркеры имплантационной способности эндометрия в циклах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) // Журн. акушерства и жен. болезней. — 2013. — № 4. — С. 88-96.

Evaluation of the cytokine profile of women after ART, depending on the method of preconception preparation and during pregnancy, complicated by chorion detachment

N.V. Lytvyn, N.I. Henyk, T.L. Shemelko

Abstract

The aim of the study was to evaluate indicators of the cytokine profile in women with pregnancy, which is due to assisted reproductive technologies, depending on the method of preconception preparation and the clinical manifestations of chorion detachment during pregnancy. The cytokine profile with the determination of IL-1 β , TNF- α , IL-4, TGF- β 1 in the blood plasma was performed by an enzyme-linked immunosorbent method in 100 infertile women treated with the *in vitro* fertilization program and the presence of chorionic detachment risk factors. Depending on the method of preconceptional preparation and the management of pregnancy, women were divided into two clinical groups: the first clinical group (comparison group) included 50 women who received a standard pregnancy management scheme before and after the *in vitro* fertilization program; the second clinical group (main group) included 50 patients who were offered the pre-gravida preparation. The control group included 30 women, whose pregnancy occurred in the natural cycle, without violation of the reproductive function, without somatic and gynecological pathologies. In the early terms of pregnancy complicated by chorion detachment, the most marked violations of the pro-inflammatory cytokines were observed — the hyper-secretion of IL-1 β , TNF- α , and there was a tendency towards a decrease of the concentration of anti-inflammatory IL-4 and TGF- β 1 cytokines that may be the markers of impaired processes of implantation and placentation.

Keywords: infertility, miscarriage, chorion detachment, auxiliary reproductive technologies, cytokines.