

Role of vascular growth factors as a regulator of angiogenesis processes at the stage of implantation potential formation in women with uterine factor infertility

Okoloch Onieka Gibson, O.M. Makarchuk, M.I. Rimarchuk, O.M. Ostrovska, L.M. Vakaliuk
Ivano-Frankivsk National Medical University

Despite the broad discussion of clinical significance, the features of the etiopathogenesis of impaired implantation potential in women with uterine sinechias are described in individual works, there is no unanimous opinion on this issue among researchers.

The objective: to find out the diagnostic value of a number of markers of the functional state of the endothelium and the level of individual induction angiogenesis in the formation of implantation potential in women with uterine infertility.

Materials and methods. The evaluation of the endometrium was performed in 36 women with uterine sinechias (first group) and 30 patients with long-term infertility and reproductive loss in history (second group). The control group included 20 healthy patients. This stage of scientific research was conducted taking into account the complex of instrumental methods – ultrasound, histological examination of endometrial biopsies obtained by hysteroscopy intervention, and/or fractional scissors in the dynamics of the menstrual cycle. The design of the study envisaged the study and evaluation of the level of individual factors of angiogenesis, in particular: vascular endothelial growth factor (VEGF-1), as well as antiangiogenic growth factor sFlt-1 and their fluctuations in the preconception phase in serum and cervical mucus.

Results. The conducted researches allow to assert, that practically in all patients with uterine sinechia in the complex examination the predominance of the morphological picture of chronic endometritis, hyperplasia and endometrial polyposis, as well as inferior secretory transformation of the endometrium is established. The evaluation of the results of the histological study made it possible to diagnose the presence of hyperplastic processes in 36.1%, the so-called thin endometrium was verified at 19.4%, and the endometrium atrophy was found in 13.9% of the histological findings. The results obtained were demonstrated at the preconception stage in the reduction of VEGF-1 and the high anti-angiogenic growth factor sFlt-1: the level of said transmitter in the group of women with uterine sinechias was 63% higher in controls than controls (2.8-fold) ($p < 0,05$). Thus, in the case of deep pathomorphological lesions of the endometrium, at the stage of preconception preparation, there is a marked shift in the balance of vascular growth factors towards the increase in the concentration of antiangiogenic markers – sFlt-1, which is evidence of more severe impingement potential impairment in this category of patients.

Conclusions. The level of vascular-endothelial growth factor in serum and cervical secretion as well as the estimation of the angiogenic factor may be early prognostic markers that characterize the initial signs of trophoblast invasion, occurring long before implantation impairment and clinical manifestation of non-compliance. It provides an opportunity to predict damage to the endometrium and its vascular network and can be used to control the effectiveness of preventive measures and the effectiveness of preconception training in women at risk for the implementation of possible underdeveloped pregnancy.

Key words: uterine sinechia, chronic endometritis, growth factors, angiogenic coefficient.

Роль сосудистых факторов роста как регулятора процессов ангиогенеза на этапе формирования имплантационного потенциала у женщин с маточным фактором бесплодия

Околох Ониека Гибсон, О.М. Макачук, М.И. Рымарчук, О.М. Островская, Л.М. Вакалюк

Несмотря на широкое обсуждение клинического значения, особенности этиопатогенеза нарушения имплантационного потенциала у женщин с маточными синехиями описываются в единичных работах, единого мнения в этом вопросе у исследователей нет.

Цель исследования: определение диагностической ценности ряда маркеров функционального состояния эндотелия и уровня отдельных индукторов ангиогенеза в формировании имплантационного потенциала у женщин с маточным фактором бесплодия.

Материалы и методы. Оценка состояния эндометрия была проведена у 36 женщин с маточными синехиями (первая группа) и 30 пациенток с длительно леченным бесплодием и репродуктивными потерями в анамнезе (вторая группа). В контрольную группу вошли 20 здоровых пациенток. Данный этап научного поиска проведен с учетом комплекса инструментальных методов – ультразвукового исследования, гистологического исследования биоптатов эндометрия, полученных путем гистероскопического вмешательства и/или фракционного соскоба в динамике менструального цикла. Дизайн исследования предусматривал изучение и оценку уровней отдельных факторов ангиогенеза, в частности: сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF-1), а также антиангиогенного фактора роста sFlt-1 и их колебания в процессе прекоцепционного этапа в сыворотке крови и цервикальной слизи.

Результаты. Проведенные исследования позволяют утверждать, что практически у всех пациенток с маточными синехиями при комплексном обследовании установлено преобладание морфологической картины хронического эндометрита, гиперплазии и полипоза эндометрия, а также неполноценной секреторной трансформации эндометрия. Оценка результатов гистологического исследования позволила диагностировать у 36,1% наличие гиперпластических процессов, у 19,4% верифицирован так называемый тонкий эндометрий, а у 13,9% гистологической находкой была атрофия эндометрия. Полученные результаты гистероскопического вмешательства и/или фракционного соскоба в динамике менструального цикла. Дизайн исследования предусматривал изучение и оценку уровней отдельных факторов ангиогенеза, в частности: сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF-1), а также антиангиогенного фактора роста sFlt-1 и их колебания в процессе прекоцепционного этапа в сыворотке крови и цервикальной слизи.

Заключение. Уровень сосудисто-эндотелиального фактора роста в сыворотке крови и цервикальном секрете, а также оценка ангиогенного коэффициента могут быть ранними прогностическими маркерами, характеризующими начальные признаки нарушения инвазии трофобласта, которые возникают задолго до нарушения имплантации и клинической манифестации невынашивания. Это дает возможность предсказывать повреждения эндометрия и его сосудистой сетки и может быть использовано для контроля эффективности профилактических мероприятий и результативности прекоцепционной подготовки у женщин группы риска по реализации возможной неразвивающейся беременности.

Ключевые слова: маточные синехии, хронический эндометрит, ростовые факторы, ангиогенный коэффициент.

Роль судинних факторів росту як регулятора процесів ангіогенезу на етапі формування імплантаційного потенціалу у жінок з матковим фактором безплідності

Околох Онієка Гібсон, О.М. Макарчук, М.І. Римарчук, О.М. Островська, Л.М. Вакалюк

Незважаючи на широке обговорення клінічного значення, особливості етіопатогенезу порушення імплантаційного потенціалу у жінок з матковими синехіями описуються в одиничних роботах, одностайної думки щодо цього питання у дослідників немає.

Мета дослідження: визначення діагностичної цінності низки маркерів функціонального стану ендотелію та рівня окремих індукторів ангіогенезу у формуванні імплантаційного потенціалу у жінок з матковим чинником безплідності.

Матеріали та методи. Оцінювання стану ендометрія було проведено у 36 жінок із матковими синехіями (перша група) і 30 пацієнток із тривало ліквованою безплідністю та репродуктивними втратами в анамнезі (друга група). До контрольної групи увійшли 20 здорових пацієнток. Даний етап наукового пошуку проведено із урахуванням комплексу інструментальних методів – ультразвукового дослідження, гістологічного дослідження біоптатів ендометрія, отриманих шляхом гістероскопічного втручання і/або фракційного зіскрібка у динаміці менструального циклу. Дизайн дослідження передбачав вивчення та оцінювання рівнів окремих факторів ангіогенезу, зокрема: судинно-ендотеліального фактора росту (VEGF-1), а також антиангіогенного фактора росту sFlt-1 та їхнього коливання у процесі преемпліаційного етапу у сироватці крові та цервікальному слизі.

Результати. Проведені дослідження дозволяють стверджувати, що практично у всіх пацієнток із матковими синехіями при комплексному обстеженні встановлено переважання морфологічної картини хронічного ендометриу, гіперплазії та поліпозу ендометрія, а також неповноцінної секреторної трансформації ендометрія. Оцінка результатів гістологічного дослідження дозволила діагностувати у 36,1% випадків наявність гіперпластичних процесів, у 19,4% верифіковано так званій тонкій ендометрій, а у 13,9% гістологічною знахідкою була атрофія ендометрія. Отримані результати продемонстрували на преемпліаційному етапі зниження рівня VEGF-1 та високі показники антиангіогенного фактора росту sFlt-1: рівень зазначеного трансмітера у групі жінок з матковими синехіями у 63,9% спостережень був вищий проти показників контролю у 2,8 разу ($p < 0,05$). Отже, у випадку глибоких патоморфологічних уражень ендометрії уже на етапі преемпліаційної підготовки спостерігається виражене зміщення балансу судинних факторів росту у бік зростання концентрації рівня антиангіогенних маркерів – sFlt-1, що є свідченням більш виражених порушень імплантаційного потенціалу у даній категорії пацієнток.

Заключення. Рівень судинно-ендотеліального фактора росту у сироватці крові та цервікальному секреті, а також оцінка ангіогенного коефіцієнта можуть бути ранніми прогностичними маркерами, що характеризують початкові ознаки порушення інвазії трофобласта, які виникають задовго до порушення імплантації та клінічної маніфестації невиношування. Це дає можливість передбачати пошкодження ендометрія і його судинної сітки та може бути використано для контролю ефективності профілактичних заходів і результативності преемпліаційної підготовки у жінок групи ризику щодо реалізації можливої вагітності, що не розвивається.

Ключові слова: маткові синехії, хронічний ендометрит, ростові фактори, ангіогенний коефіцієнт.

The scientific concept of considering angiogenesis impairment as one of the leading pathophysiological factors resulting in the decline of the reproductive potential in a woman is currently proven [1, 2, 3, 4]. Physiological changes in the endometrium occur due to the involvement of multiple peptide growth factors; among them, cytokines and growth factors that, in addition to hormonal regulation of ovarian function, prepare the endometrium for embryo implantation and are responsible for pregnancy preservation, are extremely important [3, 5, 6, 7].

The analysis of the literature has demonstrated that nowadays there are a lot of studies on the effect of pro-angiogenic and anti-angiogenic vascular factors on placental morphogenesis during normal pregnancy and in case of pathological conditions; however, there is no basic research and only a few studies have been dedicated to a special role of vascular factors in the formation of endometrial dysfunction at the early stages in women with uterine factor infertility [8, 9, 10, 11].

Over the last decades, numerous studies dedicated to this issue have allowed us to significantly deepen understanding of the etiopathogenesis of this condition. Despite a broad discussion of clinical significance, the peculiarities of the etiopathogenesis of implantation potential impairment in women with uterine synechiae have been described in individual works only; there is currently no consensus among researchers regarding this issue. Therefore, considering the above data, we believe that a detailed study of this condition will help us more rationally approach the diagnosis, prevention and pharmaceutical correction of conditions associated with uterine factor of implantation potential impairment, while understanding of this aspect will allow us to open up new perspectives in the development and correction of reproductive disorders, as well as to determine new directions of therapeutic effect.

The objective of the research was to find out the diagnostic value of the markers of the endothelium functional state and the level of individual angiogenic inducers in the formation of the implantation potential in women with uterine factor infertility.

MATERIAL AND METHODS

The state of the endometrium was assessed in 36 women with uterine synechiae (Group I) and 30 women with a history of pregnancy losses (reproductive history) who underwent long-term treatment of infertility (Group II). The control

group included 20 healthy patients. The following instrumental methods were used: ultrasound scan, histological study of endometrial biopsy specimens obtained during hysteroscopy, and/or fractional scraping during the menstrual cycle.

The design of our research envisaged the study and assessment of the level of individual angiogenic factors, namely vascular endothelial growth factor (VEGF-1) and anti-angiogenic growth factor – soluble fms-like tyrosine kinase (sFlt-1), and their variations in cervical mucus and serum samples of the patients of the studied groups in the process of monitoring the pre-conception phase by the method of enzyme immunoassay using RayBio® kits (USA). The results obtained were statistically processed using statistical software packages Microsoft Office Excel and Statistica 6.0 for Windows.

RESULTS AND DISCUSSION

When analyzing histological findings in women with intrauterine pathology, a significant percentage of gynaecological diseases (inflammatory uterine disease, genital endometriosis, pelvic adhesive disease, disturbed vaginal microbiota, high index of genitourinary infection) was observed, that, due to integrated instrumental examination, was found to be more significant (by 3.0 times) in the patients of Group I as compared to the data obtained when assessing a somatic and gynaecological history of the patients in Group II.

An integrated approach to the assessment of histological findings in women with uterine synechiae allowed us to diagnose the presence of hyperplastic processes in 13 (36.1%) women (cystic glandular hyperplasia in 6 (46.2%) patients and endometrial polyps in 7 (53.9%) patients; among them, endometrial hyperplasia coexisted with uterine fibroid and adenomyosis in 4 (30.8%) and 3 (23.1%) cases, respectively), “thin” endometrium in 7 (19.4%) patients, and endometrial atrophy in 5 (13.9%) patients. Comparative assessment of histological findings allowed us to detect more significant percentage of hypoplasia (2.6 times more often) and endometrial polyps (2.0 times more often, $p < 0.05$) in women with uterine synechiae as compared to women of Group II. The proportion of chronic endometritis was significant in both groups; however, in women with uterine synechiae, it was diagnosed 2.0 times more often ($p < 0.05$).

The assessment of endometrial histology according to the results of fractional scraping during the menstrual cycle found that in 11 (30.6%)

women of Group I, the data corresponded to the phase of the cycle during which the material was taken; however, in 15 (41.7%) women of this group, histopathologic assessment of the entire endometrium revealed that morphological data did not correspond to the menstrual cycle phase.

Thus, all the studies carried out suggest that in almost all patients with uterine synechiae, the morphological picture of chronic endometritis, hyperplasia, endometrial polyps and insufficient secretory transformation of the endometrium was found to prevail.

The study of the level of individual growth factors revealed a decrease in VEGF-1 level in the secretory phase by 3.0 times in more than half of the observations (21 patients – 58.3%), that obviously indicated impaired angiogenesis processes at the stages of the maturation and selection of the follicle, and the formation and functioning of the corpus luteum. According to the literature available, the decrease in the level of this transmitter is associated with impaired endometrial perfusion as well, that results in decreased endometrial receptivity, thereby lowering the implantation potential. Considering the importance of angiogenesis mechanisms during the period when the implantation window is formed, we studied the level of this growth factor in the cervical mucus that allowed us to detect its significantly high indicators as compared to healthy patients. In Group II, in the secretory phase of the menstrual cycle, the level of this transmitter was 2.0 times higher than that in healthy women and 2.9 times greater than that in women with uterine synechiae ($p < 0.05$).

Thus, multidirectional changes in VEGF-1 level in cervical mucus and serum samples of the studied groups indicated that in case of the combination and interaction of a complex of factors, pregnancy can occur on the background of significant stimulation of angiogenesis only. According to the results obtained, in the preconception phase, decreased VEGF-1 level, as well as high indicators of anti-angiogenic growth factor sFlt-1 were observed. In 23 (63.9%) women of Group I, the level of sFlt-1 was 2.8 times higher as compared to the control group; in women Group II, it was 1.9 times higher, respectively ($p < 0.05$). Thus, in case of deep pathomorphological lesions of the

endometrium at the stage of preconception preparation, there was observed a more pronounced shift in the balance of vascular growth factors towards the increase in the concentration of anti-angiogenic markers – sFlt-1 that indicated more pronounced impairments of the implantation potential in the given category of women.

In the course of study, we determined the so-called angiogenic coefficient as one of the indicators reflecting the severity of both vascular disorders and vascular imbalance. According to statistical calculations, in the patients of Group I, this ratio was 142.36 ± 3.2 c.u., exceeding that in healthy pregnant women by 14.5 times ($p < 0.05$). The determination of the angiogenic coefficient as an additional diagnostic criterion when choosing therapeutic tactics for women with uterine factor infertility is a quite sensitive method with a certain level of specificity.

The aforementioned results allowed us to confirm the existing beliefs that in the patients with uterine pathology and uterine pathology-related complications, endothelial pathology with pronounced imbalance of vascular growth factors, reflected as high angiogenic coefficient, is formed, and the patients with uterine synechiae are at risk of developing implantation failure.

CONCLUSIONS

Thus, in our opinion, the assessment of the dynamics of growth factor level during pregnancy allows predicting its consequences by the level of individual indicators, especially VEGF, in cervical mucus and serum samples. Both level of VEGF in the serum and the cervical secretion and the assessment of the angiogenic coefficient may serve as early prognostic markers that characterize the initial signs of impaired trophoblast invasion developing long before implantation failure and clinical manifestation of miscarriage.

This allows predicting endometrial lesions and lesions of the endometrial wall and can be used for controlling the effectiveness of preventive measures and preconception care in women at risk of non-developing pregnancy.

Сведения об авторах

Макарчук Оксана Михайловна – Кафедра акушерства и гинекологии последипломного образования Ивано-Франковского национального медицинского университета, 76018, г. Ивано-Франковск, ул. Галицкая, 2; тел.: (0342) 55-31-65. E-mail: o_makarchuk@ukr.net

Рымарчук Марианна Ивановна – Кафедра акушерства и гинекологии последипломного образования Ивано-Франковского национального медицинского университета, 76018, г. Ивано-Франковск, ул. Галицкая, 2; тел.: (0342) 55-31-65. E-mail: mariyana@meta.ua

Околох Оника Гибсон – Кафедра акушерства и гинекологии последипломного образования Ивано-Франковского национального медицинского университета, 76018, г. Ивано-Франковск, ул. Галицкая, 2; тел.: (0342) 55-31-65

Островская Оксана Николаевна – Кафедра акушерства и гинекологии последипломного образования Ивано-Франковского национального медицинского университета, 76018, г. Ивано-Франковск, ул. Галицкая, 2; тел.: (0342) 55-31-65

Вакалюк Любомир Мирославович – Кафедра акушерства и гинекологии последипломного образования Ивано-Франковского национального медицинского университета, 76018, г. Ивано-Франковск, ул. Галицкая, 2; тел.: (0342) 55-31-65

REFERENCES

1. Давыдов А.И., Агрба И.Б., Волощук И.Н. (2012) Патогенез патологии прикрепления плаценты: роль факторов роста и других иммуногистохимических маркеров. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 11(1): 48-54
2. Лызикова Ю.А., (2015). Хронический эндометрит как причина нарушения репродуктивной функции у женщин. Проблемы здоровья и экологии. 3(45): 9–16.
3. Макаров О.В., Козлов П.В., Кузнецов П.А., Копылова Ю.В. (2014) Роль дисбаланса сосудистых факторов роста в развитии осложненной беременности. Вестник РГМУ. 4: 34-37.
4. Сегедій Л.І. Імунологічне забезпечення фізіологічного перебігу вагітності та імунопатогенетичні аспекти репродуктивних втрат (огляд літератури). Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2016;(1):123-8.
5. Сеидова Л.А., Яворовская К.А. Молекулярно-биологические основы регуляции имплантации. Вопр. гинекологии, акушерства и перинатологии. 2010;9(3):79-83.
6. Сухих Г.Т., Ванько Л.В. Иммуные факторы в этиологии и патогенезе осложнений беременности. Акушерство и гинекология. 2012;(1):128-36.
7. Таболова В.К., Корнеева И.Е. (2013). Влияние хронического эндометрита на исходы программ вспомогательных репродуктивных технологий: морфо-функциональные и молекулярно-генетические особенности. Акушерство и гинекология. 10: 17–22.
8. Корженевская К.В., Гавришева Н.А., Панов А.В., Сесь Т.П., Алугишвили М.З., Козлов В.В. Трансформирующий фактор роста-бета1 при различном клиническом течении ишемической болезни сердца после операции коронарного шунтирования. Мед. иммунология. 2010; 12(6):521-8.
9. Шарфи Ю.Н. Цитокины и факторы роста как маркеры имплантационной способности эндометрия в циклах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). Журн. акушерства и жен. болезней. 2013;(4):88-96.
10. Van den Bosch T. Intra-cavitary uterine pathology in women with abnormal uterine bleeding: a prospective study of 1220 women [Text] / T. Van den Bosch, L. Arneye, D. Van Schoubroeck, T. Bourne, D. Timmerman // Timmerman Facts Views Vis Obgyn. – 2015. – Vol. 7, Issue 1. – P. 17–24.
11. Hannan NJ (2011) Analysis of fertility-related soluble mediators in human uterine fluid indentifies VEGF as a key regulator of embryo implantation // Endocrinology. 152(12): 4948-4956.

Статья поступила в редакцию 17.07.2019