In vitro орчин дах үр хөврөлийн хөгжил болон фолликулын шингэн дэх өөх тосны үзүүлэлт хоорондын хамаарлыг судалсан нь

Т.Тэлмэн[1,2], Ч.Оргилболд[2], Н.Баасандамба[2], Х.Дөлгөөн[2], Д.Золбоо[2], Л.Үнэнцацрал[2], Г.Ариунаа[2], Б.Номундарь[1,2], М.Мөнхзол[1], Э.Одхүү[1,2], О.Зэсэмдорж[1]

[1]АШУҮИС
[2]RMC Үр шилжүүлэн суулгах үндэсний төв
Цахим шуудан: tugsuutelmen@gmail.com, Утас:88066989

Түлхүүр үг:

Бластоцист
Холестерин
Өндгөн эс
Кломифен цитрат
Нормозоосперми

Товч утга:

Үндэслэл: Үр шилжүүлэн суулгах эмчилгээнд нөлөөлдөг томоохон хүчин зүйлийн нэг нь фолликулын хөгжил юм. Фолликулын шингэний найрлага, түүний физиологийн үүрэг, оролцоог зөв таньж мэдэх нь өндгөн эсийн боловсролт болон фолликулын хөгжлийн онолын суурь ойлголтыг бий болгож улмаар үр шилжүүлэн суулгах эмчилгээний үр дүнг нэмэгдүүлэх ач холбогдолтой. **Зорилго:** Фолликулын шингэн дэх холестерины агууламж болон үр хөврөлийн хөгжлийн хамаарлыг судлах. **Арга, аргачлал:** Судалгаанд 2020-2022 оны хооронд "RMC" үр шилжүүлэн суулгах үндэсний төвд үр шилжүүлэн суулгах эмчилгээ хийлгэсэн, өвчний олон улсын 10 дугаар ангиллаар 97.1 оноштой, өндгөвчийг кломифен цитратаар сэдээсэн, эрэгтэй нь нормозоосперми оноштой нийт 30 эмэгтэйг хамруулсан. Судалгаанд хамрагдагсдыг фолликулын шингэн дэх холестерины түвшингээр дунджаас их болон бага гэсэн 2 бүлэг болгон ангилж бүлэг хооронд өндгөн эсийн боловсролт, үр тогтолт, хуваагдал, бластоцист үүсэлт болон бластоцистын зэргийг харьцуулан судалсан. Бластоцистыг "Kato Ladies Clinic"-ийн ангиллаар үнэлсэн бөгөөд сайн болон сул гэсэн 2 бүлэг болгон ангилсан. **Үр дүн:** Судалгаанд хамрагдагсдын дундаж нас 38±4.4 жил бөгөөд нийт 30 мөчлөгийн 74 өндгөн эс соруулж авснаас MII өндгөн эс 81.1% (n=60), MI өндгөн эс 2.7% (n=2), GV 6.7% (n=5), degenerated буюу задарсан эс 9.4% (n=7) тус тус байв. Нийт 63 эсэд үр тогтоолт хийснээс 30 өндгөн эсэд уламжлалт аргаар, 33 өндгөн эсэд тарих аргаар үр тогтоолт хийсэн бөгөөд бүлэг хооронд үр тогтолт, хуваагдал, бластоцист үүсэлт ач холбогдол бүхий ялгаа ажиглагдаагүй (p утга >0.05). Харин холестерины түвшин их бүлэг (66.7%, n=10) дэх сайн бластоцистын хувь нь холестерины түвшин бага бүлэгтэй (12.5%, n=1) харьцуулахад ач холбогдол бүхий ялгаатай байв (p утга <0.01). **Дүгнэлт:** Фолликулын шингэн дэх холестерины түвшин их байх нь үнэлгээ тааруу бластоцист (C,D,E зэрэглэл) үүсэх эрсдлийг 14.0 дахин ихэсгэж байна [OR= 14.0, 95% CI: 1.329-147.429, p<0.05].

Үндэслэл: Үр шилжүүлэн суулгах эмчилгээнд нөлөөлдөг томоохон хүчин зүйлийн нэг нь фолликулын хөгжил юм. Фолликулын шингэн нь өндгөн эс хөгжих хамгийн чухал орчин учир фолликулын шингэний найрлага, түүний физиологийн үүрэг, оролцоог зөв таньж мэдэх нь өндгөн эсийн боловсролт болон фолликулын хөгжлийн онолын суурь ойлголтыг бий болгож улмаар үр шилжүүлэн суулгах эмчилгээнд өндөр ач холбогдолтой.

Фолликулын шингэн дэх бодисын солилцоо тэр дундаа липидийн солилцоо нь эсийн дохио дамжилт болон бодисын солилцоонд чухал үүрэгтэй бөгөөд липопротейн, цөсний хүчил, глюкоз болон бусад нэгдлүүд нь өндгөн эсийн чанар, хөгжилд нөлөөлдөг байна.[1-3] Жишээлбэл: Фолликулын шингэн дэх холестерин нь бэлгийн даавруудүүсэх гол эх үүсвэр бөгөөд тосны хүчил нь эсийн мейоз хуваагдалд шаардлагатай энергийн эх үүсвэр болдог байна.[4]

Нөгөөтэйгүүр, өөх тосны хэт их хуримтлал нь өндгөвчин дэх исэлдэлтийн процесс, үрэвслийг өдөөснөөр өндгөвчний үйл ажиллагаанд сөргөөр нөлөөлдөг байна.[5]

Манай улсад С.Мөнхчулуун нар (2016) эмэгтэйн бамбайн даавар үргүйдэл, Х.Дөлгөөн нар (2020) эрэгтэйн бамбайн даавар ба эрэгтэйн шалтгаант үргүйдлийн хамаарал зэрэг цусны ийлдсэн дэх зарим даавар, нэгдлүүдийг үргүйдэлтэй холбон судалсан судалгааны ажлууд хийгдсээр байгаа. Харин фолликулын шингэний найрлага, зарим нэгдлүүдийн агууламж үр шилжүүлэн суулгах эмчилгээний үр дүнтэй хамааралтай эсэх судалгааны ажил хараахан хийгдээгүй байгаа нь манай судалгааны ажлын үндэслэл болж байна.

Зорилго: Фолликулын шингэн дэх холестерины агууламж болон үр хөврөлийн хөгжлийн хамаарлыг судлах

Арга, аргачлал: Судалгааг "RMC" Үр шилжүүлэн суулгах үндэсний төв, "Ач" дархлаа судлалын лабораторийг түшиглэн аналитик судалгааны нэг агшингийн загвараар хийж гүйцэтгэсэн. Судалгаанд 2020-2022 оны хооронд тус төвд үр шилжүүлэн суулгах эмчилгээ хийлгэсэн нөхөн үржихүйн насны (20-45), өвчний олон улсын 10 дугаар ангиллаар 97.1 буюу үрийн хоолойн шалтгаант үргүйдэлтэй, өндгөвчийг кломифен цитратаар сэдээсэн, эрэгтэй нь нормозооспермиоштой нийт 30 эмэгтэйг хамруулсан. Өндгөвчийг эмэгтэйн сарын тэмдгийн 3 дах өдөр кломифен цитрат 50мг-аар сэдээж өндгөвчинд хөгжсөн фолликулыг хэт авиан хяналтын дор тусгай зориулалтын 21-23G (Kitazato, Япон) зүү ашиглан үтрээний хажуу хүнхрээгээр хатгаж өндгөн эс бүхий фолликулын шингэнийг соруулан авсан.

Өндгөн эс соруулах ажилбараас соруулж авсан фолликулын шингэнээс кумулус-өндгөн эсийн бүрдлийг салгасны дараа фолликулын шингэнийг центрифугт 1000 эргэлт/мин хурдаар 10 мин эргүүлээд 1.5 мл супернатантыг ялган авав. Ялган авсан супернатантыг шинжилгээнд хэрэглэх хүртэл -40ºC хэмд хөлдөөж хадгаллаа.

Судалгаанд хамрагдсан нийт 30 хүний ийлдсэнд холестерины түвшинг тодорхойлохдоо биохимийн бүрэн автомат анализатор (Diasys response 920, Germany) ашиглан үйлдвэрлэгчээс ирсэн протоколын дагуу тодорхойлсон.

Ялгаж авсан өндгөн эсийн боловсролтыг (MII, MI, GV, Deg) үнэлэх бөгөөд эр бэлгийн эсийн үзүүлэлт, өндгөн эсийн боловсролт зэргээс хамааралд 2 аргаар (ICSI - эр бэлгийн эсийг өндгөн эсрүү тарих арга, conventional IVF- уламжлалт үр тогтоолт хийх арга) үр тогтоолт хийсэн. Үр хөврөлийн хөгжлийг үр тогтоолтоос 16-18 дах цагт үр тогтолт, 40-44 дах цагт хуваагдал, 113-116 дах цагт бластоцист үүссэн эсэхийг тус тус үнэлсэн. Бластоцистыг "Kato Ladies Clinic"-ийн ангиллаар (A,B,C,D,E) үнэлсэн бөгөөд сайн (A,B) болон сул (C,D,E) гэсэн 2 бүлэгт ангилсан. 160μm хүрсэн бластоцистыг Японы "KITAZATO" компанийн хөлдөөлтийн медиум ашиглан протоколын дагуу хөлдөөж суулгах өдөр хүртэл -196^{0}C бүхий шингэн азаотод хадгалсан. Эр бэлгийн эсийг үр тогтоолтонд бэлдэхдээ андрологи лабораторид үрийн шингэнийг нягтын зөрүүгээр (density gradient centrifugation) угаах аргаар эр бэлгийн эсийг ялгасан.

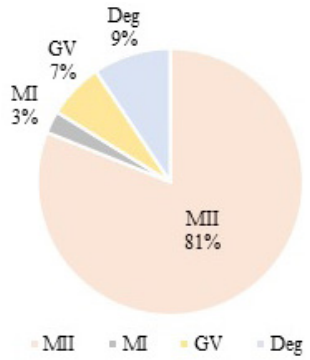
Статистик боловсруулалтыг SPSS version 26 программ ашиглан судалгаанд хамрагдагсдын үзүүлэлтүүдийн дундаж, стандарт хазайлтыг тооцож, 2 бүлэг хоорондын ялгаатай байдлыг Хи-квадрат тестээр үзэж $p<0.05$ тохиолдолд статистик үнэн магадлалтай гэж үзлээ.

Үр дүн: Судалгаанд хамрагдагсдын дундаж нас 38±4.4 жил, соруулж авсан өндгөн эсийн дундаж тоо 2.7±1.5 ширхэг байсан бөгөөд үрийн шингэний үзүүлэлтүүдийн дундаж болон фолликулын шингэн дэх холестеролын түвшинг хүснэгт 1-т үзүүллээ.

Хүснэгт 1. Судалгаанд хамрагдагсдын ерөнхий үзүүлэлтүүд

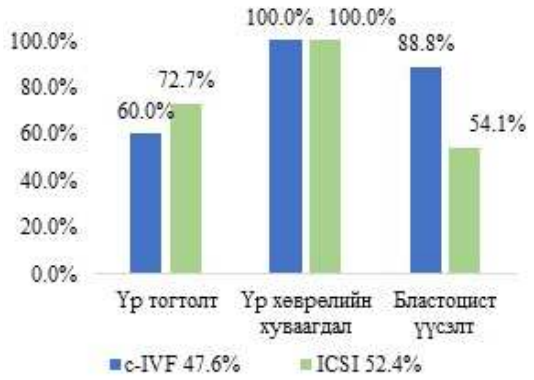
Үзүүлэлт	Тоо	Дундаж ± стандарт хазайлт
Нас	30	38±4.4
Өндгөн эсийн тоо	30	2.7±1.5
Үрийн шингэний хэмжээ (мл)	30	2.88±1.22
Эр бэлгийн эсийн нягтрал (*10x6/мл)	30	56.22±39.24
Нийт эр бэлгийн эсийн тоо (*10x6)	30	170.51±148.5
Эр бэлгийн эсийн хөдөлгөөн (%)	30	57.97±11.60
Хэвийн бүтэцтэй эр бэлгийн эс (%)	30	4.34±1.08
Фолликулын шингэн дэх холестерин (ммол/л)	30	0.19±0.09

Нийт 30 мөчлөгийн 74 өндгөн эс соруулж авснаас MII өндгөн эс 81.1% (n=60), MI өндгөн эс 2.7% (n=2), GV 6.7% (n=5), degenerated буюу задарсан эс 9.4% (n=7) тус тус байв (Зураг 1).



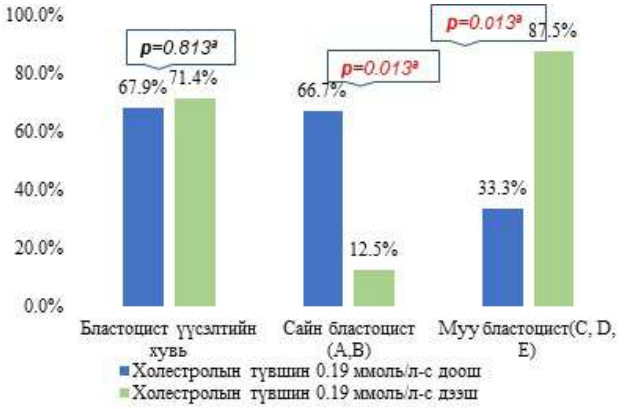
Зураг 1. Өндгөн эсийн боловсролтын түвшин хувиар
(MII-81%, MI-3%, GV-7%, Degenerated-9%)

Нийт 63 эсэд үр тогтоолт хийснээс 30 өндгөн эсэд уламжлалт аргаар, 33 өндгөн эсэд тарих аргаар үр тогтоолт хийсэн бөгөөд хоёр бүлэг дэх үр тогтолт, үр хөврөлийн хуваагдал, бластоцист үүсэлт бодит ялгаа ажиглагдаагүй болно. (Зураг 2).



Зураг 2. Өндгөн эсэд үр тогтоолт хийсэн 2 арга дах эсийн хөгжлийн байдал хувиар
(c-IVF- conventional IVF, ICSI-intracytoplasmic sperm injection)

Харин судалгаанд хамрагдагсдыг фолликулын шингэн дэх холестерины түвшингээр дунджаас их болон бага гэсэн 2 бүлэг болгон ангилж бүлэг хооронд өндгөн эсийн боловсролт, үр тогтолт, хуваагдал, бластоцист үүсэлт болон бластоцистын зэргийг харьцуулан судлахад холестерины түвшин их бүлэг (66.7%, n=10) дэх сайн бластоцистын хувь нь холестерины түвшин бага бүлэгтэй (12.5%, n=1) харьцуулахад ач холбогдол бүхий ялгаатай байв (p утга <0.01) (Зураг 3).



Зураг 3. Холестерины түвшин дунджаас бага болон их бүлгүүд дэх сайн муу бластоцистын эзлэх хувь

Зэрэглэл тааруу бластоцистын эрсдэлт хүчин зүйлийг тодорхойлоход фолликулын шингэн дэх холестерины түвшин их байх нь үнэлгээ тааруу бластоцист (C,D,E зэрэглэл) үүсэх эрсдлийг 14.0 дахин ихэсгэж байна [OR= 14.0, 95% CI: 1.329-147.429, p<0.05].

Хэлцэмж: Valckx SD нар (2016) өндгөн эс, үр хөврөлийн чанарыг фолликулын шингэн дэх бодисын солилцооны нэгдлүүдийн агууламж болон биеийн жингийн индекстэй хамааруулан судлахад ямар нэгэн хамаарал ажиглагдаагүй нь манай судалгааны үр дүнгээс ялгаатай байна.[6] Bacchetti T нар (2019) үр шилжүүлэн суулгах эмчилгээ хийлгэж буй хэвийн жинтэй болон илүүдэл жинтэй эмэгтэйчүүдийн фолликулын шингэн дэх өөх тосны үзүүлэлт болон хэт исэлдэлтийн бүтээгдэхүүнийг эмчилгээний үр дүнтэй харьцуулан судлахад илүүдэл жинтэй эмэгтэйчүүдийн хувьд хэт исэлдэлтийн бүтээгдэхүүн өндөр гарсан бөгөөд магадгүй энэ нь өндгөн эсийн чанарт нөлөөлж болох юм хэмээжээ.[7]

Wang-Yu Cai нар (2021) ийлдсэн дэх өөх тосны агууламжийг үр шилжүүлэн суулгах эмчилгээний үр дүнтэй харьцуулан судлахад ийлдсэн дэх ИНЛП-ы агууламж нь гарсан өндгөн эсийн тоотой эерэг хамааралтай байсан бөгөөд ийлдсэн дэх өөх тосны агууламж нь үр шилжүүлэн суулагх эмчилгээний үр дүнд нөлөөлдөг хэмээн дүгнэсэн нь манай судалгааны дүгнэлттэй дүйж байна.

L Gao нар (2020) өндгөвч олон уйланхайжих хам шинжтэй эмэгтэйчүүдийн үр шилжүүлэн суулгах эмчилгээний дараах эмнэлзүйн үр дүнг судлахад ийлдсэн дэх холестерин, биеийн жингийн индекс, суурин ФСД (фолликул сэдээгч даавар)-ын түвшин нь амьд төрөлтийн хувьтай хамааралтай байв.[9]

Дүгнэлт: Фолликулын шингэн дэх холестерины түвшин их байх нь үнэлгээ тааруу бластоцист (C,D,E зэрэглэл) үүсэх эрсдлийг 14.0 дахин ихэсгэж байгаа нь магадгүй холестерины хэт хуримтлалаар үүсэх үрэвсэл, хэт исэлдэлтийн процесс нь өндгөвчний үйл ажиллагаанд нөлөөлж улмаар өндгөн эсийн чанар, цаашдын хөгжилд нөлөөлдөгтэй холбоотой байна.

Ном зүй:

1. *Gautier, T. et al. Human luteinized granulosa cells secrete apoB100-containing lipoproteins. J. Lipid Res. 51, 2245–2252 (2010). Scientific Reports | (2019) 9:12817*
2. *Wallace, M. et al. An investigation into the relationship between the metabolic profle of follicular fuid, oocyte developmental potential, and implantation outcome. Fertil. Steril. 97(1078–84), e1–8 (2012).*
3. *Nagy, R. A. et al. Presence of bile acids in human follicular fuid and their relation with embryo development in modifed natural cycle IVF. Hum. Reprod. 30, 1102–1109 (2015).*
4. *Intrafollicular cortisol levels inversely correlate with cumulus cell lipid content as a possible energy source during oocyte meiotic resumption in women undergoing ovarian stimulation for in vitro fertilization Ariel A. Simerman, B.A.,a David L. Hill, Ph.D.,b Tristan R. Grogan, M.S.,c David Elashoff, Ph.D.,c Nigel J. Clarke, Ph.D.,d Ellen H. Goldstein, M.D.,a Alexa N. Manrriquez, B.S.,a Gregorio D. Chazenbalk, Ph.D.,a and Daniel A. Dumesic, M.D.a*
5. *Cardozo E. R., Karmon A. E., Gold J., Petrozza J. C., Styer A. K. (2016). Reproductive Outcomes in Oocyte Donation Cycles Are Associated with Donor BMI. Hum. Reprod. 31 (2), dev298–92. 10.1093/humrep/dev298*
6. *BMI-related metabolic composition of the follicular fluid of women undergoing assisted reproductive treatment and the consequences for oocyte and embryo quality*
   S.D.M. Valckx, I. De Pauw, D. De Neubourg, I. Inion, M. Berth, E. Fransen, P.E.J. Bols, J.L.M.R. Leroy
7. *HDL functionality in follicular fluid in normal-weight and obese women undergoing assisted reproductive treatment Tiziana Bacchetti, Camilla Morresi, Arianna Vignini, Luca Tiano, Patrick Orlando, Nina Montik, Andrea Ciavattini and Gianna Ferretti*
8. *Serum Lipid Levels and Treatment Outcomes in Women Undergoing Assisted Reproduction: A Retrospective Cohort Study Wang-Yu Cai, Xi Luo, Erxidi Chen, Houyi Lv, Kaiyou Fu, Xiao-Ke Wu, Jian Xu*
9. *Overweight and high serum total cholesterol were risk factors for the outcome of IVF/ICSI cycles in PCOS patients and a PCOS-specific predictive model of live birth rate was established L Gao, M Li, Y Wang, Z Zeng, Y Xie, G Liu, J Li, B Zhang, X Liang, L Wei, X Yang*

The association between intrafollicular cholesterol level and in vitro embryo development

Telmen T[1, 2], Orgilbold Ch[2], Baasandamba N[2], Dulguun Kh[2], Zolboo D[2], Unentsatsral L[2], Ariunaa G[2], Nomundari B[1,2], Munkhzol M[1], Odkhuu E[1,2], Zesemdorj[1]

[1]MNUMS
[2]Regenetaive medical center of Mongolia
E-mail: tugsuutelmen@gmail.com, Tel::+976-88066989

Background: In female reproduction, follicular fluid (FF) is the natural environment for the final phase of oocyte maturation. Therefore, its composition is essential for oocyte growth, quality, and FF metabolic profile variations. One of the major factors affecting IVF treatment is follicle development. Correctly recognizing the composition of follicular fluid, its physiological role and involvement is important to create a basic understanding of the theory of oocyte and follicular development, thereby increasing the results of IVF treatment.
Aim: To determine whether follicular fluid (FF) cholesterol level affect oocyte maturation and embryo development.
Materials and Methods: This analysis includes 74 oocytes were obtained from 30 women with tubal infertility who underwent ovarian stimulation via clomiphene citrare for in vitro fertilization at "RMC" IVF center of Mongolia, from August 2020 to July 2022. The study population included semen samples except men with azoospermia, surgically retrieved samples.
Cholesterol concentrations were measured by enzymatic methods in follicular fluid. The oocytes were split into two groups based on the mean levels of intrafollicular cholesterol (0.19 mmol/l) low cholesterol level (LHL, n=48) and high cholesterol level (HHL, n=26). We compared oocyte maturation, fertilization, cleavage grade, blastocyst formation and grading using Pearson Chi-Square. Ethical approval was obtained from the Research Ethics Committee of the MNUMS.
Results: The mean age of participants were 38.0±4.4 yrs (mean±sd) and mean retrieved oocytes were recorded. A total of 74 oocytes and 23 blastocyst were eligible for the analysis. There were no diffrences for oocyte maturation, fertilization, cleavage grade, blast formation between two groups($p>0.05$). Good blastocysts (A, B) were higher LHL group (66.7%, n=10) than HHL group (12.5%, n=1) and poor blastocysts (C,D,E) were lower LHL group (33.3%, n=5) than HHL group (87.5%, n=7) ($p=0.013$). The blastocysts grade appears to be more dependent intrafollicular cortisol level, with the odds 14 (OR:14, CI: 1.3-147.4, $p<0.05$).
Conclusions: A high level of cholesterol in the follicular fluid increases the risk of poor grade blastocysts (grades C, D, E) by 14.0 times, probably because the inflammatory and oxidative processes caused by excessive accumulation of cholesterol affect the function of the ovary, which in turn affects the quality and further development of the oocyte.

Keywords: Blastocyst, Cholesterol, Oocyte, Clomiphene citrate, Normozoospermia