

Gdański Uniwersytet Medyczny

mgr Patrycja Maria Skowrońska

**Ocena płodności pacjentek w zależności od poziomu witaminy D oraz innych witamin
rozpuszczalnych w tłuszczach, w płynie pęcherzykowym w pęcherzykach jajnikowych
oraz osoczu**

**Assessment of female fertility based on the levels of vitamin D and other fat-soluble
vitamins in ovarian follicular fluid and blood serum**

Rozprawa doktorska

Promotor pracy:

prof. dr hab. n. med. Krzysztof Łukaszuk

Zakład Pielęgniarstwa Położniczo-Ginekologicznego

Instytut Pielęgniarstwa i Położnictwa

Wydział Nauk o Zdrowiu z Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej

Gdańsk 2020

1.1. Streszczenie

W ostatnich latach widoczna jest tendencja do poszukiwania markerów kompetencji rozwojowych oocytów wśród molekuł znajdujących się w płynie pęcherzykowym (FF), stanowiącym ich naturalne środowisko rozwoju. Głównym celem prowadzonych badań była próba stworzenia modelu predykcyjnego oceny płodności pacjentek odzwierciedlonej w jakości pobranych oocytów oraz ich potencjale rozwojowym, w oparciu o stężenia witamin A, D, E oraz K w FF.

Niniejsze badanie przeprowadzono w Klinice Leczenia Niepłodności INVICTA w Gdańsku, w terminie od lipca do sierpnia 2015. Do projektu kwalifikowano pacjentki poddawane procedurze zapłodnienia pozaustrojowego metodą ICSI. Finalnie do badania włączono 50 pacjentek, od których pobrano 313 FF. Dodatkowo, od każdej pacjentki w dniu zabiegu pobrania oocytów pobierano próbkę krwi.

Stężenie witaminy A, D, E oraz K w FF i surowicy oznaczono z zastosowaniem techniki LC-MS/MS.

Badania wykonane w ramach niniejszej pracy wskazują, że stężenia witamin A, D, E oraz K w surowicy stanowią wiarygodne źródło informacji o dostępności tych witamin w FF. Ponadto, ich stężenie istotnie różni się w zależności od przyczyny niepłodności. Najniższe stężenie analizowanych witamin obserwowano u pacjentek z endometriozą, najwyższe zaś u pacjentek, ze stwierdzoną niepłodnością idiopatyczną. Wydaje się zatem, że niskie stężenie tych witamin nie jest czynnikiem zaangażowanym w patogenezę niepłodności idiopatycznej, ale może być ono zaangażowane w patofizjologię endometriozy.

Dalsze badania nie wykazały korelacji stężeń analizowanych witamin mierzonych w FF i surowicy z następującymi parametrami: BMI, wiekiem, stężeniem FSH oraz LH, liczbą pęcherzyków antralnych oraz oocytów (niezależnie od ich stadium rozwojowego). Jedynie stężenie witaminy D w FF wykazywało korelację ze stężeniem AMH, co potwierdza zaangażowanie tej witaminy w regulację sekrecji AMH w komórkach warstwy ziarnistej. Podobnych obserwacji nie poczyniono dla pozostałych witamin.

Dalsze analizy z zastosowaniem regresji logistycznej wykazały, że na podstawie stężenia witamin możliwa jest selekcja oocytów o większych kompetencjach rozwojowych. Warto jednak zauważyć, że wysokie stężenie witaminy D negatywnie wpływa na jakość zarodków ocenianą w 5 dobie ich hodowli. Co ciekawe, powyższe badanie nie wykazało związku

między stężeniem witamin A, D, E oraz K w FF i surowicy a osiągnięciem przez kobiety ciąży klinicznej.

Podsumowując, stężenie witamin A, D, E oraz K w istotny sposób wpływać może na płodność kobiet, a ich ocena w FF stanowić może użyteczny marker kompetencji rozwojowych oocytów. Jednak, aby potwierdzić powyższe wnioski konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań obejmujących większą liczbę pacjentów oraz wzbogaconych o analizę dodatkowych molekuł takich jak: kwas retinowy, RBP4 czy VDBP.

Słowa kluczowe: witaminy rozpuszczalne w tłuszczach; potencjał rozwojowy oocytów rozwój zarodka.

1.2. Streszczenie w języku angielskim

In recent years, there has been a tendency to search for markers of oocyte developmental competence among molecules found in follicular fluid (FF), which is their natural development environment. The main research goal was to create a predictive model for assessing the fertility of patients defined by their retrieved oocyte quality and their development potential, based on the concentration of vitamins A, D, E and K in FF.

The study was conducted at the INVICTA Infertility Clinic in Gdańsk from July to August 2015. Patients undergoing ICSI fertilization were included in the project. Ultimately, 50 patients were enrolled and 313 FF samples were collected. In addition, a blood sample was taken from each patient on the day of oocyte retrieval.

Vitamin A, D, E and K concentrations in FF and serum were determined using the LC-MS / MS technique.

Research carried out as part of this work indicates that serum concentrations of vitamins A, D, E and K are a reliable source of information about the availability of these vitamins in FF. In addition, their concentration varies significantly depending on the cause of infertility. The lowest concentration of the analyzed vitamins was observed in patients with endometriosis, and the highest in patients with idiopathic infertility. Therefore, it seems that the low concentration of these vitamins is not a factor involved in the pathogenesis of idiopathic infertility, but may be involved in the pathophysiology of endometriosis.

Further analysis did not show a correlation of the concentrations of the analyzed vitamins measured in FF and serum with the following parameters: BMI, age, FSH and LH concentration, antral follicles count and number of oocytes (regardless of their developmental stage). Only vitamin D concentration in FF was correlated with AMH concentration, which confirms the involvement of this vitamin in the regulation of AMH secretion in granulosa cells. No similar observations were made for other vitamins.

Further analysis using logistic regression showed that based on the concentration of vitamins A, D and E in FF it is possible to select oocytes with higher developmental competences. It is worth noting, however, that the high concentration of vitamin D was inversely associated with embryos quality assessed on the 5th day of culture. Interestingly, the above study did not show a relationship between the concentration of vitamins A, D, E and K in FF and serum and patient's ability to reach clinical pregnancy.

In summary, the concentration of fat-soluble vitamins can significantly affect female fertility, and their assessment in follicular fluid may be a useful marker of developmental competence of oocytes. However, to confirm these conclusions, it is necessary to conduct further studies involving a larger number of patients and include additional analysis of molecules such as retinoic acid, RBP4 or VDBP.

Keywords: fat soluble vitamins; oocyte development potential; embryo development.