

РЕЛАКСИН СЫВОРОТКИ КРОВИ И Фолликулярной жидкости: ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ГОРМОНА НА ФУНКЦИЮ ЯИЧНИКОВ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ОПЛОДОТВОРЕНИЯ

© О.Н. Беспалова¹, В.А. Загайнова¹, О.В. Косякова¹, А.М. Гзгзян^{1,2}, И.Ю. Коган^{1,2}, Ю.П. Милютин¹,
Н.Н. Ткаченко¹, В.Л. Бородин¹, Е.А. Лесик¹, И.Д. Мекина¹, Е.А. Комарова¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург;

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

Для цитирования: Беспалова О.Н., Загайнова В.А., Косякова О.В., Гзгзян А.М., Коган И.Ю., Милютин Ю.П., Ткаченко Н.Н., Бородин В.Л., Лесик Е.А., Мекина И.Д., Комарова Е.А. Релаксин сыворотки крови и фолликулярной жидкости: пилотное исследование влияния гормона на функцию яичников и эффективность оплодотворения // Журнал акушерства и женских болезней. – 2020. – Т. 69. – № 5. – С. 59–68. <https://doi.org/10.17816/JOWD69559-68>

Поступила: 10.08.2020

Одобрена: 15.09.2020

Принята: 12.10.2020

■ **Актуальность.** Одним из важнейших направлений исследований в области репродуктивной медицины является поиск биохимических показателей качества ооцитов и прогнозирование эффективности протоколов экстракорпорального оплодотворения.

Цель — оценить влияние уровней релаксина в сыворотке крови и фолликулярной жидкости на эффективность стимуляции овуляции, оплодотворения, характеристики полученных эмбрионов.

Материалы и методы исследования. В проспективное когортное рандомизированное исследование вошли 11 пациенток, проходивших лечение бесплодия в протоколе стимуляции суперовуляции с применением антагонистов гонадотропин-рилизинг-гормона. Оценивали возраст, индекс массы тела, гормональный статус, овариальный ответ, толщину и структуру эндометрия, количество и качество ооцитов, эмбрионов, эффективность оплодотворения. Уровень релаксина в образцах сыворотки крови и фолликулярной жидкости определяли в день проведения трансвагинальной пункции фолликулов методом иммуноферментного анализа.

Результаты исследования. Установлена корреляция между уровнем релаксина в фолликулярной жидкости и индексом массы тела, возрастом, количеством ооцитов, эффективностью их оплодотворения ($p < 0,05$). Отмечено изменение уровня релаксина в фолликулярной жидкости в зависимости от применяемых препаратов гонадотропинов ($p < 0,05$), а также триггеров финального созревания ооцитов ($p < 0,05$). Выявлена тенденция влияния доз гонадотропинов на уровни циркулирующего релаксина и самого гормона — на толщину эндометрия и качество ооцитов.

Выводы. Определение концентрации релаксина можно рассматривать в качестве перспективной методики прогнозирования результата стимуляции яичников, эффективности оплодотворения в протоколах экстракорпорального оплодотворения.

■ **Ключевые слова:** релаксин; экстракорпоральное оплодотворение; фолликулярная жидкость; ооцит; эффективность оплодотворения; эндометрий.

BLOOD SERUM AND FOLLICULAR FLUID RELAXIN: A PILOT STUDY OF THE HORMONE EFFECTS ON OVARIAN FUNCTION AND FERTILIZATION EFFICIENCY

© O.N. Bespalova¹, V.A. Zagaynova¹, O.V. Kosyakova¹, A.M. Gzgzian^{1,2}, I.Yu. Kogan^{1,2}, Yu.P. Milyutina¹,
N.N. Tkachenko¹, V.L. Borodina¹, E.A. Lesik¹, I.D. Mekina¹, E.A. Komarova¹

¹ The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia;

² Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

For citation: Bespalova ON, Zagaynova VA, Kosyakova OV, Gzgzian AM, Kogan IYu, Milyutina YuP, Tkachenko NN, Borodina VL, Lesik EA, Mekina ID, Komarova EA. Blood serum and follicular fluid relaxin: A pilot study of the hormone effects on ovarian function and fertilization efficiency. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2020;69(5):59-68. <https://doi.org/10.17816/JOWD69559-68>

Received: August 10, 2020

Revised: September 15, 2020

Accepted: October 12, 2020

▪ **Hypothesis/aims of study.** To date, one of the most important avenues of research in the field of reproductive medicine is the searching for new biochemical markers of oocyte quality and the prediction of the effectiveness of *in vitro* fertilization (IVF) protocols. The aim of this study was to assess the effect of relaxin levels in blood serum and follicular fluid on the efficiency of ovulation stimulation, fertilization, and characteristics of the embryos.

Study design, materials and methods. This prospective randomized cohort study included 11 patients undergoing infertility treatment in a superovulation stimulation protocol using gonadotropin-releasing hormone antagonists. Age, body mass index, hormonal status, ovarian response, endometrial thickness and structure, the number and quality of oocytes and embryos, as well as fertilization efficiency were assessed. The level of relaxin in blood serum and follicular fluid samples was determined on the day of transvaginal follicle puncture using enzyme immunoassay.

Results. A correlation between follicular fluid relaxin levels and body mass index, age, the number of oocytes, and their fertilization efficiency ($p < 0.05$) was established. Changes in follicular fluid relaxin level were revealed depending on the gonadotropin preparations ($p < 0.05$) and triggers of final maturation of oocytes ($p < 0.05$). The tendency of the effect of gonadotropin doses on circulating relaxin levels, and of the hormone itself on endometrial thickness and the quality of oocytes was determined.

Conclusion. Determination of the relaxin concentration can be considered as a promising method for predicting the result of ovarian stimulation and the efficiency of fertilization in IVF protocols.

▪ **Keywords:** relaxin; *in vitro* fertilization; follicular fluid; oocyte; fertilization efficiency; endometrium.

Введение

Согласно современным научным представлениям одним из ведущих критериев успешности исхода программ вспомогательных репродуктивных технологий является качество половых клеток, так называемый ооцитарный фактор, обуславливающий потенциал процессов оплодотворения, развития эмбрионов *in vitro*, имплантации и течения ранних сроков беременности [1, 2]. Процессы роста и созревания яйцеклеток непосредственно взаимосвязаны с микроокружением развивающегося фолликула и зависят от состава фолликулярной жидкости (ФЖ), включающей компоненты плазмы крови, прошедшие через фолликулярный барьер, продукты секреторной активности гранулезных и текальных клеток фолликула [3]. При этом аспирация ФЖ во время трансвагинальной пункции фолликулов представляет рутинное и неотъемлемое звено процедуры, что делает ее доступной средой для поиска биохимических предикторов качества ооцитов и прогноза эффективности протоколов экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) [4]. На сегодняшний день описано более 37 подобных маркеров, включающих активные формы кислорода, гонадотропные, половые стероидные гормоны и ряд других, а также цитокины, факторы роста, аминокислоты, простагландины, ингибины, витамины, витамин-зависимые белки и др. [5, 6].

Одним из потенциально перспективных маркеров является гормон релаксин — плейотропный полипептид надсемейства инсулина с молекулярной массой около 5–6 кДа, оказывающий многофакторное влияние на функции

различных систем и органов. Одна из наиболее изученных форм гормона, участвующая в функционировании репродуктивной системы, — релаксин-2 [7]. В организме женщины релаксин секретируют клетки желтого тела яичника, гранулезные и тека-клетки фолликула, он также образуется в эндометрии и плаценте при беременности [8]. Релаксин задействован в процессах созревания ооцитов, влияет на скорость развития и качество эмбрионов [9]. Так, рецепторы релаксина (relaxin/insulin-like family peptide receptor 1 — RXFP1) экспрессируются в клетках гранулезы первичных и вторичных фолликулов человека [10]. *In vitro* экспрессия RXFP1 и RXFP2 и самого гормона выявлена в ооцитах, клетках кумулюса и преимплантационных эмбрионах (на всех стадиях развития, в том числе бластоцисты), а добавление релаксина в культуральную среду увеличивает содержание зрелых ооцитов, способствует развитию эмбрионов свиней и приматов, улучшая их качество *in vitro* [11–13].

Установлена связь между процессами фолликулогенеза и ростом концентрации релаксина в ФЖ [14]. Интересны данные о корреляции концентрации релаксина сыворотки крови и количества полученных ооцитов [15]. В связи с вышесказанным некоторые авторы рассматривали релаксин в качестве предиктора успешного переноса эмбрионов. Например, уровень релаксина, продуцируемого культурой лютеинизированных гранулезных клеток, выше 800 пг/мл был ассоциирован с имплантацией и пролонгированием беременности после цикла ЭКО, а уровень <200 пг/мл — с неэффективностью протокола [16].

Исследования, посвященные изучению релаксина на доимплантационных этапах, а также в протоколах ВРТ, единичны и неоднозначны. Таким образом, определение концентраций релаксина может стать актуальным направлением в прогнозировании овариального ответа на стимуляцию, процессах оплодотворения в протоколах ЭКО и отображать их эффективность.

Цель исследования — оценить влияние уровней релаксина сыворотки крови и ФЖ на овариальный ответ, количество и качество ооцитов, эффективность процессов оплодотворения, количество и качество полученных эмбрионов при стимуляции суперовуляции в протоколах ЭКО.

Материалы и методы

В проспективное когортное рандомизированное исследование были включены супружеские пары с бесплодием ($n = 9$), пациентки, участвующие в программе отсроченного материнства ($n = 1$) и в программе донации ооцитов ($n = 1$), обратившиеся в отделение вспомогательных репродуктивных технологий ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта». Обследовано 11 пациенток в соответствии с критериями включения: возраст пациенток от 20 до 43 лет, добровольное информированное согласие на участие в исследовании (форма согласия одобрена этическим комитетом ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта»). Критериями исключения являлись противопоказания для проведения ЭКО, миома матки больших размеров, индекс массы тела (ИМТ) >35 кг/м², гиперпластические процессы эндометрия, инфекционные, системные аутоиммунные заболевания, сахарный диабет 1-го и 2-го типов, злокачественные новообразования любой локализации.

Стимуляция овуляции

Всем пациентам перед вступлением в протокол ЭКО было проведено стандартное обследование. Стимуляцию яичников проводили с 3-го дня менструального цикла с использованием фиксированного протокола и рекомбинантных (рФСГ-Гонал-Ф, рФСГ+рЛГ-Перговерис, Merck Serono, Италия; Merck Serono, Швейцария) или человеческих менопаузальных гонадотропинов (чМГТ-Мериоферт, IBSA Institut Biochimique, S.A., Швейцария), антагониста гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ) (ганиреликс в дозе 0,25 мг, Vetter Pharma, Organon, Германия). Стартовую дозу препаратов определяли с учетом показателей

овариального резерва, возраста, ИМТ, а также исходов предыдущих протоколов стимуляции. При необходимости дозу корректировали в зависимости от овариального ответа. В качестве триггера овуляции использовали рекомбинантный хорионический гонадотропин человека Овитрель в дозе 250 мкг (Merck Serono, Италия) или агонист ГнРГ — Диферелин в дозе 0,2 мг (Ipsen Pharma Biotech, Франция); $n = 7$ и $n = 4$ соответственно.

Всем пациенткам проводили ультразвуковой мониторинг стимуляции яичников (количество растущих фолликулов, диаметр), оценивали эндометрий (структура, толщина). Дозы препаратов гонадотропинов назначали индивидуально. Критерием назначения триггера финального созревания ооцитов являлось наличие трех фолликулов и более, достигших в диаметре >17 мм. Трансвагинальная пункция фолликулов (ТВП) была проведена под общей анестезией под ультразвуковым контролем через 36 ч после введения триггера.

При ТВП были запротоколированы количество пунктированных фолликулов, количество и зрелость полученных ооцит-кумулюсных комплексов (ОКК). Фолликулы не промывали. Качество ооцитов оценивали при использовании оплодотворения методом ИКСИ и определяли как отношение ооцитов на стадии метафазы второго мейотического деления (МII) к количеству ОКК. При стандартной методике ЭКО эффективность оплодотворения определяли как отношение зигот с двумя пронуклеусами на первый день развития к количеству полученных ОКК. При оплодотворении методом ИКСИ эффективность оценивали как отношение двупронуклеарных зигот в первый день развития к количеству ооцитов на стадии МII в день пункции. Эмбрионы культивировали до 5-го дня на средах Vitrolife (Швеция). Эмбрионы оценивали через 5 сут согласно критериям D.K. Gardner (Gardner D.K., 1999). Эмбрионами хорошего качества считали blastocysts ≥ 3 BB. Перенос эмбрионов был произведен трем пациенткам на 5-е сутки культивирования. Поддержку лютеиновой фазы цикла проводили препаратами прогестерона начиная со дня пункции фолликулов.

Получение образцов сыворотки крови и аспирация фолликулярной жидкости

Образцы крови были получены у пациенток исследуемой группы непосредственно перед процедурой ТВП фолликулов, до введения

анестезиологических препаратов. Затем образцы центрифугировали в течение 20 мин с ускорением 1500 g. Фолликулярная жидкость была аспирирована при пункции каждого фолликула (с обязательной оценкой наличия ОКК, без последующего разделения емкостей). Образцы ФЖ центрифугировали при 1500 g в течение 20 мин. Полученный материал хранили в течение 1–2 мес. при -80°C согласно методическим указаниям.

Определение уровня релаксина в сыворотке крови и фолликулярной жидкости

Уровень релаксина в исследуемом материале определяли с использованием коммерческого набора для количественного определения релаксина-2 сэндвич-методом иммуноферментного анализа согласно инструкции производителя [SED868Hu ELISA Kit for Relaxin 2 (RLN2), США]. Диапазон определяемых концентраций составлял 3,1–500 пг/мл. Согласно методическим рекомендациям различий в методиках определения релаксина ФЖ и сыворотки крови не было.

Статистический анализ

При обработке данных применяли пакет статистических программ Statistica 10 (StatSoft, Inc.). Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро – Уилка. Для сравнения исследуемых параметров использовали непараметрический критерий Манна – Уитни и критерий Краскела – Уоллиса. Данные представлены в виде медианы [25-й; 75-й процентиля]. Для всестороннего описания объектов выполняли многомерный факторный анализ, который позволяет охарактеризовать реальное соотношение исследуемой совокупности признаков и оценить надежность и точность выводов, сделанных на основании полученных данных. Рассчитывали факторные нагрузки (a), которые интерпретировали как корреляции между соответствующими исследуемыми показателями и отдельными факторами (гипотетические, непосредственно не измеряемые, скрытые признаки, в той или иной мере связанные с измеряемыми показателями). Факторы выделяли методом главных компонент. Полученные данные для анализа были нормализованы. Для оценки взаимосвязей также проводили факторный анализ. При оценке взаимосвязей между исследуемыми показателями применяли коэффициент ранговой корреляции Спирмена r_s . Силу связи оценивали согласно следующим значениям: очень слабая — 0–0,3, слабая — 0,3–0,5,

средняя — 0,5–0,7, высокая — 0,7–0,9, очень высокая — 0,9–1. Значение $p < 0,05$ было принято как статистически значимое.

Результаты исследования

Произведена оценка концентраций релаксина плазмы крови и ФЖ у инфертильных пациенток ($n = 11$), проходивших лечение в протоколе ЭКО с проведением стимуляции овуляции. В связи с криоконсервацией полученных ооцитов ($n = 1$), отменой переноса эмбрионов из-за развития синдрома гиперстимуляции яичников ($n = 1$), а также сегментацией цикла ($n = 5$) не удалось провести корректную статистическую обработку данных по оценке взаимосвязи эффективности лечения с уровнями релаксина в ФЖ и крови. Беременность, подтвержденная методом ультразвукового обследования органов малого таза, наступила у двух пациенток.

В результате исследования выявлена достоверная корреляция средней силы связи между показателями релаксина ФЖ и возрастом ($r = -0,65$), ИМТ ($r = -0,67$), количеством пунктированных фолликулов ($r = 0,66$) и полученных ооцитов ($r = 0,62$), высокой силы связи с эффективностью их оплодотворения ($r = -0,85$). Достоверные корреляции между исследуемыми показателями и релаксином крови отсутствовали. Отмеченная взаимосвязь релаксина крови с некоторыми исследуемыми показателями, в частности с толщиной эндометрия, качеством ооцитов, суммарной дозой гонадотропинов в протоколе, носит характер тенденции (рис. 1).

Продемонстрировано значимое отличие уровня релаксина ФЖ пациенток, использовавших препараты рФСГ/рФСГ+рЛГ, по сравнению с пациентками, принимавшими чМГТ ($Z = 2,279$; $p < 0,05$). Значимой разницы для показателей релаксина сыворотки крови в зависимости от применяемых препаратов гонадотропинов выявлено не было. Снижение уровней релаксина крови при использовании менотропинов носит только характер тенденции (рис. 2, а)

Установлено различие между показателями уровней релаксина ФЖ в зависимости от используемых триггеров финального созревания ооцитов. Значимая разница для показателей релаксина сыворотки крови в зависимости от указанных препаратов отсутствовала ($Z = -2,051$, $p < 0,05$) (рис. 2, б).

Анализ с оценкой нагрузки позволил выявить два фактора. Первый из них наиболее

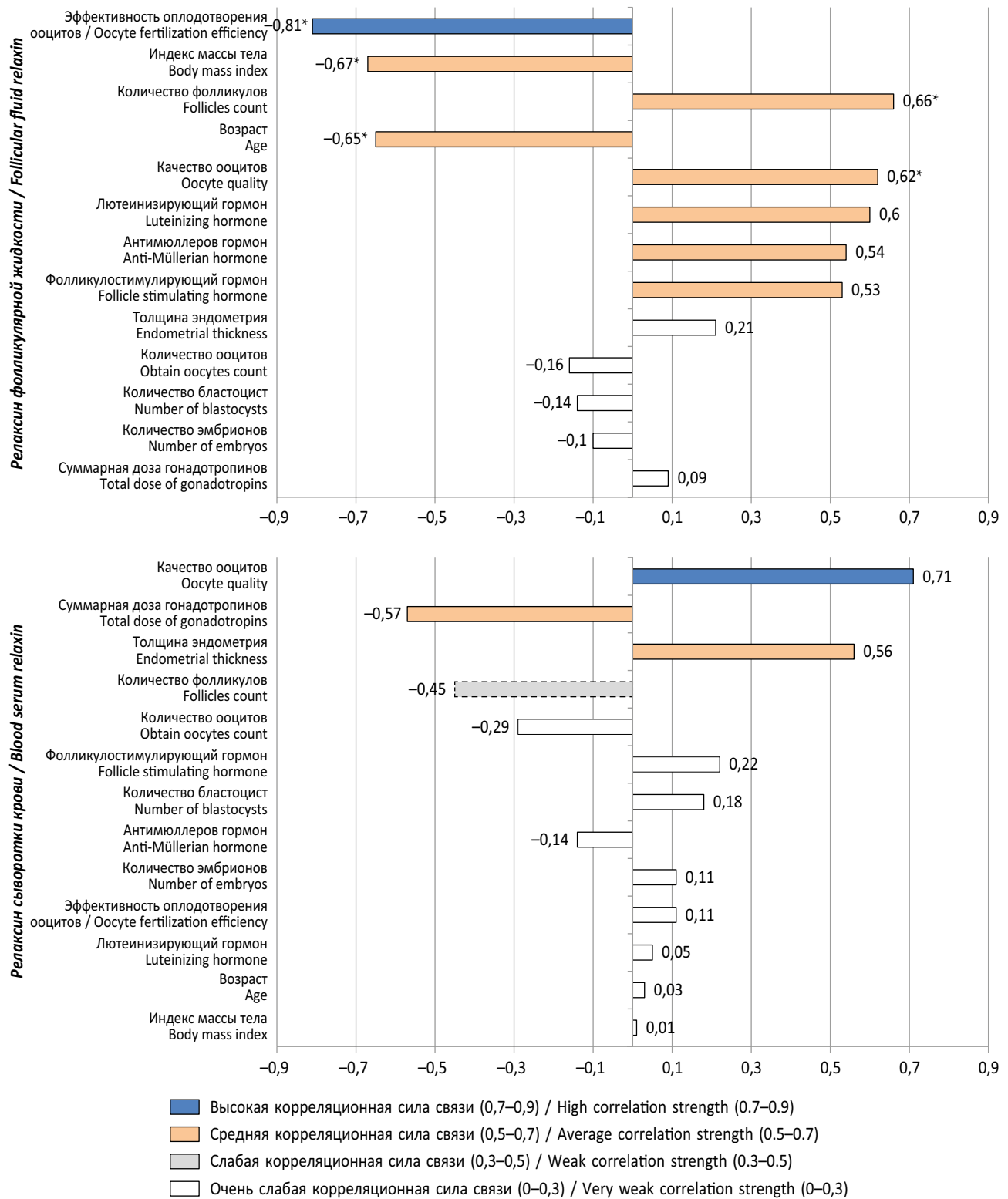


Рис. 1. Корреляция между уровнем релаксина в фолликулярной жидкости и сыворотке крови и исследуемыми показателями (* $p < 0,05$)

Fig. 1. Correlation between blood serum and follicular fluid relaxin levels and the studied parameters (* $p < 0.05$)

связан с релаксином ФЖ ($a = 0,96$), возрастом ($a = -0,87$), уровнем АМГ ($a = 0,99$), ИМТ ($a = -0,87$), днем проведения ТВП ($a = 0,99$), количеством пунктированных фолликулов

($a = 0,99$) и полученных ооцитов ($a = 1$), а также с эффективностью оплодотворения ($a = -0,99$). Вторым фактором имеет наибольшую связь с релаксином сыворотки крови ($a = 0,9$), суммарной

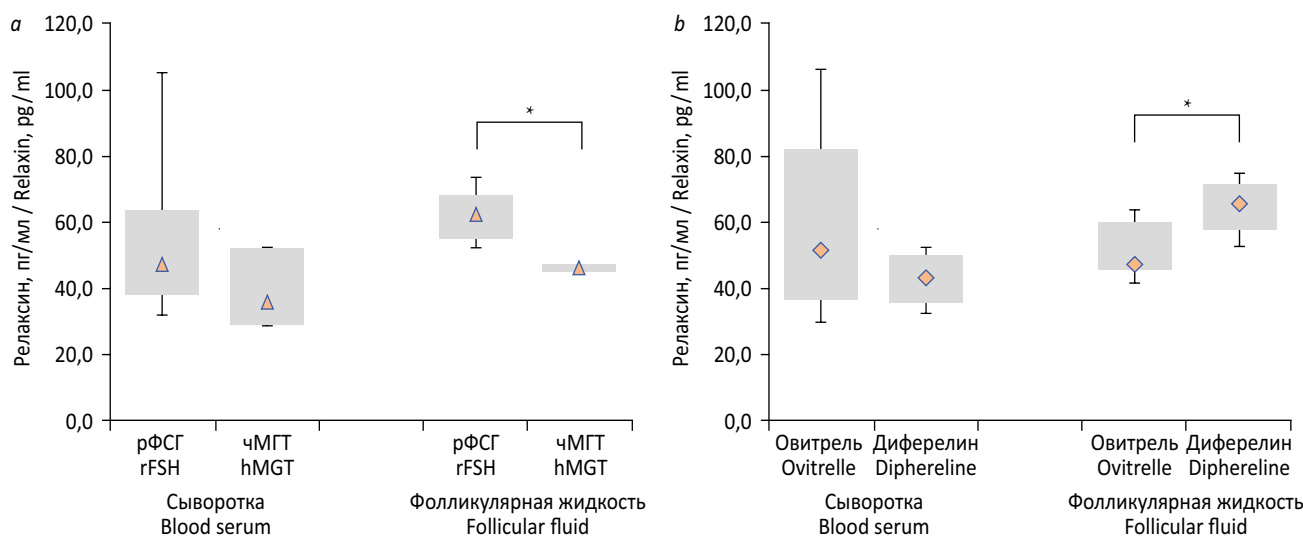


Рис. 2. Содержание релаксина в сыворотке крови и фолликулярной жидкости в исследуемых группах пациентов при применении различных препаратов гонадотропинов (а); содержание релаксина в сыворотке крови и фолликулярной жидкости в исследуемых группах пациентов при применении различных триггеров финального созревания ооцитов (b) (* $p < 0,05$)

Fig. 2. a. Blood serum and follicular fluid relaxin levels with the use of gonadotropin preparations in the study groups; b. Blood serum and follicular fluid relaxin levels with the use of triggers of final oocyte maturation in the study groups (* $p < 0.05$)

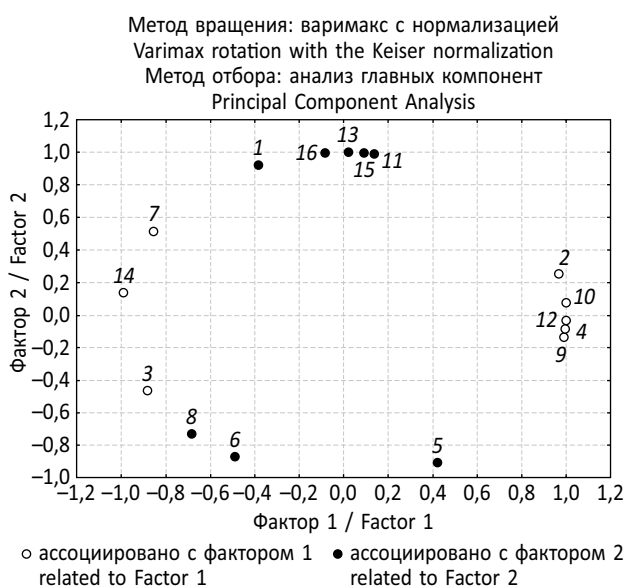


Рис. 3. Двухмерный график факторных нагрузок исследуемых показателей: показатели, связанные с фактором 1: 2 — уровень релаксина в фолликулярной жидкости, 3 — возраст, 4 — уровень антимюллерова гормона в сыворотке крови, 7 — индекс массы тела, 9 — день проведения пункции, 10 — количество пунктированных фолликулов, 12 — количество ооцитов, 14 — эффективность оплодотворения; показатели, связанные с фактором 2: 1 — уровень релаксина в сыворотке крови, 5 — уровень лютеинизирующего гормона в сыворотке крови, 6 — уровень фолликулостимулирующего гормона в сыворотке крови, 8 — суммарная доза гонадотропинов, 11 — толщина эндометрия, 13 — качество ооцитов, 15 — количество blastocysts на 5-е сутки, 16 — количество эмбрионов хорошего качества на 5-е сутки

дозой гонадотропинов ($a = 0,84$), качеством ооцитов ($a = 0,99$), толщиной эндометрия ($a = 0,99$), количеством и качеством эмбрионов на 5-е сутки развития ($a = 0,99$; $a = 0,99$), обратно связан с показателями лютеинизирующего ($a = -0,89$) и фолликулостимулирующего гормонов ($a = -0,88$) (рис. 3).

В результате анализа не установлена связь между показателями уровней релаксина ФЖ, крови и длительностью бесплодия, количеством беременностей и родов, операциями на яичниках в анамнезе. Не выявлена также корреляция между показателями концентрации релаксина ФЖ и релаксина крови и количеством и качеством полученных эмбрионов у пациенток данной группы.

Fig. 3. Two-dimensional graph of factorial loads of the studied indicators. Graph numbering: indicators associated with Factor 1: 2, follicular fluid relaxin level; 3, age; 4, blood serum anti-Müllerian hormone level; 7, body mass index; 9, day of puncture; 10, number of punctured follicles; 12, number of oocytes; 14, fertilization efficiency; indicators associated with Factor 2: 1, blood serum relaxin level; 5, blood serum luteinizing hormone level; 6, blood serum follicle-stimulating hormone level; 8, Σ dose of gonadotropins; 11, endometrial thickness; 13, quality of oocytes; 15, number of blastocysts on day 5; 16, number of good quality embryos on day 5

Обсуждение

Согласно данным литературы пул циркулирующего релаксина определяется уровнем и длительностью функционирования желтого тела во время лютеиновой фазы цикла и при беременности, в то время как уровень релаксина ФЖ отображает секреторную активность гранулезных и тека-клеток [8, 17]. В данном исследовании оценка уровней релаксина в биологических жидкостях произведена только в день ТВП фолликулов, что, возможно, объясняет отсутствие корреляции между показателями уровней релаксина в ФЖ и релаксина в крови.

В исследованиях *in vitro* выявлено повышение концентрации релаксина ФЖ по мере роста фолликула [18, 19]. Обнаружена взаимосвязь между уровнями релаксина сыворотки крови, количеством фолликулов и ооцитов, полученных в протоколах ЭКО [20]. В проведенном нами исследовании установлена корреляция между концентрацией релаксина ФЖ и количеством пунктированных фолликулов и полученных ооцитов, что отчасти согласуется с результатами предшествующих работ. Возможно, это объясняется продукцией релаксина как стероидпродуцирующими клетками фолликулов, количество которых закономерно увеличивается при стимуляции яичников в циклах ЭКО, так и ОКК и самими ооцитами. Считают, что релаксин может быть задействован в сигнальном взаимодействии между ооцитом и окружающими его соматическими клетками, в процессах фолликулогенеза, роста и созревания яйцеклетки [17]. Однако в некоторых работах не обнаружена взаимосвязь между уровнями релаксина ФЖ и количеством полученных ооцитов [21].

Морфофункциональная зрелость ооцита составляет основу успешного оплодотворения и важна для развития эмбриона на ранних стадиях. Некоторые исследования, проведенные *in vitro*, демонстрируют экспрессию рецепторов релаксина и самого гормона ооцитами, ОКК, что подтверждается благоприятным влиянием добавления релаксина в среду культивирования клеток. В данном исследовании наблюдали лишь тенденцию влияния уровней релаксина сыворотки крови на качество ооцитов. При этом не были учтены различные индивидуальные факторы, в том числе генетические. Нами также установлена отрицательная взаимосвязь между концентрациями релаксина ФЖ и эффективностью оплодотворения ооцитов, что необходимо в дальнейшем изучать на большой выборке.

Получена достоверная обратная корреляция между показателями релаксина ФЖ, возрастом и ИМТ пациенток. В доступной литературе не было найдено данных о зависимости показателей релаксина крови или ФЖ от возраста. Нами продемонстрировано снижение уровней релаксина ФЖ с увеличением возраста пациенток, что предположительно связано с физиологическими процессами снижения продукции релаксина клетками фолликула при возрастных изменениях в яичниках (снижение овариального резерва, увеличение скорости атрезии фолликулов, ухудшение качества ооцитов) [22].

Данные современной литературы свидетельствуют о негативных эффектах повышения ИМТ на фертильность женщины, в частности на качество ооцитов, развитие эмбрионов, а также присутствие аномальных метаболитов в ФЖ. Одним из механизмов реализации неблагоприятного воздействия данного фактора могут быть недостаточность продукции гормона релаксина и нарушение его сигнальных путей [23, 24].

Не было также обнаружено работ, в которых бы описывались изменения уровней релаксина в крови и ФЖ в зависимости от применяемых в протоколе ЭКО препаратов. Так, в результате исследования обнаружено, что секреция релаксина ФЖ при использовании препаратов рекомбинантных гонадотропинов (Гонал-Ф, Перговерис) выше, чем при мочевых (Мериоферт), что также необходимо более подробно изучать. При этом не было выявлено влияния суммарной дозировки гонадотропинов на показатель гормона в ФЖ, но отмечена тенденция к отрицательной корреляции с уровнем релаксина крови. Определена разница концентраций релаксина ФЖ в зависимости от используемых триггеров финального созревания ооцитов: уровень гормона при применении агониста ГнРГ Диферелина был выше. Возможно, полученные результаты объясняются длительностью воздействия применяемых препаратов.

Релаксин изменяет процессы фазовой трансформации, децидуализации эндометрия, имплантации и инвазии трофобласта, что необходимо учитывать при рассмотрении влияния релаксина сыворотки крови на показатель толщины эндометрия.

Рецептор релаксина LGR-7 экспрессируется в стромальных и железистых клетках эндометрия человека, в миометрии матки обнаружен RXFP1. Сам гормон секретируется клеточными структурами эндометрия и в пролиферативную,

и в секреторную фазу менструального цикла, в том числе и в период окна имплантации [25]. Релаксин стимулирует экспрессию секреторных белков эндометрия (гликоделин, белок-1 связывающий инсулиноподобный фактор роста), что подтверждает его участие в процессах имплантации [9, 26]. Релаксин способствует усилению выработки эндотелиального фактора роста сосудов (vascular endothelial growth factor — VEGF) в стромальных и железистых клетках эндометрия, особенно в секреторную фазу цикла. Исследования *in vitro* показали, что лечение препаратами релаксина играет важную роль в стимуляции ангиогенеза эндометрия, усиливает пролиферацию эндотелиальных клеток в кровеносных сосудах матки и увеличивает количество артериол в эндометрии, что приводит к утолщению эндометрия, повышает вероятность имплантации, влияет на процессы инвазии трофобласта [27, 28].

Выводы

На основании пилотного исследования уровень релаксина в фолликулярной жидкости и сыворотке крови может являться потенциальным маркером прогнозирования ответа яйцников на стимуляцию, количества и качества ооцитов, эффективности их оплодотворения. Необходимы дальнейшие исследования для оценки роли релаксина в процессах созревания, оплодотворения ооцитов, развития эмбрионов, имплантации. Полученные данные позволят определить влияние продукции релаксина и его сигнальных путей на эффективность программ вспомогательных репродуктивных технологий.

Дополнительная информация

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках фундаментальной темы № 558-2019-0011 «Создание высокоэффективных молекулярных и клеточных технологий прогнозирования и преодоления бесплодия и репродуктивных потерь у человека» и зарегистрировано в системе Protocol Registration and Results System ClinicalTrials.gov, ID NCT04458454.

Вклад авторов

О.Н. Беспалова — концепция и дизайн исследования.

В.А. Загайнова, Е.А. Лесик, Е.А. Комарова — сбор материала.

Н.Н. Ткаченко, В.Л. Бородина — применение лабораторных методов исследования.

В.А. Загайнова — обработка материала.
Ю.П. Милютин — статистическая обработка данных.

В.А. Загайнова, О.В. Косякова, И.Д. Мекина — написание текста.

О.Н. Беспалова, А.М. Гзгзян, И.Ю. Коган — редактирование текста.

Литература

1. Arroyo A, Kim B, Yeh J. Luteinizing hormone action in human oocyte maturation and quality: Signaling pathways, regulation, and clinical impact. *Reprod Sci.* 2020;27(6):1223-1252. <https://doi.org/10.1007/s43032-019-00137-x>.
2. Tong J, Sheng S, Sun Y, et al. Melatonin levels in follicular fluid as markers for IVF outcomes and predicting ovarian reserve. *Reproduction.* 2017;153(4):443-451. <https://doi.org/10.1530/REP-16-0641>.
3. Sun Z, Wu H, Lian F, et al. Human follicular fluid metabolomics study of follicular development and oocyte quality. *Chromatographia.* 2017;80(6):901-909. <https://doi.org/10.1007/s10337-017-3290-6>.
4. Hussein MH, Al-Khafaji QA, Mufedah AJ, et al. Evaluation of lipids in serum and follicular fluid on oocyte and human embryo quality after ICSI. *Iraqi Journal of Embryo and Infertility Researches.* 2017;7(1):52-61. <https://doi.org/10.28969/ijeir.v7.r7>.
5. Poulsen LC, Pla I, Sanchez A, et al. Progressive changes in human follicular fluid composition over the course of ovulation: Quantitative proteomic analyses. *Mol Cell Endocrinol.* 2019;495:110522. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2019.110522>.
6. Niu Z, Ye Y, Xia L, et al. Follicular fluid cytokine composition and oocyte quality of polycystic ovary syndrome patients with metabolic syndrome undergoing *in vitro* fertilization. *Cytokine.* 2017;91:180-186. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2016.12.020>.
7. Косякова О.В., Беспалова О.Н. Прогностические возможности релаксина как маркера преждевременных родов // Журнал акушерства и женских болезней. – 2018. – Т. 67. – № 2. – С. 16–25. [Kosyakova OV, Bepalova ON. Prognostic possibilities of relaxin as a marker of preterm birth. *Journal of obstetrics and women's diseases.* 2018;67(2):16-25. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17816/JOWD67216-25>.
8. Anand-Ivell R, Ivell R. Regulation of the reproductive cycle and early pregnancy by relaxin family peptides. *Mol Cell Endocrinol.* 2014;382(1):472-479. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2013.08.010>.
9. Marshall SA, Senadheera SN, Parry LJ, Girling JE. The role of relaxin in normal and abnormal uterine function during the menstrual cycle and early pregnancy. *Reprod Sci.* 2017;24(3):342-354. <https://doi.org/10.1177/1933719116657189>.
10. Bathgate RA, Halls ML, van der Westhuizen ET, et al. Relaxin family peptides and their receptors. *Physiol Rev.*

- 2013;93(1):405-480. <https://doi.org/10.1152/physrev.00001.2012>.
11. Luu VV, Hanatate K, Tanihara F, et al. The effect of relaxin supplementation of in vitro maturation medium on the development of cat oocytes obtained from ovaries stored at 4°C. *Reprod Biol*. 2013;13(2):122-126. <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2013.04.002>.
 12. Feugang JM, Greene JM, Willard ST, Ryan PL. In vitro effects of relaxin on gene expression in porcine cumulus-oocyte complexes and developing embryos. *Reprod Biol Endocrinol*. 2011;9:15. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-9-15>.
 13. Vandevoort CA, Mtango NR, Latham KE, Stewart DR. Primate preimplantation embryo is a target for relaxin during early pregnancy. *Fertil Steril*. 2011;96(1):203-207. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.05.016>.
 14. Shirota K, Tateishi K, Koji T, et al. Early human preantral follicles have relaxin and relaxin receptor (LGR7), and relaxin promotes their development. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(1):516-521. <https://doi.org/10.1210/jc.2004-0130>.
 15. Von Versen-Höynck F, Strauch NK, Liu J, et al. Effect of mode of conception on maternal serum relaxin, creatinine, and sodium concentrations in an infertile population. *Reprod Sci*. 2019;26(3):412-419. <https://doi.org/10.1177/1933719118776792>.
 16. Patent US-6660531-B2. Stewart DR. Relaxin levels correlated to IVF/ET pregnancy success. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/patent/US6660531>.
 17. Valkovic AL, Bathgate RA, Samuel CS, Kocan M. Understanding relaxin signalling at the cellular level. *Mol Cell Endocrinol*. 2019;487:24-33. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2018.12.017>.
 18. Ryan PL, Klonisch T, Yamashiro S, et al. Expression and localization of relaxin in the ovary of the mare. *J Reprod Fertil*. 1997;110(2):329-338. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.1100329>.
 19. Ohleth KM, Zhang Q, Bagnell CA. Relaxin protein and gene expression in ovarian follicles of immature pigs. *J Mol Endocrinol*. 1998;21(2):179-187. <https://doi.org/10.1677/jme.0.0210179>.
 20. Fornaro F, Campitiello MR, Pacilio C, Panariello A. Expression of endometrial and folliculum relaxin and reproductive outcome in women undergoing IVF. *Giornale Italiano di Ostetricia e Ginecologia*. 2010;32(2):81-86.
 21. Bastu E, Gokulu SG, Dural O, et al. The association between follicular fluid levels of cathepsin B, relaxin or AMH with clinical pregnancy rates in infertile patients. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2015;187:30-34. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2015.02.009>.
 22. Крстич Е.В., Крстич М., Юдаев В.Н. Влияние качества ооцитов и состояния овариального резерва на терапевтический потенциал экстракорпорального оплодотворения у пациенток позднего репродуктивного возраста // Альманах клинической медицины. – 2014. – № 31. – С. 70–75. [Krstic EV, Krstic M, Yudaev VN. Effect of oocytes quality and ovarian reserve on the therapeutic potential of in vitro fertilization in patients of late reproductive age. *Almanac of clinical medicine*. 2014;(31):70-75. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2014-31-70-75>.
 23. Comstock IA, Kim S, Behr B, Lathi RB. Increased body mass index negatively impacts blastocyst formation rate in normal responders undergoing in vitro fertilization. *J Assist Reprod Genet*. 2015;32(9):1299-1304. <https://doi.org/10.1007/s10815-015-0515-1>.
 24. Valcx SD, de Pauw I, de Neubourg D, et al. BMI-related metabolic composition of the follicular fluid of women undergoing assisted reproductive treatment and the consequences for oocyte and embryo quality. *Hum Reprod*. 2012;27(12):3531-3539. <https://doi.org/10.1093/humrep/des350>.
 25. Bond CP, Parry LJ, Samuel CS, et al. Increased expression of the relaxin receptor (LGR7) in human endometrium during the secretory phase of the menstrual cycle. *Ann N Y Acad Sci*. 2005;1041:136-143. <https://doi.org/10.1196/annals.1282.020>.
 26. Perumal MB, Dhanasekaran S. Relaxin: A missing link in the pathomechanisms of systemic lupus erythematosus? *Mod Rheumatol*. 2014;24(4):547-551. <https://doi.org/10.3109/14397595.2013.844297>.
 27. Goldsmith LT, Weiss G, Palejwala S, et al. Relaxin regulation of endometrial structure and function in the rhesus monkey. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(13):4685-4689. <https://doi.org/10.1073/pnas.0400776101>.
 28. Hayes ES, Curnow EC, Trounson AO, et al. Implantation and pregnancy following in vitro fertilization and the effect of recombinant human relaxin administration in Macaca fascicularis. *Biol Reprod*. 2004;71(5):1591-1597. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.030585>.

■ Информация об авторах (Information about the authors)

Олеся Николаевна Беспалова — д-р мед. наук, заместитель директора по научной работе. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0002-6542-5953>. SPIN-код: 4732-8089. E-mail: shiggerra@mail.ru.

Валерия Алексеевна Загайнова — аспирант отделения вспомогательных репродуктивных технологий. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0001-6971-7024>. SPIN-код: 7409-4944. E-mail: zagaynovav.al.52@mail.ru.

Olesya N. Bespalova — MD, PhD, DSci (Medicine), Deputy Director for Research. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0002-6542-5953>. SPIN-code: 4732-8089. E-mail: shiggerra@mail.ru.

Valeria A. Zagaynova — MD, Post-Graduate Student. The Assisted Reproduction Technology Department, the Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0001-6971-7024>. SPIN-code: 7409-4944. E-mail: zagaynovav.al.52@mail.ru.

■ Информация об авторах (Information about the authors)

Ольга Владимировна Косякова — аспирант отделения патологии беременности № 1. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** for.olga.kosyakova@gmail.com.

Александр Мкртичевич Гзгзян — д-р мед. наук, руководитель отдела репродуктологии, руководитель отделения вспомогательных репродуктивных технологий. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург; профессор кафедры акушерства, гинекологии и репродуктологии медицинского факультета. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0003-3917-9493>. **E-mail:** ovr@ott.ru.

Игорь Юрьевич Коган — д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, директор ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург; профессор кафедры акушерства, гинекологии и репродуктологии медицинского факультета. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0002-7351-6900>. SPIN-код: 6572-6450. Scopus Author ID: 56895765600. **E-mail:** ovr@ott.ru.

Юлия Павловна Милюткина — канд. биол. наук, председатель Совета молодых ученых. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0003-1951-8312>. **E-mail:** milyutina1010@mail.ru.

Наталья Николаевна Ткаченко — канд. биол. наук, заведующая лабораторией эндокринологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0001-6189-3488>. **E-mail:** iagmail@ott.ru.

Валентина Леонидовна Бородина — врач-лаборант лаборатории эндокринологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** iagmail@ott.ru.

Елена Александровна Лесик — канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории раннего эмбриогенеза, эмбриолог отделения вспомогательных репродуктивных технологий. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0003-1611-6318>. **E-mail:** ovr@ott.ru.

Ирина Дмитриевна Мекина — канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории раннего эмбриогенеза, старший эмбриолог отделения вспомогательных репродуктивных технологий. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0002-0813-5845>. **E-mail:** ovr@ott.ru.

Евгения Михайловна Комарова — канд. биол. наук, заведующая лабораторией раннего эмбриогенеза, эмбриолог отделения вспомогательных репродуктивных технологий. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0002-9988-9879>. **E-mail:** ovr@ott.ru.

Olga V. Kosyakova — MD, Post-Graduate Student. The Department of Pathology of Pregnancy No. 1, the Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** for.olga.kosyakova@gmail.com.

Alexander M. Gzgyan — MD, PhD, DSci (Medicine), Head of the Department of Reproductology, Head of the Assisted Reproduction Technology Department. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia; Professor. The Department of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Sciences, the Faculty of Medicine, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0003-3917-9493>. **E-mail:** ovr@ott.ru.

Igor Yu. Kogan — MD, PhD, DSci (Medicine), Professor, Corresponding Member of RAS, Director. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia; Professor. The Department of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Sciences, the Faculty of Medicine, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0002-7351-6900>. SPIN-code: 6572-6450. Scopus Author ID: 56895765600. **E-mail:** ovr@ott.ru.

Yulia P. Milyutina — PhD, Chairman of the Council of Young Scientists. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0003-1951-8312>. **E-mail:** milyutina1010@mail.ru.

Natalia N. Tkachenko — PhD, Head of the Laboratory of Endocrinology. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0001-6189-3488>. **E-mail:** iagmail@ott.ru.

Valentina L. Borodina — Laboratory Assistant. The Laboratory of Endocrinology. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** iagmail@ott.ru.

Elena A. Lesik — PhD, Senior Researcher. The Laboratory of Early Embryogenesis; Embryologist. The Assisted Reproduction Technology Department, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0003-1611-6318>. **E-mail:** ovr@ott.ru.

Irina D. Mekina — PhD, Senior Researcher. The Laboratory of Early Embryogenesis; Senior Embryologist. The Assisted Reproduction Technology Department, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0002-0813-5845>. **E-mail:** ovr@ott.ru.

Evgenia M. Komarova — PhD, Head of the Laboratory of Early Embryogenesis, Embryologist. The Assisted Reproduction Technology Department, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0002-9988-9879>. **E-mail:** ovr@ott.ru.