

Прогностическое значение определения матриксной металлопротеиназы-1 и ее тканевого ингибитора в фолликулярной жидкости у пациенток в программах экстракорпорального оплодотворения

О.А. Маринова[✉], Л.И. Трубникова, М.Л. Албутова

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», Ульяновск, Россия

Аннотация

Цель. Определить прогностическую значимость матриксной металлопротеиназы-1 (ММП-1) и тканевого ингибитора металлопротеиназы-1 (ТИМП-1) в фолликулярной жидкости (ФЖ) у пациенток с бесплодием для повышения результативности программ экстракорпорального оплодотворения (ЭКО).

Материалы и методы. Проведено исследование ММП-1 и ТИМП-1 в ФЖ у 38 пациенток с бесплодием в программах ЭКО. В соответствии с генезом бесплодия пациентки разделены на 2 группы. В 1-ю (контрольную) группу вошли 20 пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием (код N97.1 по Международной классификации болезней 10-го пересмотра – МКБ-10). Во 2-ю (основную) группу вошли 18 пациенток с трубно-эндокринным бесплодием (МКБ-10: N97.1, N97.0, N97.8). Произведен выбор протокола стимуляции овуляции с учетом анамнеза, ранее примененных протоколов, разработан контроль за исходом и конечным результатом программ ЭКО: у 20 пациенток применен протокол с агонистами гонадотропин-рилизинг-гормона, у 18 – протокол с антагонистами гонадотропин-рилизинг-гормона. Результативность программ ЭКО составила 26,3%, частота живорождения – 26,3%. Во время пункции фолликулов забирали ФЖ и определяли в ней уровни ММП-1 и ТИМП-1 методом количественного твердофазного иммуноферментного анализа типа «сэндвич» на автоматическом планшетном фотометре MultiskanFC (2012). Полученная информация подвергалась статистическому анализу с помощью прикладной программы Statistica 10.0.

Результаты. Уровень ММП-1 и ТИМП-1 в ФЖ является индивидуальным показателем и связан с клинико-анамнестическими характеристиками. Средний уровень ММП-1 равен 4,9 нг/мл. При отрицательных исходах ЭКО он составил 6,1±1,3 нг/мл, при положительных – 1,4±0,1 нг/мл. Содержание ММП-1 у женщин с трубно-перитонеальным генезом бесплодия 7,9±1,7 нг/мл свидетельствует об остаточном воспалительном процессе в фолликуле. Средний уровень ТИМП-1 составил 2462,2±64,3 нг/мл. Показатель повышается: с возрастом (2535,0±125,7 нг/мл), длительностью бесплодия (2611,5±126,7 нг/мл), вследствие перенесенных оперативных вмешательств на репродуктивных органах (2800±122,7 нг/мл) и у пациенток с трубно-эндокринным генезом бесплодия (2550±126,7 нг/мл), что свидетельствует о фиброзно-склеротических изменениях в фолликулах и яичниковой ткани.

Заключение. Уровень ММП-1 в пределах 1,3–1,4 нг/мл следует считать критерием успешного наступления беременности в программах ЭКО. Критерием субклинического поражения коллагенового матрикса в ФЖ считается уровень ММП-1 6,1 нг/мл и выше; он может рассматриваться как неблагоприятный прогностический фактор исхода ЭКО. Уровень ТИМП-1 в пределах 2400–2450 нг/мл следует считать критерием успешного наступления беременности в программах ЭКО. Вероятность отрицательного исхода ЭКО – в пределах 1500–2300 нг/мл (неспособность при данных показателях нивелировать эффекты ММП-1), в то время как уровень 2696 нг/мл и выше при трубно-эндокринном генезе бесплодия отражает высокую степень фиброзно-склеротических изменений в яичниковой ткани и может рассматриваться как неблагоприятный прогностический фактор исхода ЭКО.

Ключевые слова: яичник, бесплодие, матриксная металлопротеиназа-1, тканевой ингибитор металлопротеиназы-1, соединительная ткань, фолликулогенез, экстракорпоральное оплодотворение

Для цитирования: Маринова О.А., Трубникова Л.И., Албутова М.Л. Прогностическое значение определения матриксной металлопротеиназы-1 и ее тканевого ингибитора в фолликулярной жидкости у пациенток в программах экстракорпорального оплодотворения. Гинекология. 2021;23(6):542–547. DOI: 10.26442/20795696.2021.6.201133

ORIGINAL ARTICLE

Prognostic value of determination of matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in follicular fluid in patients in vitro fertilization programs

Olga A. Marinova[✉], Larisa I. Trubnikova, Marina L. Albutova

Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia

Abstract

Aim. To determine the prognostic significance of matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) and tissue metalloproteinase-1 inhibitor (TIMP-1) in the follicular fluid (FF) in patients with infertility to improve the effectiveness of in vitro fertilization (IVF) programs.

Materials and methods. A study of MMP-1 and TIMP-1 in the FF was conducted in 38 patients with infertility in IVF programs. According to the genesis of infertility, the patients were divided into 2 groups. The 1st (control) group included 20 patients with tubal-peritoneal infertility (code N97.1 according to the International Classification

Информация об авторах / Information about the authors

[✉]Маринова Ольга Анатольевна – ст. преподаватель каф. акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО УлГУ. E-mail: mari5604@mail.ru; ORCID: 0000-0003-3690-8881

Трубникова Лариса Игнатьевна – д-р мед. наук, проф., зав. каф. акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО УлГУ. E-mail: trubnicova-li@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-0720-0369

Албутова Марина Леонидовна – канд. мед. наук, доц. каф. акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО УлГУ. E-mail: albutova.m@yandex.ru; ORCID: 0000-0001-8510-4930

[✉]Olga A. Marinova – Senior Lecturer, Ulyanovsk State University. E-mail: mari5604@mail.ru; ORCID: 0000-0003-3690-8881

Larisa I. Trubnikova – D. Sci. (Med.), Prof., Ulyanovsk State University. E-mail: trubnicova-li@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-0720-0369

Marina L. Albutova – Cand. Sci. (Med.), Ulyanovsk State University. E-mail: albutova.m@yandex.ru; ORCID: 0000-0001-8510-4930

of Diseases of the 10th revision – ICD-10). The 2nd group (the main one) included 18 patients with tubal-endocrine infertility (ICD-10: N97.1, N97.0, N97.8). The choice of the ovulation stimulation protocol was made taking into account the anamnesis, previously applied protocols, control over the outcome and final result of IVF programs was developed: a protocol with gonadotropin-releasing hormone agonists was used in 20 patients, and a protocol with gonadotropin-releasing hormone antagonists was used in 18 patients. The effectiveness of IVF programs was 26.3%, the frequency of live births was 26.3%. During the puncture of the follicles, FF was taken and the levels of MMP-1 and TIMP-1 were determined in it by the method of quantitative solid-phase enzyme immunoassay of the sandwich type on an automatic flatbed photometer MultiskanFC (2012). The obtained information was subjected to statistical analysis using the Statistica 10.0 application program.

Results. The level of MMP-1 and TIMP-1 in the FF is an individual indicator and is associated with clinical and anamnestic characteristics. The average level of MMP-1 is 4.9 ng/ml. With negative IVF outcomes, it was 6.1±1.3 ng/ml, with positive outcomes – 1.4±0.1 ng/ml. The content of MMP-1 in women with tubal-peritoneal infertility genesis of 7.9±1.7 ng/ml indicates a residual inflammatory process in the follicle. The average level of TIMP-1 was 2462.2±64.3 ng/ml. The indicator increases: with age (2535.0±125.7 ng/ml), duration of infertility (2611.5±126.7 ng/ml), due to surgical interventions on the reproductive organs (2800±122.7 ng/ml) and in patients with tubal-endocrine genesis of infertility (2550±126.7 ng/ml), which indicates fibrosclerotic changes in the follicles and ovarian tissue.

Conclusion. The level of MMP-1 in the range of 1.3–1.4 ng/ml should be considered a criterion for the successful onset of pregnancy in IVF programs. The criterion of subclinical damage to the collagen matrix in the FF is the level of MMP-1 6.1 ng/ml or higher; it can be considered as an unfavorable prognostic factor for the outcome of IVF. The level of TIMP-1 in the range of 2400–2450 ng/ml should be considered a criterion for the successful onset of pregnancy in IVF programs. The probability of a negative outcome of IVF is in the range of 1500–2300 ng/ml (inability to level the effects of MMP-1 with these indicators), while the level of 2696 ng/ml and higher in tubal-endocrine genesis of infertility reflects a high degree of fibrosclerotic changes in ovarian tissue and can be considered as an unfavorable prognostic factor of IVF outcome.

Keywords: ovary, infertility, matrix metalloproteinase-1, tissue inhibitor of metalloproteinase-1, connective tissue, folliculogenesis, in vitro fertilization

For citation: Marinova OA, Trubnikova LI, Albutova ML. Prognostic value of determination of matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in follicular fluid in patients in vitro fertilization programs. *Gynecology*. 2021;23(6):542–547. DOI: 10.26442/20795696.2021.6.201133

Введение

Матриксная металлопротеиназа-1 (ММП-1) относится к семейству цинксодержащих эндопептидаз, катализирующих реакции деградации компонентов внеклеточного матрикса [1–3]. Это интерстициальная коллагеназа 1-го типа, которая играет ключевую роль в обмене белков соединительной ткани и первой гидролизует спиральную область коллагена-1, который затем расщепляется другими видами ММП – желатиназами, стромелизинами. Кристаллическая структура всей молекулы ММП-1 была получена в 1995 г. [2, 4].

Основная биологическая роль ММП-1 заключается в удалении компонентов внеклеточного матрикса. В физиологических условиях процесс деградации внеклеточного матрикса обеспечивает ремоделирование ткани, поддержание архитектоники и гомеостаза, освобождение пространства для миграции клеток, тем самым обеспечивая процессы эмбриогенеза, имплантации эмбриона, роста и развития, заживления ран. Кроме того, ММП-1 регулирует действие ростовых факторов, сосудистого эндотелиального, эпителиального и инсулиноподобного факторов роста [2, 4–8]. ММП-1 синтезируется рядом клеток: фибробластами, хондроцитами, эпителиальными клетками, макрофагами, тучными клетками, эндотелиальными клетками в виде профермента и секретируется в латентной форме. Активируется ММП-1 провоспалительными цитокинами и факторами роста. Активность в физиологических условиях регулируется специфическими тканевыми ингибиторами металлопротеиназ – TIMP [1–3, 5–11].

TIMP-1 – это растворимый фермент, который локализован во внеклеточном пространстве. Его молекулы включают 2 домена, содержащие по 3 дисульфидные связи. N-концевой домен отвечает за ингибирование ММП, а C-концевой взаимодействует с ферментами. TIMP связываются и с про-ММП, и с активными ММП, ингибируя как автокаталитическую активацию латентных форм ММП, так и активные ферменты [1, 2, 5, 9–11].

Нарушение баланса в системе ММП-1/TIMP-1 приводит к развитию патологических состояний, таких как неоангиогенез, воспаление, старение, изъязвление, метастазирование опухолей. Участие и развитие ММП-1 в воспалительных реакциях обусловлено активацией антимикробного белка профдефинина. Провоспалительное действие этого белка проявляется уже при малых концентрациях путем индуцирования активности медиаторов воспаления – цитокинов (интерлейкинов-1 β , 4, 6, 8, фактора некроза опухоли α , интерферона γ и др.). Цитокины, гормональные и метаболические измене-

ния превращают профермент ММП-1 в активную форму. Повышенная экспрессия ММП-1 приводит к повреждению тканей и развитию воспаления [2–5, 7–10]. При повышении уровней TIMP-1 происходит увеличение массы волокон коллагена. TIMP-1 является биомаркером развития фиброно-склеротических процессов. Повышенная экспрессия отражает тяжесть эндотелиальной дисфункции с выраженным иммунным воспалительным ответом [5, 7, 10, 11].

Таким образом, впервые проведенное исследование уровней ММП-1/TIMP-1 у пациенток с бесплодием различного генеза и длительности откроет возможность более глубокого представления о внутриорганных яичниковых изменениях и раскроет истинную картину состояния органов репродуктивной системы пациенток с бесплодием, вступивших в программу экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). Это позволит сформировать новую концепцию, в результате которой фокус смещается в сторону рационального подхода, с учетом индивидуальных особенностей метаболических процессов организма и персонифицированного подхода к созданию новых терапевтических схем лечения бесплодия. Это, несомненно, повысит эффективность исходов лечения бесплодия, частоту наступления беременности в программах ЭКО и рождения здорового ребенка.

Цель исследования – определить прогностическую значимость ММП-1 и TIMP-1 в фолликулярной жидкости (ФЖ) у пациенток с бесплодием для повышения результативности программ ЭКО.

Материалы и методы

В исследование включены 38 пациенток с бесплодием за период 2013–2016 гг. в отделении вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) БУ «Президентский перинатальный центр» Минздрава Чувашии. Обследование пациенток проводилось согласно стандартам оказания медицинской помощи и включало сбор жалоб, анамнеза, данных о перенесенных заболеваниях, оперативных вмешательствах в прошлом, особенностях менструальной и репродуктивной функций, физикальный осмотр, гинекологическое и ректальное исследование, инструментальные методы исследования. В зависимости от генеза бесплодия пациентки были разделены на 2 группы: 1-я (контрольная) группа – 20 пациенток с трубно-перитонеальным генезом бесплодия; 2-я (основная) группа – 18 пациенток с трубно-эндокринным генезом бесплодия. Критерий включения в 1-ю группу – трубное бесплодие (код N97.1 по Международной классификации болезней 10-го пересмотра – МКБ-10).

Критерии включения во 2-ю группу: трубное бесплодие (МКБ-10: N97.1); бесплодие, связанное с отсутствием овуляции (МКБ-10: N97.0); другие формы эндокринного бесплодия (МКБ-10: N97.8). Группы были однородны по своему составу. Критериями исключения стали: женское бесплодие (МКБ-10: N97) при наличии острого и подострого инфекционного, гинекологического и экстрагенитального заболевания в стадии обострения; наличие доброкачественных опухолей репродуктивной системы [кисты яичников, миома матки – узлы типов 1, 2, 3, 7 по классификации Международной федерации акушерства и гинекологии (FIGO)]; некоррегированные гормональные нарушения; злокачественные опухоли; пороки развития матки; тяжелые соматические заболевания.

Произведен выбор протокола стимуляции овуляции, разработан порядок контроля за исходом и конечным результатом ВРТ. Выбор режима лечения и схем стимуляции осуществлялся с учетом анамнеза пациентки, исхода предыдущих попыток ВРТ (не зависел от сформированных групп исследования). При использовании протоколов с агонистами гонадотропин-рилизинг-гормона (аГнРГ) у 20 пациенток применяли ежедневные подкожные инъекции аГнРГ по 0,1 мл в лютеиновую фазу предыдущего менструального цикла. При использовании протокола с антагонистами гонадотропин-рилизинг-гормона (антГнРГ), примененного у 18 пациенток, вводили антГнРГ по 0,25 мг в 3-й день лечебного цикла и ежедневно до начала индукции овуляции. Стандартная стартовая доза гонадотропинов составляла 75–225 МЕ в зависимости от возраста пациентки, анамнеза болезни. Овуляторная доза человеческого хорионического гонадотропина составляла 10 000 МЕ. Через 36 ч после введения овуляторной дозы человеческого хорионического гонадотропина под контролем ультразвукового исследования проводились трансвагинальная пункция фолликулов и аспирация их содержимого. Осуществлен сравнительный анализ результативности программ ЭКО: у 10 женщин наступила беременность (6 женщин с трубно-перитонеальным, 4 – с трубно-эндокринным генезом бесплодия), у 28 женщин беременность не получена. Таким образом, результативность программы ЭКО составила 26,3%, процент живорождения – 26,3.

Во время пункции фолликулов забирали ФЖ, а затем методом количественного твердофазного иммуноферментного анализа типа «сэндвич» определяли содержание уровней ММП-1 и ТИМП-1. Концентрацию ММП-1 устанавливали с помощью набора Matrix metalloproteinase-1 ELISA AbFrontier при диапазоне измерения 0,08–10 нг/мл, а ТИМП-1 – с использованием наборов eBioscience (Bender MedSystems, USA) при диапазоне измерения 0,06–10 нг/мл. Иммуноферментный анализ проводили на автоматическом планшетном фотометре MultiskanFC (2012).

Образованная в ходе исследования база данных размещена в программе Microsoft Excel 2019 для Windows 10. Полученная информация подвергалась статистическому анализу с помощью прикладной программы Statistica 10.0. В начале анализа данных сформированы вариационные ряды по абсолютным числам, вычислены средние величины (M) и средняя арифметическая (m), достоверность проверена с помощью критерия Стьюдента (t). Определен размах вариации (R) – разность между минимальным и максимальным значением признака. Для сравнения 2 относительных показателей, характеризующих частоту определенного признака, использовался точный критерий Фишера (F). Статистически значимым уровнем считался $p < 0,05$. Для поиска межгрупповых различий использовался критерий Манна-Уитни (U). Для значимости различий между относительными

признаками применялся критерий Пирсона (χ^2). Связь явлений, одно из которых входит в число причин, воздействующих на эти явления, выражали с помощью корреляции (r) и коэффициента корреляции (β). Относительный риск (ОР) и его 95% доверительный интервал (ДИ) использовали для оценки отношения частоты исходов среди исследуемых. Для определения статистических линейных и нелинейных взаимосвязей выбранных параметров использовали уравнение парной и множественной регрессии. Качество модели проверено с помощью регрессионного анализа с пошаговым включением указанных факторов; коэффициента детерминации (R^2), описывающего связь между зависимой и независимой переменными; коэффициента множественной регрессии (b), показывающего, на какую величину в среднем изменится результативный признак при увеличении на единицу измерения; оценки силы между фактором и исходом с помощью коэффициента сопряженности Пирсона (C); коэффициента эластичности (Θ), характеризующего процентное изменение результата от начальной величины при изменении определенного фактора; расчета средней ошибки аппроксимации (среднее относительное отклонение расчетных значений от фактических: построенное уравнение регрессии считается удовлетворительным, если полученное значение не превышает 10–12%).

Результаты

Возраст пациенток колебался от 27 до 36 лет, в среднем составил $31,03 \pm 0,37$ года. В городе проживали 97% пациенток, 66% имели высшее образование, у 78% женщин зарегистрирован 1-й брак. Соматический анамнез был отягощен у каждой женщины, причем у пациенток основной группы с эндокринными нарушениями чаще имело место поражение нескольких органов эндокринной системы, что существенно отягощало течение бесплодия. Так, гиперпролактинемия диагностировалась в 32% случаев, синдром поликистозных яичников и гирсутизм – в 22%. У 18% пациенток обнаружались при ультразвуковом исследовании структурные изменения щитовидной железы, а у 8% имелось нарушение функции щитовидной железы, чаще по типу гипотиреоза. Из общего числа пациенток, страдающих ожирением (47%), большую долю (32%) составили женщины с трубно-эндокринным генезом бесплодия. Из соматических заболеваний выявлены: вегетососудистая дистония – в 33% случаев, заболевания печени и желудочно-кишечного тракта – в 23%, заболевания почек и мочевыделительной системы – в 15%.

Возраст менархе у пациенток в среднем составил $13,34 \pm 0,21$ года. У 63% женщин отмечались нарушения менструальной функции, причем только в 3,5% случаев нарушения были с менархе по типу ановуляторных дисфункциональных маточных кровотечений (пациентки основной группы). У остальных 59,5% достоверных различий в сравниваемых группах по характеру менструальной функции не получено, и существенное число нарушений (37,2%) приходилось на дисменорею, меноррагию (21,1%), причинами которых могут быть не только функциональные расстройства, но и структурные изменения миометрия, такие как эндометриоз (23,9%), миома матки (12,9%). Гипоменорея в 1,2% случаев может быть следствием перенесенных эндометритов (40,1%) с развитием склеро-фиброзных изменений эндометрия (1,2%).

Длительность бесплодия составила в среднем $3,24 \pm 0,39$ года, причем у 47% пациенток было первичное бесплодие, у 53% – вторичное. У 13% женщин с вторичным бесплодием предыдущие беременности завершились родами, у остальных (87%) беременности закончились с осложнениями (эктопическая, замершая, самопроизвольные выкидыши, медицинские аборты).

Таблица 1. Средние уровни ММП-1 и ТИМП-1 в ФЖ

Table 1. Average levels of MMP-1 and TIMP-1 in the follicular fluid (FF)

Показатель, нг/мл	ММП-1 (n=38)	ТИМП-1 (n=38)
Среднее (M±m)	4,9±1,0	2462,2±64,3
Диапазон	1,02–24,5	1700–3000
Медиана (Me)	1,7	2500

Все пациентки в анамнезе имели 1 или несколько очагов хронического воспалительного процесса органов малого таза. Почти с равной частотой регистрировались воспалительные заболевания матки (21–26%), придатков (32–34%) и шейки матки (16–21%); 16% пациенток с трубно-перитонеальным генезом бесплодия перенесли тазовый перитонит. В анамнезе почти у каждой женщины были инфекции, передаваемые половым путем (1,2–1,3 заболевания на пациентку в каждой группе), у 21% пациенток – эндометриоз, у 5% – миома матки, у 26% в разные годы отмечались гиперпластические процессы эндометрия. Эти пациентки в течение длительного времени проходили лечебно-реабилитационные мероприятия и гормональную коррекцию по восстановлению репродуктивной функции.

У 28 (74%) женщин с отрицательным исходом ЭКО было 48 случаев оперативного вмешательства на репродуктивных органах, т.е. по 2 на каждую женщину.

Оперативные вмешательства снижают шансы на наступление самостоятельной беременности, а отсутствие их в анамнезе можно рассматривать как хороший прогностический фактор успешности проведения программ ЭКО. Так, 10 (26,3%) из 38 пациенток с положительными исходами ЭКО не имели в анамнезе оперативных вмешательств (6 пациенток с трубно-перитонеальным и 4 – с трубно-эндокринным генезом бесплодия).

У пациенток с трубно-перитонеальным генезом бесплодия было в 2 раза больше оперативных вмешательств на маточных трубах (75%). Хронические воспалительные процессы, приводящие к развитию гидросактосальпинксов (16%), спаечного процесса и, как следствие, внематочной беременности (32%) в дальнейшем, требовали в конечном итоге проведения тубэктомий. Кроме того, зачастую пациентке необходимо было провести повторные вмешательства – реконструктивные операции на маточных трубах (стоматопластика – 45%) с последующей тубэктомией.

У пациенток с трубно-эндокринным генезом бесплодия было достоверно выше число оперативных вмешательств на яичниках (63,1%). В 4 (1,6%) случаях овариоэктомия производилась при наличии доброкачественных опухолей (дермоидные кисты – в 2 случаях, тератома – в 1, цистаденома – в 1). Операции по поводу наружного генитального эндометриоза проводились в 24,2% случаев, консервативная миомэктомия – в 16,8%. Чаще всего необходимо было таким пациенткам провести операцию на нескольких репродуктивных органах (72%) – на яичнике и матке (резекция яичников по поводу кист – 26%, консервативная миомэктомия – 5,3%).

У 42% женщин проводилась внутриматочная хирургия по поводу полипов эндометрия и гиперпластических процессов эндометрия.

При применении протоколов с аГнРГ и антГнРГ у пациенток программ ЭКО различий не получено. Частота наступления беременности составила 26,3%, частота живорождения – 26,3%.

При определении показателей ММП-1 и ТИМП-1 в ФЖ были выявлены некоторые закономерности (табл. 1).

Средний уровень ММП-1 в ФЖ составил 4,9±1,0 нг/мл. С возрастом уровень ММП-1 снижается и у женщин после

Таблица 2. Уровни ММП-1, ТИМП-1 в ФЖ в зависимости от генеза бесплодия

Table 2. Levels of MMP-1, TIMP-1 in the FF, depending on the genesis of infertility

Показатель, нг/мл	Группа 1 – трубно-перитонеальное бесплодие (n=20)	Группа 2 – трубно-эндокринное бесплодие (n=18)	t; p
ММП-1	7,9±1,7	1,5±0,1	3,76*; <0,005
Диапазон ММП-1	1,26–24,5	1,02–1,96	
ТИМП-1	2365,8±94,9	2696,4±87,8	2,56*; <0,005
Диапазон ТИМП-1	1700–3000	2000–3000	

*Здесь и в табл. 3: имеются статистически значимые различия в сравниваемых группах $p < 0,005$.

30 лет составляет 2,51±1,61 нг/мл ($t=2,07$; $p < 0,01$). Однако при длительном бесплодии установлена четкая тенденция к повышению ММП-1: менее 4 лет – 2,79±0,52 нг/мл, более 4 лет – 6,9±2,3 нг/мл ($t=2,31$; $p < 0,05$). При проведении корреляционного анализа между уровнем ММП-1, длительностью бесплодия и исходами ЭКО выявлена прямая корреляционная связь: при положительных исходах ЭКО $r=0,12$, 95% ДИ 2,16–5,63; при отрицательных исходах $r=0,26$, 95% ДИ 2,1–9,61; $F=2,22$; $p < 0,05$.

Средний уровень ТИМП-1 в ФЖ составил 2462,2±64,3 нг/мл. С возрастом уровень ТИМП-1 повышается: в 25–30 лет он составляет 2137,5±139,7 нг/мл; в 31–36 лет – 2535±125,7 нг/мл; $p < 0,05$. При проведении корреляционного анализа между уровнем ТИМП-1, возрастом и исходами ЭКО: при положительных исходах ЭКО $r=0,64$, 95% ДИ 1984,77–3035,23; $F=0,24$; $p < 0,05$; при отрицательных исходах $r=0,14$, 95% ДИ 1367,42–3258,3; $F=0,58$; $p < 0,05$.

С длительностью бесплодия уровень ТИМП-1 повышается: менее 4 лет – 2276,8±70,7 нг/мл; более 4 лет – 2611,5±126,7 нг/мл, $p < 0,05$. При проведении корреляционного анализа между уровнем ТИМП-1, длительностью бесплодия и исходами ЭКО получены показатели: при положительных исходах ЭКО $r=0,015$, 95% ДИ 1534,51–3158,22; при отрицательных исходах $r=0,14$, 95% ДИ 1440,84–3308,82; $F=0,36$; $p < 0,05$.

При определении корреляционного анализа связи между ММП-1 и ТИМП-1 использовалось уравнение парной линейной регрессии. Отмечены значимые корреляционные зависимости между ММП-1 и ТИМП-1: $r=-0,14$, 95% ДИ 3,34–3,41. Корреляционная зависимость для ММП-1 определяется в пределах 4–9,67 нг/мл, для ТИМП-1 – 2388 нг/мл. Связь обратная, т.е. уровень ТИМП-1 в ФЖ обеспечивает стабильность системы ММП-1/ТИМП-1. Качество уравнения регрессии проверено: $F=0,89$, $p < 0,05$; $R^2=0,024$; средняя ошибка аппроксимации составила 12% (построенное уравнение регрессии считается удовлетворительным при 10–12%).

Таким образом, уровень ТИМП-1 играет факторную роль в системе ММП-1 и в значительной степени нивелирует неблагоприятное действие ММП-1 на клеточные процессы в яичниках. При длительных патологических процессах с участием ТИМП-1 происходит склерозирование стромы яичников, нарушение фолликулогенеза, что оказывает влияние на исход лечения бесплодия.

Характерен большой размах индивидуальных показателей ММП-1 – от 1,02 до 24,5 нг/мл, что указывает на зависимость концентрации ММП-1 от факторов, характеризующих патогенез бесплодия (табл. 2).

Содержание ММП-1 у женщин в контрольной группе достоверно выше, чем в основной. У пациенток контрольной

Таблица 3. Уровни ММП-1 и ТИМП-1 в ФЖ у пациенток с разными исходами ВРТ**Table 3. Levels of MMP-1 and TIMP-1 in the FF in patients with different in vitro fertilization (IVF) outcomes**

Показатель, нг/мл	Средние показатели, М±m	Положительный исход ВРТ (n=10)	Отрицательный исход ВРТ (n=28)	t; p
ММП-1	4,9±1,0	1,4±0,1	6,1±1,3	3,60*; <0,005
ТИМП-1	2462,2±64,3	2510,0±135,8	2445,2±78,1	0,41; 0,682

Таблица 4. Параметры модели прогноза отрицательного результата ЭКО у пациенток и сравнения частот с помощью критерия χ^2 **Table 4. Parameters of the model for predicting a negative IVF result in patients and comparing frequencies using the criterion χ^2**

	Б-	F ($p<0,05^*$)	ОР (95% ДИ)	χ^2	С
ММП-1 6,1 нг/мл и выше	10	0,00002*	1,37 (1,25–1,49)	25,12	***
ТИМП-1 2500 нг/мл и выше	18	0,00	1,44 (1,29–1,59)	35,94	***

Примечание. Б- (n=28) – пациентки, у которых беременность не наступила в программах ЭКО; * $p<0,05$: если значение точного F-критерия меньше критического, делается вывод о статистически значимых отличиях частоты отрицательного исхода ЭКО от воздействия фактора риска; значения С: ***связь сильная.

группы R=23,24, 95% ДИ 1,634–11,277. У пациенток основной группы R=0,94, 95% ДИ 0,54–2,18.

При проведении корреляционной связи между уровнем ММП-1 при воспалительном генезе и смешанном генезе бесплодия различия оказались существенными: U=44; r=0,26, 95% ДИ 1,382–19,424. Таким образом, уровень ММП-1 достоверно выше при трубно-перитонеальном генезе бесплодия (t=3,76; $p<0,05$).

Содержание ТИМП-1, наоборот, имеет статистически значимое преобладание у пациенток основной группы, с многофакторным генезом бесплодия. У пациенток контрольной группы R=1300, 95% ДИ 966,57–3480,94. У пациенток основной группы R=1000, 95% ДИ 1015,09–4057,13. Таким образом, уровень ТИМП-1 достоверно выше при смешанном генезе бесплодия (t=2,56; $p<0,05$).

У пациенток выявлены значительные различия содержания ММП-1 в ФЖ при различных исходах ВРТ (табл. 3).

Таким образом, уровень ММП-1 оказался достоверно выше при отрицательных исходах ЭКО: R=23,14, 95% ДИ 2,49–8,63. Уровень ММП-1 при положительных исходах ЭКО составил: R=0,64, 95% ДИ 0,13–2,56. Таким образом, низкий уровень ММП-1 достоверно влияет на исходы ЭКО (t=3,60; $p<0,05$), и уровень ММП-1 в пределах 1,3–1,4 нг/мл следует считать критерием успешного наступления беременности в программах ЭКО.

Уровень ТИМП-1 при положительных исходах составил: R=0,015, 95% ДИ 1534,51–3158,22; при отрицательных исходах – R=0,14, 95% ДИ 1440,84–3308,82. Уровень ТИМП-1 в пределах 2400–2450 нг/мл следует считать критерием успешного наступления беременности в программах ЭКО, при уровне в пределах 1500–2300 нг/мл следует рассматривать вероятность отрицательного исхода (неспособность при данных показателях нивелировать эффекты ММП-1). Уровень же 2696 нг/мл и выше при смешанном генезе бесплодия отражает высокую степень фиброзно-склеротических изменений в яичниковой ткани.

Оценка влияния патологических уровней ММП-1 и ТИМП-1 проводилась с помощью точного F-критерия, ОР и его 95% ДИ и оценена с помощью критерия χ^2 (сила связи между фактором и исходом ЭКО); табл. 4.

С помощью регрессионного анализа с пошаговым включением исследованных факторов проанализировано возможное развитие отрицательного исхода ЭКО через интегральные показатели: возраст (старше 35 лет), длительность бесплодия (свыше 4 лет), уровень ММП-1 – 6,1 нг/мл и выше, уровень ТИМП-1 – 2500 нг/мл и выше, повторные попытки ЭКО. В результате были выявлены только 2 фактора, влияющие на отрицательный исход ЭКО, – уровень ММП-1

Таблица 5. Предиктор отрицательного прогноза ЭКО (регрессионный анализ с пошаговым включением указанных факторов)**Table 5. Predictor of negative IVF prognosis (regression analysis with step-by-step inclusion of the above factors)**

Показатели	β	F	R	R ²	p
Предикторы отрицательного исхода ЭКО по 2 факторам	0,6574	0,0143	0,84	0,706	0,021

(6,1 нг/мл и выше) и уровень ТИМП-1 (2500 нг/мл и выше); табл. 5.

Заключение

Полученные клинические и лабораторные результаты позволили собрать убедительные данные, свидетельствующие о биологической значимости системы ММП-1/ТИМП-1 в развитии бесплодия. Средний уровень ММП-1 в ФЖ составил 4,9 нг/мл. При увеличении длительности бесплодия уровень ММП-1 достоверно возрастал и при отрицательных исходах составил в среднем 6,1 нг/мл. При трубно-перитонеальном генезе бесплодия средний уровень ММП-1 составил 7,9 нг/мл. Уровень ММП-1 в пределах 1,3–1,4 нг/мл следует считать критерием успешного наступления беременности.

Средний уровень ТИМП-1 в ФЖ составил 2462 нг/мл. Уровень ТИМП-1 зависит от длительности бесплодия и влияет на результативность программ ВРТ. Данный уровень продемонстрировал свою важную роль в системе матриксной металлопротеиназы ($p<0,05$), поскольку он в значительной степени нивелирует неблагоприятное действие ММП-1 на клеточные процессы в яичниках. Уровень ТИМП-1 достоверно выше при трубно-эндокринном генезе бесплодия ($p<0,05$), при показателях 2696 нг/мл и выше он отражает высокую степень фиброзно-склеротических изменений в яичниковой ткани и ассоциируется с отрицательным исходом восстановления репродукции. Уровень ТИМП-1 в пределах 2400–2450 нг/мл следует считать критерием успешного наступления беременности в программах ЭКО.

Полученные данные позволят создать схему патогенетически обоснованного лечения, направленную на коррекцию образования коллагена, особенно при наличии воспалительных, дисгормональных, иммунодефицитных состояний в репродуктивных органах, а также при системных заболеваниях. Проведение метаболической терапии позволит нивелировать неблагоприятное влияние развития патологического склерозирования при высоких концентрациях ТИМП-1.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Этическое одобрение. Все процедуры, проводимые в исследованиях с участием людей, соответствовали этическим стандартам институционального и/или национального исследовательского комитета, а также Хельсинкской декларации 1964 г. и ее более поздним поправкам или сопоставимым этическим стандартам. Для этого вида обучения формального согласия не требуется.

Ethical approval. All procedures carried out in research involving people have met the ethical standards of the institutional and/or national research committee, as well as the Helsinki Declaration of 1964 and its later amendments or comparable ethical standards. No formal consent is required for this type of training.

Литература/References

1. Шадрина А.С., Плиева Я.З., Кушлинский Д.Н., и др. Классификация, регуляция активности, генетический полиморфизм матричных металлопротеиназ в норме и при патологии. *Альманах клинической медицины*. 2017;45(4):266-79 [Shadrina AS, Plieva YaZ, Kushlinskii DN, et al. Klassifikatsiia, reguliatsiia aktivnosti, geneticheskii polimorfizm matriksnykh metalloproteinaz v norme i pri patologii. *Al'manakh klinicheskoi meditsiny*. 2017;45(4):266-79 (in Russian)]. DOI:10.18786/2072-0505-2017-45-4-266-279
2. Маркелова Е.В., Здор В.В., Романчук А.Л., Бирко О.Н. Матричные металлопротеиназы, их взаимосвязь с системой цитокинов, диагностический и прогностический потенциал. *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. 2016;2:11-22 [Markelova EV, Zdor VV, Romanchuk AL, Birko ON. Matriksnyye metalloproteinazy, ikh vzaimosv'iaz' s sistemoi tsitokinov, diagnosticheskii i prognosticheskii potentsial. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya*. 2016;2:11-22 (in Russian)]. DOI:10.14427/jipai.2016.2.11
3. Потеряева О.Н. Матричные металлопротеазы: строение, регуляция, роль в развитии патологических состояний (обзор литературы). *Медицина и образование Сибири*. 2010;5:7 [Poteriaeva ON. Matriksnyye metalloproteazy: stroenie, reguliatsiia, rol' v razvitii patologicheskikh sostoianii (obzor literatury). *Meditsina i obrazovanie Sibiri*. 2010;5:7 (in Russian)]. DOI:10.1189/jlb.0607338
4. Ярмолинская М.И., Молотков А.С., Денисова В.М. Матричные металлопротеиназы и ингибиторы: классификация, механизм действия. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2012;1:113-25 [Iarmolinskaia MI, Molotov AS, Denisova VM. Matriksnyye metalloproteinazy i ingibitory: klassifikatsiia, mekhanizm deistviia. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznei*. 2012;1:113-25 (in Russian)].
5. Zhou HY, Wong AS. Activation of p70S6K induces expression of matrix metalloproteinase 9 associated with hepatocyte growth factor-mediated invasion in human ovarian cancer cells. *Endocrinology*. 2006;147(5):2557-66.
6. Natoli AK, Medley TL, Ahimastos AA, et al. Sex steroids modulate human aortic smooth muscle cell matrix protein deposition and matrix metalloproteinase expression. *Hypertension*. 2005;46(5):1129-34.
7. Трубникова Л.И., Таджиева В.Д., Маринова О.А., Аввакумова Т.В. Клиническая значимость уровней ММП-1 и ТИМП-1 в фолликулярной жидкости при различных исходах ВРТ. *Ульяновский медико-биологический журнал*. 2017;4:59-68 [Trubnikova LI, Tadzhieva VD, Marinova OA, Avvakumova TV. Klinicheskaya znachimost' urovnei MMP-1 i TIMP-1 v follikuliarnoi zhidkosti pri razlichnykh iskhodakh VRT. *Ul'ianovskii mediko-biologicheskii zhurnal*. 2017;4:59-68 (in Russian)].
8. Михеев А.В., Баскевич М.А. Роль матричных металлопротеиназ в развитии заболеваний легких. *Наука молодых*. 2015;1:106-15 [Mikheev AV, Baskevich MA. Rol' matriksnykh metalloproteinaz v razvitii zabolevanii legkikh. *Nauka molodykh*. 2015;1:106-15 (in Russian)].
9. Рогова Л.Н., Шестерина Н.В., Замечник Т.В., Фастов И.А. Матричные металлопротеиназы, их роль в физиологических и патологических процессах (обзор). *Вестник новых медицинских технологий*. 2011;2:86-9 [Rogova LN, Shesterina NV, Zamechnik TV, Fastov IA. Matriksnyye metalloproteinazy, ikh rol' v fiziologicheskikh i patologicheskikh protsessakh (obzor). *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologii*. 2011;2:86-9 (in Russian)].
10. Webster NL, Crowe SM. Matrix metalloproteinases, their production by monocytes and macrophages, and their potential role in HIV-related diseases. *J Leukoc Biol*. 2006;80(5):1-15.
11. Тепляков А.Т., Адриянова А.В., Пушников Е.Ю., и др. Тканевой ингибитор матричных металлопротеиназ-1 (ТИМП-1) как независимый маркер ишемического ремоделирования миокарда при хронической сердечной недостаточности. *Сибирский медицинский журнал*. 2014;29(2):28-34 [Teplakov AT, Adriyanova AV, Pushnikova EYu, et al. Tkanevoi ingibitor matriksnykh metalloproteinaz-1 (TIMP-1) kak nezavisimiy marker ishemicheskogo remodelirovaniia miokarda pri khronicheskoi serdechnoi nedostatochnosti. *Sibirskii meditsinskii zhurnal*. 2014;29(2):28-34 (in Russian)].

Статья поступила в редакцию / The article received: 04.06.2021

Статья принята к печати / The article approved for publication: 24.12.2021