

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ТРАНСПОРТНОЙ МЕДИЦИНЫ

ACTUAL PROBLEMS OF TRANSPORT MEDICINE



АКТУАЛЬНІ ПРОБЛЕМИ ТРАНСПОРТНОЇ МЕДИЦИНИ



ISSN 1818-9385 (print)

ISSN 1818-9385 (online)

- **о́кружающая среда**

навколишнє середовище
environment

- **профессиональное**

здоровье

професійне здоров'я
occupational health

- **патология**

патологія
pathology

2023

№ 4 (74)

Медицинский научный журнал

АКТУАЛЬНІ ПРОБЛЕМИ ТРАНСПОРТНОЇ МЕДИЦИНИ:

навколишнє середовище; професійне здоров'я; патологія

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ

Засновники: Український науково-дослідний інститут медицини транспорту Міністерства охорони здоров'я України та Фізико-хімічний інститут ім. О.В.Богатського Національної Академії наук України

№ 4 (74), 2023 р.

Заснований у серпні 2005 р.



Журнал є офіційним виданням Українського наукового товариства патофізіологів

Головний редактор	д.м.н. А.І.Гоженко	The editor-in-chief	A.I.Gozhenko
Науковий редактор	д.б.н. О.Г.Пихтєєва	The scientific editor	E.G.Pykhtieieva
Відповідальний секретар	к.б.н. Д.В.Большой	The responsible secretary	D.V.Bolshoy

Редакційна колегія

PhD П.Бартік (Словачія), PhD Н.С.Бадюк (Україна), д.м.н. Є.П.Белобров (Україна), PhD Е.А.Бормусова (Ізраїль), д.м.н. Р.С.Вастьянов (Україна), д.м.н. Л.І.Власик (Україна), д.м.н., чл.-кор. НАМНУ М.Р.Гжеготський (Україна), акад. НАМНУ, д.б.н. М.Я. Головенко (Україна), д.м.н. В.С.Гойдик (Україна), д.м.н. О.В.Горша (Україна), д.м.н. В.Жуков (Польща), д.м.н. С.В.Зябліцев (Україна), д.м.н. Л.А.Ковалевська (Україна), д.м.н., чл.-кор. НАМНУ М.О.Колісник (Україна), д.м.н. М.О. Клименко (Україна), д.б.н. І.А.Кравченко (Україна), д.м.н. Б.А.Насібуллін (Україна), д.м.н. Б.В.Панов (Україна), д.б.н. О.Г.Пихтєєва (Україна), д.м.н., чл.-кор. НАМНУ М.Г.Проданчук (Україна), д.б.н. Е.М.Псядло (Україна), д.м.н., М.С.Переда (Україна), д.м.н., д.м.н. Р.Мускієта (Польща), д.м.н. А.Рзаєва (Азербайджан), д.м.н. І.В.Савицький (Україна), д.м.н. І.В.Сергета (Україна), д.м.н., акад. НАМНУ А.М. Сердюк (Україна), д.м.н. Д.Г.Ставрев (Болгарія), д.м.н. А.Н.Стоянов (Україна), д.м.н., д.б.н. Третьякова О.В., д.м.н. К.Ш.Шайсултанов (Казахстан), д.м.н. К.О.Шаріпов (Казахстан), PhD К.Л.Шафран (Великобританія), д.м.н. В.В. Шевляков (Білорусь), д.м.н. О.М.Шевченко (Україна), д.м.н. В.В.Шухтін (Україна), д.м.н., акад. НАМНУ О.П.Яворовський (Україна)

Editorial board

P. Bartik (Slovakia), N.S.Baduk (Ukraine), Ye.P.Belobrov (Ukraine), E.A. Bormusova (Israel), R.S.Vastyanov (Ukraine), L.I.Vlasik (Ukraine), M.R.Gzhegotsky (Ukraine), N.Ya.Golovenko (Ukraine), V.S.Gojdyk (Ukraine), O.V.Gorsha (Ukraine), V.Zhukov (Poland), S.V.Ziablitsev (Ukraine), L.A.Kovalevska (Ukraine), M.O.Kolosnyk (Ukraine), M.A.Klymenko (Ukraine), I.A.Kravchenko (Ukraine), B.A.Nasibullin (Ukraine), B.V.Panov (Ukraine), E.G.Pykhtieieva (Ukraine), N.G.Prodanchuk (Ukraine), E.M.Psiadlo (Ukraine), M.S. Regeda (Ukraine), R.Muszkiet (Poland), A.Rzayeva (Azerbaijan), I.V.Savytskyi (Ukraine), V.Sergeta (Ukraine), A.M.Serdyuk (Ukraine), D.G.Stavrev (Bulgaria), A.N.Stoyanov (Ukraine), Tretyakova E.V. (Ukraine), K.Sh.Shaisultanov (Kazakhstan), K.O.Sharipov (Kazakhstan), K.L.Shafran (Great Britain), V.V.Shevlyakov (Belarus), Shevchenko O.M. (Ukraine), V.V.Shukhtin (Ukraine), O.P.Yavorovsky (Ukraine)

3

Адреса редакції:

вул. Канатна, 92, 65039, м. Одеса, Україна
Тел.: +380-50-988-98-94, +380-48-753-18-04
E-mail: med_trans@ukr.net

The address of editorial office:

Kanatnaya str., 92, 65039, Odessa, Ukraine
Phone: +380-50-988-98-94, +380-48-753-18-04
E-mail: med_trans@ukr.net

Журнал зареєстрований Держкомітетом по телебаченню та радіомовленню України
31 травня 2005 р. Свідоцтво: серія KB № 9901
ISSN 1818-9385 (print), ISSN 1818-9393 (online)

The Journal is registered by the State Committee on TV and broadcasting of Ukraine
May 31, 2005. The certificate: series KB № 9901
ISSN 1818-9385 (print.), ISSN 1818-9393 (online)

Рукописи не повертаються авторам. Відповідальність за достовірність та інтерпретацію даних несуть автори статей. Редакція залишає за собою право скорочувати матеріали по узгодженню з автором.

Manuscripts are not returned to the authors. Authors bear all responsibilities for correctness and reliability of the presented data. Edition retains the right to reduce the size of the materials in agreement with the author.

Журнал внесений до переліку видань, у яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт з біології та медицини (Категорія «Б», наказ міністра науки і освіти України № 886 від 02.07.2020)
Журнал зареєстрований в міжнародній наукометричній базі Scopus (Польща)

Роботи, що представлені в цьому номері, рекомендовані до друку Редакційною колегією журналу після сліпого рецензування

Періодичність — 4 рази на рік
Передплатний індекс 95316
Адреси електронної версії:

<http://aptn.com.ua/>; <http://www.medtrans.com.ua/>; http://www.nbu.gov.ua/portal/Chem_Biol/Aptm/texts.html

© Науковий журнал „Актуальні проблеми транспортної медицини”, 2005 р.

Підписано до друку 15.12.2023 р. Гарнітура Pragmatica. Формат 64x90 / 8. Друк офсетний. Ум. печ. лист. 15,2.
Надруковано з готового макету в друкарні "ART-V". м Одеса, вул. Комітетська, 24А.

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ТРАНСПОРТНОЙ МЕДИЦИНЫ:

окружающая среда; профессиональное здоровье; патология

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Украинского научно-исследовательского
института медицины транспорта
Министерства здравоохранения Украины и
Физико-химического института
им. А.В.Богатского Национальной академии
наук Украины



№ 4 (74), 2023 г.

Основан в августе 2005 г.

Зміст:	7	Content:
Оглядові статті	7	Review Articles
ВИВЧЕННЯ ДЕЯКИХ АПІПРОДУКТІВ ЯК ПРИРОДНИХ ІМУНОМОДУЛЯТОРІВ — Боднарюк Н. В., Лакманюк Ю.Р., Устянська О. В., Радаєва І. М., Александрова О. І., Поліщук Л. М., Грицук О.І.	7	STUDY OF SOME APIPRODUCTS AS NATURAL IMMUNOMODULATORS — Bodnariuk N.V., Lakhmanyuk Y.R., Ustianska O.V., Radajeva I.M., Aleksandrova O.I., Polishchuk L.M., Gritsuk O.I.
РОЗВИТОК НЕЙРОЕПІДЕМІОЛОГІЇ У СВІТІ. ІСТОРІЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ (Огляд) — Зюзін В.О.1, Клименко М.О., Усов В.Я., Ковальчук Л.Й.	14	DEVELOPMENT OF NEUROEPIDEMIOLOGY IN THE WORLD. HISTORY AND PROSPECTS (REVIEW) — Zyuzin V.O., Klymenko M.O., Usov V.Ya., Kovalchuk L.Y.
Організація охорони здоров'я	21	Health care organization
ФАРМАКОЕКОНОМІЧНИЙ ЕФЕКТ ВПРОВАДЖЕННЯ РЕГІОНАЛЬНОГО РЕЄСТРУ ЗАХВОРЮВАНЬ, ЩО ПРОЯВЛЯЮТЬСЯ ПАРКІНСОНІЗМОМ — Хубетова І.В., Слободін Т.М.	21	PHARMACOECONOMIC EFFECT OF THE INTRODUCTION OF THE REGIONAL REGISTRY OF DISEASES MANIFESTED BY PARKINSONISM — Hubetova I.V., Slobodin T.M.
Клинические аспекты медицины транспорта	31	Clinical Aspects of Transport Medicine
ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ПАРАМЕТРІВ БІОХІМІЧНОГО, ІМУНОЛОГІЧНОГО ТА ГЕНЕТИЧНОГО ПРОФІЛЮ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГЕПАТИТ С — Усиченко К.М.	31	INTERRELATION OF PARAMETERS OF BIOCHEMICAL, IMMUNOLOGICAL AND GENETIC PROFILE IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C — Usychenko K.M.
АКТИВНІСТЬ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ СИНТАЗИ ОКСИДУ АЗОТУ В ЕНДОМЕТРІЇ ЖІНОК З ІМПЛАНТАЦІЙНОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ В ПЕРІОД ОЧІКУВАННЯ ВІКНА ІМПЛАНТАЦІЇ — Демидчик Р. Я., Носенко О. М., Насібулін Н. А.	37	ACTIVITY OF ENDOTHELIAL NITRIC OXIDE SYNTHASE IN THE ENDOMETRIUM OF WOMEN WITH IMPLANTATION FAILURE DURING THE EXPECTED IMPLANTATION WINDOW — Demidchik R.Ya., Nosenko O. M., Nasibulin N. A.
РОЛЬ ПРОКАЛЬЦИТОНІНУ У РАННІЙ ДІАГНОСТИЦІ ІНФЕКЦІЙНИХ УСКЛАДНЕНЬ ПРИ ПЕРЕЛОМАХ ДОВГИХ КІСТОК НА ТЛІ COVID-19 — Скобенко Є.О.	45	THE ROLE OF PROCALCITONIN IN THE EARLY DIAGNOSIS OF INFECTIOUS COMPLICATIONS IN FRACTURES OF LONG BONES AGAINST THE BACKGROUND OF COVID-19 — Skobenko E.O.

УДК 612.663.5-08:618.14-008.64:611.664:577.152.166
DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo10418070>

АКТИВНІСТЬ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ СИНТАЗИ ОКСИДУ АЗОТУ В ЕНДОМЕТРІЇ ЖІНОК З ІМПЛАНТАЦІЙНОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ В ПЕРІОД ОЧІКУВАНОГО ВІКНА ІМПЛАНТАЦІЇ

¹Демидчик Р. Я., ¹Носенко О. М., ²Насібулін Н. А.

¹Одеський національний медичний університет, Україна

²ДУ «Український Науково-дослідний інститут медичної реабілітації та курортології МОЗ України», Одеса, Україна
nosenko.olena@gmail.com

АКТИВНОСТЬ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ СИНТАЗЫ ОКСИДА АЗОТА В ЭНДОМЕТРИИ ЖЕНЩИН С ИМПЛАНТАЦИОННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ В ПЕРИОД ОЖИДАЕМОГО ОКНА ИМПЛАНТАЦИИ

¹Демидчик Р. Я., ¹Носенко Е. Н., ²Насибулин Н. А.

¹Одесский национальный медицинский университет, Украина

²ГУ «Украинский Научно-исследовательский институт медицинской реабилитации и курортологии МОЗ Украины», Одесса, Украина
nosenko.olena@gmail.com

ACTIVITY OF ENDOTHELIAL NITRIC OXIDE SYNTHASE IN THE ENDOMETRIUM OF WOMEN WITH IMPLANTATION FAILURE DURING THE EXPECTED IMPLANTATION WINDOW

¹Demidchik R. Ya., ¹Nosenko O. M., ²Nasibulin N. A.

¹Odessa National Medical University, Ukraine

²State Institution "Ukrainian Research Institute of Medical Rehabilitation and Balneology of the Ministry of Health of Ukraine", Odessa, Ukraine
nosenko.olena@gmail.com

In the female reproductive system, NO influences subsequent reproductive processes. NO is synthesized in all tissues by the oxidation of L-arginine to L-citrulline with the participation of the enzyme nitric oxide synthase (NOS). The purpose of the study was to determine the activity of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) in the endometrium of women with implantation failure during the expected implantation window. *Material and methods.* We observed 68 women with group 1 infertility who were treated in in vitro fertilization - embryo transfer (IVF-ET) programs and had at least two unsuccessful attempts to ET euploid embryos of good quality, and 30 control women. By histochemical method according to D.E. Korzhevsky determined eNOS activity in the endometrium during the expected implantation window. *Results.* When assessing the expression of eNOS in the endometrium of patients in group 1 on the day of the expected implantation window, it was found that the background color of the preparations was absent in most cases or was pale violet. In the vast majority of endometrial preparations from women with implantation failure, the background activity of eNOS was uneven. Areas of weak background activity in the stroma alternated with areas of high background activity. Uneven eNOS activity was also observed in epithelial cells of the luminal layer of the endometrium. In some cases,

on the plane of the endometrial section from patients in group I, cells were identified along the contour of which blue granules were located. **Conclusions.** The weak and uneven activity of eNOS in the endometrium during the implantation window may be one of the key factors in its receptive failure in women with implantation failure in IVF-ET cycles.

Key words: *infertility, in vitro fertilization, implantation failure, endometrium, endothelial nitric oxide synthase, histochemical method.*

У жіночій репродуктивній системі NO впливає на послідовні репродуктивні процеси. NO синтезується в усіх тканинах шляхом окислення L-аргініну до L-цитруліну за участю ферменту синтази оксиду азоту (NOS). Метою проведеного дослідження стало визначення активності ендотеліальної синтази оксиду азоту (eNOS) в ендометрії жінок з імплантаційною недостатністю в період очікуваного вікна імплантації. *Матеріал та методи.* Під спостереженням знаходилося 68 жінок з безпліддям групи 1, які проходили лікування у програмах запліднення *in vitro* – ембріотрансфер (IVF-ET) й мали не менше двох невдалих спроб ET еуплоїдних ембріонів гарної якості і 30 жінок контролю. За гістохімічним методом Д.Е. Коржевського визначали активність eNOS в ендометрії в період передбачуваного вікна імплантації. *Результати.* При оцінці експресії eNOS в ендометрії пацієнток групи 1 у день очікуваного вікна імплантації встановлено, що фонове забарвлення препаратів у більшості випадків було або відсутнім або блідо-фіалковим. У переважній кількості препаратів ендометрія від жінок з імплантаційною недостатністю фонові активність eNOS була нерівномірною. Ділянки слабкої фонові активності в стромі чергувалися з ділянками високої фонові активності. Нерівномірність активності eNOS також спостерігалася в епітеліоцитах люмінального шару ендометрія. У деяких випадках на площині зрізу ендометрія від пацієнток групи I визначали клітини, по контуру яких були розташовані гранули синього кольору. *Висновок.* Слабка та нерівномірна активність eNOS в ендометрії під час вікна імплантації може бути одним з ключових чинників його рецептивної нездатності у жінок з імплантаційною недостатністю в циклах IVF-ET.

Ключові слова: *безпліддя, запліднення in vitro, імплантаційна недостатність, ендометрій, ендотеліальна синтаза оксиду азоту, гістохімічний метод.*

В женской репродуктивной системе NO оказывает влияние на последовательные репродуктивные процессы. NO синтезируется во всех тканях путем окисления L-аргинина до L-цитрулина с участием фермента синтазы оксида азота (NOS). Целью проведенного исследования явилось определение активности эндотелиальной синтазы окиси азота (eNOS) в эндометрии женщин с имплантационной недостаточностью в период ожидаемого окна имплантации. *Материал и методы.* Под наблюдением находилось 68 женщин с бесплодием группы 1, которые проходили лечение в программах оплодотворения *in vitro* – эмбриотрансфер (IVF-ET) и имели не менее двух неудачных попыток ET эуплоидных эмбрионов хорошего качества, и 30 женщин контроля. Гистохимическим методом по Д.Э. Коржевскому определяли активность eNOS в эндометрии в период предполагаемого окна имплантации. *Результаты.* При оценке экспрессии eNOS в эндометрии пациенток группы 1 в день ожидаемого окна имплантации установлено, что фоновая окраска препаратов в большинстве случаев отсутствовала или была бледно-фиалковой. В подавляющем количестве препаратов эндометрия от женщин с имплантационной недостаточностью фоновая активность eNOS была неравномерной. Участки слабой фоновой активности в строме чередовались с участками высокой фоновой активности. Неравномерность активности eNOS также наблюдалась в эпителиоцитах люминального слоя эндометрия. В некоторых

случаях на плоскости среза эндометрия от пациенток группы I определяли клетки, по контуру которых были расположены гранулы синего цвета. **Выводы.** Слабая и неравномерная активность eNOS в эндометрии во время окна имплантации может быть одним из ключевых факторов его рецептивной неспособности у женщин с имплантационной недостаточностью в циклах IVF-ET.

Ключевые слова: бесплодие, оплодотворение *in vitro*, имплантационная недостаточность, эндометрий, эндотелиальная синтаза оксида азота, гистохимический метод.

Біологічне окислення і кооперативна взаємодія окислювальних і відновлювальних процесів як найважливішого компонента гомеостазу при багатьох захворюваннях і патологічних станах порушується і є актуальною медико-біологічною проблемою. Структурно-метаболічні процеси, які перебігають в аеробних умовах організму, пов'язані з утворенням невеликих концентрацій цілого ряду активних інтермедіатів кисню та азоту [1]. Усі вони реакційноздатні та володіють широким спектром дії. З одного боку, деякі з них приймають участь у процесі сигнальної транскрипції та регуляції ряду основних функцій організму, з іншого боку, у силу своєї високої хімічної активності вони мають яскраво виражену гено- та цитотоксичну дію і внаслідок цього становлять серйозну небезпеку для організму [1]. Деякі дослідники дотримують думки, що активні радикали азоту є лише підмножиною активних радикалів кисню, і важко відокремити дію перших від дії других, бо вони відіграють важливу роль у реалізації нормальних фізіологічних процесів [2].

До минулого століття оксид азоту (NO) вважався простою неорганічною молекулою, токсичною для живих організмів. Сьогодні NO привертає все більшу увагу в різних галузях науки про життя і став науково-дослідною точкою в біомедицині. У 1992 році американський журнал «Science» назвав NO «молекулою-зіркою», а в 1998 році трьом американським фармакологам було присуджено Нобелівську премію з фізіології та медицини за відкриття «NO як сигнальної молекули серцево-судинної системи» [3].

NO є клітинним месенджером і ефекторною молекулою у клітинах усіх

органів і тканин людини та тварин [2, 4]. Він має просту структуру, легку дифузю, сильну реакційну здатність, живі та нестабільні властивості та короткий біологічний період напіввиведення (від 2 до 30 с). NO вільно проникає через біологічні мембрани та легко вступає в реакції з іншими сполуками [5]. Крім того, NO – неорганічний вільний радикал із подвійними функціями в організмах – це особлива молекула передачі біологічного сигналу, яка бере участь у різноманітних фізіологічних і патологічних процесах у нервовій, кровоносній, дихальній, травній та імунній системах [4]. Він ініціює функції розвитку та велику кількість захисних і гомеостатичних механізмів шляхом безпосередньої дії або активації внутрішньоклітинної сигналізації. Існуючі в літературі дані дозволили навіть висунути ідею, що NO є гормоном, який після свого синтезу в тканинах стабілізується й транспортується до клітин-мішеней у вигляді нітриту та/або нітрозотіолів [2].

NO синтезується в усіх тканинах шляхом окислення L-аргініну до L-цитруліну за участю ферменту синтази оксиду азоту (NOS), що супроводжується утворенням NO. Реакція NO *in vivo* (L-аргінін + 3/2 NADPH + H⁺ + 2O₂ = цитрулін + NO + 3/2 NADP) каталізується NOS [3]. Система генерації NO є надзвичайно чутливою та швидко реагує на зміни, що відбуваються в організмі [2].

Існує три ізоформи NOS: ендотеліальна (eNOS), нейрональна (nNOS) та індукцйбельна (iNOS). nNOS, також відома як NOS1, існує в нейронах, тоді як eNOS (або NOS3) поширена в ендотеліальних клітинах, і обидві виявляють Ca²⁺ / кальмодулін-залежну конститутивну екс-

пресію, тому їх також позначають як конститутивну NOS (cNOS). Зараз визнано, що nNOS та eNOS мають ширший розподіл у клітинах і тканинах, а також регулюються цитокинами, мікробними продуктами та гормонами [6]. nNOS і eNOS конститутивно експресуються в здорових умовах, та їх виробництво залежить від кальцію, тоді як iNOS не експресується, якщо не індукується прозапальними цитокинами або ендотоксинами, часто при патології [7].

У жіночій репродуктивній системі NO впливає на послідовні репродуктивні процеси, такі як розвиток фолікулів, дозрівання ооцитів, овуляція, дегенерація жовтого тіла, запліднення, імплантація ембріона, збереження вагітності, регуляція пологів і регуляція менструального циклу [3]. В експерименті встановлено, що надмірне виробництво або дефіцит активних форм кисню та азоту (ROS/RNS) викликає апоптоз і пригнічує ембріональний розвиток у мишей [8].

Для нормальної імплантації ембріонів потрібне відповідне середовище матки, а активність NOS в матці значно підвищується перед імплантацією, що вказує на те, що NO необхідний для формування мікрооточення в матці. Перешкоджання виробленню NO призводить до аномальної імплантації. У процесі імплантації ембріона ендометрій зазнає складні зміни. Оскільки NO може розслабити м'язовий шар і гладкі м'язи судин, пригнічувати агрегацію тромбоцитів і відігравати важливу роль у запаленні, він є сильним кандидатом на роль опосередкованої ролі різних стероїдних гормонів і цитокінів в ендометрії та децидуальній оболонці [3].

У клініці репродукції якщо більше двох пересадок ембріонів не призводять до вагітності, часто використовується термін «повторна невдача імплантації» (або імплантаційна недостатність). Досі багато невідомо щодо причин невдалої імплантації та того, чи пов'язані ці причини з матір'ю, батьком, ембріоном чи всіма трьома [9]. Одним з таких чинників

може бути порушена активність eNOS в ендометрії. Дані про це поодинокі та суперечливі.

Метою проведеного дослідження стало визначення активності ендотеліальної синтази окису азоту в ендометрії жінок з імплантаційною недостатністю в період очікуваного вікна імплантації.

Матеріал та методи

Дослідження проводилося на кафедрі акушерства та гінекології Одеського національного медичного університету (ОНМедУ), Університетської клініки «Центр реконструктивної та відновної медицини» ОНМедУ, ТОВ «Клініка репродуктивної медицини «Надія Одеса» та у групі патоморфології та гістохімії ДУ «Український Науково-дослідний інститут медичної реабілітації та курортології МОЗ України». Дослідження виконувалося за період з 2021 по 2023 рік, ухвалено Комісією з питань біоетики (протокол №2/21 від 08. 11. 2021). Від усіх пацієнток отримана інформована згода на участь в дослідженні.

Під спостереженням знаходилося 68 жінок з безпліддям групи 1, які проходили лікування у програмах запліднення *in vitro*-ембріотрансфер (IVF-ET) з використанням контрольованої оваріальної стимуляції антагоністами гонадотропін-рилізінг-гормонів, переносом відігрітих/вітрифікованих ембріонів в сегментованому циклі й мали не менше двох невдалих спроб ET. Отримані ембріони генетично тестували, вітрифікували і перенесли тільки еуплоїдні ембріони. Контрольну групу склали 30 здорових фертильних жінки.

Критерії включення пацієнток у дослідження: безпліддя, пов'язане з трубним або чоловічим фактором; регулярні овуляторні менструальні цикли; базальний рівень ФСГ < 11 мМО/мл; кількість антральних фолікулів на 3-5-й день МЦ від 7 до 12 у максимальному ехографічному зрізі яєчників; лікування безпліддя методом IVF-ET; наявність у минулому не менше двох переносів еуплоїдних ембріонів; відсутність органічних гінекологічних зах-

ворювань, ендокринних порушень, функціональних судинних розладів (наприклад артеріальної гіпертензії) та генітального ендометріозу; відсутність прийому гормональних препаратів впродовж останніх 6 місяців; відсутність історії табакокуріння.

Забір зразків ендометрія здійснювали на 21-22-й день менструального циклу під час очікуваного вікна імплантації. Матеріал фіксували у 5% розчині формаліну. Половину матеріалу проводили крізь спирти зростаючої концентрації і заливали в целоїдин за стандартною методикою. З другої половини виготовляли кріостатні блоки з використанням сухої вуглекислоти. З целоїдинових блоків готували гістологічні зрізи 7-9 мкм завтовшки, які фарбували гематоксиліном та еозином. З кріостатних блоків готували зрізи 11 мкм завтовшки. У кріостатних зрізах за методикою Д. Е. Коржевського [10] гістохімічним методом визначали активність NO-синтази. Зрізи фіксували у парах 4%-вого параформальдегіду 30 хв. Потім проводилася інкубація в середовищі в термостаті при температурі 37°C 30 хв. Додавали НАДФ-Н 2 мг, НСТ 1 мг/2мл фосфат буферу з рН 7,2, три краплі 0,3%-вого розчину Тритон X-100. Промивали у воді, потім у 2%-вому алюмо-калієвому галуні, потім знову у воді. Зрізи укладали під гліцерин-желатину, накривали покривним склом. Отримані препарати досліджували за

допомогою світлового мікроскопа.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою пакета прикладних програм Excel, розраховували середнє значення (M), похибку стандартного відхилення ($\pm SE$), критерій t Стьюдента. Статистично значущими вважали відмінності між контролем і дослідом при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Середній вік обстежених жінок у групі 1 склав $31,31 \pm 0,40$ років, у групі контролю – $30,98 \pm 0,63$ років ($p > 0,05$); індекс маси тіла – $21,94 \pm 0,45$ кг/м² проти $22,47 \pm 0,51$ кг/м² ($p > 0,05$). У пацієток з імплантаційною недостатністю тривалість безпліддя дорівнювала $9,26 \pm 0,30$ років, кількість ЕТ склала $4,43 \pm 0,14$. Первинне безпліддя було у групі 1 у 45,71% пацієток і вторинне – у 54,29% осіб.

При гістохімічному дослідженні встановлено, що eNOS експресувалася у всіх шарах ендометрія як в контролі, так і у групі 1. Слабке фонове забарвлення eNOS було виявлено в стромі і ендотелії судин. Експресія eNOS під час перебарчуваного вікна імплантації була значно вищою в залозистому епітелії і люмінальному епітелії у пацієток обох груп.

При оцінці експресії eNOS в ендометрії пацієток групи 1 у день очікуваного вікна імплантації встановлено, що фонове забарвлення препаратів у більшості випадків було або відсутнім

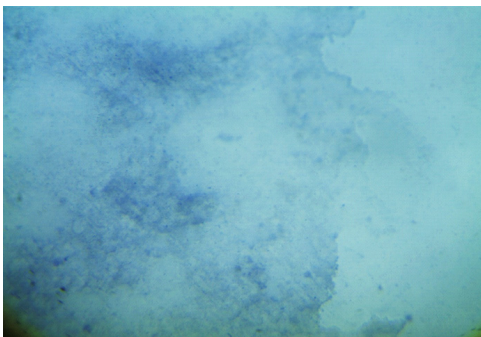


Рис. 1. Ендометрій від пацієтки групи 1. Слабка активність eNOS: фонове і в епітеліоцитах. Є ділянки з сильною фоновією активністю. Забарвлення за методом Д. Е. Коржевського. 3б. $\times 400$.

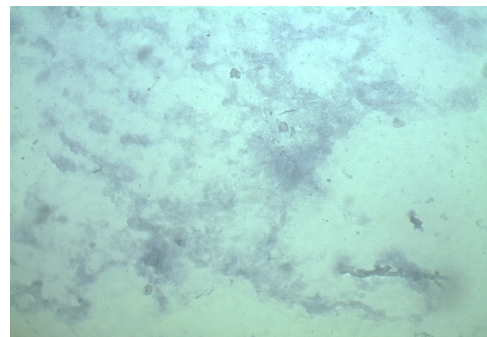


Рис. 2. Ендометрій від пацієтки групи 1. Фонове активність eNOS в стромі ендометрія слабка (ослаблення кольору). В частині просвітних епітеліальних клітин та залозистого епітелію від помірної до високої, в частині їх — слабка. Забарвлення за методом Д.Е. Коржевського. 3б. $\times 100$.

або блідо-фіалковим (рис. 1).

У переважній кількості препаратів ендометрія від жінок з імплантаційною недостатністю фонова активність eNOS була нерівномірною. Ділянки слабкої фонові активності в стромі чергувалися з ділянками високої фонові активності, як показано на рис. 1. Нерівномірність активності eNOS також спостерігалася в епітеліоцитах люмінального шару ендометрія (рис. 2).

Звісно, що в ендотеліальних клітинах, які знаходяться у стані покою, більша частина експресованої eNOS прикріплюється до кавеол, карманоподібних інвагінацій мембран, збагачених холестерином і сфінголіпідами. Локалізація eNOS в кавеолах інактивує фермент у результаті сильної та прямої взаємодії eNOS з кальвеоліном-1. Ця білок-білкова взаємодія інгібує активність eNOS, головним чином, втручаючись у сайт зв'язування кальмодуліна. Навпаки зв'язування Са кальмодуліну з eNOS заміщує кальвеолін-1 і сприяє активації eNOS. Можливо з цим явищем пов'язано те, що у деяких випадках на площині зрізу ендометрія від пацієнток циклів IVF-ET з імплантаційною недостатністю ми визначали клітини, по контуру яких були розташовані гранули синього кольору (рис. 3).

У жінок контрольної групи в період очікуваного вікна імплантації в ендометрії активність eNOS була помірною або високою як фонова, так і в епітеліоцитах (рис. 4).

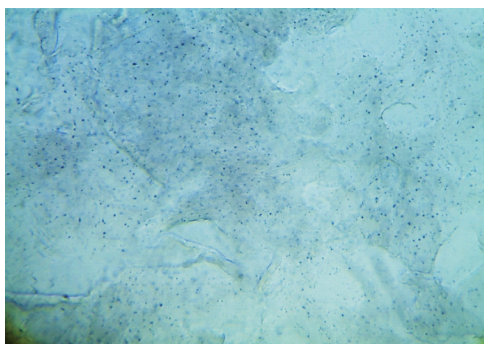


Рис. 3. Ендометрій пацієнтки групи 1. Випадіння гранул синього кольору поза клітинами. Активність eNOS фонова і в епітеліоцитах помірна. Забарвлення за методом Д.Е. Коржевського. 3б. × 400.

Незважаючи на те, що eNOS локалізується в люмінальних епітеліоцитах, епітелії залоз та стромі ендометрія, даних про її регуляцію та функцію в ендометрії у жінок мало, а механізми експресії та активності eNOS при імплантаційній недостатності у жінок вивчені недостатньо, результати звітів суперечливі.

Один із попередніх звітів [11] показав, що в ендометрії людини переважно експресується саме ендотеліальна ізоформа NOS, і вона головним чином імунолокалізується в залозистому епітелії, хоча її експресія також спостерігалася в інших компартментах ендометрія [12].

Проведене нами дослідження також показало, eNOS була локалізована в кровоносних судинах і була присутня в залозистих і просвітних епітеліальних клітинах, а також у стромі ендометрія. - Експресія eNOS у жінок з імплантаційною недостатністю відрізнялася нерівномірністю та різною інтенсивністю у різних ділянках ендометрія в день передбачуваного вікна імплантації

Звісно, що в нормі експресія білка eNOS ендометрія та мРНК змінюється протягом менструального циклу, так що середня секреторна фаза, тобто вікно імплантації, демонструє максимальну експресію eNOS [11, 13].

Виявлення причини безпліддя при імплантаційній недостатності є складним і часто пов'язане з накладанням етіології. Отже, через широке включення NO в біологію та фізіологію репродукції, ми

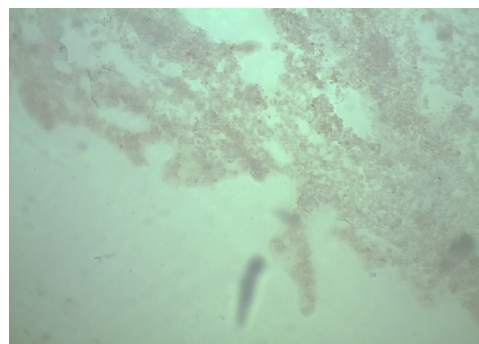


Рис. 4. Ендометрій жінки контрольної групи. Від помірної до високої активності eNOS фонова і в епітеліоцитах. Забарвлення за методом Д.Е. Коржевського. 3б. × 100.

припустили, що активність eNOS під час вікна імплантації може бути змінена при імплантаційній недостатності, і це можна розглядати як одну з потенційних причин нездатності завагітніти при проведенні циклів IVF-ET.

Всупереч отриманих нами даних, Najafi T. et al. (2012) повідомляли про значно вищу експресію eNOS в ендометрії у жінок із безпліддям невстановленої етіології [14]. Група припускала, що надмірна експресія eNOS спричиняє надлишкову генерацію NO, що призводить до невдачі підтримки ранньої вагітності. Недоліком цього дослідження було те, що розмір вибірки був досить малим ($n=10$).

Отримані нами дані співпадають з результатами досліджень Vanerjee P. et al. (2013) [15], де було показано, що недостатній синтез NO, отриманого під впливом eNOS, пов'язаний із вазоспазмом та інфарктом судин при ідіопатичних повторних спонтанних викиднях. Крім того, у цих жінок було виявлено поліморфізм гена eNOS, який, як припускають, є генетичною детермінантою ризику ідіопатичних повторних спонтанних викиднів. Це також відображено в наших поточних висновках при імплантаційній недостатності у жінок, де аномальна активність eNOS, як ми вважаємо, є одним із ключових факторів, що відіграють роль у невдачах імплантації.

Висновок

Слабка та нерівномірна активність eNOS в ендометрії під час вікна імплантації може бути одним з ключових чинників його рецептивної нездатності у жінок з імплантаційною недостатністю в циклах IVF-ET.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні ефективності застосування донаторів NO в комплексному відновленні рецептивності ендометрія в жінок з повторними невдачами імплантації в циклах IVF-ET.

Фінансування

Це дослідження не отримало зовнішнього фінансування.

Конфлікт інтересів

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів

Література

1. Состояние NO-синтазной окислительной системы и соединительной ткани у больных гастроканцерогенезом / Васильева И. М., Красносельский Н. В., Винник Ю. А. и др. // Український радіологічний журнал. – 2015. – Т. XXIII, № 4. – С.11-15.
2. Уровень оксида азота и активность его синтаз в ткани щитовидной железы пациентов с болезнью Грейвса / Калиниченко Е. В., Мишунина Т. М., Тронько Н. Д., Зурнаджи Л. Ю. // Эндокринология. – 2015. – Т. 20, № 3. – С. 582-589.
3. Roles of Nitric Oxide in the Regulation of Reproduction: A Review / Luo Y., Zhu Y., Basang W., et al. // Front Endocrinol. (Lausanne). – 2021. – Vol.12:752410. doi: 10.3389/fendo.2021.752410.
4. Zullino S. Nitric oxide and the biology of pregnancy / Zullino S., Buzzella F., Simoncini T. // Vascul. Pharmacol. – 2018. – Vol. 110. – P. 71-74.
5. Олещук О. М. Значення системи оксиду азоту у функціонуванні шлунка в нормі та при патології / Олещук О. М., Чорномидз А. В. // Медична та клінічна хімія. – 2016. – Т. 18, № 2. – С. 84-95.
6. Nitric Oxide Synthase Regulates Gut Microbiota Homeostasis by ERK-NF- κ B Pathway in Shrimp / Hong P. P., Zhu X. X., Yuan W. J., et al. // Front. Immunol. – 2021. – Vol. 12:778098.
7. Candidate neuroinflammatory markers of cerebral autoregulation dysfunction in human acute brain injury / Smith C. A., Carpenter K. L., Hutchinson P. J., et al. // J. Cereb. Blood Flow Metab. – 2023. Vol. 43, N 8. – P. 1237-1253.
8. Luo Z. Reactive oxygen and nitrogen species regulate porcine embryo development during pre-implantation period: A mini-review / Luo Z., Yao J., Xu J. // Anim. Nutr. – 2021. – Vol. 7, N 3. – P. 823-828.
9. ESHRE good practice recommendations on recurrent implantation failure / ESHRE Working Group on Recurrent Implantation Failure; Cimadomo D., de Los Santos M. J., et al. // Hum. Reprod. Open. – 2023. – Vol. 2023, N 3:hoad023.
10. Коржевский Д. Э. Определение интенсивности НАДФН-диафоразы в головном мозге крыс после фиксации разной длительности / Д. Э. Коржевский // Морфология. – 1996. – Т. 109, № 3. – С. 76-77.

11. Endometrial and myometrial expression of nitric oxide synthase isoforms in pre- and postmenopausal women / Khorram O., Garthwaite M., Magness R. R. // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1999. – Vol. 84, N 6. – P. 2226-32. doi: 10.3389/fimmu.2021.778098.
12. mRNA expressions of inducible nitric oxide synthase, endothelial nitric oxide synthase, and neuronal nitric oxide synthase genes in meningitis patients / Oztuzcu S., Igci Y. Z., Arslan A., et al. // Genet. Test Mol. Biomarkers. – 2011. – Vol. 15, N 3. – P. 147-52. doi: 10.1177/0271678X231171991.
13. Khorram O. Nitric oxide and its role in blastocyst implantation / O. Khorram // Rev. Endocr. Metab. Disord. – 2002. – Vol. 3, N 2. – P. 145-9. doi: 10.1016/j.aninu.2021.03.007.
14. Immunohistochemical localization of endothelial nitric oxide synthase in endometrial tissue of women with unexplained infertility / Najafi T., Ghaffari Novin M., Pakravesh J., et al. // Iran J. Reprod. Med. – 2012. – Vol. 10 (2). – P. 121-6. doi: 10.1093/hropen/hoad023.
15. Identification of key contributory factors responsible for vascular dysfunction in idiopathic recurrent spontaneous miscarriage / Banerjee P., Ghosh S., Dutta M., et al. // PLoS One. – 2013. – Vol. 8, N 11:e80940. doi: 10.1371/journal.pone.0080940.
7. Smith CA, Carpenter KL, Hutchinson PJ, Smielewski P, Helmy A. Candidate neuroinflammatory markers of cerebral autoregulation dysfunction in human acute brain injury. J Cereb Blood Flow Metab. 2023 Aug;43(8):1237-1253. doi: 10.1016/j.jcm.84.6.5759.
8. Luo Z, Yao J, Xu J. Reactive oxygen and nitrogen species regulate porcine embryo development during pre-implantation period: A mini-review. Anim Nutr. 2021 Sep;7(3):823-828. doi: 10.1089/gtmb.2010.0142.
9. ESHRE Working Group on Recurrent Implantation Failure; Cimadomo D, de Los Santos MJ, Griesinger G, Lainas G, Le Clef N, McLernon DJ, et al. ESHRE good practice recommendations on recurrent implantation failure. Hum Reprod Open. 2023 Jun 15;2023(3):hoad023. doi: 10.1093/hropen/hoad023.
10. Korzhevsky DE. Determination of NADPH-diaphorase intensity in the brain of rats after fixation of different durations. Morphology. 1996;109;3:76-77.
11. Khorram O, Garthwaite M, Magness RR. Endometrial and myometrial expression of nitric oxide synthase isoforms in pre- and postmenopausal women. J Clin Endocrinol Metab. 1999 Jun;84(6):2226-32. doi: 10.1023/a:1015459029397.
12. Oztuzcu S, Igci YZ, Arslan A, Sivasli E, Ozkara E, Igci M, et al. mRNA expressions of inducible nitric oxide synthase, endothelial nitric oxide synthase, and neuronal nitric oxide synthase genes in meningitis patients. Genet Test Mol Biomarkers. 2011 Mar;15(3):147-52. doi: 10.1089/gtmb.2010.0142.
13. Khorram O. Nitric oxide and its role in blastocyst implantation. Rev Endocr Metab Disord. 2002 May;3(2):145-9. doi: 10.1023/a:1015459029397.
14. Najafi T, Ghaffari Novin M, Pakravesh J, Foghi K, Fadayi F, Rahimi G. Immunohistochemical localization of endothelial nitric oxide synthase in endometrial tissue of women with unexplained infertility. Iran J Reprod Med. 2012 Mar;10(2):121-6.
15. Banerjee P, Ghosh S, Dutta M, Subramani E, Khalpada J, Roychoudhury S, et al. Identification of key contributory factors responsible for vascular dysfunction in idiopathic recurrent spontaneous miscarriage. PLoS One. 2013 Nov 15;8(11):e80940. doi: 10.1371/journal.pone.0080940.

References

1. Vasilyeva IM, Krasnoselsky NV, Vinnik YuA, Zhukov VI, Polikarpova AV. The state of the NO-synthase oxidative system and connective tissue in patients with gastroduodenal cancer. Ukrainian Radiological Journal. 2015; XXIII;4:11-15.
2. Kalinichenko EV, Mishunina TM, Tronko ND, Zurnadzi LYu. Level of nitric oxide and activity of its synthases in thyroid tissue of patients with Graves' disease. Endocrinology. 2015;20;3:582-589.
3. Luo Y, Zhu Y, Basang W, Wang X, Li C, Zhou X. Roles of Nitric Oxide in the Regulation of Reproduction: A Review. Front Endocrinol (Lausanne). 2021 Nov 19;12:752410. doi: 10.3389/fendo.2021.752410.
4. Zullino S, Buzzella F, Simoncini T. Nitric oxide and the biology of pregnancy. Vascul Pharmacol. 2018 Nov;110:71-74. doi: 10.1016/j.vph.2018.07.004.
5. Oleshchuk OM, Chornomidz AV. The values of the nitric oxide system in a functioning pouch are normal and in pathology. Medical and clinical chemistry. 2016;18;2:84-95. doi: 10.11603/mcch.2410-681X.2016.v0.i2.6679.
6. Hong PP, Zhu XX, Yuan WJ, Niu GJ, Wang JX. Nitric Oxide Synthase Regulates Gut Microbiota Homeostasis by ERK-NF-κB Pathway in Shrimp. Front Immunol. 2021 Dec 3;12:778098. doi: 10.3389/fimmu.2021.778098.
7. Smith CA, Carpenter KL, Hutchinson PJ, Smielewski P, Helmy A. Candidate neuroinflammatory markers of cerebral autoregulation dysfunction in human acute brain injury. J Cereb Blood Flow Metab. 2023 Aug;43(8):1237-1253. doi: 10.1177/0271678X231171991.
8. Luo Z, Yao J, Xu J. Reactive oxygen and nitrogen species regulate porcine embryo development during pre-implantation period: A mini-review. Anim Nutr. 2021 Sep;7(3):823-828. doi: 10.1016/j.aninu.2021.03.007.
9. ESHRE Working Group on Recurrent Implantation Failure; Cimadomo D, de Los Santos MJ, Griesinger G, Lainas G, Le Clef N, McLernon DJ, et al. ESHRE good practice recommendations on recurrent implantation failure. Hum Reprod Open. 2023 Jun 15;2023(3):hoad023. doi: 10.1093/hropen/hoad023.
10. Korzhevsky DE. Determination of NADPH-diaphorase intensity in the brain of rats after fixation of different durations. Morphology. 1996;109;3:76-77.
11. Khorram O, Garthwaite M, Magness RR. Endometrial and myometrial expression of nitric oxide synthase isoforms in pre- and postmenopausal women. J Clin Endocrinol Metab. 1999 Jun;84(6):2226-32. doi: 10.1210/jcem.84.6.5759.
12. Oztuzcu S, Igci YZ, Arslan A, Sivasli E, Ozkara E, Igci M, et al. mRNA expressions of inducible nitric oxide synthase, endothelial nitric oxide synthase, and neuronal nitric oxide synthase genes in meningitis patients. Genet Test Mol Biomarkers. 2011 Mar;15(3):147-52. doi: 10.1089/gtmb.2010.0142.
13. Khorram O. Nitric oxide and its role in blastocyst implantation. Rev Endocr Metab Disord. 2002 May;3(2):145-9. doi: 10.1023/a:1015459029397.
14. Najafi T, Ghaffari Novin M, Pakravesh J, Foghi K, Fadayi F, Rahimi G. Immunohistochemical localization of endothelial nitric oxide synthase in endometrial tissue of women with unexplained infertility. Iran J Reprod Med. 2012 Mar;10(2):121-6.
15. Banerjee P, Ghosh S, Dutta M, Subramani E, Khalpada J, Roychoudhury S, et al. Identification of key contributory factors responsible for vascular dysfunction in idiopathic recurrent spontaneous miscarriage. PLoS One. 2013 Nov 15;8(11):e80940. doi: 10.1371/journal.pone.0080940.

*Вперше надійшла до редакції 16.06.2023 р.
Рекомендована до друку на засіданні
редакційної колегії після рецензування*