

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**БІОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ**

**Кафедра фізіології, імунології і біохімії  
з курсом цивільного захисту та медицини**

**Кваліфікаційна робота  
магістра**

**на тему: ПОКАЗНИКИ КЛІТИННОЇ ЛАНКИ СПЕЦИФІЧНОГО ІМУНІТЕТУ  
У ЖІНОК З РИЗИКОМ РОЗВИТКУ  
СИНДРОМУ ГІПЕРСТИМУЛЯЦІЇ ЯЄЧНИКІВ**

Виконала: студентка 2 курсу, групи 8.0911-б  
спеціальності 091 Біологія  
освітньої програми Біологія  
Вінникова В. О.

Керівник доцент, к.б.н., Копійка В. В.

Рецензент доцент, к.б.н., Григорова Н. В.

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**  
**ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Факультет біологічний

Кафедра фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини

Рівень вищої освіти магістр

Спеціальність 091 біологія

Освітня програма Біологія

**ЗАТВЕРДЖЮ**

Завідувач  
кафедри

Куц О. Г.

«29» вересня 2021 р.

**ЗАВДАННЯ**  
**НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТЦІ**

Вінниковій Варварі Олександрівні  
(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Показники клітинної ланки специфічного імунітету у жінок з ризиком розвитку синдрому гіперстимуляції яєчників Indicators of the cellular link of specific immunity in women at risk of ovarian hyperstimulation syndrome

керівник роботи Копійка Віра Вікторівна, к.б.н., доцент

затверджена наказом ЗНУ від «12» липня 2022 р. №834-с

2. Строк подання студентом роботи грудень 2022 року

3. Вихідні дані до роботи Синдром гіперстимуляції яєчників вважається негативним, ушкоджуючим наслідком індукції овуляції при лікуванні безплідності під час циклів екстракорпорального запліднення

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно зробити): 1) визначити вміст загальної кількості лейкоцитів та проаналізувати лейкоцитарну формулу крові у жінок з ризиком розвитку синдрому гіперстимуляції яєчників; 2) встановити інформативність цитоморфометричних показників лімфоцитів периферичної крові як прогностичного лабораторного маркера ризику ускладнень гормональної стимуляції при використанні репродуктивних технологій.

5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень) рисунків: рис. 1.1–1.4, табл. 3.1–3.2

6. Консультанти роботи з вказівкою розділу

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Розділ 4	Гороховський Є. Ю., к.б.н., доцент		

7. Дата видачі завдання 29.09.2021 р.

**КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН**

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів проекту	Примітка
1	Пошук джерел літератури до теми кваліфікаційної роботи	Вересень - листопад 2021	Виконано
2	Оформлення розділу з огляду літератури	Грудень 2021	Виконано
3	Формування розділу «Матеріали та методи дослідження»	Січень 2022	Виконано
4	Формування бази експериментальних даних	Вересень 2021 – вересень 2022	Виконано
5	Статистична обробка експериментальних даних	жовтень 2022	Виконано
6	Формування дипломної роботи	Листопад 2022	Виконано
7	Оформлення матеріалів до захисту	Грудень 2022	Виконано
8	Попередній захист дипломної роботи	Грудень 2022	Виконано

Студентка \_\_\_\_\_ В. О. Вінникова

Керівник роботи (проекту) \_\_\_\_\_ В. В. Копійка

**Нормоконтроль пройдено**

Нормоконтролер \_\_\_\_\_ Є. Ю. Гороховський

## РЕФЕРАТ

Робота викладена на 56 сторінках друкованого тексту, містить 2 таблиці та 4 рисунка. Перелік посилань включає 79 джерел.

Мета дослідження: вивчення особливостей імунологічних особливостей функціонування основних імунокомпетентних клітин специфічного імунітету – лімфоцитів в умовах використання допоміжних репродуктивних технологій при ризику розвитку синдрому гіперстимуляції яєчників.

Обстежено 17 пацієток віком від 22 до 31 року (дослідна група), які мали початкові клінічні ознаки синдрому гіперстимуляції яєчників та наявність формування при гормональній стимуляції більше 10 фолікулів за даними УЗД. Групою контролю були 11 жінок 19-28 років, які проходили планове профілактичне обстеження.

У зразках венозної крові підраховували загальну кількість лейкоцитів за П'ятницьким, лейкоцитарну формулу крові та у мазках крові паралельно проводили цитоморфометричні вимірювання лімфоцитів.

Теоретичне значення роботи: результати роботи поширюють уявлення щодо особливостей розвитку та механізмів імунних реакції при розгортанні синдрому гіперстимуляції яєчників.

Практичне значення роботи: визначення ранніх, доклінічних лабораторних прогностичних маркерів щодо розгортання синдрому гіперстимуляції яєчників.

Наукова новизна: доведена інформативність цитоморфометричних функціональних класів лімфоцитів як одних з ранніх прогностичних маркерів розвитку синдрому гіперстимуляції яєчників.

**СИНДРОМ ГІПЕРТИМУЛЯЦІЇ ЯЄЧНИКІВ, ЗАГАЛЬНОКЛІНІЧНІ ПОКАЗНИКИ, КРОВ, ЦИТОМОРФОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ, ЛІМФОЦИТИ**

## ABSTRACT

The work is presented on 56 pages of printed text, contains 3 tables and 3 figures. The list of references includes 51 sources.

The purpose of the work is to evaluate the diagnostic value of the determination of vanillylmandelic acid in daily urine as a laboratory marker of pheochromocytoma and neuroblastoma.

Research methods – determination of the concentration of vanillylmandelic, homovanillic acids and metanephrines by general biochemical methods of analysis.

The paper examines the level of catecholamine metabolites in daily urine of children with pheochromocytoma and neuroblastoma. Reasoned expediency of determining vanillyl mandelic acid as a non-invasive and informative laboratory test.

The obtained results can be used in the examination of patients with pheochromocytoma and neuroblastoma at the stage of primary diagnosis, in the process of their inpatient and outpatient treatment, in the development of an algorithm for laboratory examination of patients for the purpose of differential diagnosis of catechol-secreting tumors.

VANILYLMANDELIC ACID, CATECHOLAMINE, ADRENAL GLANDS, NEUROBLASTOMA, PHEOCHROMOCYTOMA

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	8
ВСТУП.....	9
1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ .....	10
1.1 Вроджений та адаптивний імунітет .....	10
1.1.1 Адаптивний імунітет .....	11
1.2 Огляд гуморального та клітинно-опосередкованого імунітету.....	15
1.2.1 Ініціація та розвиток адаптивної імунної відповіді.....	16
1.3 Клітини імунної системи.....	19
1.3.1 Підмножини В-лімфоцитів .....	20
1.3.2 Підмножини Т-лімфоцитів .....	20
1.3.3 Розвиток лімфоцитів .....	21
1.4 Класифікація синдрому гіперстимуляції яєчників .....	22
1.4.1 Ранній і пізній СГЯ .....	23
1.4.2 Спонтанний і ятрогенний СГЯ .....	24
1.4.2.1 Епідеміологія синдрому гіперстимуляції яєчників: Ятрогенний і спон- танний .....	25
1.4.3 Фактори, що впливають на захворюваність СГЯ .....	26
1.4.4 Синдром полікістозу яєчників .....	26
1.4.5 Гіперінсулінізм та СГЯ .....	27
1.4.6 Патофізіологія СГЯ .....	28
1.4.7 Роль ендотеліальних клітин у патогенезі синдрому гіперстимуляції яєчни- ків .....	30
1.4.8 Агоністи дофаміну для профілактики синдрому гіперстимуляції яєчни- ків .....	34
1.4.8.1 Агоністи дофаміну в порівнянні з плацебо або відсутністю втручан- ня .....	35

1.4.8.2 Агоністи дофаміну плюс спільне втручання проти спільного втручання .....	35
1.4.8.3 Агоністи дофаміну в порівнянні з іншими активними втручаннями .....	36
1.5 Прогностичні фактори для часу відновлення у зачатих жінок, які страждають на синдром гіперстимуляції яєчників від помірного до важкого ступеня .....	37
2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	39
2.1 Об'єкти і матеріали дослідження .....	39
2.2 Методи дослідження .....	40
2.2.1 Цитоморфометричний метод .....	40
2.2.2 Статистична обробка експериментальних даних .....	41
3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА .....	42
4 ОХОРОНА ПРАЦІ .....	46
ВИСНОВКИ .....	47
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ .....	48
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ .....	49

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРО-  
ЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АПК — антиген-презентуючими клітинами

E2 — естрадіол

ЕКО — екстракорпорального запліднення

ІМТ — індекс маси тіла

СГЯ — синдром гіперстимуляції яєчників

СПКЯ — синдром полікістозних яєчників

ТТГ — тиреотропний гормон

УЗД — ультразвукове дослідження

ФСГ — фолікулостимулюючий гормон

ХГЛ — хоріонічний гонадотропін людини

СОС — контрольована стимуляція яєчників

NKT — природні Т-кілери

РАС — внутрішньоічникова ренін-ангіотензинова система

PG — простагландин

Sil-6R $\alpha$  — розчинний ІЛ-6 рецептор- $\alpha$

TNF- $\alpha$  — фактор некрозу пухлин- $\alpha$

VEGF — судинно-ендотеліальний фактор росту



## ВСТУП

Синдром гіперстимуляції яєчників (СГЯ) вважається ятрогенним наслідком індукції овуляції при лікуванні безплідності під час циклів екстракорпорального запліднення (ЕКО). Контрольована стимуляція яєчників (COS) спрямована на виробництво більшої кількості ооцитів; проте, зрідка розвивається СГЯ, що супроводжується його серйозними ускладненнями.

Патофізіологія. Відмінною рисою СГЯ є збільшення проникності капілярів, що призводить до переміщення рідини з внутрішньосудинного простору до позасудинного простору. Фактор зростання ендотелію судин (VEGF) грає вирішальну роль патогенезі СГЯ, підвищуючи проникність судин. VEGF секретується гранульозними клітинами, а хоріонічний гонадотропін людини (ХГЛ) стимулює його секрецію. Тяжкий СГЯ пов'язаний з більш високим рівнем VEGF.

Іншими передбачуваними факторами, які можуть прямо чи опосередковано впливати на розвиток або тяжкість СГЯ, є ангіотензин II, інсуліноподібний фактор росту, епідермальний фактор росту, фактори росту альфа і бета, що трансформують, основний фактор росту фібробластів, тромбоцитарний фактор росту, інтерлейкін-1В та інтерлейкін-6.

Внутрішньоічниковая ренін-ангіотензинова система (РАС) є ще одним патофізіологічним механізмом, залученим до СГЯ. Крім того, ХГЛ активує РАС, що підтверджується асоціацією високої активності реніну у фолікулярній рідині жінок із СГЯ. Високі рівні VEGF та RAS, мабуть, відіграють роль у розвитку СГЯ.

Ендометріоз, одне з найпоширеніших гінекологічних захворювань, на думку багатьох авторів, має аутоімунну природу. При ендометріозі, як і при інших класичних аутоімунних захворюваннях, змінена функція Т- і В-лімфоцитів, є ознаки ураження тканин, схильність до розвитку захворювання у членів сім'ї та ін. Раніше було показано, що сироватка крові та асцитична ріди-

на у хворих на ендометріоз підвищений вміст аутоантитіл різної специфіки. Водночас клітинна основа формування аутоімунного захворювання при цій патології залишається практично не вивченою.

Тому метою дослідження було вивчення особливостей імунологічних особливостей функціонування основних імунокомпетентних клітин специфічного імунітету – лімфоцитів в умовах використання допоміжних репродуктивних технологій при ризику розвитку синдрому гіперстимуляції яєчників.

Вказана мета реалізовувалась через вирішення таких завдань:

1) визначити вміст загальної кількості лейкоцитів та проаналізувати лейкоцитарну формулу крові у жінок з ризиком розвитку синдрому гіперстимуляції яєчників;

2) встановити інформативність цитоморфометричних показників лімфоцитів периферичної крові як прогностичного лабораторного маркера ризику ускладнень гормональної стимуляції при використанні репродуктивних технологій.

Об'єкт дослідження – синдром гіперстимуляції яєчників.

Предмет дослідження – клітинна ланка імунітету.

Теоретичне значення роботи: результати роботи поширюють уявлення щодо особливостей розвитку та механізмів імунних реакції при розгортанні синдрому гіперстимуляції яєчників.

Практичне значення роботи: визначення ранніх, доклінічних лабораторних прогностичних маркерів щодо розгортання синдрому гіперстимуляції яєчників.

Наукова новизна: доведена інформативність цитоморфометричних функціональних класів лімфоцитів як одних з ранніх прогностичних маркерів розвитку синдрому гіперстимуляції яєчників.

## 1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1 Вроджений та адаптивний імунітет

Захист від мікробів опосередкований послідовними та скоординованими реакціями, які називаються вродженим та адаптивним імунітетом. Вроджений імунітет (також званий природнім імунітетом або нативним імунітетом) необхідний для захисту від мікробів у перші кілька годин або днів після зараження, до того, як розвинуться адаптивні імунні реакції. Вроджений імунітет опосередкований механізмами, які діють ще до того, як станеться інфекція, і здатні швидко реагувати на вторгнення мікробів [2].

На відміну від вродженого імунітету існують інші імунні реакції, які стимулюються впливом інфекційних агентів та збільшуються в силі та захисних можливостях при кожному подальшому впливі конкретного мікроба. Оскільки ця форма імунітету розвивається як відповідь на інфекцію і таким чином адаптується до інфекції, його називають адаптивним імунітетом (також званим специфічним імунітетом або набутим імунітетом). Адаптивна імунна система розпізнає та реагує на велику кількість мікробних та немікробних речовин, званих антигенами. Хоча багато патогенів еволюціонували, щоб чинити опір вродженій імунній відповіді, сильніші та більш спеціалізовані адаптивні імунні відповіді здатні викоринити багато з цих інфекцій. Існують також численні зв'язки між вродженими та адаптивними імунними реакціями [1, 2].

#### 1.1.1 Адаптивний імунітет

Адаптивна імунна відповідь опосередковується клітинами, які називаються лімфоцитами, та їх продуктами. Лімфоцити експресують дуже різноманітні рецептори, здатні розпізнавати величезну кількість антигенів. Існують дві

основні популяції лімфоцитів, які називають В-лімфоцитами і Т-лімфоцитами, які опосередковують різні типи адаптивної імунної відповіді.

Фундаментальні властивості адаптивної імунної системи відображають властивості лімфоцитів, які опосередковують відповіді [5].

Імунна відповідь є специфічною для різних антигенів і часто для різних частин одного складного білка, полісахариду або іншої макромолекули.

Ця тонка специфічність існує тому, що окремі лімфоцити експресують мембранні рецептори, які можуть відрізнити тонкі структурні різниці між окремими епітопами. Клони лімфоцитів з різною специфічністю присутні у неімунізованих осіб та здатні розпізнавати чужорідні антигени та реагувати на них. Ця фундаментальна концепція називається клональним відбором. Відповідно до цієї гіпотези, яка в даний час є доведеною особливістю адаптивного імунітету антигенспецифічні клони лімфоцитів розвиваються до незалежно від впливу антигену [4].

Пам'ять. Вплив чужорідного антигену на імунну систему посилює її здатність знову реагувати цей антиген. Відповіді на вторинне та подальші впливи одного й того ж антигену, звані вторинними імунними реакціями, зазвичай більш швидкі, більші за величиною і часто якісно відрізняються від першої, або первинної, імунної відповіді на цей антиген. Імунологічна пам'ять виникає тому, що при кожній дії антигену утворюються довгоживучі клітини пам'яті, специфічні для цього антигену. Є дві причини, через які вторинні відповіді зазвичай сильніші, ніж первинні імунні відповіді: клітини пам'яті накопичуються і стають більш численними, ніж наївні лімфоцити, специфічні до антигену, які існують під час первісного впливу антигену, і клітини пам'яті швидше та енергійніше реагують на антиген. виклик, ніж наївні лімфоцити. Пам'ять дозволяє імунній системі посилювати відповідь на постійний або повторюваний вплив одного і того ж антигену і, таким чином, боротися з інфекціями, викликаними мікробами, які переважають у навколишньому середовищі і неодноразово зустрічаються.

Нереактивність (самотерпимість). Одним із найбільш чудових властивостей імунної системи кожної нормальної людини є її здатність розпізнавати, реагувати та усувати багато чужорідних (чужорідних) антигенів, не реагуючи шкідливо на власні (власні) антигени цієї людини. Імунологічну несприйнятливість також називають толерантністю. Толерантність до аутоантигенів або ауто толерантність підтримується декількома механізмами. До них відносяться елімінація лімфоцитів, які експресують рецептори, специфічні для деяких аутоантигенів, інактивація аутореактивних лімфоцитів або пригнічення цих клітин дією інших (регуляторних) клітин. Аномалії в індукції або підтримці толерантності до себе призводять до імунних відповідей проти власних (аутологічних) антигенів, що може призвести до порушень, які називаються аутоімунними захворюваннями [3, 4].

Крім цих кардинальних особливостей адаптивного імунітету, ці реакції мають низку інших важливих властивостей.

Через здатність лімфоцитів та інших імунних клітин циркулювати серед тканин адаптивний імунітет є системним, що означає, що навіть якщо імунна відповідь ініціюється в одному місці, вона може забезпечити захист у віддалених місцях [7].

Імунні реакції регулюються системою позитивних зворотних зв'язків, які посилювати реакцію та контролювати механізми, які запобігають неадекватним або патологічним реакціям. Коли активуються лімфоцити, вони запускають механізми, які ще більше збільшують величину відповіді. Цей позитивний зворотний зв'язок важливий для того, щоб невелика кількість лімфоцитів, специфічних для будь-якого мікроба, могла генерувати потужну відповідь, необхідну для викорінення цієї інфекції. Під час імунних реакцій активуються багато механізмів контролю, які запобігають надмірній активації лімфоцитів, що може спричинити побічні пошкодження нормальних тканин, а також запобігають реакціям проти власних антигенів (Рис. 1.1).

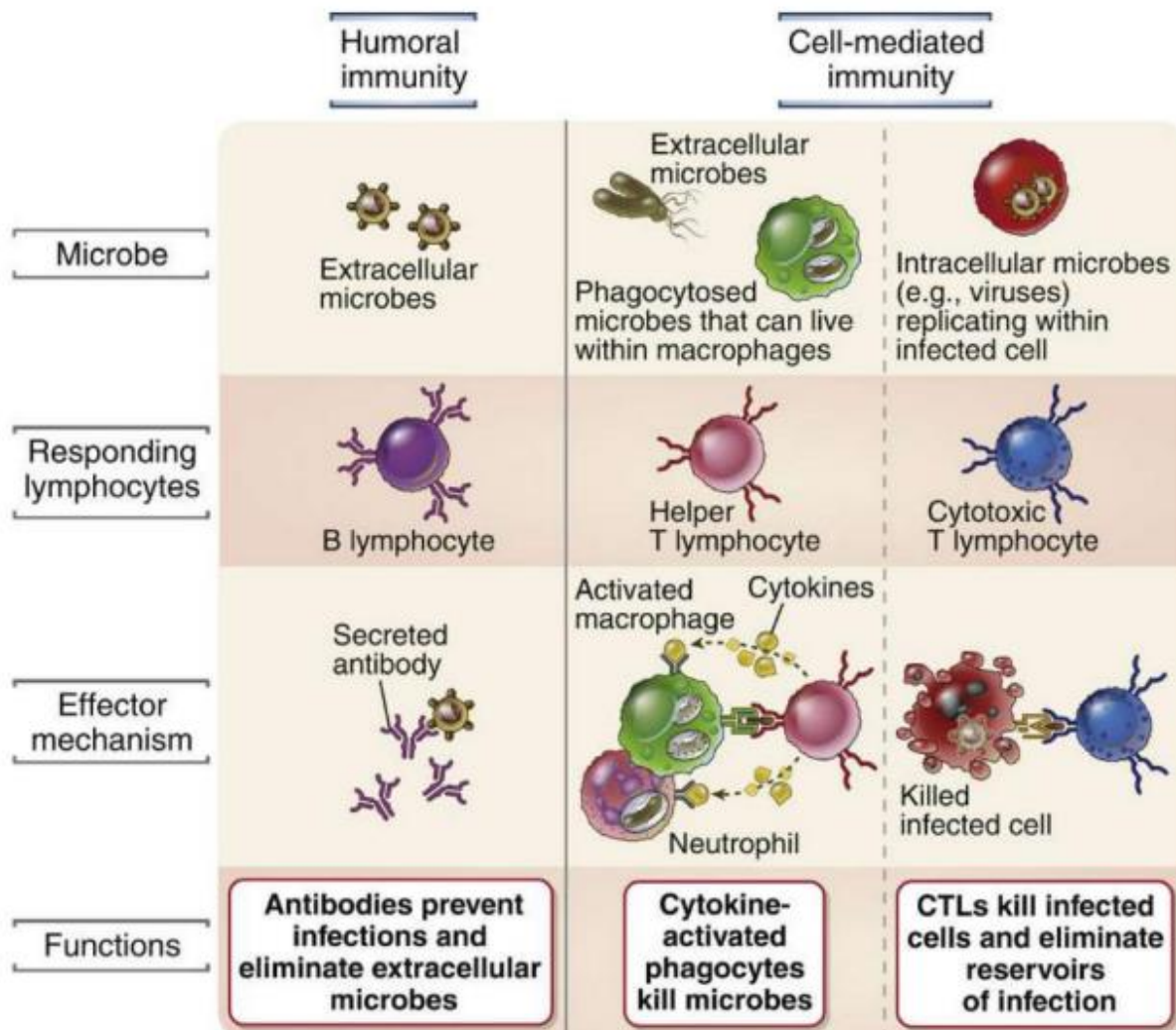


Рис. 1.1 – Типи адаптивного імунітету. При гуморальному імунітеті В-лімфоцити секретують антитіла, які запобігають інфекції та усувають позаклітинні мікроби. При клітинному імунітеті хелпер Т лімфоцити активують макрофаги та нейтрофіли, щоб вбити фагоцитовані мікроби, або цитотоксичні Т-лімфоцити безпосередньо знищують інфіковані клітини [7].

## 1.2 Огляд гуморального та клітинно-опосередкованого імунітету

Існує два типи адаптивного імунітету, званого гуморальним імунітетом і клітинно-опосередкованим імунітетом, які опосередковані різними типами лімфоцитів і діють для знищення різних типів мікробів [9].

Гуморальний імунітет опосередковується молекулами крові та секрету слизових оболонок, званими антитілами, які виробляються В-лімфоцитами. Антитіла розпізнають мікробні антигени, нейтралізують інфекційність мікробів та націлюють мікроби для елімінації фагоцитами та системою комплементу. Гуморальний імунітет є основним механізмом захисту від мікробів та їх токсинів, що знаходяться поза клітинами.

Клітинний імунітет, який також називається клітинним імунітетом, який опосередковується Т-лімфоцитами. Багато мікробів поглинаються фагоцитами, але виживають у них, а деякі мікроби, особливо віруси, інфікують і розмножуються у різних клітинах-господарях. У цих місцях мікроби недоступні для циркулюючих антитіл. Захист від таких інфекцій є функцією клітинного імунітету, який сприяє знищенню мікробів усередині фагоцитів та умиротворенню інфікованих клітин для ліквідації резервуарів інфекції [5].

### 1.2.1 Ініціація та розвиток адаптивної імунної відповіді

Адаптивна імунна відповідь розвивається у кілька етапів, починаючи із захоплення антигену та подальшої активації специфічних лімфоцитів (Рис. 1.2).

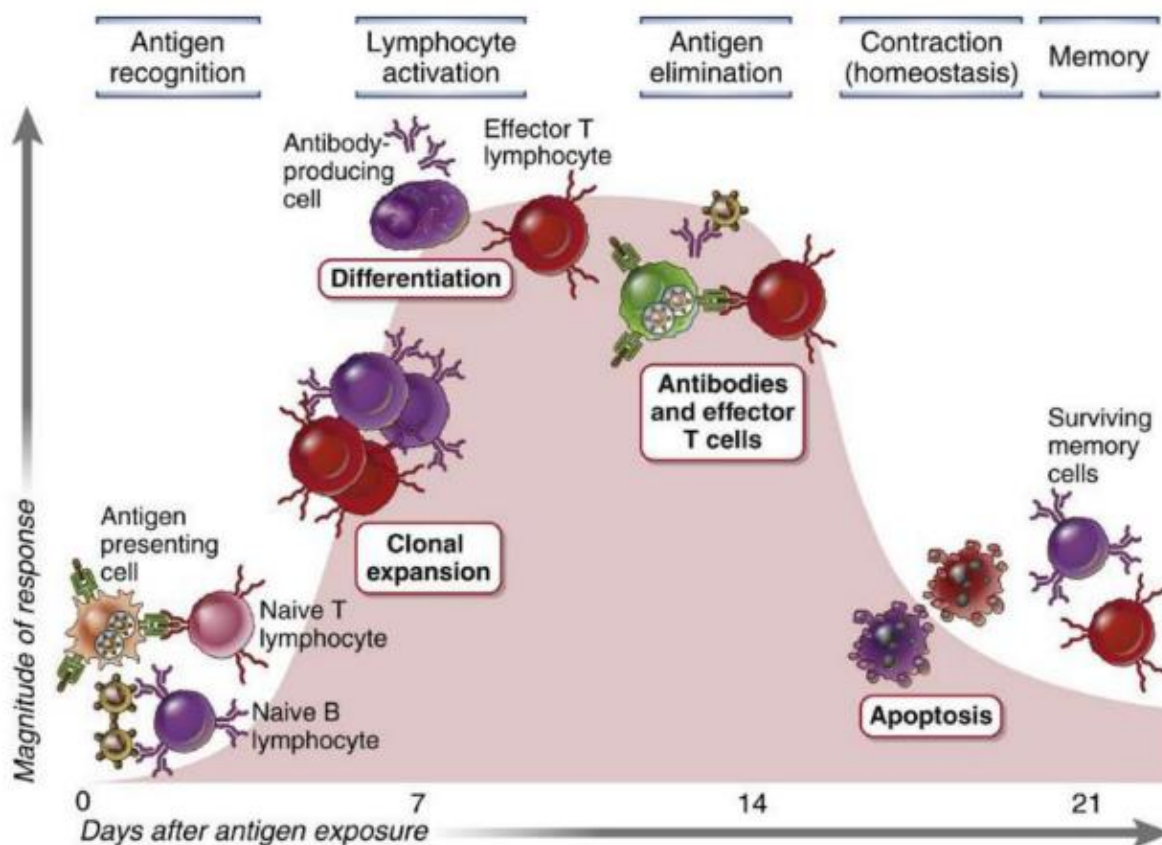


Рис. 1.2 – Розвиток адаптивної імунної відповіді [9].

Адаптивна імунна відповідь складається з окремих стадій, перші три з яких являють собою розпізнавання антигену, активацію лімфоцитів та елімінацію антигену (ефекторна фаза). Реакція скорочується (знижується) у міру того, як антиген-стимульовані лімфоцити гинуть у результаті апоптозу, відновлюючи гомеостаз, а специфічні клітини, що вижили антиген, відповідають за пам'ять. Тривалість кожної фази може змінюватись в залежності від різних імунних відповідей. Вісь Y представляє довільну міру величини відгуку. Ці принципи



застосовні до гуморального імунітету (опосередкованого В-лімфоцитами) та клітинному імунітету (опосередкованому Т-лімфоцитами) [9, 18].

Більшість мікробів та інших антигенів проникають через епітеліальні бар'єри та колонізують тканини, а адаптивні імунні відповіді на ці антигени розвиваються у вторинних (периферичних) лімфоїдних органах. Для ініціації адаптивної імунної відповіді необхідно, щоб антигени були захоплені та представлені певним лімфоцитам. Клітини, що виконують цю роль, називаються антиген-презентуючими клітинами (АПК). Найбільш спеціалізованими АПК є дендритні клітини (ДК), які захоплюють мікробні антигени, що надходять із зовнішнього середовища, транспортують ці антигени в лімфоїдні органи та представляють антигени наївним Т-лімфоцитам для ініціації імунних відповідей. Інші типи клітин функціонують як АПК на різних стадіях клітинно-опосередкованої та гуморальної імунної відповіді [10, 15].

Наївні лімфоцити експресують антигенні рецептори, але не реагують на антиген. Активація цих лімфоцитів антигеном призводить до проліферації цих клітин, що призводить до збільшення розміру антигенспецифічних клонів, що називається клональною експансією. За цим слідує диференціювання активованих лімфоцитів у клітини, здатні до елімінації антигену, звані ефекторними клітинами, оскільки вони опосередковують кінцевий ефект імунної відповіді, та клітини пам'яті, які виживають протягом тривалого часу та викликають сильну відповідь на повторну зустріч із антигеном. Для елімінації антигену часто потрібна участь інших, нелімфоїдних клітин, таких як макрофаги та нейтрофіли, які також іноді називають ефекторними клітинами. Ці етапи активації та диференціювання лімфоцитів в ефекторні клітини зазвичай займають кілька днів, що пояснює, чому адаптивна відповідь розвивається повільно, а вроджений імунітет повинен забезпечувати захист [11].

Після того, як адаптивна імунна відповідь ліквідує інфекцію, стимули для активації лімфоцитів зникають і більшість ефекторних клітин гине, що призводить до зниження відповіді. Клітини пам'яті залишаються готові енергійно відреагувати, якщо та ж інфекція повториться [12].

Захисний імунітет проти бактерій опосередковується ранніми реакціями вроджений імунітет і пізніші реакції адаптивного імунітету. Вроджені імунні відповіді стимулюються молекулярними структурами, загальними для груп мікробів, та молекулами, що експресуються пошкодженими клітинами-господарями. Адаптивний імунітет специфічний для різних мікробних та немікробних антигенів та посилюється при повторному контакті з антигеном (імунологічна пам'ять).

Багато особливостей адаптивного імунітету мають важливе значення щодо його нормального функціонування. До них відносяться специфічність до різних антигенів, різноманітний репертуар, здатний розпізнавати широкий спектр антигенів, пам'ять про експозицію антигену та здатність розрізняти чужорідні антигени та власні антигени.

Імунітет може бути придбаний у результаті реакції на антигени (активний імунітет) або забезпечений перенесенням антитіл або ефекторних клітин (пасивний імунітет) [21].

Лімфоцити є єдиними клітинами, здатними специфічно розпізнавати антигени, і тому є основними клітинами адаптивного імунітету. Загальна популяція лімфоцитів складається з багатьох клонів, кожен з яких має унікальний антигенний рецептор і специфічність. Двома основними підмножинами лімфоцитів є В-клітини та Т-клітини, і вони різняться за своїми антигенними рецепторами та функціями.

Адаптивна імунна відповідь ініціюється розпізнаванням чужорідних антигенів специфічними лімфоцитами. Спеціалізовані антигенпрезентуючі клітини захоплюють мікробні антигени та виводять ці антигени для розпізнавання лімфоцитами. Лімфоцити реагують проліферацією та диференціюванням в ефекторні клітини, функція яких полягає в елімінації антигену, і клітини пам'яті, які виявляють посилену відповідь при наступних контактах з антигеном. Для елімінації антигенів часто потрібна участь різних ефекторних клітин.

Гуморальний імунітет опосередковується антитілами, секретуємими В-лімфоцитами та їх диференційованими нащадками, плазматичними клітинами, і є механізмом захисту від позаклітинних мікробів [2].

Клітинний імунітет забезпечується Т-лімфоцитами та їх продуктами, такими як цитокіни, та важливий для захисту від внутрішньоклітинних мікробів. CD4 + хелперні Т-лімфоцити допомагають макрофагам знищувати проковтнуті мікроби і допомагають В-клітинам виробляти антитіла. CD8+ цитотоксичні Т-лімфоцити вбивають клітини, що містять внутрішньоклітинні патогени, тим самим усуваючи резервуари інфекції [9, 34].

### 1.3 Клітини імунної системи

Лімфоцити, унікальні клітини адаптивного імунітету, є єдиними клітинами в організмі, які експресують клонально розподілені антигенні рецептори, кожен з яких є специфічним для своєї антигенної детермінанти. Кожен клон Т- та В-лімфоцитів експресує антигенні рецептори з однією специфічністю, яка відрізняється від специфічності рецепторів у всіх інших клонах. Як ми обговоримо тут і в наступних розділах, в організмі існують мільйони лімфоцитів клонів, що дозволяє будь-якій людині розпізнавати мільйони чужорідних антигенів і реагувати на них [28].

### 1.3.1 Підмножини В-лімфоцитів

Основними підмножинами В-клітин є фолікулярні В-клітини, В-клітини маргінальної зони та В-1-клітини, кожна з яких знаходиться у різних анатомічних місцях у лімфоїдних тканинах. Фолікулярні В-клітини, найчисленніший тип В-клітин в організмі, виявляються в лімфоїдних тканинах та крові. Вони експресують дуже різноманітні, клонально розподілені набори антитіл, які служать рецепторами антигенів клітинної поверхні і ключовими секреторними ефекторними молекулами адаптивного гуморального імунітету. Фолікулярні В-клітини дають початок більшості високоафінних антитіл та В-клітин пам'яті, які захищають людей від повторних інфекцій одними й тими ж мікробами [23]. Навпаки, В-клітини В-1 та В-клітини маргінальної зони становлять меншість В-клітин і продукують антитіла з обмеженою різноманітністю. В-1 клітини виявляються в основному в тканинах слизової оболонки, черевної та плевральної порожнини, тоді як В-клітини маргінальної зони присутні тільки в селезінці гризунів, але можуть бути виявлені в кровотоку людини [24].

### 1.3.2 Підмножини Т-лімфоцитів

Дві основні підгрупи Т-клітин визначаються експресією білків CD4 та CD8 на клітинній поверхні. Т-клітини є медіаторами клітинного імунітету: CD4<sup>+</sup> Т-клітини є хелперними Т-лімфоцитами або їх наївними попередниками, а CD8<sup>+</sup> Т-клітини є ЦТЛ або їх попередниками. І CD4<sup>+</sup>, і CD8<sup>+</sup> Т-клітини експресують антигенні рецептори, звані  $\alpha\beta$  Т-клітинними рецепторами (TCR) [36]. Допоміжні Т-клітини CD4<sup>+</sup> секретують цитокіни, які діють на різні інші клітини, включаючи інші Т-лімфоцити, В-клітини та макрофаги. CD8<sup>+</sup> CTL розпізнають та вбивають клітини, інфіковані вірусами та іншими мікробами, які

можуть жити всередині клітин-господарів, а також вбивають ракові клітини [31]. Регуляторні CD4<sup>+</sup> Т-клітини являють собою третю підгрупу Т-клітин, що експресують рецептори  $\alpha\beta$ ; їх функція полягає у придушенні імунних реакцій [32]. Крім того, природні Т-кілери (NKT), пов'язані зі слизовою оболонкою інваріантні Т-клітини (MAIT) і  $\gamma\delta$ -Т-клітини являють собою три чисельно менші підмножини Т-клітин, які експресують TCR з обмеженою різноманітністю, аналогічно антитілам, що виробляються клітинами В-1 [24, 34].

### 1.3.3 Розвиток лімфоцитів

Лімфоцити, як і всі клітини крові, виникають після народження зі стовбурових клітин кісткового мозку [33].

Походження лімфоцитів із попередників кісткового мозку було вперше продемонстровано в експериментах із радіаційно-індукованими химерами кісткового мозку. лімфоцити та їх попередники радіочутливі та гинуть при високих дозах  $\gamma$ -опромінення.

Дозрівання В- та Т-лімфоцитів включає серію подій, що відбуваються в первинних (також званих генеративними або центральними) лімфоїдними органами. Ці події включають таке:

1) комітування клітин-попередників В-лімфоїдної або Т-лімфоїдної лінії. Проліферація клітин-попередників та незрілих комітованих клітин на певних ранніх стадіях, стадіях розвитку, забезпечуючи великий пул клітин, які можуть генерувати корисні лімфоцити;

2) послідовна та впорядкована перебудова генів антигенних рецепторів та експресія білків антигенних рецепторів. (Терміни перегрупування та рекомбінація використовуються взаємозамінно).

Події селекції, які зберігають клітини, що продукують функціональні білки-рецептори антигенів, і усувають потенційно небезпечні клітини, які добре

розпізнають власні антигени. Ці процеси відбору під час розвитку гарантують, що лімфоцити, які експресують функціональні рецептори з корисними специфічностями, дозріють та увійдуть до периферичної імунної системи [23].

Диференціювання В- та Т-клітин на функціонально та фенотипно різні субпопуляції. В-клітини розвиваються у фолікулярні клітини, клітини маргінальної зони та В-1, а Т-клітини розвиваються в CD4+ та CD8+  $\alpha\beta$ -Т-лімфоцити,  $\gamma\delta$ -Т-клітини, Т-клітини природних кілерів (NKT) та інваріантні Т-клітини, асоційовані зі слизовою оболонкою (MAIT) [35].

#### 1.4 Класифікація синдрому гіперстимуляції яєчників

Синдром гіперстимуляції яєчників (СГЯ) характеризується двосторонніми множинними фолікулярними та текал-лютеїновими кістами яєчників (рис. 1.3) та різким зрушенням у розподілі рідини в організмі, що призводить до асцити (рис. 1.4) [37].



Рис. 1.3 – Множинні фолікулярні кісти у яєчниках пацієнтки з гіперстимуляцією [37]



Рис. 1.4 – Асцит у пацієнта з гіперстимуляцією [37]

#### Класифікація СГЯ.

1. Легка гіперстимуляція. Ступінь 1 визначається лабораторними даними про рівень естрогену вище 150 мг/24 год та екскреції прегнандіолу вище 10 мг/24 год. 2 ступінь, крім того, включає збільшення яєчників; іноді є невеликі кісти.
2. Помірна гіперстимуляція. 3 ступінь, крім підвищеного рівня стероїдів у сечі та кіст яєчників, є здуття живота.
3. Тяжка гіперстимуляція. 5 ступінь, на додаток до вищепереліченого, кісти яєчників мають великі розміри і присутні асцит або гідроторакс. 6 ступінь, виражена гемоконцентрація з підвищеною в'язкістю крові, може призвести до порушень коагуляції [38].

#### 1.4.1 Ранній і пізній СГЯ

Спостерігалось, що СГЯ у пацієток, які перенесли контрольовану гіперстимуляцію яєчників, протікає у двох різних формах: з раннім початком і пізнім початком, можливо, з різними факторами, що схиляють. Ранній СГЯ прояв-

ляється через 3-7 днів після овуляторної дози ХГЛ, тоді як пізній СГЯ проявляється через 12-17 днів після введення ХГЛ. Ранній СГЯ пов'язаний із «надмірною» преовуляторною відповіддю на стимуляцію, тоді як пізній СГЯ залежить від настання вагітності, частіше буває важким і лише слабо пов'язаний із преовуляторними подіями [38].

#### 1.4.2 Спонтанний і ятрогенний СГЯ

Традиційно завжди стверджувалося, що СГЯ є найсерйознішим ятрогенним ускладненням індукції овуляції. Цікаво, що за останнє десятиліття було опубліковано значну кількість повідомлень про спонтанний СГЯ без будь-якого фармакологічного втручання [40].

Більшість цих випадків спостерігалися при багатоплідній вагітності або при гідитоподібних заметах, сумно відомих високим рівнем ХГЛ. Деякі випадки були пов'язані з гіпотиреозом, і було піднято ймовірність того, що високі рівні ТТГ можуть стимулювати яєчники. Повідомлялося про низку випадків рецидивуючого СГЯ. Нещодавно мутації рецепторів ФСГ стали причиною спонтанного СГЯ. Спонтанні форми СГЯ, як правило, розвивалися між 8 та 14 тижнями аменореї. Навпаки, ятрогенний СГЯ зазвичай починається між 3 і 5 тижнями аменореї [42].



#### 1.4.2.1 Епідеміологія синдрому гіперстимуляції яєчників: Ятрогенний і спонтанний

Розробка екстракорпорального запліднення (ЕКО) стала воротами до сучасної репродукції людини. Вплив ЕКЗ на репродуктивну медицину був феноменальним. Він відкрив нові обрії у всіх дисциплінах, від клітинної біології до генетики. Використання гонадотропінів стало популярним на початку 1980-х років. Цікаво відзначити, що частота СГЯ після ЕКЗ у 1980-х роках була вище, ніж після індукції овуляції у 1970-х роках без широкого використання моніторингу естрадіолу чи ультразвукового дослідження, така висока захворюваність, можливо, пов'язана зі збільшенням агресивності стимуляції у 1980-х роках та, у другу чергу, з використанням довгих протоколів агоністів ГнРГ [41].

У той час як кількість важких випадків СГЯ після індукції овуляції залишалася незмінним, кількість випадків після ЕКЗ різко зросла з 2 (0,06% всіх випадків ЕКЗ в 1987 р.) до 41 (0,24% всіх випадків ЕКЗ у 1996 р.). Загальна кількість циклів ЕКЗ, проведених за цей час також збільшилася з 2890 у 1987 р. до 17 283 у 1996 р. Цю епідемію можна пояснити надмірним використанням протоколів із високими дозами гонадотропіну у відділеннях допоміжної репродукції. Ці підрозділи, за останнє десятиліття стали більш конкурентоспроможними, а кількість ооцитів та ембріонів стали вважатися головним критерієм успіху. З удосконаленням кріоконсервації ембріонів, що дозволяє проводити повторні перенесення ембріонів ці цифри стали більш актуальними. Розширення програм донорства ооцитів, де протоколи з високими дозами гонадотропінів відіграють ключову роль у досягненні максимальної кількості донорських ооцитів, також могло сприяти цій проблемі. Нарешті, протоколи агоністів ГнРГ частково звинувачують у цьому збільшенні [38, 43].

### 1.4.3 Фактори, що впливають на захворюваність СГЯ

Зазвичай спостерігається, що жінки, які страждають на гіперстимуляцію яєчників є молодими. Це не означає, що літні жінки не схильні до ризику СГЯ, але це означає, що молоді жінки схильні до більш високого ризику. У великому бельгійському дослідженні, що включало 128 випадків СГЯ та 256 контрольних пацієнтів, спостерігали, що середній вік пацієнтів із СГЯ становив  $30,2 \pm 3,5$  року порівняно з  $32,0 \pm 4,5$  року у контрольній групі. в проспективне когортне дослідження 428 пацієток, які перенесли контрольовану гіперстимуляцію яєчників спостерігали, що пацієтки, у яких розвинувся важкий, помірний або легкий синдром гіперстимуляції яєчників були молодшими, ніж пацієтки, у яких не розвинувся СГЯ. Різниця у середньому віці між пацієнтами, у яких розвинувся важкий СГЯ, та контрольною групою склала приблизно 2 роки. Різниця між усіма хворими, у яких розвинувся СГЯ, та контрольною групою була дещо менше.

Індекс маси тіла. У більшості клініцистів склалося враження, що СГЯ найчастіше зустрічається у пацієнтів із нижчим ІМТ [44].

### 1.4.4 Синдром полікістозу яєчників

Синдром полікістозних яєчників (СПКЯ) є найпоширенішим ендокринопатією, що вражає 41,2% жінок репродуктивного віку. СПКЯ є синдромом дисфункції яєчників, поряд з кардинальними ознаками гіперандрогенії та морфології полікістозних яєчників (СПКЯ). Характерний вид склерокістозних яєчників при лапароскопії або лапаротомії добре відомий кожному хірургу-репродуктологу. Клінічно СПКЯ характеризується гіперандрогенією та хронічною ановуляцією. Приблизно 40-60% жінки з СПКЯ страждають на ожиріння, і

60% з них виявляють резистентність до інсуліну. Патолофізіологія СПКЯ широко вивчалася протягом останніх двох десятиліть. Клінічна картина хворих на СПКЯ відрізняється значною неоднорідністю. На одному кінці спектру полікістоз яєчників, виявлений за допомогою УЗД є єдиною знахідкою. З іншого боку, ожиріння, порушення менструального циклу, гіперандрогенізм та безплідність можуть виникати окремо або в поєднанні [46].

#### 1.4.5 Гіперінсулінізм та СГЯ

Гіперінсулінемія сприяє гіперандрогенії за рахунок збільшення продукції андрогенів яєчниками та пригнічення глобуліну, що зв'язує статеві гормони з печінкою, тим самим підвищуючи рівень вільного тестостерону. У пацієнтів із СПКЯ гіперінсулінемія більш виражена у пацієнтів з ожирінням, хоча наявність інсулінорезистентності не залежить від маси тіла. Повідомлялося, що у пацієнтів із СПКЯ з гіперінсулінізмом частота СГЯ вища, ніж у пацієнтів із СПКЯ[45].

Гранульозні клітини грають основну роль розвитку СГЯ, а інсулін підвищує ароматазну активність гранульозних клітин, що призводить до більш високого співвідношення естрадіолу та андростендіону. Вищі рівні інсуліну змінюють реакцію яєчників на ФСГ і посилюють продукцію антральних фолікулів, як це спостерігається при СГЯ. Можна припустити, що гіперінсулінізм може відігравати етіологічну роль у розвитку СГЯ у пацієнтів із СПКЯ [47].

#### 1.4.6 Патолофізіологія СГЯ

Можна вважати, що СГЯ системно проявляється в результаті звільнення вазоактивних медіаторів з гіперстимульованих яєчників. У розвитку СГЯ можуть брати участь такі судинні цитокіни, як судинно-ендотеліальний фактор росту (VEGF), інтерлейкіни (IL)-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, фактор некрозу пухлин- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), фібробластний фактор росту- $\beta$ , які продукуються множинними жовтими тілами яєчників [48].

Патолофізіологічні зміни, які відбуваються в умовах СГЯ, мають схожість із системною запальною реакцією, що розвивається агресивно. Разом з тим, дані щодо ролі цитокінів в патогенезі СГЯ є вельми суперечливими. Такі низькомолекулярні білки проявляють свою активність при дуже низьких концентраціях та можуть реалізувати свої ефекти за допомогою паракринних і ендокринних, аутокринних, механізмів [49].

Функціональний статус рецепторів цитокінів впливає на наявність активності цитокінів, інгібіторів цитокінів, розчинних рецепторів та зв'язуючих білків. Однак більшість досліджень у цій галузі обмежується рівнями медіаторів ранніх стадій запалення (IL-1, IL-2, IL-6, IL-18, IL-18, ФНП- $\alpha$  та ендотелію судин клітин) показує збільшення. Поряд з факторами зростання (VEGF) на ранніх стадіях розвитку СГЯ знижуються рівні імуносупресивних та протизапальних цитокінів (IL-10) [50].

Запальний цитокін IL-6 пов'язаний з СГЯ, хоча функціональна роль IL-6 в розвитку СГЯ залишається в значній мірі невідомою. Ключовою особливістю реакції IL-6 є те, що його регуляція залежить від IL-6 трансигналів за допомогою розчинного IL-6 рецептора- $\alpha$  (Sil-6R $\alpha$ ). Рівні Sil-6R $\alpha$  у фолікулярній рідині підвищені у жінок з високим ризиком розвитку СГЯ. У мишачій моделі СГЯ, стимуляція гонадотропінами значно прискорює експресію оваріального IL-6 і Sil-6R $\alpha$ . [51]. У пробірці, ФСГ індукує синтез de novo Sil-6R $\alpha$  в гранульозних та лютеїнових клітинах через протеїнкінази С залежного шляху. Крім того, Sil-6R $\alpha$

продукується лейкоцитами в присутності ХГЛ. При активації перетворювача сигналу і активатора транскрипції 3 (STAT3) і ERK, Hyper IL-6 збільшується експресія VEGF і проникність судин оваріальних ендотеліальних клітин. Вибіркова блокада IL-6 транс-сигналів значно гальмує експресію фактора росту sgp130-Fc ендотелію судин і запобігає СГЯ у мишей [52].

Запальний цитокін IL-6 пов'язаний із СГЯ, але його функціональна роль IL-6 у розвитку СГЯ залишається ще невідомою. Ключовою відмінною рисою відповіді IL-6 є те, що його регуляція залежить від передачі сигналів IL-6 розчинним рецептором IL-6- $\alpha$  (Sil-6R $\alpha$ ). Рівні Sil-6R $\alpha$  жінки із високим ризиком розвитку СГЯ мають підвищений рівень фолікулярної рідини. Ендотеліальні клітини яєчників ХГЛ реагують на комплекси IL-6R $\alpha$ -IL-6 (Гіпер Іл-6), але тільки не Іл-6. Під час запуску перетворювача сигналів підвищується експресія активатора транскрипції з (STAT3) та ERK, Hyper IL-6 VEGF та судинна проникність ендотеліальних клітин яєчників. Блокування трансигнальної передачі IL-6 значно пригнічує експресію фактора зростання. Він активує sgp130-Fc в ендотелії судин та запобігає СГЯ у мишей [52].

Проникність капілярів внаслідок викиду судинних цитокинів збільшує та викликає екстравазацію рідини з кровоносних судин Компаратментарна та внутрішньосудинна дегідратація в третій простір [53, 54]. Виникаюча гемоконцентрація призводить до таких ускладнень, як гіперкоагуляція та зниження перфузії органів [55]. Гонадотропін легко гіперстимулюється, але залишається невідомим [56].

Порушення мікроциркуляції зі зниженим кровообігом крові у вигляді буйних периферичних артерій веде до артеріальної гіпотензії, збільшення серцевого викиду. Вони розвиваються на фоні високого рівня плазмованого реніну, норадреналіну, антидіуретичного гормону та збільшує екскреції з сечею PGE2 та 6-кето-PGF1 $\alpha$  (простагландини E2 та F1 $\alpha$ ) [57]. Концентрація TNF- $\alpha$  в асциті пацієнта при тяжкому СГЯ утричі перевищує контрольний показник [58].

На сьогоднішній день немає єдиної думки щодо точної причини СГЯ. Проте вважається, що хоріонічний гонадотропін людини (ХГЛ) є ефективним,

ключовим медіатором синдрому. Це все ґрунтується на результатах ХГЛ [59]. Роль ХГЛ можна уточнити з допомогою двох різних методів. Клінічні прояви спостерігаються при ранніх та пізніх формах СГЯ. Ранній СГЯ виникає протягом 9 днів після призначення ХГЛ. Це овуляторний агент, що відбиває дію екзогенного ХГЛ на яєчники. Він уже був гіперстимульований гонадотропінами. З іншого боку, СГЯ з пізнім початком, якщо минуло більше 10 днів з моменту застосування ХГЛ, є тригером овуляції та показує реакцію яєчників на продукцію ендогенного ХГЛ трофобластами [58, 59].

#### 1.4.7 Роль ендотеліальних клітин у патогенезі синдрому гіперстимуляції яєчників

Фактор зростання ендотелію судин (VEGF), також званий фактором проникності судин, та цитокін інтерлейкін (IL)-6 є потенційними медіаторами розвитку СГЯ з двох важливих причин:

- 1) вони мають вазоактивними властивостями;
- 2) вони були ідентифіковані у фолікулярній рідині, а їх транскрипти мРНК та білки виявлені в гранулозо-лютеїнових клітинах;

Таким чином, гіпотеза полягає в тому, що ендотелій є джерелом та мішенню вазоактивних речовин, що вивільняються у відповідь на стани, що клінічно індуковані у жінок, у яких розвивається СГЯ [67].

Щоб перевірити цю можливість, була розроблена модель *in vitro* з використанням високих концентрацій естрадіолу (E2) та ХГЛ в ендотеліальних клітинах мікросудин людини і досліджувалась їх здатність експресувати, продукувати та секретувати судинні медіатори, які потенційно беруть участь у патогенезі СГЯ. Мета полягала в тому, щоб отримати знання про каскад молекулярних подій, що діють при СГЯ, як допоміжний засіб для запобігання та успішного лікування синдрому [69].

Підготовка клітин та культура. Ендотеліальні клітини мікросудин легень людини (HUMEC-L) були взяті від трьох жінок віком 35 років для отримання моношарів. Рецептор естрогену (ER)- $\beta$  локалізований в ядрах клітин нормальної легені людини.

Кріоконсервовані клітини відтаювали на водяній бані при 37 ° C протягом 1-2 хв. Клітини (1105) ресуспендували в 1 мл середовища для росту ендотелію з додаванням 25% фетальної бичачої сироватки, 0,4% добавки для росту ендотеліальних клітин, 0,1 нг/мл епідермального фактора росту, 1 мкг/мл гідрокортизону, 1 нг/мл основного фібробластного фактора, 50 нг/мл амфотерицину В і 50 нг/мл гентаміцину в міру того, як вони ставали конфлюентнішими. Клітини вирощували до досягнення 70-90% злиття і поміщали в 24-лункові культуральні планшети для експериментів. Ендотеліальні клітини щодня морфологічно перевіряли під фазово-контрастним мікроскопом.

Спочатку проводили експерименти «доза-реакція» (n=3) шляхом додавання E2 у різних концентраціях до моношарів ендотеліальних клітин (0, 10<sup>-7</sup>, 10<sup>-6</sup>, 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-3</sup> моль/л E2) протягом 24 год. Кондиціоноване середовище збирали та зберігали при -70°C для подальшого визначення IL-1 $\beta$ , IL-6 та VEGF з використанням наявних у продажу наборів ELISA . Внутрішньо- та міжтестові коефіцієнти варіації склали відповідно 4,1 та 8,5% для IL-1 $\beta$ , 2,7 та 4,5% для IL-6 та 5,4 та 7,3% для VEGF.

Усього було проведено три експерименти. Другим моментом, що тестувався, був ефект додавання збільшуються доз ХГЛ протягом 24 годин. Протягом 24 годин було додано діапазон від 0 до 1000 МО (0, 1, 10, 100, 1000 МО), враховуючи, що 100-200 МО — це максимальна доза, виявлена, *in vivo* через 24 години. Знову збирали середовище та вимірювали IL-1 $\beta$ , IL-6 та VEGF за допомогою ELISA. Усього було проведено три експерименти.

Підтримуючи фіксовану дозу 10<sup>-4</sup> моль/л E2 та 1000 МО ХГЛ, кондиціоновані середовища збирали з інтервалами 0, 3, 6, 12, 24 і 48 год зберігали. Усього було проведено шість дослідів.

У наступній серії експериментів було перевірено, чи здатний VEGF збільшувати вивільнення ІЛ-6 за допомогою HUMEC-L, оскільки відомо, що існує кореляція між імунною системою та ангиогенезом. У трьох експериментах використовували зростаючі концентрації VEGF (0, 10, 100, 1000 та 10000 пг/мл). Згодом, ще у трьох експериментах, було розроблено тимчасові експерименти, в яких до моношару ендотеліальних клітин додавали VEGF (10 мкг/мл) та збирали кондиціоноване середовище через 0, 3, 6, 12, 24 і 48 год для того, щоб знайти початок та тривалість такого ефекту.

Дані, отримані в поточному дослідженні, повторюють ці більше ранні результати. По-перше, було помічено, що E2 сам по собі був нездатний збільшити вивільнення VEGF, ІЛ-6 або ІЛ-1 $\beta$ , якщо тільки не застосовувалася токсична концентрація (10–3 моль/л E2). Добре відомо, що гіпоксичні клітини реагують секрецією VEGF; таким чином, легко пояснити токсичну дію E2. По-друге, додавання HCG індукувало значне вивільнення VEGF за допомогою HUMEC-L. Ця дія була гострою у тому сенсі, що змогли виявити високі концентрації VEGF протягом декількох хвилин після додавання ХГЛ до ендотеліальних клітин експериментах з часом. HCG також був здатний індукувати вивільнення ІЛ-6. Цього не спостерігалося у перших експериментах доза-реакція, що проводилися протягом 24 годин.

Проте експерименти, проведені протягом 48 год, показали посилення вивільнення ІЛ-6 під дією HUMEC-L. Таким чином, здається, що ХГЛ має гостру та хронічну дію, перше спостерігається у VEGF, а друге у ІЛ-6. Крім того, VEGF був також здатний посилювати вивільнення ІЛ-6. через 48 годин, ефект, який блокувався антитілом до VEGF. Ці експерименти спочатку показали, що VEGF може надавати аутокринну дію на ендотеліальні клітини, і дали ключ до розробки нових стратегій запобігання та/або лікування СГЯ. Необхідна нова стратегія, оскільки дію ХГЛ на ендотелій неможливо подолати за допомогою блокуючих ХГЛ антитіл, оскільки цей гонадотропін необхідний для дозрівання ооцитів та фолікулів. Таким чином, можливим способом запобігання каскаду



подій, що ведуть до СГЯ, може бути нейтралізація VEGF та/або блокування його рецепторів.

Нерелевантна роль E2 у патогенезі СГЯ була додатково перевірена при дослідженні присутності та регуляції рецепторів ХГЛ та VEGF. E2 сам по собі був нездатний посилювати регуляцію будь-якого типу рецептора лише на рівні мРНК чи білка. Знову ж таки, саме додавання ХГЛ викликало каскад подій, що призводять до значного збільшення рецептора KDR. Ці дані підтверджують накопичені *in vivo* дані. Добре відомо, що СГЯ рідко розвивається, якщо прийом ХГЛ не проводиться, незважаючи на високі рівні E2 у сироватці, і також було відомо від жінок з дефіцитом ферментів, у яких після агресивної стимуляції яєчників виробляється дуже низький рівень E2, що СГЯ може виникати при дуже низьких рівнях E2 у сироватці [68, 69].

Цілісність ендотеліального цитоскелета важлива для функціональної компетентності ендотеліального бар'єру. Підвищена проникність ендотелію для розчинених речовин і води залежить, по-перше, від форми та конфігурації ендотеліальних клітин, що визначається змінами елементів цитоскелета, таких як актинові філаменти, і, по-друге, від появи міжендотеліальних щілин та дезорганізації ендотелію. ендотеліальні сполучні білки. VEGF може різко порушувати цілісність ендотеліальних клітин *in vivo* та *in vitro*. Проникність капілярів *in vitro* вивчалася шляхом аналізу трансендотеліального потоку альбуміну та організація актинових філаментів.

Було продемонстровано, що VEGF збільшує проникність альбуміну через ендотеліальні моношари, і припущено, що це пов'язано з перебудовою ендотеліальних сполучних білків. Проаналізувавши капілярну проникність, індуковану IL-6, і показавши, що у деяких клітинах актинові філаменти, мабуть, збудовані нерівномірно усередині клітин. Нарешті пов'язані з цим збільшенням проникності, значне морфологічне зміна форми клітин, утворення проміжків між сусідніми клітинами та перебудова актинових філаментів також спостерігалися в клітинах, оброблених IL-6. Проте зміни форми клітин можуть бути пов'язані і з іншими функціями, крім проникності, і це слід пам'ятати [70].

#### 1.4.8 Агоністи дофаміну для профілактики синдрому гіперстимуляції яєчників

Синдром гіперстимуляції яєчників (СГЯ) є потенційно серйозним ускладненням стимуляції яєчників під час використання технологій допоміжної репродукції (ДРТ). Він характеризується збільшенням яєчників та різким переходом рідини з внутрішньосудинного простору, що призводить до здуття живота, підвищеного ризику венозної тромбоемболії та зниження перфузії органів. Більшість випадків є легкими, але форми помірної чи тяжкої форми СГЯ виникають у 3-8% циклів екстракорпорального запліднення (ЕКЗ). Агоністи дофаміну були введені як вторинна профілактика СГЯ у жінок з високим ризиком СГЯ, які отримують АРТ [60].

Агоністи допаміну - це ліки, які можуть запобігти витoku рідини з кровоносних судин в інші частини тіла, що є серйозною проблемою при СГЯ.

Цілью досліджу було оцінити ефективність та безпеку агоністів дофаміну у профілактиці СГЯ у жінок з високим ризиком розвитку СГЯ при проведенні ДРТ-терапії [61].

Критерій вибору. Було розглянуто для включення РКД, в яких порівнювали агоністи дофаміну з плацебо/відсутністю втручання або іншим втручанням для запобігання СГЯ при АРТ. Первинними показниками результату були частота середньоважкого або важкого СГЯ та рівень живородження. Вторинними наслідками були частота клінічної вагітності, багатоплідної вагітності, викиднів та небажаних явищ.

Основні результати. Пошук виявив шість нових РКД, в результаті чого для цього оновленого огляду було включено 22 РКД за участю 3171 жінки з високим ризиком СГЯ. Агоністи дофаміну: каберголін, хінаголід та бромокриптин [65, 66].

#### 1.4.8.1 Агоністи дофаміну в порівнянні з плацебо або відсутністю втручання

Агоністи дофаміну, ймовірно, знижували ризик СГЯ середнього або тяжкого ступеня порівняно з плацебо/відсутністю втручання (ЗШ 0,32, 95% ДІ від 0,23 до 0,44; 10 досліджень, 1202 учасника; докази середньої якості). Це говорить про те, що якщо припустити, що ризик помірною або тяжкою СГЯ після плацебо/відсутності втручання становить 27%, то після прийому агоністів дофаміну ризик буде між 8% і 14%. Не має чіткого підтвердження впливу агоністів дофаміну на частоту живородження (ЗШ 0,96, 95% ДІ від 0,60 до 1,55; 3 дослідження, 362 учасники; докази низької якості). Не має чіткого підтвердження впливу агоністів дофаміну на клінічну вагітність, багатоплідну вагітність, викидень чи небажані явища (докази від дуже низької до низької якості) [66].

#### 1.4.8.2 Агоністи дофаміну плюс спільне втручання проти спільного втручання

Агоністи дофаміну у поєднанні з додатковим втручанням (гідроксиетилкрохмаль, людський альбумін або припинення стимуляції яєчників) можуть знизити ризик СГЯ середнього або тяжкого ступеня порівняно з додатковим втручанням (ЗШ 0,48, 95% ДІ від 0,28 до 0,84; 748). учасники; докази низької якості).

Агоністи дофаміну можуть покращити показники живородження (ЗШ 1,21, 95% ДІ від 0,81 до 1,80; 2 дослідження, 400 учасників).

Агоністи дофаміну можуть покращувати показники клінічної вагітності та викиднів, але ми не впевнені, чи покращують вони показники багатоплідної вагітності чи небажаних явищ (докази від дуже низької до низької якості) [66].

### 1.4.8.3 Агоністи дофаміну в порівнянні з іншими активними втручаннями

Не має впевненості, чи знижує каберголін ризик СГЯ середнього або тяжкого ступеня в порівнянні з людським альбуміном (ЗШ 0,21, 95% ДІ від 0,12 до 0,38; 3 дослідження, 296 учасників; докази дуже низької якості), преднізолоном (ЗОШ 0,27, 95% ДІ 0,05). до 1,33; 1 дослідження; 150 учасників; докази дуже низької якості), гідроксиетилкрохмаль (ЗОШ 2,69, 95% ДІ від 0,48 до 15,10; 1 дослідження, 61 учасник; докази дуже низької якості), каучинг (ЗОШ 0,42, 95% ДІ від 0,18 до 0,95; 3 дослідження, 320 учасників; докази дуже низької якості), інфузія кальцію (ЗШ 1,83, 95% ДІ від 0,88 до 3,81;  $I^2 = 81\%$ ; 2 дослідження, 400 учасників; докази дуже низької якості) або діосмін (ЗШ 2,85, 95% ДІ від 1,35 до 6,00; 1 дослідження, 200 учасників; докази дуже низької якості).

Не має впевненості у впливі агоністів дофаміну на частоту живородження (ЗШ 1,08, 95% ДІ від 0,73 до 1,59; 2 дослідження, 430 учасників; докази низької якості).

Не має впевненості у впливі агоністів дофаміну на клінічну вагітність, багатоплідну вагітність або викидень (докази низької та середньої якості). Про небажані явища не повідомлялося [66].

Агоністи дофаміну, ймовірно, знижують частоту СГЯ середнього або тяжкого ступеня порівняно з плацебо/відсутністю втручання, у той час як ми не впевнені у їхньому впливі на небажані явища та наслідки вагітності (живонародження, клінічна вагітність, викидень). Агоністи дофаміну в поєднанні з супутнім втручанням можуть знизити частоту СГЯ середнього або тяжкого ступеня порівняно з одночасним втручанням, але не має впевненості, чи агоністи дофаміну впливають на наслідки вагітності. Порівняно з іншими активними втручаннями не має впевненості у впливі агоністів дофаміну на помірний чи тяжкий СГЯ та наслідки вагітності [61, 63].

1.5 Прогностичні фактори для часу відновлення у зачатих жінок, які страждають на синдром гіперстимуляції яєчників від помірного до важкого ступеня

Це дослідження було спрямоване на оцінку потенційних предикторів часу відновлення у вагітних із синдромом гіперстимуляції яєчників (СГЯ) середнього та важкого ступеня [71].

Загалом 424 вагітні пацієнтки з СГЯ середнього та важкого ступеня, яким була проведена процедура *in vitro*. Були зібрані клінічні ознаки та лабораторні дані протягом 24 годин після надходження. Лікування СГЯ проводилося за стандартними методиками, включаючи замісну інфузійну терапію, людський альбумін, аспірин, низькомолекулярний гепарин, при необхідності парацетез. Пацієнтів виписували зі стаціонару, коли ранковий гематокрит становив  $<40\%$  і були відсутні явні клінічно значущі симптоми, такі як здуття живота, біль у животі та задишка. Тим часом, потрібно УЗД, що вказує на невеликий плевральний або черевний випіт і повернення біохімічних відхилень до норми. Кореляційний аналіз Спірмена використовували для оцінки зв'язку між параметрами, пов'язаними з кров'ю та часом відновлення [71, 72].

Отримані результати. Середній час відновлення цих пацієнтів становив 11 днів. У кореляційному тесті Спірмена лейкоцити, гемоглобін, тромбоцити, гематокрит, креатинін, протромбіновий час (PT), фібриноген (Fib), D-димер та продукти деградації фібриногену (FDP) позитивно корелювали з часом відновлення. З іншого боку, альбуміновий та тромбіновий час (ТВ) негативно корелювали з часом відновлення. Множинний лінійний регресійний аналіз показав, що синдром полікістозних яєчників (СПКЯ), гемоглобін, тромбоцити, альбумін і Фіб були значуще пов'язані з часом відновлення пацієнтів із СГЯ ( $p = 0,023$ ,  $p < 0,001$ ,  $p = 0,000,0$  відповідно) [74].

Лікування СГЯ зазвичай включає заміщення рідини для підтримки внутрішньосудинної перфузії і підтримуючу терапію, таку як низькомолекулярна

декстроза і гідроксиетилкрохмаль. У хворого спостерігають аналіз крові, коагуляційний профіль, електроліти, креатинін, альбумін. Залежно від стану пацієнта альбумін вводять внутрішньовенно, а антикоагулянти дають пацієнтам з тенденцією до тромбоутворення та гіперкоагуляцією для запобігання тромбозу ( 18 ). При цьому за наявності у хворого великих обсягів плеври та асцити пункцію та дренування проводили під контролем УЗД.

Пацієнт клінічновилікуваний, коли ранковий гематокрит був <40% і не існує явних клінічно значущих симптомів, таких як здуття живота, біль у животі та задишка ( 19 ). З іншого боку, УЗД має вказувати на відсутність плеврального та черевного випоту або невелику кількість випоту, а кількість лейкоцитів, креатиніну, альбуміну, аланінтрансамінази (АЛТ), аспартатамінотрансферази (АСТ), електролітів та інших біохімічних показників має повернутися до норм. простий. Критеріями виписки вважалися критерії лікування пацієнтів.

У вагітних із СГЯ СПКЯ та гіпоальбумінемія асоціювалися із значно більш тривалим періодом відновлення. Тим часом час відновлення був більшим, коли у пацієнтів були високі рівні гемоглобіну, тромбоцитів і Фібоначчі [73, 75].

## 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

### 2.1 Об'єкти і матеріали дослідження

Дослідження проведено на базі кафедри фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини Запорізького національного університету спільно з комунальною установою «Обласний медичний центр репродукції людини» Запорізької міської ради. Обстежено 17 пацієнток віком від 22 до 31 року (дослідна група), які знаходились на обстеженні та лікуванні у комунальній установі «Обласний медичний центр репродукції людини» Запорізької міської ради. Дослідна група формувалась, враховуючи початкові клінічні ознаки синдрому гіперстимуляції яєчників та наявність формування при гормональній стимуляції більше 10 фолікулів за даними УЗД. Групою контролю були 11 жінок 19-28 років, які проходили планове профілактичне обстеження.

Усі жінки були обстежені на сифіліс, вірус гепатиту і ВІЛ, як передбачено Наказом МОЗ України №417 від 15.07.2011 «Про організацію амбулаторної акушерсько-гінекологічної допомоги в Україні». Дослідження не суперечить загальноприйнятим біоетичним нормам і проведене з урахуванням відповідних принципів Гельсінської декларації прав людини<sup>22</sup> та Конвенції Ради Європи про права людини.

У зразках венозної крові підраховували загальну кількість лейкоцитів за П'ятницьким [76], лейкоцитарну формулу крові [77] та у мазках крові паралельно проводили цитоморфометричні вимірювання лімфоцитів [78].

## 2.2 Методи дослідження

### 2.2.1 Цитоморфометричний метод

Для використання морфометричних методів не потрібно спеціального оснащення. Одним із варіантів планіметричного методу є «клітинний» або «сітковий» метод, коли до окуляру вставляється окуляр-мікрометр у вигляді лінійки або сітки Автандилова. Насамперед встановлюють, чому відповідає одна поділка окуляр - мікрометра при збільшенні об 100х; ок. 7х. Для цього на предметний столик встановлюють об'єкт-мікрометр, виставляють його лінійні розміри в центр поля зору при даному збільшенні і сполучають лінійні розміри об'єкт - мікрометра (початок лінійки) із лінійними розмірами окуляр-мікрометра (край сітки Автандилова). Під мікроскопом визначають число поділок (а) об'єкт - мікрометра, що відповідають кількості поділок окуляр-мікрометра (в). Після цього знаходили ціну поділок застосовуваних вставок за формулою:  $p = a \times c / v$ , де с - ціна поділки об'єкт - мікрометра.

Діаметр досліджуваної клітини визначали накладенням на мікропрепарат (на клітину, що вимірюється) квадратної сітки або лінійки з відомою ціною поділки. Потім підраховують кількість повних і неповних квадратів, які відповідають діаметру аналізованої структури і що будуть являти собою діаметр клітини в умовних одиницях (у. о.). Визначають два діаметри клітини (в умовних одиницях) - максимальний і мінімальний, після чого встановлюють його середнє значення, яке переводять у мікрометри, перемножуючи отримане значення в умовних одиницях на ціну поділки боку квадрата сітки Автандилова [78].



### 2.2.2 Статистична обробка експериментальних даних

Отримані експериментальні дані піддали статичній обробці за допомогою пакету статистичних програм Statistica 6.0. Перевірку розподілу показників вибірок проводили за критерієм Шапіро-Уїлка. Враховуючи, що більшість розподілів медико-біологічних показників, особливо показників у малих вибірках, не є параметричними, для статистичної обробки результатів були використані не-параметричні методи варіаційної статистики [79]: критерій Манна — Уїтні (показник  $U$ ) для порівняння двох незалежних вибірок. Статистична значущість відмінностей оцінювалася при вірогідності справедливості нульової гіпотези менше 0,05% ( $p < 0,05$ ). Дані в тексті й таблицях представлені у вигляді  $Me(25;75)$  (де  $Me$  — медіана, 25 і 75 - інтерквартильний розмах у вигляді 25-го і 75-го центилей). Медіана – значення, яке розділяє вибірку спостережень навпіл (половина значень вибірки менше медіани, друга половина – більше її) та використовується для опису центральної тенденції розподілу показників вибірки. Інтерквартильний розмах – інтервал значень, який містить центральні 50% показників вибірки (тобто інтервал між 25-м та 75-м центилями) [79].

## 3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Дані вмісту лейкоцитів та аналізу лейкоцитарної формули периферичної крові жінок обстежених груп представлені у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1 – Вміст лейкоцитів та лейкоцитарна формула крові жінок з ризиком розвитку синдрому гіперстимуляції яєчників при використанні допоміжних репродуктивних технологій

Показник	Контрольна група	Дослідна група
	Me (25;75)	Me (25;75)
Лейкоцити, Г/л	6,85 (5,70; 8,60)	10,55* (9,50; 12,00)
Паличкоядерні нейтрофіли, %	1,00 (0,00; 2,00)	3,00 (1,00; 5,00)
Сегментоядерні нейтрофіли, %	56,00 (51,00; 61,50)	57,00 (49,50; 61,50)
Еозинофіли, %	2,00 (1,00; 3,00)	1,00 (1,00; 3,00)
Лімфоцити, %	36,00 (31,50; 42,50)	33,00 (27,00; 39,00)
Моноцити, %	5,00 (4,50; 8,00)	6,00 (5,00; 9,00)

Примітка. \* – показник статистично значимо відрізняється від даних осіб групи контролю ( $p \leq 0,05$ );

Середні значення гематологічних показників обох обстежених груп не виходили за межі норми, за виключенням тенденції до підвищення загальної кількості лейкоцитів у групі осіб з ризиком розвитку синдрому гіперстимуляції

яєчників. Ця тенденція може узгоджуватись з наявними механізмами запального характеру вказаного синдрому.

Таким чином, загальний вміст лейкоцитів та аналіз лейкоцитарної формули крові не дають відповідей на визначення прогностичного лабораторного критерію щодо раннього виявлення синдрому гіперстимуляції яєчників. Тому наступним етапом дослідження стало вивчення цитоморфометричних показників основних клітин специфічного імунітету – лімфоцитів, зважаючи на те, що різні розмірні класи лімфоцитів мають функціональне значення при імуногенезі. Дані цитоморфометричного аналізу представлені у таблиці 3.2.

Таблиця 3.2 – Цитоморфометричні показники лімфоцитів периферичної крові у жінок з ризиком розвитку синдрому гіперстимуляції яєчників при використанні допоміжних репродуктивних технологій

Показник	Контрольна група	Дослідна група
	Me (25;75)	Me (25;75)
КЛ $\leq$ 6,0 мкм, %	26,50 (21,50; 28,00)	37,00* (30,00; 40,50)
КЛ 7,0-9,0 мкм, %	57,00 (51,00; 68,50)	52,00 (44,50; 55,50)
КЛ $\geq$ 10,0 мкм, %	16,50 (15,00; 18,50)	11,00 * (8,00; 12,50)

Примітка. \* – показник статистично значимо відрізняється від даних осіб групи контролю ( $p \leq 0,05$ );

Серед цитоморфометричних показників були виявлені певні відмінності серед груп обстежених. Так, відносний вміст середніх розмірних класів лімфоцитів (КЛ 7-9 мкм) у дослідній групі жінок порівняно з контролем мала тенденцію до зниження, так як відбувається напруження імунітету і лімфоцити середнього розмірного класу активуються та переходять до наступного функціональ-

ного класу ( $KJ \geq 10,0$  мкм). Цей процес підтверджений зниженням рівня великих розмірних класів лімфоцитів у дослідній групі, так як вони активно проліферують та через серію послідовних мітозів через напруження імуногенезу також переходять, перерозподіляються у збільшенням малих розмірних класів лімфоцитів.

Цитоморфометричний метод дослідження заснований на двох цитологічних особливостях. По - перше, на зміні морфології, зокрема, розмірів лімфоцитів в ході лімфоцитогезу в центральних органах, і на етапах імуногенезу в периферичних органах імунної системи; по - друге, на гетерогенності лімфоцитів за тривалістю рециркуляції в організмі після їх утворення. Виходячи з вказаних особливостей весь циркулюючий пул лімфоцитів чітко розділяється на три структурно-функціональні групи: малі (до 6,0 мкм), середні (7-9 мкм) і великі (10 і більше мкм) лімфоцити. Попередніми дослідженнями показано, що класи лімфоцитів, які знаходяться в циркулюючому пулі, з діаметром клітин до 6,0 мкм ( $KJ < 6,0$  мкм) є ранніми постпроліферативними зрілими активованими Т- і В- лімфоцитами з високою міграційною активністю. Ці класи лімфоцитів, в основному, утворилися в результаті серії послідовних мітотичних поділів при імуногенезі. Основна кількість тривалоциркулюючих лімфоцитів, які зберігають потенції до імуногенезу, мають середній діаметр 7-9 мкм, обумовлений тканинноспецифічним ядерно-цитоплазматичним співвідношенням. У периферичних лімфоїдних органах вказані лімфоцити в результаті автоантигенних і антигенних, а також мітогенних стимулів активуються, трансформуються в імунобласти (більше 10 мкм в діаметрі), в цитоплазмі яких розгортається білок-синтетична система. Потім вони послідовно діляться 6-10 разів. Кількість мітозів залежить від конкретної імунологічної ситуації в організмі. Під час наступних один за одним поділів діаметр клітин зменшується за рахунок цитоплазми, яка не встигає відновлюватися за час коротких інтерфаз. Проліферація лімфоцитів є обов'язковою фазою імуногенезу, під час якої відбувається також і їх диференціювання в ефекторні та регуляторні клітини, а також клітини пам'яті. Малі лімфоцити, які утворилися, активно включаються до ре циркулюючого

пулу лімфоцитів, для чого їх малий розмір біологічно доцільний: сприяє кращій міграції, оскільки вона здійснюється, в основному, через цитоплазму клітин високого епітелію пост капілярних венул за допомогою рецептор-лігандного піноцитозу. В період міграції у внутрішньому середовищі організму КЛ $\leq$ 6,0 мкм стають доступними для аналізу як активовані лімфоцити. Тому за їх динамікою, наприклад, в периферичній крові, можна судити про напруженість імунітету. В процесі рециркуляції малих лімфоцитів їх діаметр відновлюється до оптимального (7-9 мкм), властивого тканинно специфічному ядерно-цитоплазматичному співвідношенню.

Таким чином, цитоморфометричні показники вмісту малих та великих розмірних класів лімфоцитів при наявній автоматизації підрахунку можуть використовуватись як функціональні критерії ризику розвитку патологічного процесу та його важкості, в тому числі при синдромі гіперстимуляції яєчників.

## 4 ОХОРОНА ПРАЦІ

До небезпечних та шкідливих виробничих факторів робочих зон клініко-діагностичної лабораторії відносять концентровані та розведені кислоти, луги; різноманітні реактиви та продукти отруйних речовин; легко займисті рідини; електрична напруга 380, 220 В; вибухонебезпечні речовини: пікринова кислота; механізми, що обертаються (центрифуги).

Роботу необхідно виконувати, дотримуючись санітарних вимог, вимог інструкцій з охорони праці, інструкції з виробничої санітарії, інструкції з профілактики розповсюдження інфекційних захворювань та інструкцій з експлуатації відповідного обладнання. Приміщення лабораторії повинні бути забезпечені справною припливно-витяжною вентиляцією, засобами пожежогасіння. Освітлення робочих місць повинне відповідати санітарним нормам. Металеві корпуси електрообладнання, апаратів, включаючи й переносні, повинні бути заземлені.

До роботи у лабораторії допускаються особи, навчені методам та прийомам безпечної роботи, а також за станом здоров'я.

Після роботи всі робочі поверхні обробляють дезрозчином. Лабораторні інструменти, пробірки, меланжери, кювети фотоелектроколориметру, піпетки, наконечники і інший посуд після кожного використання повинні піддаватися дезинфекції. Дезинфікуючі розчини використовуються одноразово.

Співробітники лабораторії зобов'язані піклуватися про власну безпеку, а також про безпеку та здоров'я інших людей в процесі виконання будь-яких робіт або під час перебування та території робочої зони. Для цього необхідно добре знати та чітко дотримуватись усіх правил з охорони праці, виробничої санітарії, пожежної та електричної безпеки.

## ВИСНОВКИ

1. Загальний вміст лейкоцитів та показники лейкоцитарної формули крові обох обстежених груп не виходили за межі норми, за виключенням тенденції до підвищення загальної кількості лейкоцитів у жінок групи з ризиком розвитку синдрому гіперстимуляції яєчників..

2. У осіб з ризиком розвитку синдрому гіперстимуляції яєчників порівняно з даними контрольної групи виявлено статистично значиме збільшення малих розмірних класів лімфоцитів ( $KL \leq 6,0$  мкм) за рахунок перерозподілу середніх ( $KL$  7-9 мкм) та великих ( $KL \geq 10,0$  мкм) розмірних класів, що відображає значну напругу імунних механізмів у осіб дослідної групи.

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для жінок з ризиком розвитку синдрому гіперстимуляції яєчників для виявлення найбільш ранніх проявів розвитку ускладнення та відстеження динаміки патологічного процесу до лабораторного протоколу обстеження доцільним було б увести визначення вмісту функціональних розмірних класів лімфоцитів як відображення рівня напруги імунних механізмів у організмі, особливо при наявній автоматизації процесу (використання аналізаторів).

2. Отримані результати можуть бути використані при провадженні навчального процесу в закладах вищої освіти, зокрема при викладанні дисциплін «Імунологічні методи лабораторної діагностики», «Біохімічні методи лабораторної діагностики», «Клінічна (лабораторна) імунологія», «Клінічна біохімія».



## ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Reflections on the clonal-selection theory / Cohn M. et al, . *Nat. Rev. Immunol.* 2007. №7. P. 823–830.
2. Silverstein A.M. Cellular versus humoral immunology: a century-long dispute. *Nat. Immunol.* 2003. № 4. P. 425–428.
3. Turk J.L. Almroth Wright: phagocytosis and opsonization. *J. Roy. Soc. Med.* 1994. № 87. P. 576–577.
4. Boehm T., Swann J.B. Origin and evolution of adaptive immunity. *Annu Rev. Anim. Biosci.* 2014. № 2. P. 259–283.
5. Flajnik M.F. A cold-blooded view of adaptive immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 2018. № 18. P. 438–453.
6. Litman G.W, Rast J.P, Fugmann S.D. The origins of vertebrate adaptive immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 2010. № 10. P. 543– 553.
7. The ontogenetic path of human dendritic cells. / Amon L. et al. *Mol. Immunol.* 2020. № 120. P. 122–129.
8. Eisenbarth S.C. Dendritic cell subsets in T cell programming: location dictates function. *Nat. Rev. Immunol.* 2019. № 19. P. 89–103.
9. Fan X., Rudensky A.Y. Hallmarks of tissue-resident lymphocytes. *Cell.* 2016. № 164. P. 1198–1211.
10. Ginhoux F., Guilliams M. Tissue-resident macrophage ontogeny and homeostasis. *Immunity.* 2016. № 44. P. 439–449.
11. Dendritic cells, monocytes and macrophages: a unified nomenclature based on ontogeny / Guilliams M., Ginhoux F., Jakubzick C., et al. *Nat. Rev. Immunol.* 2014. № 14. P. 571–578.
12. Hume D.A, Irvine K.M, Pridans C. The mononuclear phagocyte system: the relationship between monocytes and macrophages. *Trends. Immunol.* 2019. № 40. P. 98–112.

13. Lavin Y., Mortha A., Rahman A., Merad M. Regulation of macrophage development and function in peripheral tissues. *Nat. Rev. Immunol.* 2015. № 15. P. 731–744.
14. Lawrence S.M., Corriden R., Nizet V. The ontogeny of a neutrophil: mechanisms of granulopoiesis and homeostasis. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2018. №82. P. 57–67.
15. Mildner A., Jung S. Development and function of dendritic cell subsets. *Immunity.* 2014. № 40. P. 642–656.
16. Swiecki M., Colonna M. The multifaceted biology of plasmacytoid dendritic cells. *Nat. Rev. Immunol.* 2015. № 15. P. 471–485.
17. Fletcher A.L., Acton S.E., Knoblich K. Lymph node fibroblastic reticular cells in health and disease. *Nat. Rev. Immunol.* 2015. № 15. P. 350–361.
18. The lymph node at a glance: how spatial organization optimizes the immune response / Grant S.M. et al. *J. Cell Sci.* 2020. № 133. P. 241–268.
19. Krishnamurthy A.T., Turley S.J. Lymph node stromal cells: cartographers of the immune system. *Nat. Immunol.* 2020. № 21. P. 369–380.
20. Lewis S.M., Williams A., Eisenbarth S.C. Structure and function of the immune system in the spleen. *Sci. Immunol.* 2019. № 4. P. 60–85.
21. Petrova T.V., Koh G.Y. Organ-specific lymphatic vasculature: from development to pathophysiology. *J. Exp. Med.* 2018. № 215. P. 35–49.
22. Carmona L.M., Schatz D.G. New insights into the evolutionary origins of the recombination-activating gene proteins and V(D)J recombination. *FEBS J.* 2017. № 284. P. 1590–1605.
23. Clark M.R., Mandal M., Ochiai K., Singh H. Orchestrating B cell lymphopoiesis through interplay of IL-7 receptor and pre-B cell receptor signalling. *Nat. Rev. Immunol.* 2014. № 14. P. 69–80.
24. Control of B-1a cell development by instructive BCR signaling / Kreslavsky T., Wong J.B., Fischer M. et al. *Curr. Opin. Immunol.* 2018. № 51. P. 24–31.

25. Lin S.G., Ba Z., Alt F.W., Zhang Y. Rag chromatin scanning during V(D)J recombination and chromatin loop extrusion are related processes. *Adv. Immunol.* 2018. № 139. P. 93–135.
26. Schatz D.G., Oettinger M.A., Baltimore D. The V(D)J recombination activating gene, RAG-1. *Cell.* 1989. № 59. P. 1035–1048.
27. Boehm T., Swann J.B. Thymus involution and regeneration: two sides of the same coin? *Nat Rev. Immunol.* 2013. № 13. P. 831–838.
28. De Obaldia M.E., Bhandoola A. Transcriptional regulation of innate and adaptive lymphocyte lineages. *Annu. Rev. Immunol.* 2015. № 33. P. 607–642.
29. Gascoigne N.R., Rybakin V., Acuto O., Brzostek J. TCR signal strength and T cell development. *Annu. Rev. Cell Dev Biol.* 2016. № 32. P. 327–348.
30. Hogquist K.A., Jameson S.C. The self-obsession of T cells: how TCR signaling thresholds affect fate ‘decisions’ and effector function. *Nat. Immunol.* 2014. № 15. P. 815–823.
31. Kappler J.W., Roehm N., Marrack P. T cell tolerance by clonal elimination in the thymus. *Cell.* 1987. № 49. P. 473–280.
32. Klein L., Robey E.A., Hsieh C.S. Central CD4 + T cell tolerance: deletion versus regulatory T cell differentiation. *Nat. Rev. Immunol.* 2019. № 19. P. 7–18.
33. Rodewald H.R. Thymus organogenesis. *Annu. Rev. Immunol.* 2008. №26. P. 355–388.
34. Rothenberg E.V. Programming for T-lymphocyte fates: modularity and mechanisms. *Genes Dev.* 2019. № 33. P. 1117–1135.
35. Takahama Y., Ohigashi I., Baik S., Anderson G. Generation of diversity in thymic epithelial cells. *Nat. Rev. Immunol.* 2017. № 17. P. 295–305.
36. Taniuchi I. CD4 helper and CD8 cytotoxic T cell differentiation. *Annu. Rev. Immunol.* 2018. № 36. P. 579–601.
37. Aboulghar M.A., Mansour R.T. Ovarian hyperstimulation syndrome: classifications and critical analysis of preventive measures. *Hum. Reprod. Update.* 2003. № 9. P. 275-289.

38. Distinction between early and late ovarian hyperstimulation syndrome / Med Kreslavsky T., Wong J.B., Fischer M. et al. *Fertil. Steril.* 2000. № 73. P. 9017–9025.
39. A mutation in the follicle-stimulating hormone receptor as a cause of familial spontaneous ovarian hyperstimulation syndrome / Montanelli L., Delbaere A., Di Carlo C et al. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004. № 89. P. 12558–12691.
40. Ovarian hyperstimulation syndrome due to a mutation in the follicle-stimulating hormone receptor / Smits G., Olatunbosun O., Delbaere A. et al. *N. Engl. J. Med.* 2003. № 349. P. 7606–7622.
41. A chorionic gonadotrophin-sensitive mutation in the follicle-stimulating hormone receptor as a cause of familial gestational spontaneous ovarian hyperstimulation syndrome / Vasseur C., Rodien P., Beau I. et al. *N. Engl. J. Med.* 2003. № 349. P. 7539–7556.
42. Carmina E., Lobo R. A. Polycystic ovary syndrome (PCOS): arguably the most common endocrinopathy associated with significant morbidity in women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1999. № 84. P. 18979–18991.
43. Delvigne A. Epidemiology and pathophysiology of ovarian hyperstimulation syndrome. In (Gerris J, Olivennes F, de Sutter P, Eds), *Assisted Reproductive Technologies: Quality and Safety*. New York: Parthenon Publishing. 2004. 14962 p.
44. Naredi N., Talwar P., Sandeep K. VEGF antagonist for the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome: Current status. *Med. J. Armed. Forces. India.* 2014. № 70. P. 58–63.
45. Herr D., Bekes I., Wulff C. Local ReninAngiotensin system in the reproductive system. *Front Endocrinol (Lausanne). Pub Med Central.* 2013. № 4. P. 150.
46. Ovarian hyperstimulation syndrome: Pathophysiology, risk factors, prevention, diagnosis and treatment / Lamazou F., Legouez A., Letouzey V., Grynberg M., Deffieux X., Trichot C. et al. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.* 2011. № 40. P. 593–611.

47. Ovarian Hyperstimulation Syndrome: A Narrative Review of Its Pathophysiology, Risk Factors, Prevention, Classification, and Management / Bahia Namavar Jahromi, Mohammad Ebrahim Parsanezhad, Zahra Shomali et al. *Pub Med Central* 2018. Vol 43. № 3. P. 149-160.
48. Correlation Between Oocyte Number and Follicular Fluid Concentration of Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide (PACAP) in Women After Superovulation Treatment / Koppan M., Varnagy A., Reglodi D. et al. *J. Mol. Neurosci.* 2012. Vol. 48, №3. P. 617–622.
49. Veropotvelyan P. N., Guzhevskaya I. V., Veropotvelyan N. P. Ovarian hyperstimulation syndrome: the role of immune factors. *J. Mol. Neurosci.* 2013. №. 1 (64). P. 34–43.
50. Akinshina S. V., Makatsaria A. D., Bitsadze V. O. Thrombophilia and thromboembolic complications associated with the use of assisted reproductive technologies. *Hum. Fertil.* 2014. № 2. P. 89–96.
51. Daniel Y., Geva E., Amit A. Soluble endothelial and platelet selectins in serum and ascitic fluid of women with ovarian hyperstimulation syndrome. *J. Reprod. Immunol.* 2001. Vol. 45. № 3. P. 154–160.
52. The role of IL-6 trans-signaling in vascular leakage: implications for ovarian hyperstimulation syndrome in a murine model / Wei L. H. et. al. *Endocrinol. Metab.* 2013. Vol. 98. № 3. P. 472–484.
53. Chen C. D. Prevention and management of ovarian hyperstimulation syndrome. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 2012. Vol. 26. №6. P. 817–827.
54. Evbuomwan I. The role of osmoregulation in the pathophysiology and management of severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum. Fertil.* 2013. Vol. 16. №3. P. 162–167.
55. The risk of hypercoagulability in ovarian hypercoagulability in ovarian hyperstimulation syndrome / Danolić D., Kasum M. et al. *Acta Clin. Croat.* 2015. Vol. 54. №2. P. 186–192.

56. Attenuated AMH signaling pathway plays an important role in the pathogenesis of ovarian hyperstimulation syndrome / Lan Wang, Hemei Li. et al. 2015. Vol. 7. № 10. P. 1925–1938.

57. Xu G. F., Zhang J. Y., Pan H. T. Cardiovascular dysfunction in offspring of ovarian-hyperstimulated women and effects of estradiol and progesterone: a retrospective cohort study and proteomics analysis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2014. Vol. 99. №12. P. 2494–2503.

58. Mathur R. S. British Fertility Society Policy and Practice Committee: prevention of ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum. Fertil.* 2014. Vol. 17. № 4. P. 257–268.

59. Smith V. Prevention of Ovarian Hyperstimulation Syndrome: A Review. V. Smith, T. Osianlis, B. Vollenhoven. *Obstet. Gynecol. Int.* 2015. Vol. 20. P. 514–529.

60. Walls M.L., Hunter T., Ryan J.P., Nathan E. *In vitro* maturation as an alternative to standard in vitro fertilization for patients diagnosed with polycystic ovaries: a comparative analysis of fresh, frozen and cumulative cycle outcomes. *Human Reproduction.* 2015. № 30(1). P. 88–96.

61. Treatment of infertility in polycystic ovary syndrome: a brief update / Costello M.F., Misso M.L. et al. *Australian & New Zealand Journal of Obstetrics & Gynaecology.* 2012. № 52(4). P. 400-403.

62. D'Angelo A., Amso N.N., Hassan R. Coasting (withholding gonadotrophins) for preventing ovarian hyperstimulation syndrome. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2017. №5. P. 2811–2823.

63. Youssef M.A., Mourad S. Volume expanders for the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2016. №8. P. 1302–1325.

64. Zanettini R., Antonini A., Gatto G., Gentile R. Valvular heart disease and the use of dopamine agonists for Parkinson's disease. *New England Journal of Medicine.* 2007. № 35. P. 39-46.

65. Tang H., Mourad S., Zhai S.D., Hart R.J. Dopamine agonists for preventing ovarian hyperstimulation syndrome. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2016. № 11. P. 8605–8613.
66. Casper R.F. Reducing the risk of OHSS by GnRH agonist triggering. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2015. №100(12). P. 4396-4408
67. Bates D.O., Lodwick D., Williams B. Vascular endothelial growth factor and microvascular permeability. *Microcirculation*. 1999. № 6. P.83–96.
68. Ludwing M., Jekmann W., Bauen O. Prediction of severe ovarian hyperstimulation syndrome by free serum vascular endothelial growth factor concentration on the day of human chorionic gonadotropin administration. *Hum. Reprod*. 1999. № 14. P. 2437–2441.
69. Taylor A.H., Al-Azzawi F. Immunolocalization of oestrogen receptor beta (ER) in human tissues. *J. Mol. Endocrinol*. 2000. № 24. P. 145–155.
70. Significance of macrophage chemoattractant protein-1 in macrophage recruitment, angiogenesis, and survival in human breast cancer / Uneo T., Toi M., Saji H., Muta M., Bando H., Kuroi K. et al. *Clin. Cancer Res*. 2000. № 8. P. 3282–3289.
71. ASRM. Prevention and Treatment of Moderate and Severe Ovarian Hyperstimulation Syndrome: A Guideline. *Fertil Steril*. 2016. № 106(7). P. 1634–1647.
72. Ovarian Hyperstimulation Syndrome: A Clinical Report on 4894 Consecutive ART Treatment Cycles / Sousa M., Cunha M., Teixeira da Silva J., Oliveira C. et al. *Reprod Biol Endocrinol*. 2015. № 13. P. 66.
73. Oocyte Number as a Predictor for Ovarian Hyperstimulation Syndrome and Live Birth: An Analysis of 256,381 *In Vitro* Fertilization Cycles / Steward R.G., Lan L., Shah A.A., Yeh J.S., Price T.M., Goldfarb J.M. et al. *Fertil Steril*. 2014. Vol. 101. № 4. P. 967–973.
74. Ashrafi M., Bahmanabadi A., Akhond M.R. Predictive Factors of Early Moderate/Severe Ovarian Hyperstimulation Syndrome in non-Polycystic Ovarian

Syndrome Patients: A Statistical Model. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2015. № 292(5). P. 1145–1152.

75. Ovarian Hyperstimulation Syndrome: Pathophysiology, Staging, Prediction and Prevention / Nastri C.O., Teixeira D.M. et al. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015. № 45(4). P. 377–393.

76. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике. М.: Медицина, 1987. 368 с.

77. Юрковский О.И. , Грицюк А.М. Общеклинические анализы в практике врача. М.: Медицина, 1997. 123 с.

78. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. М.: Медицина, 1990. 384 с.

79. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: Медиасфера, 2002. 312 с.