

РОЛЬ ЗАПАЛЕННЯ У ПАТОЛОГІЇ ЯЄЧНИКІВ, ЯК ПРЕДИКТОР РОЗВИТКУ БЕЗПЛІДДЯ, ТА КОРЕКЦІЯ ЙОГО ПРЕПАРАТАМИ ІНОЗИТОЛУ

Н. Ю. Терлецька, О. В. Денефіль, С. В. Хміль, С. Б. Крамар

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, м. Тернопіль, Україна

Ключові слова: запалення, інтерлейкіни, кров, морфологічні зміни, яєчники, вік, гіподинамічний стрес, безпліддя, оваріальний резерв, старший репродуктивний вік, репродуктивне здоров'я, репродуктивний вік, допоміжні репродуктивні технології, антимюллерів гормон (АМГ), інозитол, FT500plus.

Буковинський медичний вісник. 2023. Т. 27, № 3 (107). С. 57-64.

DOI: 10.24061/2413-0737.27.3.107.2023.10

E-mail:

terletska_ny@tdmu.edu.ua
denefil@tdmu.edu.ua
hnil@tdmu.edu.ua
kramarsb@tdmu.edu.ua

Резюме. Актуальність дослідження. Запалення яєчників може мати важливе значення у патології жіночого репродуктивного здоров'я і бути предиктором розвитку безпліддя.

Мета дослідження – оцінити роль про- та протизапальних цитокінів у розвитку запалення яєчників у щурів-самиць і провести корекцію препаратами інозитолу (Ін); провести ретроспективний аналіз безпліддя і його зв'язок із вмістом гормонів.

Матеріал і методи. Досліди виконано на 108 білих щурах - самицях лінії Вістар, яких розподілено на 3 серії: 1-ша – контроль, 3,5-4-місячні щури, 2-га – щури 7,5-8 місяців (Вік), 3-тя – гіподинамічний стрес (Стрес). У кожній серії було по три групи тварин: А – контроль, Б – інозитол (Ін), В – FT500plus (FT). Ін і FT вводили інтрагастрально протягом 15 днів з розрахунку 400 мг/кг інозитолу. У сировці крові тварин визначали концентрацію інтерлейкінів (ІЛ) Іβ, 2, 4 і 10. Провели морфологічне дослідження яєчників. Ретроспективно проаналізовано 137 амбулаторних карт пацієнток із безпліддям на тлі зниженого оваріального резерву.

Результати дослідження. У 1-й серії тварин, котрим вводили препарати інозитолу, відзначено гіперемію яєчників. У 1-й серії тварин уведення Ін спричинило зростання вмісту ІЛ-2, а препарат FT призвів до зменшення ІЛ-1. І вік, і стрес спричинили зростання ІЛ-Іβ, і тільки після гіподинамічного стресу відзначено збільшення ІЛ-10. При порівнянні груп 1-ї серії доведено, що використання FT з профілактичною метою мало більший ефект на організм, ніж Ін. При порівнянні результатів груп 2-ї серії виявлено, що Ін і FT позитивно впливали на щурів, викликаючи зменшення прозапальних цитокінів і запалення. При аналізі груп 3-ї серії виявлено, що при тривалому гіподинамічному стресі як Ін, так і FT позитивно впливали на зменшення запальної відповіді у щурів.

Висновки. Морфологічно встановлено, що застосування препаратів інозитолу (з розрахунку 400 мг/кг) має позитивний вплив на морфофункціональний стан яєчників щурів усіх груп. Інтрагастральне введення FT500plus має більш виражений ефект на ріст та дозрівання фолікулів кіркової речовини яєчників порівняно з інозитолом.

THE ROLE OF INFLAMMATION IN OVARIAN PATHOLOGY AS A PREDICTOR OF THE DEVELOPMENT OF STERILITY AND ITS CORRECTION BY INOSITOL MEDICATIONS

N.Yu. Terletska, O.V. Denefil, S.V. Khmil, S.B. Kramar

Key words: inflammation, interleukins, blood, morphological changes, ovaries, age, hypodynamic stress, infertility, ovarian reserve, older reproductive age, reproductive health, reproductive age, assisted reproductive technologies, anti-Mullerian hormone (AMG), inositol, FT500plus.

Bukovinian Medical Herald.

Resume. Relevance of the research. Ovarian inflammation may be important in the pathology of female reproductive health and may be a predictor of infertility.

The purpose of the work. To assess the role of pro- and anti-inflammatory cytokines in the development of inflammation in the ovaries of female rats and to carry out correction with inositol preparations (In); to conduct a retrospective analysis of infertility and its relationship with hormone content.

Material and Methods. Experiments were performed on 108 white female Wistar rats, which were divided into 3 series: 1 – control, 3.5-4-month-old rats, 2 – 7.5-8-month-old rats (Age), 3 – hypodynamic stress (Stress). There were 3 groups of animals in each series: A – control, B – inositol (In), B – FT500plus (FT). In and FT were administered intragastrically for 15 days at the rate of 400 mg/kg inositol. The concentration of interleukins (IL) Ibeta, 2, 4 and 10 was determined in the blood serum of the animals. A morphological study of the ovaries was carried out. We

Оригінальні дослідження

2023. V. 27, № 3 (107). P. 57-64.

retrospectively analyzed 137 outpatient records of patients with infertility in the setting of reduced ovarian reserve.

Results. *Hyperemia of the ovaries was noted in 1 series of animals administered inositol medications. In 1 series of animals, the introduction of In caused an increase in the content of IL-2, and the drug FT led to a decrease in IL-1. Both Age and Stress caused an increase in IL-1beta, and only after hypodynamic stress an increase in IL-10 was noted. When comparing the groups of the 1st series, it was proven that the use of FT for preventive purposes had a greater effect on the body than In. When comparing the results of the 2 series groups, it was found that In and FT had a positive effect on the rats, causing a decrease in pro-inflammatory cytokines and inflammation. When analyzing the groups of 3 series, it was found that with prolonged hypodynamic stress, both In and FT had a positive effect on reducing the inflammatory response in rats.*

Conclusion. *Morphologically, it was established that the use of inositol medications (at the rate of 400 mg/kg) has a positive effect on the morphofunctional state of the ovaries of rats, of rats of all groups. Intra-gastric administration of FT500plus has a more pronounced effect on the growth and maturation of ovarian cortical follicles compared to inositol.*

Вступ. Проблема лікування безпліддя є актуальною, незважаючи на істотні успіхи репродуктивної медицини [1, 2, 3]. Одною з основних причин розвитку порушень репродуктивної функції серед жінок є вік [4, 5]. Жінки все частіше відкладають планування вагітності, вважаючи першочерговими завданнями соціальну реалізацію та забезпечення фінансової стабільності. З іншого боку, ми усі зараз перебуваємо в умовах стресу, який поєднується з довготривалою гіподинамією.

За даними Жук С. І. та Воробей-Вихівської В. М., 65 % пацієток репродуктивних клінік – це жінки, старші 30 років. Саме в цьому віці починається фізіологічне згасання репродуктивної функції, знижується оваріальний резерв [6]. Оваріальний резерв – це функціональний резерв яєчника, що визначає здатність останнього до розвитку здорового фолікула з повноцінною яйцеклітиною [7]. До чинників, котрі впливають на стан оваріального резерву, відносять старший репродуктивний вік, оперативні втручання (кісти, кістоди, апоплексії, тубектомії), повторні контрольовані оваріальні стимуляції, шкідливі звички (тютюнопаління, алкоголь), тривалу гіподинамію, стрес [8].

Важливим елементом дослідження стану яєчників є визначення рівнів антимюллерового гормону, фолікулостимулювального гормону та підрахунок кількості антральних фолікулів за допомогою УЗД [9].

Мета дослідження - оцінити роль про- та протизапальних цитокінів у розвитку запалення яєчників у щурів-самиць і провести корекцію препаратами інозитолу (In); провести ретроспективний аналіз безпліддя і його зв'язок із вмістом гормонів.

Матеріал і методи

Досліди виконано на 108 білих щурах - самицях лінії Вістар. Тварин розподілено на 3 серії: 1-ша – контроль, 3,5-4-місячні щури, 2-га – щури 7,5-8 місяців (Вік), 3-тя – гіподинамічний стрес (Стрес). У кожній серії було по три групи: А – контроль (К), Б – інозитол, В – FT500plus.

У 2-й серії вік щурів становив 7,5-8 місяців. Згідно з даними літератури, після шести тижнів (у цей час настає статеве зрілість) кожен місяць життя щура відповідає

трьом рокам життя людини, що відповідно дорівнює 38-44 рокам людини [10].

У 3-й серії щурів гіподинамічний хронічний стрес викликали з 1,5 до 3-місячного віку, що відповідає віку людини 4-17 років. Тварин постійно утримували у клітках з обмеженням життєвого простору вдвічі протягом 1,5 місяця [11].

Розчини інозитолу (порошок фірми SANDOZ) і FT500plus (дієтична добавка у вигляді порошку, розфасована в пакетики по 4,8 г; склад: інозитол – 2000 мг, вітаміни С – 160 мг і Е – 12 мг, лютеїн – 3 мг, цинк – 10 мг, селен – 55 мг, фолієва кислота – 400 мг, глутатіон – 50 мг) вводили інтрагастрально протягом 15 днів з перерахунку на інозитол 400 мг/кг маси тварини [12].

Евтаназію щурів здійснювали шляхом тотального кровопускання з серця після попереднього тіопентал-наркотичного наркозу (60 мг·кг⁻¹ маси тіла тварини внутрішньочеревино). Забій усіх тварин груп А, Б, В проводився у день овуляції.

Запалення оцінювали по концентрації в сироватці крові інтерлейкінів (ІЛ) 1β, 2, 4 і 10, концентрацію яких виражали у пг/мл [13]. Забір яєчників для мікроскопічних досліджень проводили згідно із загальноприйнятою методикою [14]. Обробку тканини проводили в гістопроекторі LOGOSone (Milestone, Італія). Парафінові зрізи яєчників, товщиною 5-6 мкм, забарвлювали гематоксиліном та еозином. Для світлооптичних досліджень використовували мікроскоп Nikon Eclipse Si-E (Nikon, Японія) та цифрову камеру Sigeta M3CMOS 14000.

Усі експерименти робили в першій половині дня при температурі 18-22°C, відносній вологості 40-60 % і освітленості 250 лк. Досліди виконано з дотриманням норм Конвенції Ради Європи про захист хребетних тварин, що використовуються для досліджень та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986 р.), ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001) і наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Достовірність отриманих відмінностей між результатами (мінімальний рівень значущості p<0,05) оцінювали за допомогою критеріїв Крускала-Уолліса та

Ньюмена–Кейлса (програма BioStat, AnalystSoft Inc.).

Активність системного запального процесу оцінювали за параметрами фактора некрозу пухлин α (ФНП- α), інтерлейкіну-1 β (ІЛ-1 β), інтерлейкіну-4 (ІЛ-4), інтерлейкіну-10 (ІЛ-10). Визначення цитокінів базувалося на імуноферментному методі з використанням стандартних реагентів, адаптованих до білих щурів “Enzymelinked Immunosorbent Assay:Kits for Rat” на аналізаторі STAT FAX 303 plus.

Принцип методу визначення інтерлейкінів базується на твердофазовому “сендвіч”-варіанті імуноферментного аналізу. Специфічними реагентами наборів були моноклональні антитіла до кожного з тих інтерлейкінів, що визначали, сорбовані на поверхні лунок розбірної планшета, кон'югати поліклональних антитіл до відповідних інтерлейкінів з біотином та калібрувальні зразки, що містять інтерлейкін. Інтенсивність кольорової реакції з використанням субстрату пероксидази хрому – пероксиду водню та хромогену – тетраметилбензидину пропорційна вмісту інтерлейкінів у досліджуваних зразках.

Концентрацію інтерлейкінів ФНП- α , ІЛ- 1 β , ІЛ-4 та ІЛ-10 у зразках визначили калібрувальним графіком та виражали у пг/мл.

Ретроспективно проаналізовано 137 амбулаторних карт пацієнок медичного центру “Клініка професора Стефана Хміля” із безпліддям на тлі зниженого оваріального резерву при короткому та довгому протоколах стимуляції суперовуляції та групи контролю у програмах допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ).

Пацієнтки були розподілені на три групи. До першої групи увійшли 55 жінок зі зниженим оваріальним резервом, яким контролювану оваріальну стимуляцію здійснювали за коротким протоколом з антагоністом гонадотропін-релізінг гормону (ант-ГнРГ), до другої групи - 52 пацієнтки зі зниженим оваріальним резервом, яким здійснювали контролювану оваріальну стимуляцію за довгим протоколом з агоністом гонадотропін-релізінг гормону (а-ГнРГ). Третю групу - порівняння (контроль) - створили 30 жінок із безпліддям, пов'язаним із трубним фактором. Рівні гормонів визначали у сироватці крові, антимиюллерів гормон за методом імуноферментного аналізу другого покоління Бекмана-Коултера (набір ІФА для кількісного визначення антимиюллерового гормону АМН GEN II ELISA, Чехія), а рівень фолікулостимулювального гормону – імуноферментним аналізом (набір ІФА для кількісного визначення фолікулостимулювального гормону в сироватці крові EIA-1288, FSH ELISA. DRG-Німеччина; методика від 06-2015р.).

Результати дослідження та їх обговорення

При розгляді яєчників тварин 1-ї серії, яким вводили препарати інозитулу, порівняно з групою контролю, відзначено їх гіперемію. У контрольній серії щурів уведення інозитулу спричинило зростання у яєчниках вмісту ІЛ-2 на 28,3 % ($p<0,001$) (табл. 1). FT500plus призвів до зменшення ІЛ-1 β на 34,1 % ($p<0,001$). У групі 1В, порівняно з 1Б, значення ІЛ-1 β були менші на 37,3 % ($p<0,001$). Отже, використання з профілактичною метою

FT500plus має більший ефект на організм.

Таблиця 1

Зміни вмісту прозапальних інтерлейкінів у сироватці крові щурів-самиць із патологією яєчників (М \pm σ , n=12)

Група тварин	Показник	
	ІЛ-1 β , пг/мл	ІЛ-2, пг/мл
Серія 1 – Контроль		
1А контроль (інтактні)	1,35 \pm 0,24	1,38 \pm 0,21
1Б інозитол	1,42 \pm 0,16	1,77 \pm 0,14 *
1В FT500plus	0,89 \pm 0,14 *.#	1,08 \pm 0,19 #
Серія 2 – Вік		
2А контроль (вік)	3,23 \pm 0,32 **	1,22 \pm 0,28
2Б інозитол	1,51 \pm 0,16 *	1,36 \pm 0,21 **
2В FT500plus	1,29 \pm 0,17 **.	1,18 \pm 0,18
Серія 3 – Гіподинамічний стрес		
3А контроль (стрес)	2,01 \pm 0,16 **	1,33 \pm 0,20
3Б інозитол	1,41 \pm 0,12 *	1,27 \pm 0,24 **
3В FT500plus	1,16 \pm 0,10 **.#	1,11 \pm 0,14

Примітки: 1. * – вірогідні відмінності з контролем у межах серії; ** – вірогідні відмінності з відповідною групою серії 1; # – вірогідні відмінності між групами Б і В кожної серії.

У серії 2, порівняно з контролем, відзначено значне збільшення ІЛ-1 β у 2,4 раза ($p<0,001$). Інозитол, порівняно з контролем цієї серії, спричинив достовірне зменшення ІЛ-1 β – на 53,2 % ($p<0,001$). FT500plus викликав достовірне зменшення ІЛ-1 β , порівняно з контролем серії, на 60,1 % ($p<0,01$). У групі 2В, порівняно з 2Б, значення ІЛ не відрізнялися. У групі 2Б, порівняно з 1Б, ІЛ-2 виявилися меншими на 23,2 % ($p<0,001$). У групі 2В, порівняно з 1В, ІЛ-1 β були вищими на 44,9 % ($p<0,001$). Отже, використання з лікувальною метою інозитулу і FT500plus позитивно впливає на щурів, викликаючи зменшення запалення.

При впливі тривалої гіподинамії, порівняно з контролем, також відзначено значне збільшення ІЛ-1 β на 48,9 % ($p<0,001$). У 4-й серії тварин інозитол, порівняно з контролем цієї серії, спричинив достовірне зменшення ІЛ-1 β на 29,9 % ($p<0,001$). FT500plus викликав достовірне зменшення ІЛ-1 β , порівняно з контролем серії, на 42,3 % ($p<0,001$). У групі 4В, порівняно з 4Б, значення ІЛ-1 β були менші на 17,7 % ($p<0,001$). У групі 4Б, порівняно з 1Б, виявилися меншими показники ІЛ-2 на 28,2 % ($p<0,001$). У групі 4В, порівняно з 1В, виявилися вищими значення ІЛ-1 β на 30,2 % ($p<0,001$). Отже, використання з лікувальною метою інозитулу і FT500plus позитивно впливає на запальну відповідь щурів при тривалому гіподинамічному стресі.

Отже, препарати інозитулу з розрахунку 400 мг/кг маси тіла можна використовувати з лікувальною метою, оскільки вони зменшують запальну відповідь організму.

Уведення інозитулу не спричинило достовірних змін ІЛ-4 і ІЛ-10, але уведення FT500plus призвів до зменшення вмісту ІЛ-4 на 20,4 % ($p<0,001$). У групі 1В, порівняно з 1Б, значення ІЛ-4 були менші на 20,1 %

Оригінальні дослідження

($p < 0,001$) (табл. 2).

Із збільшенням віку, серія 2, порівняно з контролем серії, достовірних відмінностей не виявлено. FT500plus призвів до зменшення підвищення ІЛ-4 на 20,2 % ($p < 0,001$), порівняно з групою 1В.

Таблиця 2

Зміни вмісту протизапальних інтерлейкінів у сироватці крові щурів-самиць із патологією яєчників ($M \pm \sigma$, $n=12$)

Група тварин	Показник	
	ІЛ-4, пг/мл	ІЛ-10, пг/мл
Серія 1 – Контроль		
1А контроль (інтактні)	$3,73 \pm 0,24$	$0,99 \pm 0,14$
1Б інозитол	$3,72 \pm 0,39$	$1,04 \pm 0,19$
1В FT500plus	$2,97 \pm 0,29^{* \#}$	$0,75 \pm 0,14$
Серія 2 – Вік		
2А контроль (вік)	$3,56 \pm 0,26$	$1,11 \pm 0,23$
2Б інозитол	$3,65 \pm 0,34$	$0,93 \pm 0,18$
2В FT500plus	$3,57 \pm 0,31^{**}$	$0,98 \pm 0,18$
Серія 3 – Гіподинамічний стрес		
3А контроль (стрес)	$4,15 \pm 0,39$	$1,41 \pm 0,26^{**}$
3Б інозитол	$3,24 \pm 0,22^*$	$0,97 \pm 0,18^*$
3В FT500plus	$2,81 \pm 0,19^{* \#}$	$0,73 \pm 0,20^*$

Примітки: 1. * – вірогідні відмінності з контролем у межах серії; ** – вірогідні відмінності з відповідною групою серії 1; # – вірогідні відмінності між групами Б і В кожної серії.

При впливі тривалої гіподинамії, порівняно з контролем, відзначено значне зростання ІЛ-10, порівняно з групою 1А на 42,4 % ($p < 0,001$). ІЛ-4 під впливом інозитолу, порівняно з групою 3А, зменшився на 21,9 % ($p < 0,001$), а ІЛ-10 – на 31,2 % ($p < 0,001$). У групі 3В, порівняно з контрольною групою, показник ІЛ-4 зменшився на 32,3 % ($p < 0,001$), а ІЛ-10 – на 48,2 % ($p < 0,001$). У щурів групи В, порівняно з 3Б, показник ІЛ-4 був меншим на 13,3 % ($p < 0,001$).

Мікроскопічні дослідження яєчників інтактних контрольних статевозрілих щурів показали, що їх структура відповідала типовій морфології цього органа на даному онтогенетичному етапі розвитку тварин. Гістологічно спостерігалася білкова оболонка, вкрита одношаровим епітелієм. У досліджуваних полях зору кіркової речовини виявлялися різні типи фолікулів: примордіальні, первинні, вторинні та зрілі, а також атретичні. Були наявні жовті тіла, що розташовувались, в основному, поблизу білкової оболонки. Кровоносні судини мозкової речовини помірно кровонаповнені (рис. 1).

За умов 15-денного інтрагастрального введення інозитолу або FT500plus (з розрахунку 400 мг/кг інозитолу) статевозрілим самкам щурів у їх яєчниках спостерігалася збільшення кількості зрілих та преантральних фолікулів. Судини у складі як кіркової, так і мозкової речовини помірно виповнені форменими елементами крові. У цілому гістоструктура гонад білих статевозрілих щурів даних груп відповідала нормі (рис. 2, рис. 3).

Світлооптичні дослідження зрізів яєчників щурів

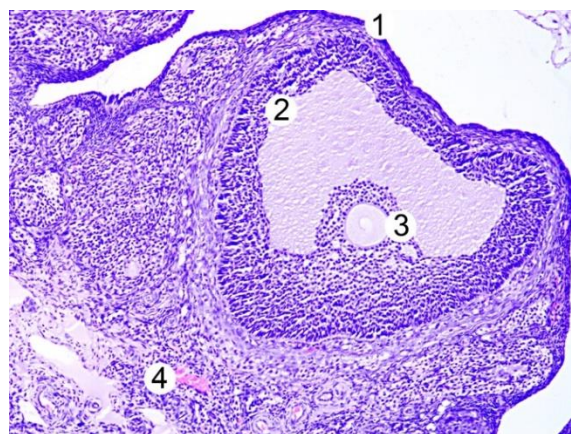


Рис. 1. Гістологічний стан яєчника інтактного контрольного статевозрілого щура: 1 – білкова оболонка, 2 – стінка зрілого (третинного) фолікула, 3 – овоцит на яйценосному горбку, 4 – кровоносна судина. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 100$

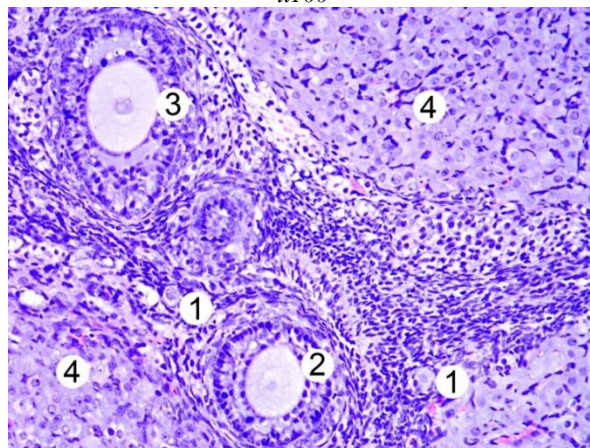


Рис. 2. Мікроскопічний стан яєчника статевозрілого щура, якому проводилося введення інозитолу: 1 – примордіальні фолікули, 2 – первинний фолікул, 3 – вторинний фолікул, 4 – жовті тіла. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 200$

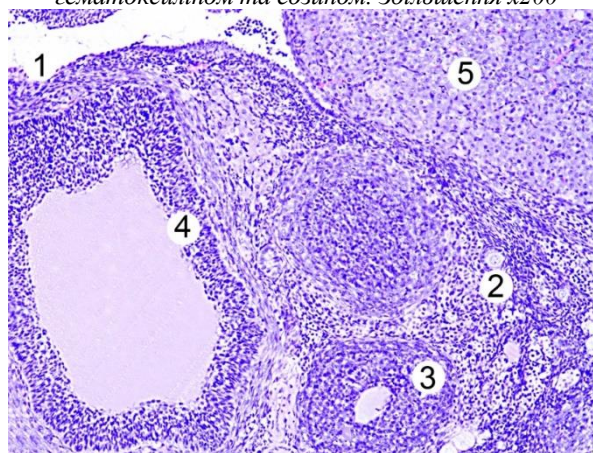


Рис. 3. Мікроскопічний стан яєчника статевозрілого щура, якому проводилося введення FT500plus: 1 – білкова оболонка, 2 – примордіальний фолікул, 3 – вторинний (преантральний) фолікул, 4 – зрілий фолікул, 5 – жовте тіло. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 100$

віком 7,5-8 місяців показали наявність у кірковій речовині масивних за площею ділянок сполучної тканини без будь-якого типу фолікулів. Оскільки у даному випадку досліджувався вплив вікового фактора, то кількість примордіальних фолікулів у яєчниках природньо зменшилася, що і підтвердилося при аналізі отриманих нами зразків. Згідно з результатами мікроскопії яєчників щурів віком 7,5-8 місяців, зменшився не лише резерв овоцитів, але й значно знизилася кількість дозріваючих та зрілих фолікулів у них, порівняно з інтактною контрольною групою тварин віком 3,5-4 місяці (рис. 4).

При мікроскопічному аналізі зрізів яєчників самок щурів віком 7,5-8 місяців, яким 15 днів інтрагастрально вводили інозитол у дозі 400 мг/кг, у кірковій речовині виявлялися збільшені фолікули, зокрема вторинні з притаманною їм появою антрума. Овоцити у таких фолікулах мали базofilні ядра округлої форми з чіткими контурами каріолеми. Спостерігали також наявність атретичних фолікулів та жовтих тіл (рис. 5).

Мікроскопічно досліджено, що 15-денне інтрагастральне введення FT500plus (з розрахунку 400 мг/кг інозитолу) мало виражений позитивний ефект на гістоструктуру яєчників самок щурів віком 7,5-8 місяців. У кірковій речовині органа спостерігалися збільшені фолікули, помірно кровонаповнені судини. У порівнянні з групою тварин, яким проводилося введення інозитолу, кількість зрілих за дії FT500plus зростала, а число атретичних фолікулів знижувалося. Артерії та вени мозкової речовини зберігали типову структуру (рис. 6).

За умов розвитку гіподинамічного стресу на мікроскопічному рівні у яєчнику щурів виявлені дистрофічні зміни як кіркової, так і мозкової речовини органа. Овоцити збільшених фолікулів зазнавали атретичних змін, спостерігалися поодинокі вторинні фолікули з ознаками порушення структури. Просвіти багатьох судин звужені (рис. 7).

Гістологічні дослідження яєчників щурів показали, що введення інозитолу тваринам, які перебували в умовах гіподинамічного стресу, сприяло покращенню

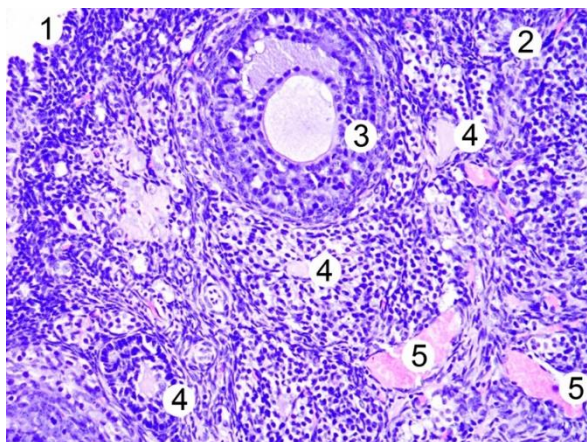


Рис. 4. Гістоструктура яєчника щура віком 7,5-8 місяців: 1 – білкова оболонка, 2 – примордіальний фолікул, 3 – вторинний фолікул, 4 – атретичні фолікули, 5 – кровоносні судини. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x200

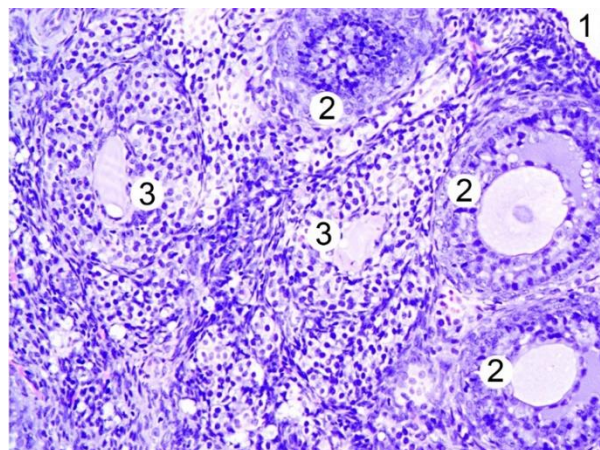


Рис. 5. Гістологічні зміни яєчника щура віком 7,5-8 місяців після 15-денного введення інозитолу: 1 – білкова оболонка, 2 – вторинні фолікули, 3 – атретичні фолікули. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x200

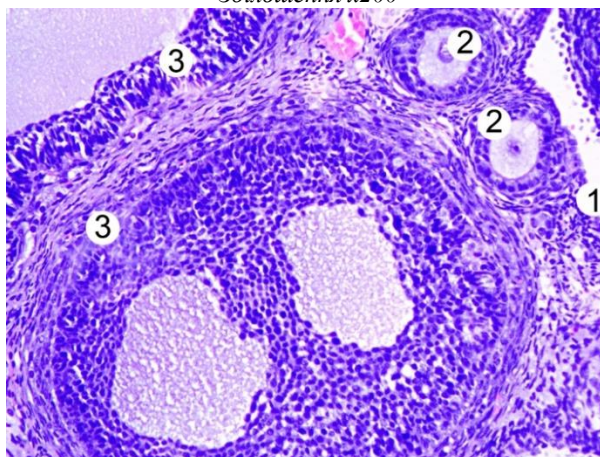


Рис. 6. Гістологічні зміни яєчника щура віком 7,5-8 місяців після 15-денного введення FT500plus: 1 – білкова оболонка, 2 – первинні фолікули, 3 – третинні фолікули. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x200

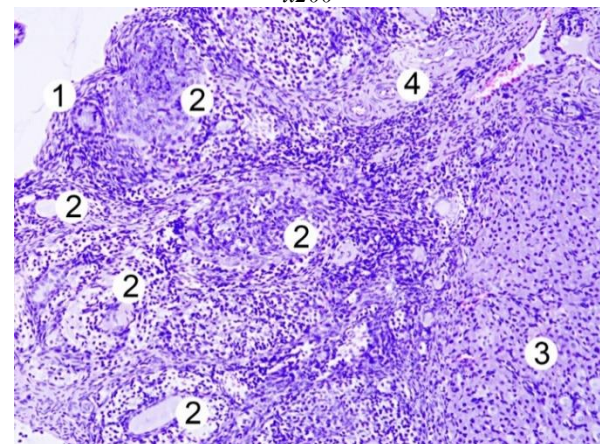


Рис. 7. Мікроскопічні зміни яєчника щура за умов гіподинамічного стресу: 1 – білкова оболонка з пошкодженням епітелієм, 2 – атретичні фолікули, 3 – жовте тіло. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x100

Оригінальні дослідження

морфологічного стану органа. У кірковій речовині спостерігалися збільшені та зрілі фолікули, а кількість атретичних була меншою порівняно з групою без уведення препарату (рис. 8). Численими були і жовті тіла у стадії розквіту.

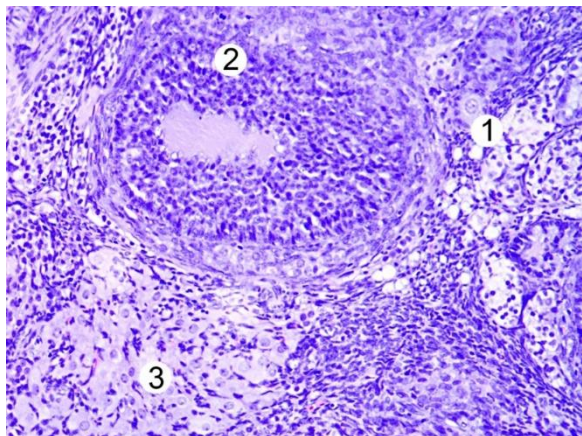


Рис. 8. Гістологічні зміни яєчника щура при гіподинамічному стресі за умов уведення інозитолу: 1 – примордіальний фолікул, 2 – верхівка зрілого фолікула, 3 – фрагмент жовтого тіла. Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення $\times 200$

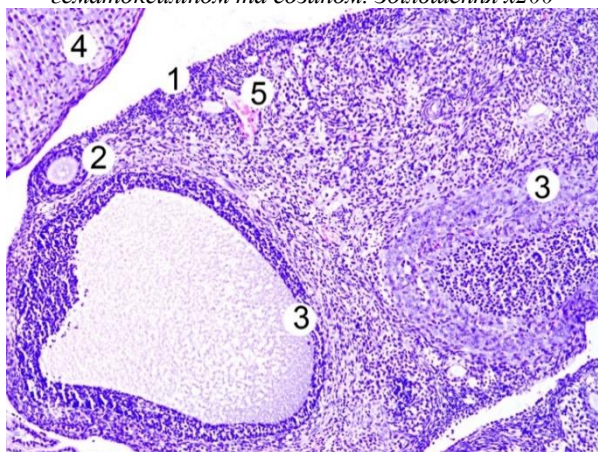


Рис. 9. Мікроскопічні зміни яєчника щура при гіподинамічному стресі за умов уведення FT500plus: 1 – білкова оболонка, 2 – первинний фолікул, 3 – зрілі фолікули, 4 – фрагмент жовтого тіла, 5 – кровоносна судина. Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення $\times 100$

Гістологічні дослідження препаратів яєчників тварин із гіподинамічним стресом, за умов уведення FT500plus, показали наявність у кірковій речовині фолікулів на різних стадіях розвитку, зокрема і зрілих овуляторних зі збереженою структурою овоцита. Кровоносні судини органа були помірно виповненні еритроцитами без ознак стазу та звуження просвіту (рис. 9).

При аналізі форм безпліддя трьох груп жінок встановлено, що переважає первинне безпліддя – у 74 пацієнок, а вторинне – у 63.

Гормональний фон пацієнок, а саме середній рівень антимюллерового гормону (АМГ) (при нормі від 1 до 2,5 нг / мл) у групі I був у межах $(0,63 \pm 0,10$ нг/мл), у групі II

– $(0,71 \pm 0,14$ нг/мл) та у контрольній групі – $(2,20 \pm 0,22$ нг/мл). Тобто, відзначено достовірне його зменшення при безплідді.

Рівень фолікулостимулювального гормону (ФСГ) у фолікулінову фазу (норма 3,0-12,0 мМО/л) у групі I був у межах $(10,80 \pm 0,26$ мМО/мл), у групі II становив $(10,50 \pm 0,38$ мМО/мл) та у III (контрольній) групі у межах $(7,20 \pm 0,24$ мМО/мл). Тобто, відзначено достовірне його збільшення при безплідді, яке не виходило за межі норми.

Висновки

Морфологічно встановлено, що застосування препаратів інозитолу (з розрахунку 400 мг/кг) має позитивний вплив на морфофункціональний стан яєчників щурів як контрольної групи, так і груп тварин, де сприятливими пошкодженнями факторами виступали вік та гіподинамічний стрес. Інтрагастральне введення FT500plus має більш виражений ефект на ріст та дозрівання фолікулів кіркової речовини яєчників порівняно з інозитолом. Запалення виникає у тварин старшого віку і при стресі. Інозитол і FT500plus знижують рівень прозапальних цитокінів. Характерні клініко-анамнестичні відмінності у пацієнок зі зниженим оваріальним резервом та трубним фактором безпліддя. До факторів ризику виникнення безпліддя на тлі зниженого оваріального резерву відносять наявність в анамнезі оперативних втручань, пізній репродуктивний вік, кілька невдалих спроб ДРТ, шкідливі звички.

Перспективи подальших досліджень У подальших дослідженнях заплановано провести обстеження та лікування інозитолом та інозитолвмісним препаратом FT500plus групи пацієнок із безпліддіям.

Конфлікт інтересів

Автори декларують, що не мають конфлікту інтересів стосовно даного дослідження, у тому числі фінансового, особистісного характеру, авторства чи іншого характеру, що міг би вплинути на дослідження та його результати, представлені в даній статті.

Фінансування

Дослідження проводилося без фінансової підтримки.

Список літератури

- Doody KJ. Infertility treatment now and in the future. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2021;48(4):801-12. DOI: 10.1016/j.ogc.2021.07.005.
- Юзько ОМ. Допоміжні репродуктивні технології України – 25 років успіху. Зб. наук. пр. Асоціації акушерів-гінекологів України. Київ: ЮСТОН; 2016. с. 393-6.
- Коваль ГД. Интерлейкін-17 у жінок з ендометріозом, асоційованим з безпліддіям. *Імунологія та алергологія: наука і практика.* 2013;1:76-9.
- Анчева ІА. Пацієнтки старшого віку. Пізня вагітність і материнство. 2021. <https://repo.odmu.edu.ua:443/xmlui/handle/123456789/11678>.
- Kortekaas JC, Kazemier BM, Keulen JK, Bruinsma A, Mol BW, Vandebussche F, et al. Risk of adverse pregnancy outcomes of late-and postterm pregnancies in advanced maternal age: A national cohort study. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2020;99(8):1022-30. DOI: 10.1111/aogs.13828.
- Жук СІ, Воробей-Вихівська ВМ. Поліморфізм генів системи гемостазу в жінок з передчасним зниженням оваріального резерву. *Здоров'я України.* 2015;1:2-3.

7. Квашенко ВП, Вустенко ВВ. Аналіз сучасних підходів до оцінки оваріального резерву у світі. Медико-соціальні проблеми сім'ї. 2014;19(1):104-8.

8. Sharma R, Biedenharn KR, Fedor JM, Agarwal A. Lifestyle factors and reproductive health: taking control of your fertility. *Reprod Biol Endocrinol.* 2013;11:66. DOI: 10.1186/1477-7827-11-66.

9. Sadullayev AS, Medvediev MV. Ендометріоми яєчників і оваріальний резерв (огляд літератури). Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2020;1:85-93.

10. Sengupta P. The laboratory rat: relating its age with human's. *Int J Prev Med.* 2013;4(6):624-30.

11. Денефіль ОВ, Міц ІР. Спосіб моделювання хронічного іммобілізаційного стресу, підсиленого дією гострого стресу. Патент на корисну модель 99821 Україна, МПК G09B 23/28(2006.01). № у 2014 14143; заявл. 29.12.14; опубл. 25.06.15, Бюл. No 12.

12. Bevilacqua A, Dragotto J, Giuliani A, Bizzarri M. Myo-inositol and D-chiro-inositol (40:1) reverse histological and functional features of polycystic ovary syndrome in a mouse model. *J Cell Physiol.* 2019;234(6):9387-98. DOI: 10.1002/jcp.27623.

13. Залецький МП. Рівень інтерлейкіну 1 β та TNF- α в сироватці крові хворих на абдомінальний туберкульоз. Медична та клінічна хімія. 2015;17(3):63-65.

14. Горальський ЛП, Хомяч ВТ, Кононський ОІ. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології. Житомир: ЖНАЕУ; 2019. 286 с.

15. Craciunas L, Roberts SA, Yates AP, Smith A, Fitzgerald C, Pemberton PW. Modification of the Beckman-Coulter second-generation enzyme-linked immunosorbent assay protocol improves the reliability of serum antimüllerian hormone measurement. *Fertil Steril.* 2015;103(2):554-59.e1.

References

1. Doody KJ. Infertility treatment now and in the future. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2021;48(4):801-12. DOI: 10.1016/j.ogc.2021.07.005.

2. Yuz'ko OM. Dopomizhni reprodutyvni tekhnologii Ukrainy – 25 rokiv uspihu [Assisted reproductive technologies of Ukraine - 25 years of success]. Coll. of science Ave. of the Association of Obstetricians and Gynecologists of Ukraine. Kyiv: YuSTON; 2016. p. 393-6. (in Ukrainian).

3. Koval' HD. Interleikin-17 u zhinok z endometriozom, asotsiovanym z bezpliddiam [Interleukin-17 in women with infertility-associated endometriosis]. *Imunologhiia ta alerholohiia: nauka i praktyka.* 2013;1:76-9. (in Ukrainian).

4. Ancheva IA. Patsiientky starshoho viku. Piznia vahitnist' i maternstvo [Older patients. Late pregnancy and motherhood] [Internet]. 2021. Available from: <https://repo.odmu.edu.ua:443/xmlui/handle/123456789/11678>. (in Ukrainian).

5. Kortekaas JC, Kazemier BM, Keulen JK, Bruinsma A, Mol BW, Vandebussche F, et al. Risk of adverse pregnancy outcomes of late-and postterm pregnancies in advanced maternal age: A national cohort study. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2020;99(8):1022-30. DOI: 10.1111/aogs.13828.

6. Zhuk SI, Vykhyvs'ka-Vorobei VM. Polimorfizm henyv systemy hemostazu v zhinok z peredchasnym znyzhenniam ovarial'noho rezervu [Polymorphism of the genes of the hemostasis system in women with a premature decrease in the ovarian reserve]. *Zdorov'ia Ukrainy.* 2015;1:2-3. (in Ukrainian).

7. Kvashenko VP, Vustenko VV. Analiz suchasnykh pidkhodiv do otsinky ovarial'noho rezervu u sviti [Analysis of modern approaches to the assessment of ovarian reserve in the world]. *Medyko-sotsial'ni problemy sim'i.* 2014;19(1):104-8.

8. Sharma R, Biedenharn KR, Fedor JM, Agarwal A. Lifestyle factors and reproductive health: taking control of your fertility. *Reprod Biol Endocrinol.* 2013;11:66. DOI: 10.1186/1477-7827-11-66.

9. Sadullayev AS, Medvediev MV. Endometriomy yaiechnykv i ovarial'nyi rezerv (ohliad literatury) [Ovarian endometriomas and ovarian reserve: (literature review)]. *Aktual'ni pytannia pediatrii, akusherstva ta hinekolohii.* 2020;1:85-93. (in Ukrainian).

10. Sengupta P. The laboratory rat: relating its age with human's. *Int J Prev Med.* 2013;4(6):624-30.

11. Denefil' OV, Mits IR. Sposib modeliuвання khronichnoho immobilizatsiynoho stresu, pidsylenoho diieiu hostroho stresu [A method of modeling chronic immobilization stress, enhanced by the effect of acute stress]. Patent Ukraine 99821, IPC G09B 23/28(2006.01). No. u 2014 14143; statement 29.12.14; published 25.06.15, Bul. No. 12. (in Ukrainian).

12. Bevilacqua A, Dragotto J, Giuliani A, Bizzarri M. Myo-inositol and D-chiro-inositol (40:1) reverse histological and functional features of polycystic ovary syndrome in a mouse model. *J Cell Physiol.* 2019;234(6):9387-98. DOI: 10.1002/jcp.27623.

13. Zalets'kyi MP. Riven' interleikinu 1 β ta TNF- α v syrovattsi krovi khvorykh na abdominal'nyi tuberkul'oz [The level of interleukin 1 β and TNF- α in blood serum of patients with abdominal tuberculosis]. *Medychna ta klinichna khimiia.* 2015;17(3):63-5. (in Ukrainian).

14. Horal's'kyi LP, Khomych VT, Konons'kyi OI. Osnovy histolohichnoi tekhniki i morfofunksional'ni metody doslidzhen' u normi ta pry patolohii [Basics of histological technique and morphofunctional research methods in normal and pathological conditions]. *Zhytomyr: ZhNAEU;* 2019. 286 p. (in Ukrainian).

15. Craciunas L, Roberts SA, Yates AP, Smith A, Fitzgerald C, Pemberton PW. Modification of the Beckman-Coulter second-generation enzyme-linked immunosorbent assay protocol improves the reliability of serum antimüllerian hormone measurement. *Fertil Steril.* 2015;103(2):554-59.e1. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2014.10.052.

Відомості про авторів

Терлецька Н.Ю. – аспірант кафедри акушерства та гінекології №1 Тернопільського національного медичного університету імені І.Я.Горбачевського, м. Тернопіль, Україна. <https://orcid.org/0009-0000-3167-7565>.

Денефіль О. В. – д-р мед. наук, професор, завідувач кафедри патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я.Горбачевського, м.Тернопіль, Україна. <https://orcid.org/0000-0002-3606-5215>.

Хміль С.В. – д-р мед. наук, професор кафедри акушерства та гінекології №1 Тернопільського національного медичного університету імені І.Я.Горбачевського, м.Тернопіль, Україна. <https://orcid.org/0000-0003-0892-9861>.

Крамар С. Б. – канд. біол. наук, доцент кафедри гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, м.Тернопіль, Україна. <https://orcid.org/0000-0003-3654-4950>

Оригінальні дослідження

Information about the authors

Terletska N.Yu. – PhD student of the Department of Obstetrics and Gynaecology No.1, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine. <https://orcid.org/0009-0000-3167-7565>.

Denefil O.V. – Prof., DSc, PhD, MD, Head of the Department of Pathophysiology, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine. <https://orcid.org/0000-0002-3606-5215>.

Khmil S.V. – DSc, PhD, MD, Professor at the Department of Obstetrics and Gynaecology, No.1 I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine. <https://orcid.org/0000-0003-0892-9861>.

Kramar S.B. – PhD, Associate Professor at the Department of Histology and Embryology, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine. <https://orcid.org/0000-0003-3654-4950>

Надійшла до редакції 10.09.23

Рецензент – доц. Д.В. Проняєв

© Н. Ю. Терлецька, О. В. Денефіль, С. В. Хміль, С. Б.Крамар, 2023