

На правах рукописи

АВАКИМЯН Вероника Артемовна

**ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОГРАММЫ
ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ
У ПАЦИЕНТОК С АДЕНОМИОЗОМ**

14.01.01 – акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Волгоград – 2018

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор
Куценко Ирина Игоревна

Официальные оппоненты:

Герасимов Алексей Михайлович, доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ивановская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры акушерства и гинекологии, медицинской генетики;

Ермолова Наталья Викторовна, доктор медицинских наук, доцент, НИАП, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, главный научный сотрудник .

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «__»_____2018 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.008.10 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 400131, ЮФО, Волгоградская область, город Волгоград, площадь Павших борцов, дом 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, сайт:<http://www.volgmed.ru>

Автореферат разослан «__»_____2018 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук



Селихова Марина Сергеевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации обусловлена следующими аспектами.

Развитие и распространенность вспомогательных репродуктивных технологий в настоящее время во многом расширили возможности лечения бесплодия (Кулаков В.И., 2005, Нифантова Р., 2011). Однако по данным РАРЧ в России за 2015 г. частота наступления беременности при проведении экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) за последние пять лет практически не изменилась и составляет в расчете на цикл 31,5 %, на пункцию – 32,4 %, на перенос эмбрионов – 38,4 %. Одной из основных причин, часто нарушающих репродуктивную функцию у молодых женщин, является аденомиоз, который выявляется у 40–45 % женщин, страдающих первичным бесплодием, и у 50–58 % – вторичным (Марченко Л.А., 2011). В настоящее время частота наступления беременности после программы ЭКО у этих пациенток составляет около 25,6 % в расчете на перенос эмбрионов, что существенно ниже, чем средний статистический показатель по данным РАРЧ. Влияние ранних стадий аденомиоза на частоту успеха ЭКО на сегодняшний день остается дискуссионным, как и оценка его возможного влияния на эмбриональный фактор и имплантационный потенциал эндометрия (Адамян Л.В., 2006; Fedorcsak P., 2011). Наличие исходных иммунных дисфункций в системе цитокинов при аденомиозе нацеливает на целесообразность введения иммуномодуляторов в предгравидарную подготовку к циклу ЭКО, в том числе и ранних степеней.

Таким образом, очевидно, что изучение факторов, влияющих на успех программы ЭКО при аденомиозе ранних степеней и разработка предгравидарной подготовки (ПГ) в целях повышения результативности ВРТ является несомненно актуальной.

Степень разработанности проблемы

Безусловно, результативность циклов ЭКО при любой форме бесплодия зависит от овариального резерва пациентки, качества эмбриона и структурно-функциональной полноценности эндометрия к моменту имплантации эмбриона, а также от синхронности их взаимодействий. Одним из морфологических критериев удовлетворительной рецептивности эндометрия является появление развитых эктоплазматических протрузий эндометриальных эпителиальных клеток – пиноподий (Носенко Е.Н. и др., 2014; Bufang Xu. et al., 2012). Роль в адекватной рецептивности эндометрия цитокинов, факторов роста и молекул адгезии, определяемых на общем и местном уровне, со времени появления иммунологической теории имплантации доказана многими исследованиями (Franasiak J.M., 2014; Ingman W., 2008; Сеидова Л.А. и др., 2015). Прогестерон регулирует большинство идентифицированных маркеров «окна nidации» (Дюжева Е.В., 2010; Бабиченко И.И. и др., 2007) путем связывания со специфическими ядерными рецепторами. Дисбаланс в гормональном статусе или экспрессии стероидных рецепторов прямо и косвенно могут привести к нарушению морфофункциональных свойств эндометрия. Причем, рядом работ (Сеидова Л.А. и др., 2015; Шарфи Ю.Н., 2015) была подтверждена взаимосвязь между экспрессией разных иммунологических молекулярных факторов в ткани эндометрия, секрете из полости матки и слизи цервикального канала (Mikolajczyk M., 2006; Girling J.E., 2009; Hannan N.J., 2011). Ис-

следование концентрации LIF и LIF-R и других сигнальных молекул в цервикальной слизи (ЦС) рекомендовано для использования в клинической практике как неинвазивный метод определения имплантационного потенциала эндометрия (Сеидова Л.А. и др., 2015). В новых расширенных представлениях о патогенезе аденомиоза показано, что наличие признаков иммунного воспаления в эндометрии при аденомиозе способствует нарушению его рецептивности (Радзинский В.Е. и др., 2015). Исследованиями К.В. Краснопольской (2012) выявлено, что даже при тяжелой форме аденомиоза качество ооцитов и эмбрионов не страдает, однако в нашем исследовании мы предпочли исследовать и этот фактор в качестве причины столь частых неудач ЭКО у данных пациенток.

При этом практически отсутствуют данные о влиянии различных видов гестагенов на имплантационный фактор при аденомиозе ранних степеней и их значимость в отношении увеличения эффективности циклов ЭКО у таких пациенток (Bedaiwy M.A. et al, 2015). В целом практически отсутствуют работы, посвященные предгравидарной подготовке больных к циклу ЭКО с бесплодием, ассоциированным с аденомиозом ранних степеней, а также возможному включению в нее специфической иммунотерапии.

Цель исследования – повышение эффективности ЭКО у пациенток с аденомиозом ранних степеней путем разработки программы предгравидарной подготовки.

Задачи исследования:

1. Оценить влияние аденомиоза I степени на эффективность ЭКО и особенности ранней диагностики аденомиоза у пациенток с бесплодием.
2. Оценить качество эмбрионального фактора у пациенток с бесплодием и аденомиозом ранних степеней.
3. Оценить состояние имплантационного потенциала эндометрия и цитокинового статуса периферической крови у пациенток с бесплодием и аденомиозом ранних степеней.
4. На основании комплексной оценки факторов, определяющих успешность ЭКО (имплантационный фактор эндометрия и эмбриональный фактор), разработать программу предгравидарной подготовки для пациенток с бесплодием и аденомиозом ранних степеней.
5. Изучить влияние различной предгравидарной подготовки на рецептивность эндометрия и эффективность ЭКО у пациенток с бесплодием и аденомиозом ранних степеней.
6. Проанализировать течение индуцированной беременности и исходы родов после проведения различной предгравидарной подготовки.

Научная значимость

Впервые доказано негативное влияние аденомиоза I степени на эффективность ЭКО. Расширены и углублены представления о причинах неудачных попыток ЭКО при аденомиозе ранних степеней у женщин репродуктивного возраста. Показано, что эмбриональный фактор у этих пациенток не изменен. Установлена ключевая роль нарушений имплантационного фактора эндометрия, в частности изменение иммуноориентированного рецепторного потенциала.

Впервые выделены различные степени выраженности снижения имплантационного потенциала эндометрия («низкий» и «очень низкий» имплантационный потенциал), которые играют решающую роль в выборе предгравидарной подготовки к ЭКО у пациенток с аденомиозом I степени.

Разработаны неинвазивные критерии оценки степени выраженности снижения имплантационного потенциала эндометрия: ПВИ периферической крови, определяемый по уровню цитокинов IL-1 β и RAIL, и LIF цервикальной слизи и ПВИ-ЦС, определяемый соотношением уровней IL6 и IL10.

Доказано, что при низком имплантационном потенциале предгравидарная подготовка диеногестом нивелирует дефекты имплантационного потенциала и повышает результативность ЭКО.

Патогенетически обосновано и доказано, что повышение результативности ЭКО при очень низком имплантационном потенциале эндометрия достигается путем введения в комплекс ПГ иммунокоррекции дезоксирибонуклеинатом натрия.

Установлено, что проведение дифференцированной ПГ к ЭКО у пациенток с аденомиозом ранних степеней позволяет уменьшить количество осложненных гестационного процесса и увеличить количество срочных родов.

Практическая значимость исследования обусловлена тем, что на основании полученных результатов практическому здравоохранению предложены комплекс дополнительного инструментального (расширенный протокол УЗИ и МРТ-диагностика) и лабораторного обследования и дифференцированный подход к проведению ПГ к циклу ЭКО у пациенток с аденомиозом I степени в зависимости от характеристик имплантационного фактора эндометрия (низкий или очень низкий имплантационный потенциал).

Методология и методы исследования

В соответствии с дизайном исследования нами были обследованы 226 пациенток с бесплодием, проходивших лечение с применением ЭКО в отделениях ВРТ БАГК ФГБОУ ВО КубГМУ г. Краснодара и клинике репродукции «Эмбрио» г. Краснодара. В результате обследования у 192 пациентов (84,9 %) был выявлен аденомиоз I степени. Для реализации задач, поставленных в диссертации, из них было обследовано 172 женщины с бесплодием, ассоциированным с аденомиозом I степени, планирующих ЭКО. Включение пациенток в клиническое исследование проводилось после получения информированного согласия и протоколировалось по стандартам Этического комитета Российской Федерации. Включение больных в клинические группы проводилось методом случайной выборки.

Критерии включения в исследование:

- наличие бесплодия в течение 3–6 лет;
- наличие аденомиоза I степени, подтвержденного эхографически, гистероскопически и по данным МРТ исследований;
- возраст не более 35 лет на момент включения в исследование;
- регулярный менструальный цикл 21–35 дней;
- отсутствие противопоказаний для проведения программы ЭКО (Приказ Минздрава России № 107н от 30 августа 2012 г.);
- отсутствие гормонотерапии в течение шести месяцев;
- информированное согласие на участие в исследовании.

Критериями исключения из исследования явились:

- возраст пациенток более 35 лет;
- другие локализации эндометриоза, наличие рубца на матке, пороки развития матки, миома матки и другая гинекологическая патология;
- гидросальпинкс и/или тубоовариальное образование в анамнезе;
- наличие хронических экстрагенитальных заболеваний в стадии субкомпенсации и декомпенсации в течение года до проведения исследования;
- мужской и эндокринный фактор бесплодия;
- отказ пациентки от участия в исследовании.

Были сформированы следующие клинические группы:

1-я группа – 73 пациентки, которые вступали в цикл ЭКО – ПГ микро-низированным прогестероном (схема 1); **2-я группа – 76 пациенток** – ПГ диеногестом (схема 2); **3-я группа – 77 пациенток** – ПГ диеногестом и дезоксирибонуклеинатом натрия (схема 3). **4-я группа (контроль)** – 45 здоровых фертильных женщин, имеющих физиологические роды и здоровых детей в анамнезе, наблюдавшихся в клиниках по программе суррогатного материнства.

Схемы предгравидарной подготовки:

Схема 1. Прием микронизированного прогестерона в дозе 400 мг в сутки интравагинально с 16-го по 25-й день менструального цикла в течение трех циклов.

Схема 2. Прием диеногеста в дозе 2 мг в сутки в непрерывном режиме в течение трех месяцев.

Схема 3. Прием диеногеста в дозе 2 мг в сутки в течение трех месяцев и внутримышечное введение дезоксирибонуклеината натрия в дозе 75 мг (5 мл 1,5 %-го раствора) с интервалом введения 48 часов, пять инъекций на курс, во второй фазе цикла, предшествующего фертильному с ЛГ+3.

Для проведения различной ПГ (микронизированный прогестерон – схема 1, диеногест – схема 2) путем простого рандомизированного исследования все пациентки с аденомиозом были разделены на две клинические группы. По завершению программы ЭКО для оценки его эффективности на фоне различной ПГ основные группы были разделены по принципу результативности ЭКО (пациентки с положительной попыткой – (Б+), с отрицательной – (Б-). Далее с помощью логистического регрессионного анализа был оценен рецепторный потенциал эндометрия в сравнительном аспекте, и в зависимости от его параметров разработана и применена индивидуализированная ПГ с применением диеногеста или диеногеста в сочетании с направленной иммунотерапией дезоксирибонуклеинатом натрия. По завершению программы ЭКО у данных пациенток вновь были оценены его результативность, а также течение беременности и исходы родов. Обобщенно ход исследования, характеристики и численность групп представлены схематическим дизайном исследования (рис. 1).

Диагноз аденомиоз I степени выставлялся на основании: клинических симптомов (длительные, обильные менструации, перименструальные кровянистые выделения, укорочение менструального цикла, боль в нижних отделах живота, усиливающаяся перед менструацией, бесплодие); ультразвуковых и МРТ критериев и гистероскопических признаков аденомиоза I степени.

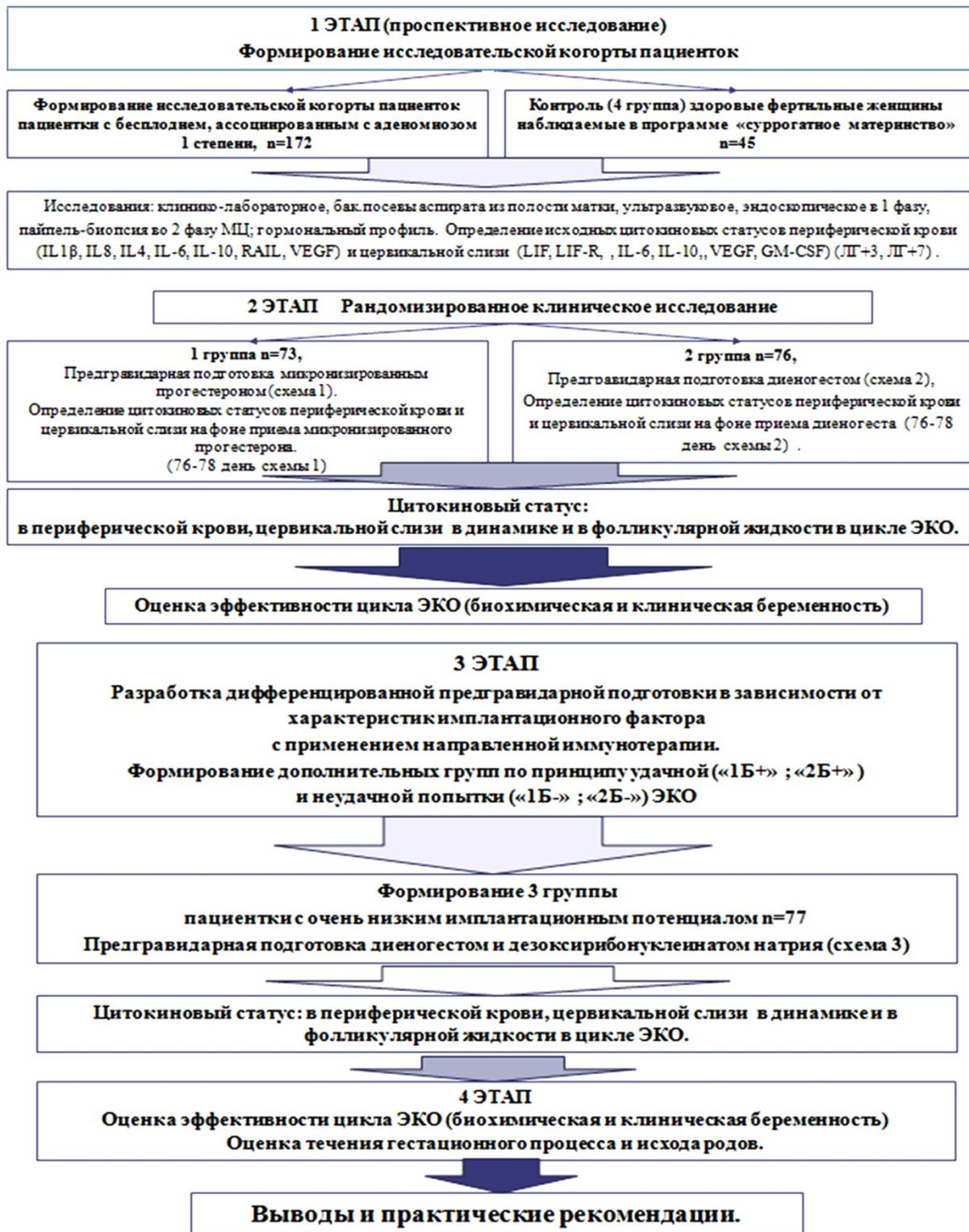


Рисунок 1 – Дизайн исследования

В качестве единого протокола ЭКО для всех женщин, включенных в исследование, применяли протокол суперовуляции с р-чФСГ. Стартовая доза препарата составила 150 МЕ. Триггером овуляции послужил р-ХГЧ. Для преинкубации, оплодотворения ооцитов и культивирования эмбрионов использовали среды для культивирования фирмы «Cook Group, Inc.» (США). Подсчет количества полученных ооцитов проводился по общепринятой шкале. Для оценки качества эмбрионов использовали классификацию J.W. Lens. Количество переносимых эм-

брионов не превышало двух. Посттрансферный период вели с применением микронизированного прогестерона, введение которого начинали через 24 часа после ТВП, средняя доза – 400 мг/сутки. Оценка эффективности ЭКО проводилась исследованием уровня ХГЧ через 12–14 дней от момента переноса эмбрионов (биохимическая беременность) и ультразвуковым подтверждением маточной беременности на 21-й–23-й день после переноса эмбрионов (клиническая беременность). Оценивались течение гестационного процесса и исход родов.

Клиническое и лабораторное обследования пациенток проводились согласно Приказу МЗ РФ от 30 августа 2012 г. № 107н. В ходе исследования пациенткам проводилось исследование гормонального статуса. Определялись АМГ, ФСГ, ЛГ, эстрадиол, прогестерон методом ИФА (100-02 Стероид ИФА-прогестерон № 100-03 Стероид ИФА-тестостерон № 100-04 ИФА-пролактин, № 100-05 Гонадотропин АМГ-ИФА, ИФА-ЛГ № 100-06 Гонадотропин ИФА-ФСГ, Estradiol ELISA KIT-2693 «Алкор Био», «DRG»).

Определение исходных цитокиновых статусов периферической крови проводилось (IL1 β , IL8, IL4, IL-6, IL-10, RAIL, VEGF) на 2-й–5-й день цикла и 21-й–23-й дни цикла. Для исследования рецептивности эндометрия определяли концентрацию LIF, LIF-R, GM-CSF, IL-6, IL-10, VEGF-A в цервикальной слизи (ЦС) в дни менструального цикла, определенные по мочевому тесту на овуляцию (ЛГ+3, ЛГ+7). На фоне ПГ (на 72-й–78-й день) и проведения протокола ЭКО+ПЭ (ХГЧ+3, ХГЧ +7) определяли концентрацию цитокинов IL1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, RAIL, GM-CSF периферической крови и LIF, LIF-R, GM-CSF, IL-6, IL-10, VEGF в ЦС. Концентрация цитокинов в сыворотке крови, ЦС и ФЖ определялись методом ИФА (ASCENT, Финляндия) с использованием панели моноклональных антител (ЗАО ВЕКТОР-БЕСТ, г. Ростов-на-Дону). Определение концентрации LIF и LIF-R, GM-CSF в образцах ЦС проводили методом ТИФА (ELISA) с использованием тест-систем фирмы Bender Medsystems (США).

Ультразвуковое исследование (УЗИ) проводили в динамике цикла в соответствии с трансвагинальной и трансабдоминальной (Donald, 1965) методиками с помощью аппарата «Toshiba Aplio 500». МРТ выполнялась на 7-й–8-й день менструального цикла магнитно-резонансным томографом «Brivo MR 355»; напряженность поля сверхпроводящего магнита составляла 1,5 Т.

Для выполнении гистероскопии (7-й–8-й день цикла) использовался диагностический гистероскоп фирмы «Karl Storz» по Bettocchi (В.И.О.Н). Аспират из полости матки забирался во время проведения гистероскопии. Посев аспирата выполняли на наборе стандартных питательных сред Acumedia Manufacturers, Inc., (США); идентификацию выделенных микроорганизмов проводили с помощью бактериологического анализатора «Vitek». Пайпель-биопсия проводилась на 19-й–23-й день менструального цикла с помощью устройства для внутриматочной биопсии УВБ – «Вектор» с морфологическим исследованием биоптатов функционального слоя эндометрия с гистологическим датированием и оценкой процента клеток поверхностного эпителия с наличием зрелых пиноподий с помощью светового микроскопа при увеличении 400 в 5 полях зрения.

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием пакета анализа Microsoft Excel 2000, программы «STATISTICA» 6,0. При построе-

нии бинарной логистической регрессионной модели использовался метод обратной селекции. Информационная значимость предлагаемых пороговых величин и оценка качества полученной модели проводились с помощью ROC-анализа.

Положения, выносимые на защиту

1. Снижение эффективности ЭКО при аденомиозе ранних степеней связано с ключевым влиянием иммуноориентированных нарушений в имплантационном факторе эндометрия. Это определяется дискоординацией созревания и отставанием секреторной трансформации эндометрия со снижением количества зрелых пиноподий в поверхностном эпителии менее 40 %, увеличением количества регрессирующих пиноподий до 20 %, что соотносится с увеличением провоспалительного индекса периферической крови и цервикальной слизи, достоверным снижением уровня LIF до и LIF-R в цервикальной слизи.

2. Степень выраженности снижения имплантационного потенциала эндометрия («низкий» и «очень низкий») играет решающую роль в выборе предгравидарной подготовки к ЭКО у пациенток с аденомиозом I степени.

3. Результативность ЭКО при «низком» имплантационном потенциале у пациенток с аденомиозом повышает ПГ диеногестом, при «очень низком» имплантационном потенциале ПГ – диеногестом в сочетании с дезоксирибонуклеатом натрия. Дифференцированная предгравидарная подготовка способствует снижению количества осложнений индуцированной беременности и увеличению количества срочных родов.

Степень достоверности и апробация работы

Научные положения диссертации обеспечены эмпирической базой, опирающейся на теоретический и практический материал, собранный автором. Достоверность результатов исследования подтверждена достаточным количеством клинического материала и использованием широкого спектра современных клиничко-лабораторных исследований. Статистическая обработка полученных данных выполнена автором с помощью современных статистических методов.

Материалы диссертационного исследования были представлены на IV Региональной научно-практической конференции «Сохранение репродуктивного здоровья женского населения. Амбулаторно-поликлиническая помощь. Роль эндокринной патологии в нарушении репродуктивного здоровья и течение беременности» (Краснодар, 2014); Региональной научно-практической конференция «Актуальные вопросы сохранения репродуктивного здоровья» (Краснодар, 2015); Региональной научно-практической конференции «Амбулаторная акушерско-гинекологическая помощь в сохранении репродуктивного здоровья» (Краснодар, 2016); Межрегиональной научно-практической конференции «Приоритетные задачи охраны репродуктивного здоровья и пути их решения» (Ростов-на-Дону, 2016); Межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы сохранения репродуктивного здоровья женского населения» (Краснодар, 2016); VI Общероссийском конгрессе «Ранние сроки беременности. Проблемы ВРТ», (Москва, 2017); XI Общероссийском научно-практическом семинаре «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» (Сочи, 2018); IV Общероссийской конференции с международным уча-

ствием «Перинатальная медицина: от прегравидарной подготовки к здоровому материнству и детству» (Санкт-Петербург, 2018); Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Акушерство и гинекология: от науки к практике. Актуальные вопросы в сохранении репродуктивного здоровья» (Краснодар, 2018). Результаты исследования были включены в региональный конкурс научных работ молодых ученых и студентов Юга России «Медицинская наука и здравоохранение, 2016 г.».

Полученные результаты внедрены в практику работы гинекологических отделений БАГК ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, в клинике репродукции «Эмбрио» г. Краснодара и используются в учебном процессе студентов, ординаторов, аспирантов на кафедрах акушерства, гинекологии и перинатологии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 11 научных работ, из них три – в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, трех глав собственных исследований, заключения, списка сокращений, приложений и списка литературы, который содержит 100 отечественных работ и 108 зарубежных. Работа изложена на 199 страницах машинописного текста. Диссертация иллюстрирована на 58 таблицами и 19 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Результаты исследования и их обсуждение

Все обследуемые пациентки находились в репродуктивном возрасте, который в среднем составил $31,2 \pm 2,8$ года. Анализ жалоб и анамнеза показал, что у больных с ранними стадиями аденомиоза наиболее часто встречаются статистически значимое укорочение менструального цикла и увеличение длительности менструального кровотечения с момента менархе ($25,7 \pm 3,2$ дня, контроль – $28,5 \pm 1,2$ дня, $6,4 \pm 1,2$ дня, контроль – $4,6 \pm 0,7$ дней, соответственно, $p < 0,05$); явления дисменореи легкой и средней степени тяжести (97 %), гиперменоррея (84,3 %) и кровомазание до и после менструации у 55,8 % пациенток ($p < 0,05$). Причем в большинстве случаев вышеуказанные жалобы предъявлялись пациентками только при нацеленном опросе.

Среди соматических заболеваний статистически значимые отличия от группы контроля наблюдались по увеличению частоты железодефицитных анемий (90,6 % пациенток), НЦД (59,3 % пациенток), патологии органов ЖКТ – 45,3 % пациенток ($p < 0,05$). В акушерском анамнезе достоверно чаще отмечены искусственные аборты ($p < 0,05$), замершая беременность и самопроизвольный выкидыш (9,3 % больных, $p < 0,05$). В гинекологическом анамнезе у пациенток основной группы преобладало статистически достоверное увеличение частоты хронического метроэндометрита и/или сальпингоофорита (50 % пациенток), дисбиозов и ИППП (70,9 % пациенток), нарушений менструального цикла (44,4 % пациенток). Однако отмечено, что основной ведущей клиникой воспалительного процесса у 70,9 % пациенток был болевой синдром, лечение проводилось «ex juvantibus».

Вполне возможно, что воспалительные заболевания у данных пациенток послужили пусковым механизмом развития аденомиоза, с другой стороны велика вероятность, что наблюдаемая ранее симптоматика, была манифестацией развития аденомиоза. Заслуживает внимание то, что у курируемых пациенток не обнаружено маркеров инфекционно-воспалительного процесса, в том числе по результатам гистологического и бактериологического исследования эндометрия, что позволяет ассоциировать неудачу ЭКО у данных пациенток с аденомиозом ранних степеней.

При исследовании гормонального профиля и овариального резерва у пациенток основной группы не было выявлено статистически значимых отличий от результатов группы контроля. Однако обращала на себя внимание относительная гиперэстрогения во второй фазе менструального цикла, определяемая отношением уровня эстрогенов к прогестерону ($24,1 \pm 3,2$ у.е. – основная группа, $17,6 \pm 1,2$ у.е. – контроль, $p < 0,05$).

Верификация диагноза «аденомиоз» проведена расширенными инструментальными исследованиями. По данным УЗИ у всех пациенток визуализировалась переходная зона более 5 мм, у 84,3 % больных определялись мелкокистозные и трубчатые структуры в миометрии и переходной зоне и неоднородность структуры границы «эндометрий-миометрий» – 82,6 % пациенток (рис. 2). У всех пациенток основной группы выявлен высокорезистентный кровоток в маточной артерии, статистически значимо ($p < 0,05$) отличающийся от значений пациенток группы контроля. Данные УЗИ подтверждались результатами МРТ, при этом у части больных, особенно с аденомиозом I степени, выявлялись дополнительные верификационные критерии патологического процесса, не визуализируемые при УЗИ.

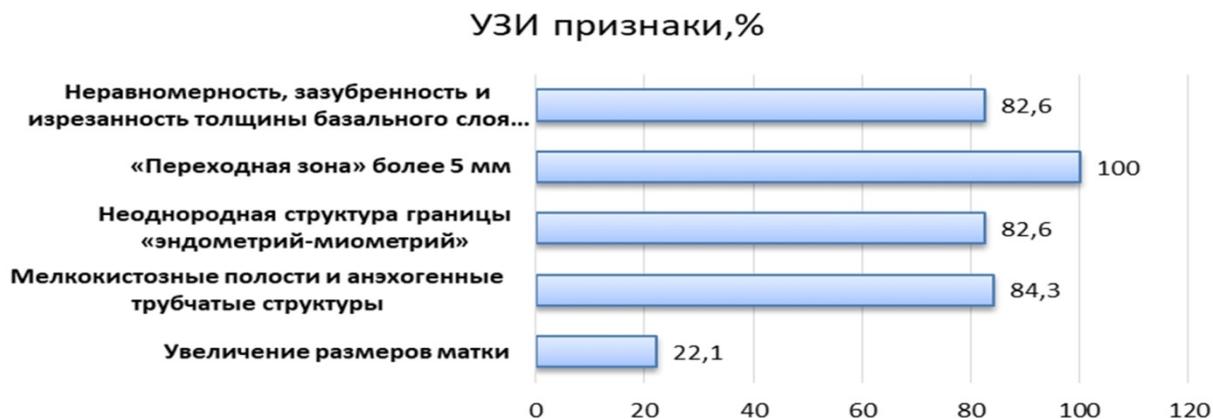


Рисунок 2 – Эхографические признаки аденомиоза в основной клинической группе

По результатам гистероскопии основным критерием, выявляемым у пациенток с аденомиозом I степени, были открытые, кровоточащие «глазки». У 3,5 % пациенток основной группы были выявлены гиперпластические процессы эндометрия (неатипическая гиперплазия или полип эндометрия.)

Резюмируя вышеизложенное, мы пришли к выводу, что у пациенток с бесплодием, тем более с неудачными попытками ЭКО в анамнезе, в обязательном порядке требуется исключение или подтверждение аденомиоза ранних степеней. Необходим тщательный сбор анамнеза и жалоб пациенток, применение расширенного протокола УЗИ с доплерометрией и МРТ органов малого таза. При наличии любой формы бесплодия следует обращать внимание на вышеуказанную

скудную симптоматику и расширять диагностический поиск, так как наши данные, приведенные ниже, свидетельствуют о том, что аденомиоз даже ранних степеней при проведении ВРТ может сказываться на его результативности.

По данным нашего исследования в фазу формирования имплантационного окна эндометрия только у 37,2 % пациенток были выявлены абсолютно зрелые пиноподии. У большинства наблюдалось отставание или преждевременное созревание пиноподий (76,5 %) с наличием в эндометрии в момент предполагаемого «окна имплантации» доминирующего числа клеток эпителия с регрессирующими пиноподиями (20,5 %), что подтверждает наличие сниженного рецептивного состояния эндометрия с дискоординацией созревания и отставанием секреторной трансформации эндометрия у пациенток с аденомиозом даже ранних степеней.

Появление пиноподий – гормоноопосредованный и строго контролируемый сигнальными молекулами процесс. Нами выявлено, что у пациенток с аденомиозом на фоне умеренно выраженного «дисгормоноза» изначально присутствует выраженное превалирование провоспалительного потенциала цитокинового профиля крови при дефиците противовоспалительной реакции. Так расчетная величина ПВИ ($IL1\beta/RAIL-1 \cdot 100$) позволила показать статистически значимые различия ($p < 0,001$) баланса про- и противовоспалительных цитокинов у пациенток с аденомиозом и группой контроля (1-я группа – $39,3 \pm 11,3$ у.е., 2-я группа – $36,5 \pm 10,3$ у.е., контроль – $16,9 \pm 3,92$ у.е.), проявления патологически избыточного ангиогенеза (VEGF в среднем $279 \pm 101,5$ пкг/мл против $49,8 \pm 13,2$ пкг/мл в контроле, $p < 0,001$), нарастающего в лютеиновую фазу менструального цикла, что отражается на репродуктивном потенциале и обеспечивает неудовлетворительную рецептивность эндометрия (рис. 3).

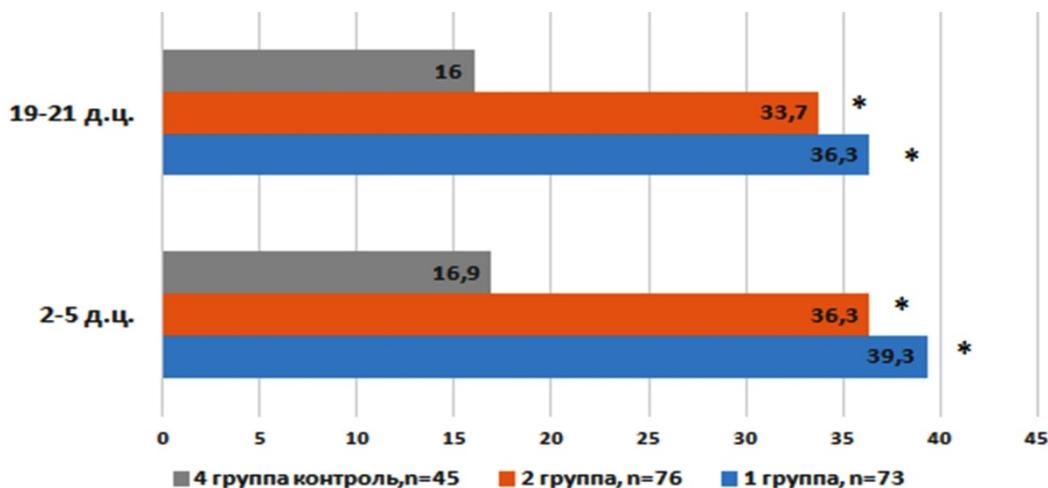


Рисунок 3 – Уровень ПВИ периферической крови в динамике естественного менструального цикла у пациенток с 1 степенью аденомиоза и пациенток контрольной группы: символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контроле, $p < 0,05$; символ «■» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей 1-й клинической группы, $p < 0,05$

При исследовании локального цитокинового баланса у пациенток с аденомиозом I степени выявлены выраженные дефекты рецептивности эндометрия. Концентрация LIF в ЦС у пациенток основной группы была статистически значимо ниже, чем в 4-й группе, как на 3-й так и 7-й дни после пика ЛГ ($4,21 \pm 1,6$ пг/мл

и $17,12 \pm 6,8$ пг/мл – 1-я группа, $4,3 \pm 1,6$ пг/мл и $17,6 \pm 7,1$ пг/мл – 2-я группа, против $10,5 \pm 2,2$ пг/мл и $33,4 \pm 8,5$ пг/мл в контроле, $p < 0,001$). Также достоверно была снижена и концентрация LIF-R ($83,38 \pm 14,41$ пг/мл и $138,8 \pm 36,9$ пг/мл; $84,3 \pm 14,8$ пг/мл и $138,2 \pm 38,22$ пг/мл против $104,4 \pm 12,4$ пг/мл и $218,8 \pm 15,7$ пг/мл в контроле, $p < 0,001$). Содержание GM-CSF в клинических группах было статистически значимо снижено относительно контроля ($3,7 \pm 1,6$ пг/мл и $3,8 \pm 1,5$ пг/мл, против $12,01 \pm 3,14$ пг/мл, $p < 0,001$). При этом наблюдался сдвиг цитокинового баланса ЦС в сторону активации провоспалительного звена, определяемый увеличением отношения IL6/IL10 (ПВИ1) ($62,3 \pm 13,2$ у.е. – основная группа, $14,3 \pm 3,8$ у.е. – контроль). При анализе содержания VEGF в ЦС у пациентов с аденомиозом I степени выявлено его статистически значимое увеличение ($p < 0,005$) по сравнению с группой контроля. Концентрация IL6 в основной клинической группе была статистически значимо увеличена по сравнению с группой контроля ($p < 0,001$) и коррелировала с достоверным повышением уровня VEGF, что подтверждает их непосредственную взаимосвязь в стимуляции локального ангиогенеза. Вероятно, избыточный уровень VEGF, опосредуя патологический ангиогенез в эндометрии и непосредственно участвуя в развитии локального оксидативного стресса и цитотоксических реакциях при аденомиозе ранних степеней, препятствует удовлетворительной имплантации даже вполне благополучного эмбриона. В целом полученные результаты свидетельствуют о наличии исходных дефектов имплантационного фактора эндометрия у пациенток с аденомиозом ранних степеней, которые способствуют снижению фертильности данных пациенток.

При анализе цитокинового баланса ФЖ у пациенток с аденомиозом мы не выявили существенных отличий показателей от группы контроля, $p > 0,01$. Также не отмечалось статистически достоверных различий цитокинового профиля у пациенток с неудачными и удачными попытками ЭКО, $p > 0,01$. Концентрация GM-CSF в ФЖ была сопоставима в обеих группах и не зависела от исхода программы, составив в среднем $146,6 \pm 12,7$ пг/мл в группах пациенток с аденомиозом и $146,3 \pm 11,2$ пг/мл в контроле, $p > 0,05$. Статистически достоверной разницы между группами по количеству полученных эмбрионов хорошего качества и эмбрионов, остановившихся в развитии до пятых суток культивирования обнаружено не было, $p > 0,01$. В совокупности с хорошими результатами фолликуло- и эмбриогенеза это подтверждает отсутствие эмбрионального фактора у пациенток с аденомиозом ранних степеней, обуславливающего неудачу ЭКО.

Принимая во внимание выявленную относительную гиперэстрогению во второй фазе менструального цикла, определяемую отношением уровня эстрогенов к прогестерону и, следовательно, целесообразность назначений гестагенов в ходе ПГ у данных пациенток, нами была проведена ПГ к циклу ЭКО различными прогестагенами. Сравнительный анализ показал, что после проведения различной ПГ, у пациенток 1-й группы наблюдается некоторая положительная динамика как уровня цитокинов крови, так и параметров имплантационного потенциала эндометрия. Так уровень провоспалительных цитокинов (IL1 β , IL8, IL6) статистически высоко значимо снижался относительно исходных параметров ($125,6 \pm 17,9$ пг/мл, $48,8 \pm 5,9$ пг/мл, $69,4 \pm 17,0$ пг/мл, соответственно, против $175,3 \pm 48,2$ пг/мл, $64,3 \pm 15,0$ пг/мл, $99,5 \pm 25,2$ пг/мл – исходно, $p < 0,005$), однако не достигал группы контроля, $p < 0,005$. После проведения ПГ диеногестом (2-я группа) в имплан-

тационном потенциале эндометрия отмечались существенно более позитивные изменения по сравнению с аналогичными показателями при применении схемы 1. Изменения уровня провоспалительных интерлейкинов у пациенток 2-й группы составили высокосignификантную статистическую разницу ($p < 0,005$) при сравнении с аналогичными параметрами у пациенток 1-й группы. Наиболее показательна данную динамику отражает ПВИ, который на фоне применения диеногеста снизился до $20,1 \pm 5,1$ у.е., что составило статистически высокосignификантную разницу сравнительно с исходными показателями и выраженную, высокостатистически значимую межгрупповую разницу, $p < 0,005$. Однако уровень ПВИ периферической крови группы контроля не был достигнут (контроль – $16,0 \pm 3,4$ у.е.). При проведении ПГ диеногестом выявлен статистически значимый от исходного прирост уровня LIF и LIF-R на 3-й и 7-й день после пика ЛГ ($p < 0,005$). Однако, несмотря на проведенную ПГ средние показатели LIF и LIF-R по группам 1 и 2 были достоверно значимо ниже показателей группы контроля ($p < 0,005$).

При сравнительном анализе эффективности ЭКО у пациенток 1-й и 2-й групп с группой контроля мы выявили, что частота наступления биохимической беременности в 1-й группе была минимальна и составила 28,7 % от переноса, во 2-й группе частота наступления биохимической беременности была статистически значимо выше и составила 31,5 %, однако по сравнению с группой контроля данный показатель был статистически значимо снижен (55,5 %), $p < 0,05$. Такие же тенденции отмечены и в частоте наступления клинической беременности (1-я группа – 23,2 % пациенток, 2-я группа – 29,8 %, контроль – 44,4 %). При этом, при сравнении с данными отчета РАРЧ за 2015 год (37,6 % из расчета на перенос), частота наступления клинической беременности у наших пациенток была статистически значимо меньше как в 1-й, так и во 2-й клинических группах.

Вышесказанное позволило сделать вывод, о том, что в условиях измененного цитокинового баланса и снижения имплантационного потенциала эндометрия при аденомиозе I степени диеногест является потенциальным препаратом выбора. Диеногест помимо ингибирующего воздействия на пролиферацию эктопической ткани эндометрия осуществляет иммуотропные эффекты, снижая уровень провоспалительных интерлейкинов центрального звена, уменьшает патологический неоангиогенез и опосредованно улучшает рецепторную активность эндометрия, что обеспечивает его клиническую эффективность. Однако, по нашим данным, ПГ диеногестом не всегда нормализовала исследуемые показатели в условиях аденомиоза и у определенного количества пациенток не привела к положительному результату ЭКО. Это предполагает, что в ряде случаев иммуотропных эффектов диеногеста недостаточно для полноценной коррекции нарушенного цитокинового баланса и имплантационного потенциала эндометрия. По данной причине мы проанализировали цитокиновый статус периферической крови, параметры имплантационного фактора эндометрия и их динамику на фоне ПГ с позиции с удачной или неудачной попытки ЭКО. Пациентки с положительным результатом ЭКО были объединены в группу 2Б+, с отрицательным – в группу 2Б-.

При анализе уровня провоспалительных цитокинов периферической крови выявлено, что в 2Б+ группе исходно уровень IL1 β , IL8, IL6 был достоверно ниже, чем аналогичные показатели в 2Б- группе, $p < 0,005$. При проведении предгравидарной подготовки диеногестом, уровень всех цитокинов провоспалительного пу-

ла статистически значимо снижался, причем практически равнозначно по модулю, но при этом из-за гораздо более высоких исходных значений уровней в 2Б- группе не достигал параметров группы контроля, статистически высоко значимо отличаясь от них, $p < 0,005$

Уровень противовоспалительных цитокинов в 2Б- группе хоть и статистически значимо отличался от 2Б+, но при этом разница в абсолютных значениях параметром не была столь высока, как при подсчете уровня провоспалительных цитокинов. При этом отмечалось равнозначное по модулю снижение их уровней на фоне ПГ диеногестом. Наиболее объективно этот диссонанс демонстрирует ПВИ, который исходно составил $31,2 \pm 3,3$ у.е. у пациенток 2Б+ группы и $46,5 \pm 14,1$ у.е. в 2Б-, $p < 0,005$. На фоне ПГ ПВИ в 2Б+ группе снизился до $19,2 \pm 4,1$ у.е., против $30,2 \pm 9,4$ у.е. в 2Б- группе, что составило статистически значимую межгрупповую разницу, $p < 0,005$ (рис. 4).

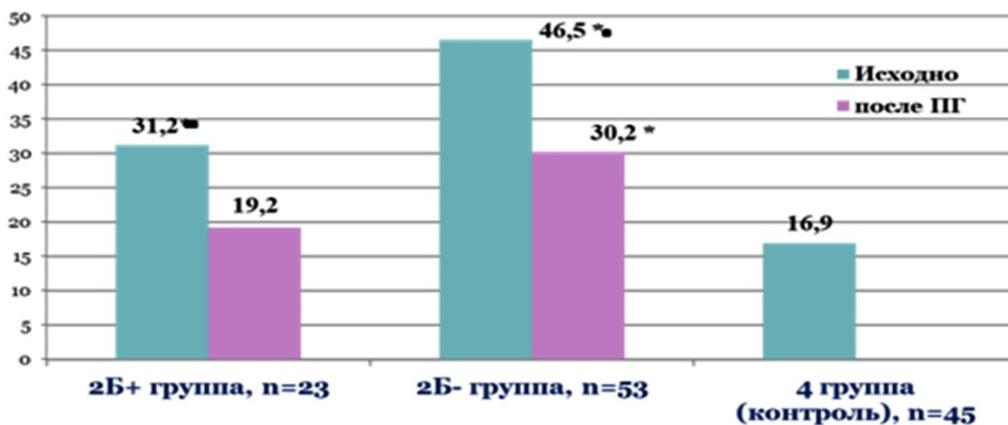


Рисунок 4 – Динамика ПВИ в сыворотке периферической крови в зависимости от вида предгравидарной подготовки у пациенток с аденомиозом:

символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в группе контроля, $p < 0,005$;

символ «■» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в группе 2Б-, $p < 0,005$

При анализе показателей, определяющих имплантационный потенциал эндометрия, отмечались те же тенденции. В 2Б- группе: исходный уровень LIF и LIF-R был значительно снижен по сравнению с 2Б+ группой ($p < 0,005$), прирост показателей в динамике по модулю был сходным, однако в 2Б- группе не достиг уровня контроля. ПВИ1 свидетельствовал о патологическом преобладании провоспалительных цитокинов на местном уровне у пациенток с неудачной попыткой ЭКО (2Б- группа), $p < 0,005$. Таким образом, статистический анализ позволил установить, что у части пациенток с аденомиозом наблюдаются более выраженные иммунные дисфункции на системном уровне, сопровождающиеся максимальным снижением имплантационного потенциала эндометрия, который мы определили как «очень низкий». С помощью графического анализа категоризованных гистограмм были выделены три показателя: LIF, ПВИ, ПВИ-1 с малой дисперсией и незначительным перекрытием значений для успешной и неудачной попытки ЭКО. Используя метод логистической регрессии и ROC-анализа, мы получили для суммы трех показателей площадь под кривой ROC-анализа са-

мое наибольшее значение, что указывает на хорошие прогностические возможности модели, характеризующей «низкий» и «очень низкий» потенциал эндометрия. В итоге данные показатели могут быть трактованы как «низкий» имплантационный потенциал при оптимальном пороге: для LIF < 24,5 пг/мл (чувствительность 77,5 % и специфичность – 76,8 %), для ПВИ > 28,7 у.е. (чувствительность 76,5 % и специфичность – 78,5 %) и для ПВИ1 > 35,7 у.е., (чувствительность – 72,5 % и специфичность – 77,8 %). «Очень низкий» имплантационный потенциал эндометрия характеризуется оптимальным порогом: для LIF < 18,2 пг/мл (чувствительность 87,5 % и специфичность – 75,9 %), для ПВИ > 45,7 у.е. (чувствительность 82,5 % и специфичность – 79,5 %) и для ПВИ1 > 49,1 у.е., (чувствительность 72,5 % и специфичность – 77,8 %). Для пациенток с «низким» имплантационным потенциалом иммуотропных эффектов диеногеста достаточно, и включение диеногеста в программу предгравидарной подготовки существенно повышает эффективность ЭКО при аденомиозе ранних степеней. Пациентки с аденомиозом I степени при выявлении «очень низкого» имплантационного потенциала эндометрия имеют малую прогностическую вероятность беременности в связи с его критическим снижением, которое даже на фоне ПГ диеногестом не восстанавливается в контрольных значениях и, следовательно, требует включения в комплекс ПГ дополнительной иммуотропной терапии.

В нашем исследовании в качестве иммунокорректора был выбран дезоксирибонуклеинат натрия, механизм действия которого связан с корректирующим влиянием практически на все звенья иммунной системы. Препарат проявляет свойства индуктора цитокинов с избирательным регуляторным эффектом по отношению к ранним гемопоэтическим цитокинам (IL-3 и GM-CSF), а также стимулятора продукции цитокинов, вырабатываемых преимущественно Th1-клетками (IFN γ), т.е. способствует развитию клеточного иммунного ответа (Серебряная Н.Б., 2010). Имеются работы, доказывающие, что при применении дезоксирибонуклеината натрия происходят изменения цитотоксической активности натуральных киллерных клеток, нормализуется баланс цитокинов IL-6/IL-10 в сыворотке крови (Русинова Т.В. и др., 2016), что не может опосредованно не влиять на качество имплантационного фактора эндометрия. Также доказано отсутствие мутагенного, тератогенного, эмбриотоксического дезоксирибонуклеината натрия. Препарат разрешен к применению даже во время беременности и является одним из лекарственных средств, применяемых при эндометриозе (РЛС, 2017). Поэтому мы предположили, что сочетание дезоксирибонуклеината натрия с диеногестом позволит взаимопотенцировать влияние на имеющийся у пациенток с аденомиозом и бесплодием цитокинозависимо сниженный имплантационный потенциал эндометрия.

На фоне проведения ПГ дезоксирибонуклеинатом натрия и диеногестом (схема 3) у пациенток с «очень низким» имплантационным потенциалом (3-я группа) при исследовании параметров противовоспалительного пула (IL4, IL10 и RAIL) обнаружены статистически значимые различия по сравнению с исходными показателями IL4 – $21,5 \pm 3,5$ пг/мл, IL10 – $24,5 \pm 3,1$ пг/мл и RAIL – $397,2 \pm 26,7$ пг/мл против $28,6 \pm 2,4$ пг/мл, $27,2 \pm 3,5$ пг/мл и $420,3 \pm 44,1$ пг/мл, соответственно, исходно, $p < 0,05$. Причем уровень провоспалительных интерлейкинов после ком-

плексной ПГ практически соответствовал группе контроля, $p > 0,01$. На фоне комплексной ПГ с использованием направленной специфической иммунотерапии у пациенток 3-й группы мы выявили статистически высоко значимое уменьшение уровня провоспалительных интерлейкинов и менее выраженное уровня противовоспалительных по сравнению с группой 2Б-, $p < 0,05$. Те же самые тенденции наглядно демонстрировал провоспалительный индекс. В 3-й группе ПВИ снизился до $16,4 \pm 3,6$ у.е., в 2Б-группе – до $30,2 \pm 9,7$ у.е., что составило статистически высокозначимую разницу сравнительно с исходными показателями обеих групп и высокостатистически значимую межгрупповую разницу, $p < 0,005$. Причем показатели ПВИ в 3-й группе достигли уровня контроля ($16,4 \pm 4,0$ у.е.) (рис. 5).

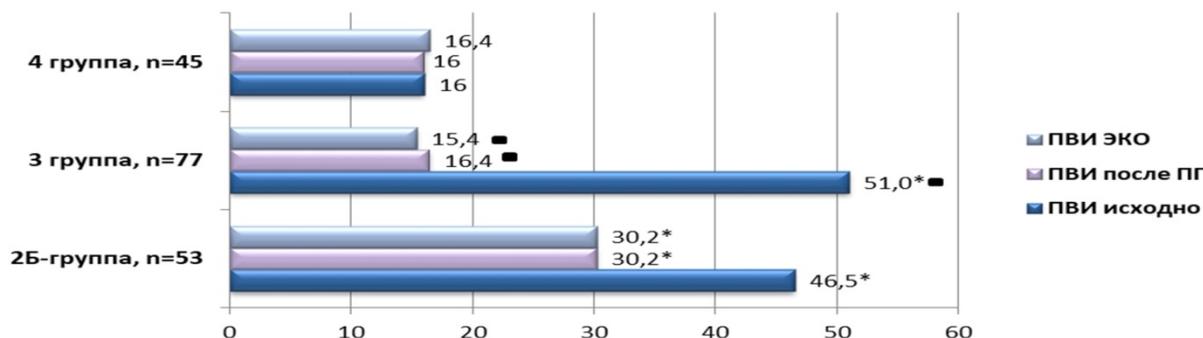


Рисунок 5 – Динамика ПВИ в сыворотке периферической крови в зависимости от вида предгравидарной подготовки у пациенток с аденомиозом:

символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей группе контроля, $p < 0,005$; где символ «■» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в 2Б- группе, $p < 0,005$

Сравнительная оценка динамики изменения концентрации LIF и LIF-R в цервикальной слизи в зависимости от используемой схемы ПГ выявила статистически высоко значимые различия показателя в клинических группах. Так, уровень LIF на ЛГ+3 у пациенток 3-й группы увеличился до $9,8 \pm 2,1$ пг/мл, на ЛГ+7 – до $34,1 \pm 8,5$ пг/мл, что на высоком уровне статистической значимости отличалось от исходных параметров ($p < 0,005$) и практически соответствовало показателям группы контроля ($10,5 \pm 2,2$ пг/мл – ЛГ+3; $34,3 \pm 8,5$ пг/мл – ЛГ+7).

Соотношение интерлейкинов в ЦС, изменяясь за счет более выраженного статистически значимого снижения экспрессии цитокинов провоспалительного звена, максимально приблизилось к группе контроля – ПВИ1 (3-я группа – $48,9 \pm 18,8$ исходно, $16,2 \pm 4,1$ после ПГ; «2Б-» группа – $45,3 \pm 17,6$ исходно, $29,1 \pm 9,6$ после ПГ, против $14,4 \pm 2,5$ в контроле) (рис. 6).

Из этого следует, что на фоне ПГ диеногестом в сочетании с дезоксирибонуклеином натрия у пациенток с «очень низким» имплантационным потенциалом на фоне снижения уровня провоспалительных цитокинов нормализуется ПВИ периферической крови и практически до параметров контрольной группы восстанавливаются показатели местного иммунитета, определяющие иммунологический надзор за имплантацией. Очевидно, что воздействие диеногеста связано с индукцией состояния псевдодецидуализации с последующей блокадой пролиферации в очагах эндометриоза, а также с нормализацией активности естественных клеток-киллеров и макрофагов и опосредованным снижением уровня провоспалительных цитокинов. Однако при выраженных иммунологических дисфункциях на

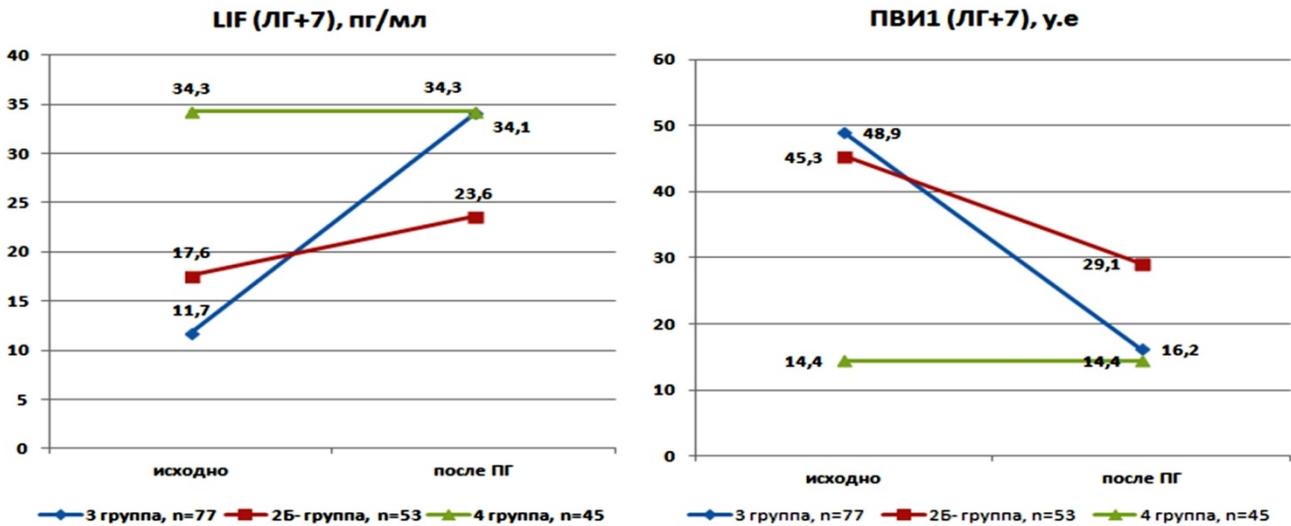


Рисунок 6 – Концентрации ЛIF и параметры ПВИ1 у пациенток с очень низким рецептивным потенциалом в зависимости от вида предгравидарной подготовки

местном иммуностропного эффекта диеногеста недостаточно. Синергизм дезоксирибонуклеината натрия и диеногеста, вероятно обуславливается параллельным воздействием на баланс субпопуляций Th1/Th2-хелперных Т-лимфоцитов, приводя его к состоянию физиологической нормы «окна» имплантации, что в свою очередь запускает каскад адекватных цитокиновых влияний, благоприятствуя развитию физиологически адекватной локальной иммунологической толерантности во время имплантации.

Сравнительный анализ результативности ЭКО показал, что частота наступления биохимической беременности была статистически значимо ниже в 1-й группе (28,7 %), по сравнению с группой контроля (46,6 %), $p < 0,01$. Во 2-й группе биохимическая беременность состоялась у 32,8 % женщин, что составило статистически значимую положительную разницу с 1-й группой (28,7 % пациенток), при этом относительно группы контроля показатель наступления биохимической беременности был статистически значимо ниже, $p < 0,01$. Такая же тенденция прослеживалась и при наступлении клинической беременности. При анализе течения гестационного процесса и исхода родов выявлено, что в группе контроля беременность завершилась срочными родами у 44,4 % пациенток, в том числе одна двойня. Преждевременных родов и выкидышей в контрольной группе не было, частота живорождения составила 46,6 %. В 1-й группе частота потерь беременности в ранних сроках составила 17,6 %. У 23,5 % пациенток состоялись преждевременные роды в сроке 34–35 недель, у 5,8 % пациенток ранние преждевременные роды на сроке 32 (двойня). Роды в срок составили 12,3 % пациенток (одна двойня). Всего в 1-й группе родилось 14 (19,1 %) детей. Во 2-й группе беременность завершилась родами у 20 (26,3 %) пациенток, роды в срок составили 21,1 %, преждевременные роды – 17,3 %, в том числе двойней на сроке 34 недели, в итоге родился 21 ребенок (27,6 %). Потери беременности ранних сроков составили 12,9 % (рис. 7).

Наиболее позитивные результаты показали пациентки 3-й группы. Частота наступления клинической беременности у них составила 36,6 %, частота живорождения – 36,6 %. Отмечена одна (3,5 %) замершая беременность на сроке 12 недель, преждевременных родов в данной группе не было (рис. 8).

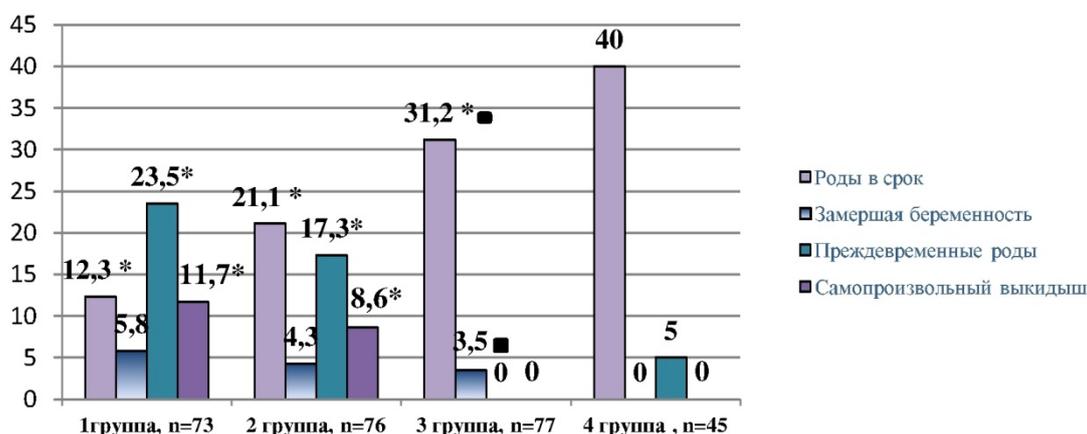


Рисунок 7 – Сравнительная характеристика исходов гестации у пациенток с аденомиозом в цикле ЭКО, %:

символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в группе контроля, $p < 0,005$; символ «■» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей во 2-й группе, $p < 0,005$

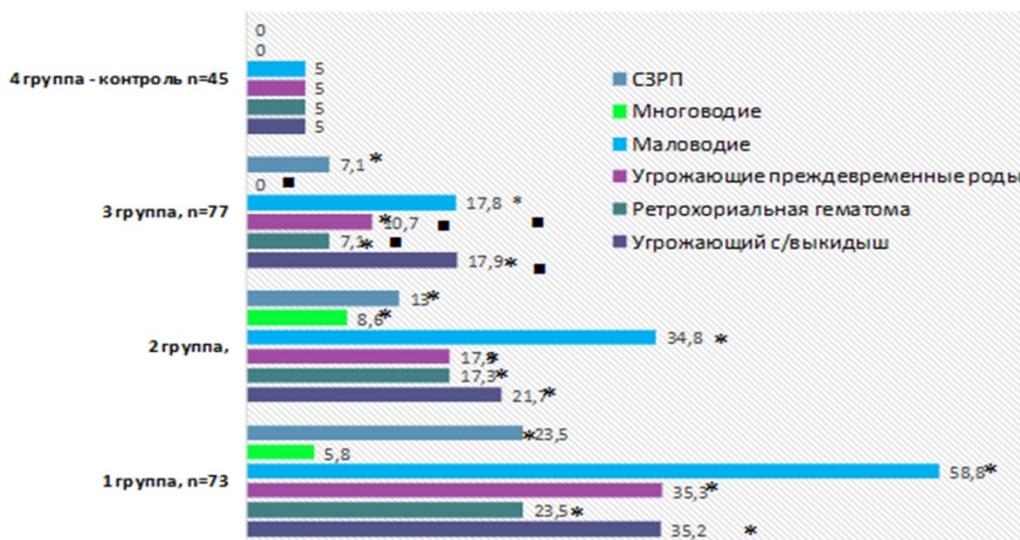


Рисунок 8 – Сравнительная характеристика течения беременности у пациенток с аденомиозом в цикле ЭКО:

символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в группе контроля, $p < 0,005$; символ «■» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей во 2-й группе, $p < 0,005$

Течение беременности у пациенток после ЭКО характеризуется высокой частотой развития акушерской патологии и невынашивания беременности, что может нивелировать успех репродуктивных технологий. У пациенток 2-й группы процент осложнений беременности был достоверно ниже ($p < 0,005$), чем в 1-й группе, но не достигал показателей группы контроля. Наиболее часто беременность у них осложнялась плацентарной недостаточностью (34,8 % против 5 % в группе контроля) с развитием СЗРП в 13,0 % случаев (рис. 8).

При применении сочетанной ПГ (3-я группа) – гестационный процесс протекал с минимальным количеством осложнений и максимально приблизился к показателям группы контроля. Так угрожающий самопроизвольный выкидыш у них

регистровался в 17,9 % случаев, угрожающие преждевременные роды – в 10,7 %, плацентарная недостаточность – в 17,8 %, СЗРП – в 7,1 % случаев (рис. 8). Следовательно, на фоне ПГ (3-я группа – «очень низкий» имплантационный потенциал эндометрия) с применением диеногеста и специфической иммуномодуляции дезоксирибонуклеинатом натрия отмечались наиболее высокие, максимально приближающиеся к показателям группы контроля (4-я группа) и среднестатистическим показателям отчета РАРЧ частота зачатия и живорождения, при этом выявлено минимальное (для пациенток с аденомиозом и ЭКО) количество осложнений беременности.

Таким образом, у пациенток с аденомиозом ранних степеней с «низким» имплантационным потенциалом изолированное применение диеногеста в качестве препарата для предгравидарной подготовки позволило улучшить результативность методов ЭКО. У пациенток с «очень низким» имплантационным потенциалом к улучшению результативности ЭКО привела лишь патогенетически обоснованная комплексная предгравидарная подготовка диеногестом с применением в качестве иммунокорректора дезоксирибонуклеата натрия.

ВЫВОДЫ

1. Аденомиоз I степени достоверно значимо снижает эффективность ЭКО: $\chi^2 = 0,0038$ – для биохимической беременности, $\chi^2 = 0,0161$ – для клинической беременности. Недооценка клинической симптоматики и несовершенство протоколов инструментальной диагностики при подготовке к циклам ЭКО не позволяют своевременно выявлять данную патологию и соответственно проводить адекватную предгравидарную подготовку.

2. Эмбриональный фактор у пациенток с аденомиозом ранних степеней в репродуктивном возрасте не изменен, что подтверждается отсутствием статистически значимых различий с группой контроля по общему количеству полученных и аспирированных фолликулов ($p > 0,1$), среднему числу полученных эмбрионов ($p > 0,1$) и доли эмбрионов хорошего качества ($p > 0,1$).

3. При аденомиозе ранних степеней наблюдается дисбаланс цитокинового профиля периферической крови, определяемый увеличением провоспалительного индекса в два раза, $p < 0,05$.

4. При аденомиозе ранних степеней снижен имплантационный фактор эндометрия, что определяется дискоординацией созревания и отставанием секреторной трансформации эндометрия со снижением количества зрелых пиноподий в поверхностном эпителии менее 40 %, увеличением количества регрессирующих пиноподий до 20 %. Это соотносится с достоверным снижением уровня LIF до и LIF-R и возрастанием провоспалительного индекса в цервикальной слизи в четыре раза, $p < 0,05$.

5. Разработанная на основе регрессионного логистического анализа математическая модель оценки имплантационного фактора позволяет выделить «низкий» и «очень низкий» имплантационный потенциал эндометрия. «Низкий» потенциал характеризуется оптимальным порогом значений: для LIF $< 24,5$ пг/мл (чувствительность 77,5 % и специфичность – 76,8 %), для ПВИ $> 28,7$ у.е. (чувствительность 76,5 % и специфичность – 78,5 %) и для ПВИ1 $> 35,7$ у.е. (чувствительность – 72,5 % и специфичность – 77,8 %). Суммарный оптимальный порог для данных показателей – 88,9 у.е., с чувствительностью и специфичностью мето-

да суммарного определения 82,4 % и 83,6 % соответственно. «Очень низкий» имплантационный потенциал эндометрия характеризуется оптимальным порогом значений: для LIF < 18,2 пг/мл (чувствительность 87,5 % и специфичность – 75,9 %), для ПВИ > 45,7 у.е. (чувствительность 82,5 % и специфичность – 79,5 %) и для ПВИ1 > 49,1 у.е. (чувствительность 72,5 % и специфичность – 77,8 %). Суммарный оптимальный порог для данных показателей – 113,2 у.е., с чувствительностью и специфичностью метода суммарного определения 85,2 % и 84,4 % соответственно.

6. При «низком» имплантационном потенциале у пациенток с аденомиозом предгравидарная подготовка диеногестом нивелирует дефекты имплантационного потенциала и повышает результативность ЭКО (χ^2 , $p = 0,021$).

7. При «очень низком» имплантационном потенциале эндометрия иммунотропных эффектов диеногеста недостаточно для купирования иммунологических дисфункций, приводящих к выраженному его снижению, тогда как предгравидарная подготовка диеногестом в сочетании с дезоксирибонуклеатом натрия повышает результативность ЭКО (χ^2 , $p = 0,435$) у данных пациенток.

8. Дифференцированная предгравидарная подготовка с учетом оценки степени снижения имплантационного потенциала у пациенток в аденомиозом увеличивает количество срочных родов (χ^2 , $p = 0,805$) и уменьшает количество осложнений беременности, (χ^2 , $p = 0,712$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У пациенток, идущих в протокол ЭКО в целях полноценной диагностики аденомиоза ранних степеней, необходимо внести в протокол обследования УЗИ с измерением «переходной зоны» и доплерометрией в бассейне маточной артерии. При толщине переходной зоны более 5 мм и наличии высокорезистентного кровотока в маточной артерии дополнительно проводить МРТ органов малого таза для выявления МРТ критериев аденомиоза ранних степеней.

2. Для выбора адекватной предгравидарной подготовки к циклу ЭКО у пациенток с аденомиозом ранних степеней при подготовке к циклу ЭКО необходимо оценить уровень снижения имплантационного потенциала. Для этого в день предполагаемого «окна» nidации (ЛГ+7) целесообразно определять показатели цитокинового баланса периферической крови IL1 β и RAIL и рассчитывать ПВИ = IL1 β /RAIL*100, в цервикальной слизи – определять параметры, отражающие состояние имплантационного потенциала эндометрия, – LIF, IL6, IL10 и рассчитывать ПВИ1 (цервикальная слизь)

3. При LIF < 24,5 пг/мл, ПВИ > 28,7 у.е. и ПВИ1 > 35,7 у.е., с суммарным порогом для данных показателей > 88,9 у.е., потенциал оценивается как «низкий» и для предгравидарной подготовки назначается диеногест 2 мг в сутки в течение трех месяцев.

4. При LIF < 18,2 пг/мл ПВИ > 45,7 у.е. и для ПВИ1 > 49,1 у.е., с суммарным оптимальным порогом > 113,2 у.е. потенциал оценивается как «очень низкий» и в целях предгравидарной подготовки назначается прием диеногеста в дозе 2 мг в сутки в течение трех месяцев и внутримышечное введение дезоксирибонуклеата натрия в дозе 75 мг (5 мл 1,5 % раствора) с интервалом введения 48 часов, 5 инъекций на курс, во второй фазе цикла, предшествующего фертильному с ЛГ+3.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

Публикации в журналах, включенных в перечень изданий, рекомендованных ВАК РФ:

1. Взаимосвязь цитокинового профиля фолликулярной жидкости и гормонального статуса у пациенток с аденомиозом при неудачных попытках ЭКО / Е.И. Кравцова, И.И. Куценко, **В.А. Авакимян**, Н.Р. Данилова, Е.В. Колесникова // Симпозиум по первичным иммунодефицитам «J Project» : тематический выпуск, приуроченный к 1-му Калининградскому научному иммунологическому форуму (27–30 июня 2016 г.), объединяющему XIII конференцию иммунологов Урала. – 2016. – № 2. – С. 294–296.

2. Гормоноопосредованная цитокиновая регуляция имплантационного потенциала эндометрия у пациенток с аденомиозом и неудачными попытками ЭКО / И.И. Куценко, Е.И. Кравцова, **В.А. Авакимян**, О.В. Томина, П.Г. Сторожук // Кубанский научный медицинский вестник. – 2017. – № 4. – С. 91–95.

3. Применение иммунокоррекции в комплексной предгравидарной подготовке к ЭКО у пациенток с аденомиозом 1–2 степени / И.И. Куценко, **В.А. Авакимян**, Е.И. Кравцова, О.В. Томина // Медицинский вестник Юга России. – 2017. – № 8. – С. 61–67.

Публикации в журналах, сборниках, материалах конференций и тезисы докладов:

4. Аденомиоз: неудачи ЭКО. Влияние иммунных дисфункций / И.И. Куценко, А.Е. Хорольская, О.В. Томина, **В.А. Авакимян**; ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России, кафедра акушерства, гинекологии и перинатологии // Материалы XIV Всероссийского научного форума «Мать и дитя» (24–27 сентября 2013 г.).

5. Причины неудач ЭКО у больных аденомиозом / И.И. Куценко, А.Е. Хорольская, О.В. Томина, **В.А. Авакимян** // Вестник РУДН, серия Медицина. – 2013. – № 5.

6. Куценко И.И. Анализ факторов влияющих на неудачные попытки экстракорпорального оплодотворения у больных аденомиозом / И.И. Куценко, И.И. Кравцов, **В.А. Авакимян**; ГБОУ ВПО КубГМУ, кафедра акушерства и гинекологии // Материалы XVI Всероссийского научного форума «Мать и дитя» (22–25 сентября 2015 г.).

7. Куценко И.И. Изменения интерлейкинового статуса в маточных смывах женщин с аденомиозом и неудачными попытками экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) / И.И. Куценко, И.И. Кравцов, **В.А. Авакимян**; ГБОУ ВПО КубГМУ, кафедра акушерства и гинекологии // Материалы XVI Всероссийского научного форума «Мать и Дитя» (22–25 сентября 2015 г.)

8. Куценко И.И. Влияние аденомиоза на эффективность программ экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) / И.И. Куценко, **В.А. Авакимян**; ГБОУ ВПО КубГМУ, кафедра акушерства и гинекологии // Материалы XIV научно-практической конференции молодых ученых и студентов Юга России, 2016.

9. Состояние локальных регуляторных факторов у пациенток с аденомиозом и неудачными попытками экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) / И.И. Куценко, О.А. Рудеева, Е.И. Кравцова, **В.А. Авакимян**; ГБОУ ВПО КубГМУ, кафедра акушерства и гинекологии и перинатологии // Материалы IX Регионального научно-образовательного форума «Мать и Дитя» и Пленума Правления РОАГ, 2016.

10. Особенности артериального кровотока в матке у пациенток с начальными стадиями аденомиоза / Е.И.Кравцова, **В.А. Авакимян**, А.Н. Симовоник, О.А. Рудеева // Материалы конгресса «XI Международный конгресс по репродуктивной медицине». – М., 2017. – С. 41–43.

11. Комплексная предгравидарная подготовка у пациенток с аденомиозом и неудачными попытками ЭКО / И.И. Куценко, **В.А. Авакимян**, Е.И. Кравцова, И.А. Потапова; ФГБОУ ВО КубГМУ, кафедра акушерства, гинекологии и перинатологии // Материалы X Юбилейного регионального научно-образовательного форума «Мать и Дитя» (28–30 июня 2017 г.).

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АМГ	– антимюллеров гормона
aГнРГ	– агонисты гонадотропин-рилизинг-гормона
ВОЗ	– всемирная организация здравоохранения
ВРТ	– вспомогательные репродуктивные технологии
ВСД	– вегето-сосудистая дистония
ДК	– дендритные клетки
ЖДА	– железодефицитная анемия
ЖКТ	– желудочно-кишечный тракт
ИМТ	– индекс массы тела
ЛГ	– лютеинизирующий гормон
МРТ	– магниторезонансная томография
МЦ	– менструальный цикл
НГЭ	– наружный генитальный эндометриоз
НПВС	– нестероидные противовоспалительные средства
ОТ-ПЦР	– полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией
ПВИ	– провоспалительный индекс периферической крови
ПВИ1	– провоспалительный индекс цервикальной слизи
ПВИф	– провоспалительный индекс цервикальной слизи
ПМЯЛ	– полиморфно-ядерные лейкоциты
р-чФСГ	– рекомбинантный фолликулостимулирующий гормон человека
ТВПТ	– трансвагинальная пункция
ТВУЗИ	– трансвагинальное ультразвуковое исследование
ТФР-β1	– трансформирующий фактор роста β 1
УЗИ	– ультразвуковое исследование
ФЖ	– фолликулярная жидкость
ФСГ	– фолликулостимулирующий гормон
ХГЧ	– хорионический гонадотропин
ЦДК	– цветное доплеровское картирование
ЦС	– цервикальная слизь
ЭКО	– экстракорпоральное оплодотворение
EGF	– эпидермальный фактор роста
ER	– эстрогеновые рецепторы
GM-CSF	– гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
ICAM-1	– Intercellular adhesion molecule-1 – молекула межклеточной адгезии-1
IL	– интерлейкин
LIF	– лейкемия-ингибирующий фактор
MMP	– матриксные металлопротеиназамы
NK	– естественные киллерные клетки
PGF	– плацентарный фактор роста
PR	– прогестероновые рецепторы
RAIL	– рецепторный антагонист интерлейкина 1
TIMP	– тканевые ингибиторы матриксных металлопротеиназ
Th1	– Т-хелперы 1
Th2	– Т-хелперы 2
VEGF	– сосудисто-эндотелиальный фактор роста

АВАКИМЯН Вероника Артемовна

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук