

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

АВАКИМЯН ВЕРОНИКА АРТЕМОВНА

**Повышение эффективности программы экстракорпорального
оплодотворения у пациенток с аденомиозом**

(14.01.01 - Акушерство и гинекология)

ДИССЕРТАЦИЯ

На соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
д.м.н., проф. Куценко Ирина Игоревна

КРАСНОДАР – 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	30
1.1. Основные причины неудач ЭКО.....	30
1.1.1 Эмбриональный фактор.....	32
1.1.2 Имплантационный фактор. Современные представления о рецептивности эндометрия	33
1.2. Аденомиоз-ассоциированное бесплодие. Возможные причины неудач ВРТ..	45
1.2.1 Иммунологические аспекты нарушения фертильности при аденомиозе....	51
1.2.2 Основные направления в лечении аденомиоз-ассоциированного бесплодия.....	58
ГЛАВА II. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	64
2.1. Результаты проспективного этапа исследования пациенток с бесплодием и аденомиозом 1 степени.....	64
2.1.1 Клиническая характеристика обследованных пациенток.....	64
2.1.2 Результаты лабораторной и инструментальной диагностики в исследуемых группах.....	75
2.1.2.1 Гормональный профиль и оценка параметров овариального резерва.....	75
2.1.2.2 Результаты ультразвукового исследования.....	77
2.1.2.3 Результаты гистероскопии.....	81
2.1.2.4 Результаты магнитно-резонансной томографии.....	82
2.2. Исходная рецептивность эндометрия и цитокиновые профили периферической крови и цервикальной слизи пациенток с аденомиозом 1 степени.....	86
2.2.1 Морфологическая характеристика пайпель-биоптатов эндометрия.....	86
2.2.2 Исследование цитокинов в цервикальной слизи	93
2.3. Динамика уровня цитокинов периферической крови и параметров имплантационного потенциала эндометрия в цервикальной слизи у пациенток с аденомиозом 1 степени на фоне различной предгравидарной подготовки	

в том числе и в посттрансферном периоде.....	96
2.3.1 Динамика уровня цитокинов периферической крови у пациенток с аденомиозом 1 степени на фоне различной предгравидарной подготовки в том числе и в посттрансферном периоде.....	96
2.3.2 Динамика уровня LIF, про- и противовоспалительных цитокинов, GM-CSF и VEGF в цервикальной слизи в зависимости от вида предгравидарной подготовки у пациенток с аденомиозом.....	102
2.4. Оценка эффективности ЭКО, течения гестационного процесса и исхода родов у пациенток с аденомиозом 1 степени на фоне различной предгравидарной подготовки.....	107
2.4.1 Цитокины в фолликулярной жидкости и качество эмбрионов у пациенток с аденомиозом.....	107
2.4.2 Особенности стимуляции суперовуляции, фолликуло- и оогенеза у пациенток в исследуемых группах	110
2.4.3 Особенности раннего эмбриогенеза и исходов гестации у пациенток с аденомиозом в цикле ЭКО.....	113
2.5. Разработка дифференцированной предгравидарной подготовки в зависимости от характеристик имплантационного фактора эндометрия.....	115
2.6. Сравнительная характеристика динамики уровня цитокинов периферической крови и параметров рецептивности эндометрия у пациенток с аденомиозом на фоне предгравидарной подготовки диеногестом и деринатом, в том числе и в посттрансферном периоде.....	131
2.6.1 Сравнительная характеристика динамики уровня цитокинов периферической крови у пациенток с аденомиозом на фоне предгравидарной подготовки диеногестом и дезоксирибонуклеинатом натрия, в том числе и в посттрансферном периоде.....	132
2.6.2 Динамика уровня LIF, про- и противовоспалительных цитокинов, GM-CSF и VEGF в цервикальной слизи в зависимости от вида предгравидарной подготовки у пациенток с аденомиозом.....	137

2.7. Оценка эффективности ЭКО, течения гестационного процесса и исхода родов.....	141
2.7.1 Особенности стимуляции суперовуляции, фолликуло- и оогенеза у пациенток в исследуемых группах	141
2.7.2 Течение беременности и исход родов у пациенток с аденомиозом в цикле ЭКО в зависимости от вида предгравидарной подготовки.....	145
ГЛАВА III ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	152
ВЫВОДЫ.....	173
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	175
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	176
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	178

ВВЕДЕНИЕ

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 г., Нифантова Р. , 2011). Однако по данным РАРЧ в России, за 2015 г. частота наступления беременности при проведении экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) за последние 5 лет практически не изменилась и составляет в расчете на цикл 31, 5%, на пункцию - 32, 4%, на перенос эмбрионов - 38, 4%. Исход программы ЭКО зависит от множества факторов, наиболее значимыми из которых являются качество получаемых для оплодотворения ооцитов и эмбрионов, а также готовность эндометрия к имплантации бластоцисты (Назаренко Т.А., 2013г., Корсак В.С., 2016).

Известно, что успех имплантации во многом зависит от синхронности обмена сигнальными молекулами между матерью и эмбрионом в ходе взаимодействия и экспрессией эффекторных молекул, факторов роста и цитокинов, осуществляющих паракринную, аутокринную и интракринную регуляцию этого процесса (Шуршалина А.В. и др., 2012; Крылова Ю.С. и др., 2013). При этом, на качество эмбрионов максимально влияет возраст пациентки и генетические факторы, тогда как на состояние эндометрия существенно воздействует гинекологическая патология - генитальный инфантилизм, хронический эндометрит, гиперплазия эндометрия, миома матки, аденомиоз и др. (Крстич Е.В., 2014). 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.

Крупные метаанализы показывают достоверное ухудшение фертильности женщин на фоне аденомиоза (Vercellini P. 2006), однако 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)

Результаты ряда исследований (Izumiya C. et al, 2003; Sidell N. et al, 2002г.) демонстрируют, что у пациенток с распространенным аденомиозом существуют изменения гормональной регуляции на общем и местном уровнях, а также нарушение паракринной регуляции - исходные иммунные дисфункции в системе цитокинов (LIF, LIF-R, IL 1, IL 8, IL 6, RAIL, IL-10) и факторов роста (GM-CSF, VEGF) обуславливающие дефектность имплантационного фактора эндометрия (Achache H., 2006; Сеидова Л.А., 2015; Шарфи Ю.Н., 2013.). Известно, что у женщин с распространенным аденомиозом снижается качество эмбрионов при повышении в фолликулярной жидкости уровня IFN- γ , и снижения α 2-МГ максимальные при отрицательном исходе ЭКО. (Вартанян Э. В., 2011). Все это может служить доминирующей причиной малой эффективности программ ЭКО у данных пациенток.

Несмотря на значительное количество работ, посвященных изучению причин неудач ЭКО, практически отсутствуют данные о влиянии ранних стадий аденомиоза на результативность ВРТ, в том числе в связи с отсутствием единого протокола обследования больных с подозрением на данную патологию. Единичны исследования состояния эмбрионального фактора и имплантационного потенциала эндометрия при ранних стадиях аденомиоза (Краснопольская К.В. и др. 2001, Назаренко Т.А., 2012), окончательно не определены методы предгравидарной подготовки как в естественных циклах, так и в циклах ЭКО у данного контингента пациенток.

С целью коррекции имплантационного потенциала эндометрия при аденомиозе патогенетически оправданной представляется предварительная подготовка эндометрия различными гормональными гестагенными препаратами

в цикле, предшествующем стимуляции суперовуляции в программе ЭКО. Однако до настоящего времени нет однозначного мнения о выборе оптимального прогестагена, продолжительности и влиянии такой терапии на иммунологические аспекты имплантационного фактора и, следовательно, на успех циклов ЭКО, течение гестационного процесса и исхода родов. Наличие исходных иммунных дисфункций в системе цитокинов при аденомиозе, в том числе и ранних степеней нацеливает на целесообразность введения иммуномодуляторов в предгравидарную подготовку к циклу ЭКО.

В связи с тем, что последние работы по разработке неинвазивных методов оценки рецептивности эндометрия предоставляют новые возможности исследования параметров имплантационного фактора без риска негативного влияния на исходы программ ВРТ (Сеидова Л.А и др. 2015), очевидно, что изучение факторов, влияющих на успех программы ЭКО при аденомиозе ранних степеней и разработка предгравидарной подготовки с целью 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; Quinn C. E. et al., 2009; Bufang Xu. et al., 2012). Роль в адекватной рецептивности эндометрия цитокинов факторов роста и молекул адгезии (семейство IL-1, LIF и LIF-R, α V β 3, TNF- α , IFN- γ , VEGF, GM-CSF и др.), определяемых на общем и местном уровне со времени появления иммунологической теории имплантации доказана многими исследованиями. (Wegmann T.G., 1993; Moldenhauer L.M., 2010; Cork B. A., 2002; Franasiak J.M., 2014). Предполагают, что основные рецепторы для прикрепления бластоцитов располагаются именно на поверхности пиноподий, где

концентрированно экспрессируется LIF (Ingman, W., 2008; Сеидова Л.А. и др., 2015).

Прогестерон регулирует большинство идентифицированных маркеров «окна nidации» (пиноподии, LIF, цитокины, факторы роста.) (Kadaman P.H., 2004; Creus M., 2003; Дюжева Е.В., 2010; Бабиченко И. и др. 2007) путем связывания со специфическими ядерными рецепторами, и дисбаланс в гормональном статусе или экспрессии стероидных рецепторов прямо и косвенно могут привести к нарушению морфофункциональных свойств эндометрия, его рецептивности.

Причем, в последнее время рядом работ (Сеидова Л.А. и др. 2015, Шарфи Ю.Н. 2015; Шарфи, Ю.Н., 2013) 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).

Исследование концентрации LIF и LIF-R и других сигнальных молекул в цервикальной слизи рекомендовано для использования в клинической практике как неинвазивный метод определения имплантационного потенциала эндометрия.

При анализе исследований, касающихся вопроса результативности программ ВРТ обращал на себя внимание тот факт, что аденомиоз, как причина неудач ЭКО, рассматривается в аспекте распространенных форм (Vercellini P. 2006; Судома И.А., 2005), тогда как касательно влияния аденомиоза ранних степеней на имплантационный фактор эндометрия имеются лишь единичные данные. При этом известно, что распространенность аденомиоза занимает одно из ведущих мест в структуре гинекологической патологии у женщин репродуктивного возраста.

Во многом, это связано с затруднением ранней диагностики аденомиоза в том числе и при бесплодии. (Адамян Л.В., 2006; Радзинский В.Е., 2010.). Из инструментальных методов диагностики аденомиоза приоритетным является трансвагинальная эхография ввиду ее доступности, неинвазивности и низкой

стоимости. Информативность УЗИ повышается при определении доплерометрических показателей (Семенов И.А. 2015, Поморцев А.В. и др., 2015; Симовоник А.Н., 2017), так как выявлено, что при диффузных формах аденомиоза даже ранних степеней, наблюдается снижение кровотока в бассейне маточной артерии. Имеются единичные публикации, относящие к ранним УЗИ критериям аденомиоза утолщение переходной зоны от 5 до 8 мм (Барто Р.А. и др., 2015, Симовоник А.Н., 2017). МРТ-диагностика аденомиоза при высокой стоимости и ограниченной доступности имеет большую информативность (до 84%) (Шкляр А.А. и др., 2015; Agostinho L. I. R. et al., 2016; Chapron C. et al., 2010). Гистероскопия - инвазивный метод, разброс чувствительности которого для диагностики аденомиоза по данным разных авторов составляет от 32,9 % до 91,4%, в связи с низкой информативностью при ранних степенях заболевания (Непомнящих Л.М., 2012; Ключаров И.В. и др., 2013; Ищенко А. и др., 2013; Оразов М.Р. 2013; Саидданеш Ш.Ф. и др., 2017).

В новых расширенных представлениях о патогенезе аденомиоза показано, что Тх1-клетки, синтезирующие TNF- α , IFN- γ и IL-2, не принимают непосредственного участия в развитии аденомиоза, в то время как Тх2-клетки, синтезирующие IL-6 и IL-10, играют значительную роль в иммунных реакциях при данном заболевании. (Сорокина А.В., 2010). Рядом исследователей (Адамян Л.В., 2008), были изучены особенности продукции цитокинов (IL-6, IL-10, IL-8) и факторов роста (EGF, VEGF) у пациенток с аденомиозом. Показано, что при аденомиозе концентрации IL-6, IL-8 и IL-10 повышены у 81,6 и 53,3%, EGF и VEGF у 86,2 и 91,4% больных, и соответственно увеличен уровень клеточной пролиферации, неоангиогенеза и иммуносупрессии в тканях эндометрия. На местном уровне (в цервикально-влагалищном смыве) исследователи отмечают повышение уровня секреторного иммуноглобулина А, провоспалительных цитокинов и активацию системы комплемента при дисбалансе в содержании противовоспалительных цитокинов (повышение IL-4, снижение RAIL). Кроме этого, значительными оказались изменения со стороны функционально-метаболической активности полиморфно-ядерных лейкоцитов периферической

крови, проявившиеся снижением активности и интенсивности фагоцитоза с одновременным увеличением активности кислородзависимых систем нейтрофилов. В целом, имеющиеся данные свидетельствуют о признаках иммунного воспаления в эндометрии при аденомиозе. (Радзинский В.Е. и др, 2010, Шрамко С.В. и др. 2016, Незнамова Н.В. и др, 2015).

В немногочисленных исследованиях (Inoue et.al., 1992; Dmowski et.al., 1995; Olivennes et al., 1995; Pal et al., 1998; Bukulmez et al., 2001) не было выявлено структурных и молекулярных различий в эндометрии здоровых и страдающих аденомиозом пациенток, поэтому среди некоторых ученых сохраняется мнение об отсутствии патологических особенностей имплантации у таких пациенток. Но при этом работами (Matson PL, Yovich JL., 1986; Barnhart K. et al., 2002; Kuivasaari P. et al., 2009) доказано обратное, и таким образом не исключена, возможность влияния аденомиоз-ассоциированных молекулярных, биохимических, функциональных изменений эндометрия на развитие бесплодия в результате расстройства процесса имплантации (Адамян Л.В. и др., 2006, Сакмак Н. et al., 2011). Фолликулогенез и процесс созревания ооцитов в полноценные яйцеклетки находится в тесной взаимосвязи с регуляторной цитокиновой системой и качество продуцируемых ооцитов зависит от цитокинового профиля фолликулярной жидкости (Вартанян Э.В., 2011). Исследованиями (Краснопольской К.В, 2012) доказано, что даже при тяжелой форме аденомиоза (без сочетания с НГЭ и/или эндометриоидными кистами яичников) 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.

Известно, что гестагены в целом улучшают качество имплантационного фактора при бесплодии (Bedaiwy M.A. et al, 2015). 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. 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 1 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.

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 имплантационный потенциал) играет решающую роль в выборе предгравидарной подготовки к ЭКО у пациенток с аденомиозом 1 степени.

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

Научная значимость исследования определяется следующими положениями:

Впервые доказано негативное влияние аденомиоза 1 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 1 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 предгравидарной подготовки иммунокоррекции дезоксирибонуклеинатом натрия.

Установлено, что проведение дифференцированной предгравидарной подготовки к ЭКО у пациенток с аденомиозом ранней степени позволяет уменьшить количество осложнений гестационного процесса и увеличить количество срочных родов.

Практическая значимость исследования обусловлена тем, что:

1. На основании полученных результатов практическому здравоохранению предложен комплекс дополнительного инструментального (расширенный протокол УЗИ и МРТ-диагностика) и лабораторного обследования и дифференцированный подход к проведению предгравидарной подготовки к циклу ЭКО у пациенток с аденомиозом 1 степени, в зависимости от характеристик имплантационного фактора эндометрия (низкий или очень низкий имплантационный потенциал).

2. Результаты исследования внедрены в работу отделения вспомогательных репродуктивных технологий Базовой акушерско-гинекологической клиники ФГБОУ ВО КубГМУ г. Краснодара и клинику репродукции «Эмбрио» г. Краснодара. Материалы исследования включены в учебный процесс на кафедре акушерства, гинекологии и перинатологии ФГБОУ ВО КубГМУ для студентов, клинических ординаторов и аспирантов.

Методология исследования.

В соответствие с дизайном исследования нами были обследованы 226 пациенток с длительным бесплодием, проходивших лечение с применением ЭКО в отделениях вспомогательных репродуктивных технологий Базовой акушерско-гинекологической клиники ФГБОУ ВО КубГМУ г. Краснодара и

клинике репродукции «Эмбрио» г. Краснодара. В результате обследования у 192 (84, 9%) был выявлен аденомиоз 1 степени. Для реализации задач, поставленных в диссертации, из них было обследовано 172 женщины с бесплодием, ассоциированным с аденомиозом 1 степени, планирующих реализацию репродуктивной функции в программе ЭКО. Исследования проводились также на кафедре клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики ФПК и ППС ГБОУ ВПО КубГМУ с 2014 по 2016 гг. 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. По основным параметрам (возрасту, наступлению менархе, гинекологическому и соматическому анамнезу, статусу, стадии распространения данного заболевания) достоверных межгрупповых различий в группах выявлено не было.

Критерии включения в исследование:

- Наличие бесплодия в течение 3-6 лет.
- наличие аденомиоза 1 степени, подтвержденного эхографически, гистероскопически и по данным МРТ исследований;
- возраст ≤ 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 (с одной или обеих сторон) в анамнезе;
- наличие хронических экстрагенитальных заболеваний, влияющих на репродуктивную функцию, а также других экстрагенитальных заболеваний в стадии субкомпенсации и декомпенсации в течение года до проведения исследования;
- мужской и эндокринный фактор бесплодия;
- отказ пациентки от участия в исследовании.

Для проведения различной предгравидарной подготовки (препараты микронизированного прогестерона - схема 1, диеногест - схема 2) путем простого рандомизированного исследования все пациентки с аденомиозом были разделены на 2 клинические группы. По завершению программы ЭКО для оценки его эффективности на фоне различной предгравидарной подготовки основные группы были разделены по принципу результативности ЭКО (пациентки с положительной попыткой - (Б+), с отрицательной - (Б-).

Далее с учетом положительной или отрицательной попытки ЭКО с помощью логистического регрессионного анализа был оценен рецепторный потенциал эндометрия в сравнительном аспекте, и в зависимости от его параметров разработана и применена индивидуализированная предгравидарная подготовка с применением диеногеста или диеногеста в сочетании с направленной иммунотерапией дезоксирибонуклеинатом натрия. По завершению программы ЭКО у пациенток после проведения индивидуализированной предгравидарной подготовки вновь была оценена его результативность, а также течение и исходы. Таким образом, в ходе исследования были сформированы следующие клинические группы:

- 1 группа - 73 пациентки, (первая попытка) которые вступали в цикл ЭКО с проведением предгравидарной подготовки микронизированным прогестероном (схема 1);

- 2 группа - 76 пациенток - (первая попытка) ЭКО - предгравидарная подготовка диеногестом (схема 2);

- 3 группа - 77 пациенток - (первая-вторая попытка) ЭКО предгравидарная подготовка диеногестом и деринатом (схема 3) - цикл ЭКО. Частично в группу вошли пациентки из «1Б-» и «2Б-» групп группы с неудавшейся попыткой ЭКО;

- 4 группа (контроль) - 45 здоровых фертильных женщин, имеющих физиологические роды и здоровых детей в анамнезе, наблюдавшихся в клиниках по программе суррогатного материнства:

«1Б+» группа - 17 пациенток 1 группы с состоявшейся удачной попыткой ЭКО;

«1Б-» группа - 56 пациенток 1 группы с неудачной попыткой ЭКО;

группа «2Б+» - 23 пациентки 2 группы с состоявшейся удачной попыткой ЭКО;

группа «2Б-» - 53 пациентки 2 группы с неудачной попыткой ЭКО;

3Б+ группа - 28 пациенток с состоявшейся удачной попыткой ЭКО;

3Б- группа - 49 пациенток с неудачной попыткой ЭКО;

4Б+ группа - 20 пациенток с состоявшейся удачной попыткой ЭКО;

4Б- группа - 25 пациенток с неудачной попыткой ЭКО.

Обобщенно ход исследования, характеристики и численность групп представлены схематическим дизайном исследования (рис. 1).

Схемы предгравидарной подготовки:

Схема 1. Прием микронизированного прогестерона в дозе 400 мг в сутки интравагинально с 16 по 25 день менструального цикла в течение 3х циклов.

Схема 2. Прием диеногеста в дозе 2 мг в сутки в непрерывном режиме в течение 3х месяцев.

Схема 3. Прием диеногеста в дозе 2 мг в сутки в течение 3 месяцев и внутримышечное введение дезоксирибонуклеината 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.

1 ЭТАП (проспективное исследование)

Формирование исследовательской когорты пациенток

Исследования: клиничко-лабораторное, бак.посевы аспирата из полости матки, ультразвуковое, эндоскопическое в 1 фазу, пайпель-биопсия во 2 фазу МЦ; гормональный профиль. Определение исходных цитокиновых статусов периферической крови (IL1 β , IL8, IL4, IL-6, IL-10, RAIIL, VEGF) и цервикальной слизи (LIF, LIF-R, IL-6, IL-10, VEGF, GM-CSF) (ЛГ+3, ЛГ+7).

пациентки с бесплодием, ассоциированным с аденомиозом n=172

контроль n=45 здоровые фертильные женщины наблюдаемые в программе

2 ЭТАП Рандомизированное клиническое исследование

1 группа n=73,
ПГ микролизированным прогестероном (схема 1).
Определение цитокиновых статусов периферической крови и цервикальной слизи на фоне приема микролизированного прогестерона.
(76-78 день схемы 1)

2 группа n=76,
ПГ диеногестом (схема 2),
Определение цитокиновых статусов периферической крови и цервикальной слизи на фоне приема диеногеста (76-78 день схемы 2).

4 группа n=45
здоровые фертильные женщины наблюдаемые в программе «суррогатное материнство»
Определение цитокиновых статусов периферической крови и цервикальной слизи на фоне приема (МП) (ЛГ+3, ЛГ+7).

Цитокиновый статус: в периферической крови, цервикальной слизи на (ХГЧ+3, ХГЧ+7,) и в фолликулярной жидкости в цикле ЭКО.

Оценка эффективности цикла ЭКО (Биохимическая беременность и клиническая беременность)

3 ЭТАП

Разработка дифференцированной предгравидарной подготовки в зависимости от характеристик имплантационного фактора с применением направленной иммунотерапии дезоксирибонуклеатом натрия

3 группа n=77, пациентки с очень низким имплантационным потенциалом ПГ диеногестом и дезоксирибонуклеатом натрия (схема 3),

Цитокиновый статус: в периферической крови, цервикальной слизи на (ХГЧ+3, ХГЧ+7)

4 ЭТАП Оценка течения гестационного процесса и исхода родов.

Выводы и практические рекомендации.

Рисунок 1. Дизайн исследования

Протокол стимуляции суперовуляции в программах ЭКО.

В качестве единого протокола для всех женщин, включенных в исследование, применяли протокол суперовуляции с первоначальным введением рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона человека (р-чФСГ) (гонал-Ф) на 2-3 день цикла. Стартовая доза препарата составила 150 МЕ. Триггером овуляции послужил рекомбинантный хорионический гонадотропин, доза которого составляла 5000 - 10000 ЕД. Трансвагинальную пункцию (ТВП) проводили через 35-40 после введения индуктора овуляции, оплодотворение полученных ооцитов проводили через 4-5 часов после ТВП яичников. Для преинкубации, оплодотворения ооцитов и культивирования эмбрионов использовали среды для культивирования фирмы «Cook Group, Inc.» (США). Наличие 2-х пронуклеусов через 14-16 часов после оплодотворения расценивали как успешное оплодотворение. Преимплантационную генетическую диагностику эмбрионов «хорошего» качества на 3-й и 5 день культивирования выполняли с использованием зондов фирмы ABBOT (Vysis). Подсчет количества полученных ооцитов проводился по общепринятой шкале. Для оценки качества эмбрионов использовали классификацию J. W. Lens. К эмбрионам «хорошего» качества относили эмбрионы, содержащие 6-8 бластомеров и не более 10% фрагментации. Пациентки с неудовлетворительным качеством эмбрионов были исключены из данного исследования. Перенос эмбрионов выполняли по стандартизированной методике при этом количество переносимых эмбрионов не превышало 2-х. Посттрансферный период вели стандартно с применением препаратов натурального прогестерона, введение которого начинали через 24 часа после ТВП, средняя доза 400 мг/сутки.

Оценка эффективности ЭКО проводилась по следующим критериям:

1. Диагностика беременности путем проведения исследования уровня хорионического гонадотропина в крови через 12-14 дней от момента переноса эмбрионов.
2. Ультразвуковое подтверждение маточной беременности на сроке на 21-23 день после переноса эмбрионов.

Кроме того, проводилось наблюдение за гестационным процессом в течение всей беременности согласно приказу № 572N и оценивался исход родов.

Методы исследования.

1. Клиническое обследование пациенток.

Согласно Приказу Министерства здравоохранения РФ от 30 августа 2012 г. № 107н «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению» проводили предварительное обследование супружеской пары в рамках подготовки к программе ЭКО с использованием общеклинических и специальных методов обследования:

а) определение антител к бледной трепонеме в крови;

б) определение антител класса М, G к вирусу иммунодефицита человека (далее - ВИЧ) 1, 2, к антигену вирусного гепатита В и С, определение антигенов вируса простого герпеса в крови; микроскопическое исследование отделяемого половых органов на аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы, на грибы рода кандиды, паразитологическое исследование на атрофозоиты трихомонад;

г) микробиологическое исследование на хламидии, микоплазму и уреоплазму; молекулярно-биологическое исследование на вирус простого герпеса 1, 2, и цитомегаловирус.

Женщинам выполнялось:

а) общий (клинический) анализ крови, анализ крови биохимический общетерапевтический, коагулограмма (ориентировочное исследование системы гемостаза); гормональный профиль общий анализ мочи; определение антител класса М, G к вирусу краснухи в крови; микроскопическое исследование влагалищных мазков; цитологическое исследование шейки матки; флюорография легких (для женщин, не проходивших это исследование более 12 месяцев); регистрация электрокардиограммы; осмотр и консультация врача-терапевта и смежных специалистов по необходимости.

Партнерам женщин выполнялось исследование эякулята. При выявлении сочетанного мужского фактора бесплодия женщины из исследования исключались.

В ходе исследования пациенткам проводилось исследование гормонального профиля, ультразвуковое исследование в динамике цикла, производилось взятие аспирата из полости матки на специфическую и условно-патогенную флору, МРТ на 7-8 день менструального цикла, гистероскопия с целью уточнения диагноза и состояния полости матки на 7-8 день цикла, офисная гистероскопия с проведением пайпель-биопсии и гистологическим анализом биоптата для уточнения состояния рецептивности эндометрия на 21-24 дни менструального цикла и лапароскопия для уточнения характера бесплодия и исключения перитонеальных форм эндометриоза.

Дополнительно всем пациенткам проводилось определение исходных цитокиновых статусов периферической крови (IL1 β , IL8, IL4, IL-6, IL-10, RAIL, VEGF) на 2-5 день цикла и 21-23 дни цикла. Для исследования рецептивности эндометрия производили гистологическое исследование пайпель-биоптата и определяли концентрацию LIF, LIF-R, GM-CSF, IL-6, IL-10, VEGF-A в цервикальной слизи в дни менструального цикла, определенные по мочевоому тесту на овуляцию (ЛГ+3, ЛГ+7). После проведения предгравидарной подготовки у пациенток 1 и 2 групп, на 72 - 78 день схемы 1 или 2 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 цервикальной слизи.

На фоне проведения протокола ЭКО +ПЭ у всех пациенток определяли концентрацию цитокинов LIF, GM-CSF, IL1 β , IL-6, IL-10, RAIL периферической крови, IL-1 β , IL- 8, IL- 6, IL- 2, IL - 4, IL - 10, GM-CSF в фолликулярной жидкости и LIF, LIF-R, GM-CSF, IL-6, IL-10, VEGF в цервикальной слизи в дни цикла, определенные по введению триггера овуляции (ХГЧ+3, ХГЧ +7). У всех пациенток для поддержки лютеиновой фазы использовали микронизированный

прогестерон в дозе 400 мг интравагинально с ХЧГ+5 до получения положительных результатов и далее с целью поддержки беременности.

Углубленное изучение анамнеза каждой пациентки включало в себя сбор жалоб, изучение характера менструальной функции (возраст менархе, регулярность, длительность и болезненность менструаций, а также наличие нарушений менструального цикла и проводимом лечении). Собирались сведения о наследственной патологии, данные об общесоматических ранее перенесенных и в данный момент существующих заболеваниях, наличие отягощенного аллергоанамнеза. Для оценки репродуктивной и детородной функции анализировалось количество и течение предыдущих беременностей, наличие в анамнезе прерываний беременности, выкидышей, а также характер течения родов и послеродового периода. Особое внимание уделялось сведениям о ранее проведенных лечебных и диагностических манипуляциях, а также оперативных вмешательствах; протоколам этих операций, заключениям гистологических исследований, данным о проведенных обследованиях и терапии.

Диагноз аденомиоз выставлялся на основании

1. Клинических симптомов (длительные, обильные менструации, перименструальные кровянистые выделения, укорочение менструального цикла, менометроррагия, боль в нижних отделах живота и пояснице, усиливающаяся перед менструацией, бесплодие);

2. Ультразвуковых критериев ранних стадий аденомиоза:

Первая степень распространенности аденомиоза.

- образование небольших (диаметром около 1 мм) анэхогенных трубчатых структур, идущих от эндометрия по направлению к миометрию;

- появление в области базального слоя эндометрия небольших гипо- и анэхогенных включений круглой или овальной формы диаметром около 1-2 мм;

- неравномерность толщины базального слоя эндометрия;

- зазубренность или изрезанность базального слоя эндометрия;

- выявление «откусанности» или локальных дефектов эндометрия;

- появление в миометрии, непосредственно примыкающем к полости матки, отдельных участков повышенной эхогенности толщиной до 3 мм.

3. МРТ-признаки аденомиоза:

Первая степень распространенности аденомиоза

- утолщение переходной зоны эндометрий-миометрий до 0,5 см и более, неравномерное на разных участках матки, «зазубренность» переходной зоны;
- трубчатые образования и/или кистозные полости в переходной зоне диаметром до 2 мм, направленные к миометрию;
- в миометрии отдельные мелкие очаги или зоны неоднородной структуры, мелкие кисты, расположенные непосредственно у переходной зоны, без четких контуров.

2. Исследование гормонального статуса.

Для оценки гормонального статуса пациенток с бесплодием и аденомиозом и пациенток контрольной группы исследовались концентрация гонадотропных и стероидных гормонов в сыворотке крови, а также антимюллеров гормона (АМГ) - маркера овариального резерва. Исследование проводилось методом ИФА с использованием реагентов 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 (производителей компании «Алкор Био», «DRG»). Определялись АМГ, фолликулостимулирующий, лютеинизирующий гормоны, эстрадиол, прогестерон (2-5 день цикла), и во вторую фазу (21-23 день цикла).

Подготовка и получение цервикагинальной слизи для изучения местного иммунитета:

- забор цервикальной слизи (ЦС) с использованием флоковых тампонов фирмы «Соран» (Италия). Терминальную часть флоковых тампонов с полученным материалом помещали в одноразовые 1,5-мл стерильные пробирки (Eppendorf), содержащие 1 мл теплого физиологического раствора (38-40°). Образцы с примесью крови (n=5) были исключены из исследования. Далее проводили заморозку образцов при температуре минус 20 градусов. При

накоплении достаточного для проведения исследования количества образцов их одновременно размораживали при комнатной температуре.

3. Забор и подготовка фолликулярной жидкости.

У женщин участниц программ ЭКО при проведении трансвагинальной пункции одновременно с забором ооцитов забирали фолликулярную жидкость и определяли в ней концентрацию цитокинов (IL 1 β , IL-8, IL-6, IL-2, IL-4, IL-10, GM-CSF) с помощью иммуноферментных тест-систем в соответствии с инструкцией фирмы-производителя.

4. Биохимические методы исследования.

Определение цитокинового статуса

Образцы до исследования сохраняли в полипропиленовых пробирках Эппендорфа объемом 1,5 мл при 213° К. Концентрация цитокинов (IL1 β , IL-6, IL-10, RAIL, VEGF) в сыворотке крови, цервикальной слизи и фолликулярной жидкости определялись у всех пациенток методом иммуноферментного анализа (ASCENT, Финляндия) с использованием соответствующей панели моноклональных антител (ЗАО ВЕКТОР-БЕСТ, г. Ростов-на-Дону). Определение концентрации LIF и LIF-R, GM-CSF в образцах ЦС проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием тест-систем фирмы Bender Medsystems (США). Учет результатов осуществляли на планшетном спектрофотометре Expertplus, ASYSHITECH.

5. Инструментальные исследования.

Ультразвуковое исследование (УЗИ)

Ультразвуковое исследование (УЗИ) проводили всем пациенткам в течение первой фазы, в дни предполагаемой овуляции и во время второй фазы менструального цикла в соответствии с трансвагинальной и трансабдоминальной (Donald, 1965) методиками при помощи аппаратов «Toshiba Aplio 500». При этом использовались трансабдоминальные конвексные датчики, частота которых 3,5 МГц и трансвагинальные конвексные датчики, частота которых 5 МГц и 6,5 МГц в режимах серой шкалы. Оценку изображений в режиме серой шкалы проводили в

соответствии с общепринятой методикой (Демидов В.Н. и соавт., 1997). В ходе осмотра яичников, наряду с биометрией, отображались признаки функциональной активности (в каком состоянии находится фолликулярный аппарат, есть ли желтое тело), а также патологические структуры. В процессе измерения тела матки устанавливались ее размеры, контуры, специфика экоструктуры; наличие очаговых образований (при этом указывались их количество и локализация), асимметрия толщины стенок, визуализация, структурность и толщина переходной зоны.

МРТ-исследование осуществлялось при помощи магнитно-резонансного томографа «МР-томографы Brivo MR 355»; напряженность поля сверхпроводящего магнита составляла 1.5Т (контрастное усиление при этом не использовалось), с малым и средним наполнением мочевого пузыря. Весь комплекс МР-исследований проводился в клинике Екатерининской в г. Краснодаре. В ходе исследования изучались T2-взвешенные изображения при помощи импульсной последовательности Turbo Spin-Echo (MAGETOM Symphony Application Guide Numaris 3, 5 VA11E, 2001) с TR/TE=5000-7600/96-136 мсек в сагиттальной, аксиальной и коронарной проекциях. При подтверждении наличия свободных жидкостей (выпота, кист) пользовались режимом МР-миелографии; а в целях выявления геморрагического компонента - импульсной последовательностью FLASH (MAGETOM Symphony Application Guide Numaris3, 5 VA11E, 2001) с TR/TE=100- 250/4, 6 м/сек и углом отклонения 70-900 с получением T1-взвешенного изображения. Исследования производились главным образом в I фазу менструального цикла с неполным опорожнением мочевого пузыря и с очищенной толстой кишкой.

6. Эндоскопические методы.

Офисная гистероскопия и пайпель-биопсия.

При выполнении гистероскопии использовался диагностический гистероскоп фирмы «Karl Storz» по Bettocchi (B.I.O.H). По результатам гистологического исследования пайпель-биоптатов оценивалось состояние эндометрия и косвенно рецепторная чувствительность эндометрия.

Аспират из полости матки. После зондирования матки во время проведения гистероскопии в полость матки вводился тонкий полипропиленовый катетер (d - 4 мм), присоединенный к обычному шприцу, и производилась аспирация содержимого полости матки. После извлечения катетера, полученный аспират вносился в пробирку с транспортной средой и доставлялся в лабораторию (для транспортировки использовалась среда Эймс, посев выполняли на наборе стандартных питательных сред Acumedia Manufacturers, Inc., (США); идентификацию выделенных микроорганизмов проводили с помощью бактериологического анализатора «Vitek»).

Кольпоскопия.

Кольпоскопия выполнялась по стандартной методике с использованием оборудования фирмы «Olympus».

Гистологическое исследование.

Пациенткам, включенным в исследование, проводились морфологическое исследование биоптатов функционального слоя эндометрия с определением количества клеток поверхностного эпителия с наличием зрелых пиноподий. Проводилось гистологическое датирование эндометрия, оценка процента клеток поверхностного эпителия с наличием зрелых пиноподий с помощью светового микроскопа при увеличении 400 в 5 полях зрения.

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 имплантационный потенциал) играет

решающую роль в выборе предгравидарной подготовки к ЭКО у пациенток с аденомиозом 1 степени.

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

Личный вклад автора в проведении исследования.

Личный вклад автора состоит в выборе направления исследования, разработке цели и постановке задач, а также анализе и статистической обработке полученных результатов в ходе исследования. Автор принимал непосредственное участие в сборе анамнестических данных, обследовании пациенток, УЗИ мониторинге эндометрия, гистероскопии, пайпель-биопсии эндометрия, интерпретации полученных клинико-лабораторных данных.

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. Методологически правильно использован широкий спектр современных клинико-лабораторных исследований. Первичная 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 течении 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 участием «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» 2016г.

Полученные результаты внедрены в практику работы гинекологических отделений Базовой акушерско-гинекологической клиники 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 3 - в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, 3 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 58 таблицами и 19 рисунками.

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием пакета анализа Microsoft Excel 2000 и с использованием «Медико-биологической статистики» (Стентон Гланц., 1999), программы «STATISTICA» 6, 0. Результаты исследований были обработаны методом вариационной статистики с определением критерия Майни-Уитни для оценки непараметрических показателей групп малых выборок и критерием Стьюдента (t) для независимых групп (Славин М.Б., 1989; Зайцев В.М. и соавт., 2003). Во всех случаях определялись среднее арифметическое, средняя ошибка среднего арифметического, стандартная ошибка среднего. При построении бинарной логистической регрессионной модели использовался метод обратной селекции. Информационная значимость предлагаемых пороговых величин и оценка качества полученной модели проводились с помощью ROC-анализа.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Основные причины неудач имплантации при ЭКО

Стремительное развитие вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) позволило значительно расширить возможности лечения различных форм бесплодия, в том числе и бесплодие, ассоциированное с аденомиозом. Средняя частота наступления беременности при использовании ВРТ как в России, так и за рубежом составляет около 30%. В России по данным отчета РАРЧ за 2015 год произошло 23374 родов после использования методик ВРТ. Ежегодно отмечается рост использования методов ВРТ (Корсак В.С..2016; Кулаков В. и..2005), однако, несмотря на совершенствование протоколов ЭКО, модернизацию технических и лабораторных методов, применяемых при проведении этих программ, частота наступления беременности остается в пределах от 24, 1% до 48, 1% (46, 4% в расчете на перенос эмбрионов за 2015 год) (Корсак В.С., 2016). ВРТ расширили возможность лечения бесплодия ассоциированного с аденомиозом, однако частота наступления беременности у данных пациентов составляет 23, 6% от числа переносов, что существенно ниже средних показателей (Дамиров М.М., 2004; Адамян Л.В. и др., 2006).

Низкая эффективность лечения больных бесплодием с использованием методов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) требует как разработки методов контроля всех технологических этапов ЭКО, так и решения принципиальных фундаментальных вопросов для повышения результативности ВРТ. Улучшение результативности программ ЭКО продолжает оставаться актуальной проблемой. В настоящее время исследования в этом направлении сосредоточены на изучении особенностей овариального резерва у различных групп женщин, совершенствовании схем стимуляции функции яичников, разработке новых подходов к оценке качества эмбрионов, а также оценке имплантационного эндометрия - ключевой структуры в реализации

взаимодействия между плодным яйцом и слизистой полости матки (Назаренко Т. А. и др., 2013; Жорданидзе Д.О. и др., 2011; Gardner D.K. et al., 1998).

В связи с этим, повышение эффективности программы ЭКО, заключающееся, в первую очередь, в пересмотре подходов к предгравидарной подготовке с учетом сопутствующих гинекологических заболеваний, в настоящее время имеет очень важное значение.

В последнее время внимание репродуктологов приковано к периоду, так называемого, «имплантационного окна», наиболее часто наблюдающегося на 6-8 день после пика лютеинизирующего гормона, что соответствует 20-24 дню менструального цикла (Ольховская М. А. и др. 2007; Крылова Ю.С. и др., 2013; Шуршалина А.В. и др., 2011).

Чтобы охарактеризовать состояние эндометрия во время «имплантационного окна» Psychoyos А. было впервые предложено использование понятия рецептивности, или восприимчивости эндометрия (Psychoyos А., 1976). Под рецептивностью эндометрия понимаются его структурно-функциональные характеристики при чётко заданных временных и пространственных промежутках, определяющих его способность к имплантации. Именно максимальная рецептивность эндометрия, его восприимчивость к молекулярным сигналам, которые поступают со стороны эмбриона, дают возможность произвести успешную имплантацию (Шуршалина А.В. и др., 2011). Опираясь на данные литературных источников, первая стадия, необходимая для проведения имплантации, это аппозиция, при которой устанавливается «диалог» между эмбрионом и эндометрием. На таком диалоге основывается синхронизация процесса созревания эндометрия и развития эмбриона; его опосредуют паракринные регуляторы: компоненты межклеточного вещества, молекулы адгезии, факторы роста, простагландины, цитокины. Вторая стадия в имплантации представлена адгезией бластоцисты, основанной на образовании плотной функциональной взаимосвязи между мембранами клеток трофобласта и эпителия, который покрывает полость матки в месте предположительной имплантации эмбриона. На третьей стадии происходит инвазия трофобласта

между клетками эпителия и его прорастание в строму базального слоя. В результате инвазии стромы происходит децидуальная трансформация клеточного компонента (Lessey В. А., 2000; Крылова Ю.С. и др., 2013). Таким образом, исход программы экстракорпорального оплодотворения зависит от многих факторов, наиболее значимыми из которых являются качество получаемых для оплодотворения ооцитов и готовность эндометрия к имплантации бластоцисты (Carver J. et al, 2006), то есть имплантационного и эмбрионального.

1.1.1. Эмбриональный фактор

Бластоцисты оцениваются в соответствии с классификацией, созданной D. Gardner в 1999 г., с учетом размеров бластоцисты и степени «вылупления» (hatching), а также выраженности клеток трофэктодермы и внутренней клеточной массы (Сеидова Л.А. и др., 2015; Gardner D.K., et al 2002). Морфология: 1 - стадия ранней бластоцисты, полость составляет <50% объема; 2 - стадия ранней бластоцисты, бластоцель составляет более 50% внутреннего объема, имеет место утоньшение ZP; 3 - стадия полной бластоцисты, при которой формируется большая полость (бластоцель занимает свыше 50% внутреннего объема, общий размер эмбриона увеличен, тонкая ZP); 4 - стадия расширенной, разросшейся (expanded) бластоцисты; 5 - стадия выходящей (hatching) бластоцисты - начинается процесс проникновения трофэктодермы через ZP; 6 - стадия вышедшей (hatched) бластоцисты - вылупившейся бластоцисты, покинувшей ZP. Показатели внутренней клеточной массы (ВКМ): А - множество клеток с компактным расположением; В - небольшое количество клеток с некомпактным расположением. Показатели трофэктодермы (Trophectoderm): А - множество клеток, наличие плотного эпителия; В - немного клеток; С - незначительное число больших клеток; D - наличие дегенеративных клеток; С - наличие неразличимой ВКМ; D - наличие дегенеративной ВКМ.

Помимо морфологической оценки происходит внедрение в клиническую практику новых технологий, цель которых - улучшить селекцию эмбриона. Они представлены инвазивными и неинвазивными методами. Инвазивные подразумевают преимплантационную генетическую диагностику, производимую при помощи таких методов, как флюоресцентная гибридизация *in situ* (FISH), полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), анализ микроокружения, сравнительная геномная гибридизация. Объекты исследования при использовании этих методов представлены полярным тельцем ооцита, бластомером либо клетками трофэктодермы эмбриона, ядром сперматозоида. Эти методы являются высокоэффективными и применяются в практике у пациенток в старшем репродуктивном возрасте при многократных неэффективных попытках ЭКО.

Доказано (Крстич, 2014), что качество ооцитов зависит, в основном, от возраста пациентки и генетических факторов, и это подтверждается тем, что применение в программе ЭКО полученных от молодых женщин донорских ооцитов сопровождается у возрастных пациенток увеличением частоты имплантации и уменьшением ранних репродуктивных потерь по сравнению с их сверстницами, у которых в процедуре ЭКО используются собственные ооциты (Белоцерковцева Л.Д. и др., 2008). Очевидно, что все эти наблюдения также указывают на возрастное снижение качества женских гамет; кроме того, из них следует, что для успеха ЭКО определяемое возрастным фактором качество ооцитов имеет большее значение, чем фактор соматического старения пациентки.

1.1.2 Современные представления о рецептивности эндометрия

Если качество ооцитов зависит, в основном, от возраста и генетических факторов, то на состояние эндометрия оказывает существенное влияние и фоновая гинекологическая патология - различные варианты внутриматочной патологии (внутриматочная перегородка, внутриматочные синехии, субмукозная

миома матки, рецидивирующий полипоз, хронический эндометрит, гиперплазия эндометрия, эндометриоз и др. (Гончарова Я.А. и др. 2005; Судома И.А. и соавтр. 2005; Калинин С.Ю., 2014).

Прогестерон и эстроген - стероидные половые гормоны, способные регулировать рост, дифференцировку и функции в различных клетках и тканях организма человека. Маточные эффекты прогестерона и эстрогенов осуществляются через эстрогеновые (ER) и прогестероновые рецепторы (PR) (Halasz M, et al 2013; Young SL., 2013; Bedaiwy MA, et al 2015).

У пациенток с неудавшимися попытками ЭКО в анамнезе удалось выявить несколько вариантов дисбаланса экспрессии стероидных рецепторов. Наиболее неблагоприятным вариантом для наступления беременности является отсутствие снижения экспрессии ER- α в фазу секреции, что требует предварительной подготовки перед программой ЭКО (Крылова Ю.С. и др. 2013).

Под действием эстрадиола и прогестерона изменяется биохимическая активность клеток эндометрия, активируется выработка паракринных факторов, которые, действуя на местном уровне, изменяют поверхностные свойства клеток, характер межклеточных взаимодействий и обеспечивают процесс имплантации. Нарушение в любом из звеньев этой цепи ведет к дефектам процесса имплантации (Побединский, Н.М., 2000; Корсак В.С., 2002) Поверхностный слой эпителия полости матки инициирует адгезию развивающейся бластоцисты в присутствии прогестерона после предшествующего пика эстрадиола (Кулаков, В. и., 2005; Побединский, Н. М. и др., 2000; Корсак В.С, 2002). В исследовании, проведенном Котиковым А.Р. в 2006 г., было показано, что чувствительность эндометрия к прогестерону снижается - в этом заключается возможный механизм нарушения его репродуктивных функций. К примеру, хронические воспалительные процессы, затрагивающие железистые и стромальные клетки функционального слоя эндометрия, приводят к тому, что снижается экспрессия рецепторов прогестерона и в меньшей степени - рецепторов эстрогенов. (Пономаренко К.Ю. и др. 2016;. Побединский Н. М. и др., 2000).

Как гипо-, так и гиперэстрогения одинаково плохо отражаются на толщине и качестве эндометрия. При гиперэстрогении высокие уровни эстрогенов подавляют рецепторы в эндометрии, что часто можно наблюдать в гиперстимулированном цикле. Повышение уровня преовуляторного прогестерона в индуцированном цикле негативно сказывается на имплантационных свойствах эндометрия, что выражается в снижении качества рецепторного аппарата за счет повышения отношения ПР/ЭР, снижения количества ЭР. Что, безусловно, доказывает, что важен не только уровень половых стероидов в организме, но и сохранение всех путей реализации гормонального эффекта, в чем решающую роль играет количество функционально полноценных рецепторов ткани эндометрия к соответствующим стероидным гормонам (Дюжева Е.В., 2014, Виноградова Л.В. и др., 2014); Шнейдерман М.Г. и др. 2015), Первым этапом успешной имплантации является активация выработки эпителиоцитами молекул-хемокинов, привлекающих лейкоциты. Вторым - синтез цитокинов и факторов роста, а на третьем этапе цитокины активируют синтез интегринов, необходимых для адгезии бластоцисты (Kayisli O. et al 2009; Boomsma C. M. et al, 2010).

Сегодня известны разнообразные активные вещества с изменяющейся концентрацией в зависимости от состояния эндометрия и показателей «имплантационного окна». Наиболее изученный морфологический маркер рецептивности эндометрия представлен эндометриальными пиноподиями - структурами, которые появляются в апикальной части поверхностного эпителия эндометрия и существуют на протяжении 24-48 ч между 19-м и 21-м днем цикла (Nikas G., 2000). Первое описание пиноподий было произведено Psychoyos A. и соавт. в 1971 г (Psychoyos, A., 1971). На протяжении длительного времени ученые считали, что функция пиноподий эндометрия людей аналогична функциям подобных образований у остальных млекопитающих и состоит в абсорбции жидкости из маточной полости. Для того чтобы исследовать пиноподии, необходимо применять сканирующую электронную микроскопию (Psychoyos, A., 1971). Но с учетом того, что размер пиноподий у людей равен

примерно 6 мкм, ряд исследователей полагает, что можно произвести оценку процента поверхностных клеток эпителия с наличием пиноподий, проведя рутинное гистологическое исследование, используя световую микроскопию. Пиноподии формируются под воздействием прогестерона и, как считают многие авторы, пиноподии - это наиболее значимые маркеры рецептивности эндометрия (Агаджанова Л., 2004).

В естественном цикле пиноподии появляются на 6-8 день после овуляции; полное развитие пиноподий происходит на 6-9-й день после овуляции (19-22-й день менструального цикла). При контролируемой стимуляции яичников в циклах ЭКО полностью развитые пиноподии появляются на 18-20-й день (забор яйцеклеток проводится на 14-й день), что свидетельствует о преждевременном созревании в сравнении с естественными циклами (Garcia-Velasco J.A. et al., 2001).

Созревание пиноподий совпадает с резким снижением степени иммуноокрашивания на рецепторы прогестерона в эпителии и с образованием плато концентрации прогестерона в крови. Связь созревания пиноподий с экспрессией факторов роста и других биологически активных веществ предполагает их непосредственное участие в механизме имплантации (Крылова Ю. С. и др., 2013)

К сожалению, на данном этапе развития науки не существует универсального маркера рецептивности эндометрия, который можно было бы использовать в практике для оценки степени повреждения эндометрия, и который служил бы основой для разработки тактики прегравидарной подготовки.

В последние годы решающую роль в установлении полноценного «окна имплантации» отводят молекулярно-генетическим, и иммуногистохимическим маркерам, таким как цитокины (LIF, IL-6, IL-8), ростовые факторы (VEGF, EDF, TDF- β , FDF), гены семейства HOX (HOXA10, HOXA11) (Bagot C. et al, 2001; Achache H. et al, 2006).

С появлением пиноподий происходит увеличение уровня прогестерона, LIF, LIFR и интегрина $\alpha V\beta 3$. В развитии пиноподий определенное значение отводят генам HOXA 10, блокирование которых приводит к резкому уменьшению количества пиноподий. Указанные гены регулируют как пролиферацию стромальных клеток эндометрия, так и морфогенез эпителиальных клеток. Показано, что именно в месте образования пиноподий происходят сигнальные взаимодействия между эмбрионом и эндометрием (Bagot C. et al, 2001; Шуршалина А.В. и др., 2011; Creus M. et al, 2003). Предполагают, что основные рецепторы для прикрепления бластоцисты располагаются на поверхности пиноподий, где также экспрессируется LIF.

По мнению большинства исследователей, наличие пиноподий служит благоприятным прогностическим маркером удовлетворительной рецептивности эндометрия. Следовательно, для повышения эффективности программ ЭКО изучение методов повышения формирования пиноподий является наиболее перспективным.

В настоящее время известны цитокины (LIF, IL-6, IL-8, IL-1 β), роль которых в процессе имплантации крайне важна. Лейкемия-ингибирующий фактор (LIF) - многофункциональный гликопротеин, относящийся к семейству IL-6. LIF тормозит пролиферацию моноцитов и макрофагов, является одним из факторов ангиогенеза и обладает свойствами провоспалительного и гемопозитического цитокина (Hilton, D. J. 1992.) LIF секретируется в эндометрии и является важным фактором развития бластоцисты и имплантации. Эффекты LIF достигаются благодаря рецепторам, состоящим из 2-х трансмембранных протеинов - LIFR и gp130. (Ohbayashi N. et al, 2007). LIF активирует мелкие сигнальные пути в разнообразных типах. Доказательствами влияния LIF на имплантацию бластоцисты послужили данные о том, что в эндометрии мышей, гомозиготных по дефектному гену LIF, имплантация не происходит (Stewart C., 1994). Пик эстрадиола совпадает с повышением экспрессии LIF в периимплантационный период. В работах ученых в 2010 году

продемонстрировано влияние LIF на инвазию трофобласта (Fleischer A.C. et al, 1991; Dimitriadis E. et al 2006; Chen H. F. et al., 2004; Franasiak JM. et al, 2014).

В эндометрии здоровых женщин экспрессия LIF наблюдается в течение всего менструального цикла с резким увеличением в среднюю и позднюю секреторную фазу и на ранних сроках беременности. У пациенток с более высокой экспрессией LIF во время «окна имплантации» чаще происходит наступление беременности в программах ВРТ, чем у пациенток с более низкой его экспрессией (С. Cetrorelix Albano et al., 2002). Достижением последних лет является разработка учеными рекомбинантного человеческого LIF (r-hLIF) для улучшения рецептивности эндометрия у пациенток с бесплодием и неудачными попытками ЭКО. Авторы предполагали, что, компенсируя низкий уровень экспрессии LIF в эндометрии с помощью r-hLIF можно увеличить шансы наступления беременности в программах ВРТ. Были проведены доклинические и клинические испытания rh-LIF. К сожалению, введение r-hLIF в дозе 150 мг в лютеиновую фазу после переноса эмбриона в полость матки не улучшило процесс имплантации (Brinsden P. R. et al. 2009). Результаты исследования оказались противоположными ожидаемым: клинические беременности наступали значительно реже в группе пациентов, получавших r-hLIF, чем в группе, получавших плацебо (17, 6% и 34, 0%, соответственно). Дальнейшее изучение LIF и разработка способа применения rhLIF в практике является перспективным, учитывая важную его роль в процессе имплантации. Актуальным направлением сегодня является определение концентрации LIF и его рецепторов в цервикальной слизи. По данным Сеидовой Л.А. и соавт. у женщин с бесплодием и неудачными попытками ЭКО в анамнезе снижена концентрация LIF и LIF-R в цервикальной слизи, а также их иммуногистохимическая экспрессия в эндометрии. Авторы делают вывод о том, что определение концентрации LIF и LIF-R в цервикальной слизи возможно использовать в качестве неинвазивного метода оценки рецептивности эндометрия (Сеидова Л.А. и др., 2015; Bentin-Ley U. 2000; Serafini P. C. et al., 2009).

Воспаление всегда возникает при тканевых повреждениях и является неотъемлемой частью регенеративного процесса. Его биологическая особенность заключается в приспособительной функции, которая состоит не только из сосудисто-мезенхимальной реакции на повреждение, но и из местной реакции всех гуморальных и клеточных систем защиты, направленных на ликвидацию повреждающего агента и восстановление ткани (Серов В.В. и др., 1995). Воспалительный процесс и ответная реакция на него при воздействии травмы осуществляются при участии многочисленных медиаторов воспаления, в том числе цитокиновой системы. Взаимодействие клеток воспалительного инфильтрата (макрофаг-лимфоцит) включает иммунную систему, одной из основных функций которой является обеспечение защиты от вторжения чужеродных веществ экзо- и эндогенного происхождения с целью сохранения и поддержания гомеостаза. Кроме того, она имеет решающее значение в успешной имплантации и благополучном течении беременности (Mor G et al., 2011).

Известно, что периферические Т-лимфоциты после контакта с антигеном образуют субпопуляции: Т-хелперы 1 (Th1) и 2-го типа (Th2). Разделение Т-хелперных лимфоцитов на Th1 и Th2 во многом обусловлено продукцией цитокинов. Так, Th1 стимулирует клеточное звено иммунитета и характеризуется экспрессией провоспалительных цитокинов: интерлейкина (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-15, IL-18, фактора некроза опухоли α (TNF α), интерферона- γ (TNF- α , IFN- γ). Th2 обеспечивает гуморальный иммунный ответ и продукцию регуляторных цитокинов - IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, IL-10 и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ (GM-CSF), (Challis JR et al., 2009).

В ходе физиологической беременности цитокиновый профиль сдвигается в сторону преобладания продукции Th2-противовоспалительных цитокинов и одновременно происходит угнетение синтеза цитокинов Th1. Но, как показали недавние исследования, процессу имплантации бластоцисты сопутствуют различные молекулярные, клеточные и морфологические изменения в эндометрии, напоминающие воспалительную реакцию, в ходе которой

преобладает экспрессия провоспалительных цитокинов (Th1) в виде IL-6, лейкоингибирующего фактора (LIF), IL-8 и TNF α (Van Mourik MS. et al, 2009) Если беременность отсутствует, Th1-клетки провоцируют апоптоз и отторжение эндометрия. Это указывает на тесную связь рецептивности эндометрия с воспалительным ответом и увеличением образования провоспалительных цитокинов, а также клеток иммунной системы.

В связи с этим провоспалительные цитокины способны к индуцированию апоптоза и повреждению клеток трофобласта прямым либо опосредованным образом посредством активации макрофагов и могут выступать в качестве причины прерывания беременности в I триместре. Также в связи с избыточной продукцией провоспалительных цитокинов оказывается ограниченной инвазия трофобласта, происходит задержка нормального развития плаценты, усиление протромбиназной активности, активация механизмов коагуляции, что приводит к тромбозам и отслойке трофобласта (Сидельникова В.М., 2009).

Следует отметить также, что под воздействием цитокинов Th1 происходит повышение Th2-цитокиновой продукции (Wilczynski JR., 2005). Итак, благодаря нормальному соотношению баланса лимфоцитов Th1/Th2 в строме эндометрия происходит успешная инвазия трофобласта, что обеспечивает вероятность развития беременности без осложнений. Большой уровень провоспалительных Th1-цитокинов и IL-6, IL-8, TNF α свойственен раннему этапу имплантации. Эндометриальные клетки, а также клетки иммунной системы, которые были рекрутированы к месту имплантации, могут секретировать эти молекулы. Во время окна имплантации эндометрий содержит многочисленные иммунокомпетентные клетки, являющиеся одними из основополагающих при взаимодействии эмбриона и эндометрия. Естественные киллерные клетки (NK-клетки) - самая большая популяция лимфоцитов (65-70%), тогда как антигенпрезентирующие клетки, такие как макрофаги, составляют примерно 10-20%, дендритные клетки (ДК) - 2-4% (Dekel N et al., 2010) NK-клеткам отводится огромная роль, так как они регулируют материнский иммунный ответ на инвазию трофобласта, ремоделируют спиральные артерии, регулируют

дифференцировку клеток стромы и выступают в качестве источника различных цитокинов и факторов роста, таких как TNF, IL-8, IL-10, IL-1b, трансформирующий фактор роста b1 (ТФР-b1), CSF -1, LIF, IFN- γ , (Granot I et al, 2012) Типичными маркерами НК-клеток являются молекулы адгезии CD56 и рецептор для Fc-фрагмента иммуноглобулина CD16 (Сидельникова В.М. и др., 2010).

Число НК-клеток существенно увеличивается в строме эндометрия во время секреторной фазы менструального цикла и в течение I триместра беременности. Увеличение количества эндометриальных НК-клеток становится причиной бесплодия, повторных неудач в имплантации, привычного невынашивания беременности (Tuckerman E et al. 2010).

ДК - это гетерогенная клеточная популяция, служащая для активации и регуляции адаптивного иммунитета. ДК матки важны в активации Т-клеточного ответа, которым опосредуется иммунная толерантность матери к полуаллогенному плоду, в котором содержатся антигены матери и отца. Макрофаги и ДК собираются в больших количествах в месте имплантации и находятся в децидуальной оболочке на протяжении всего срока беременности, они необходимы для продукции факторов роста, хемокинов и цитокинов, регулирующих имплантацию бластоцисты, ангиогенеза и впоследствии, когда беременность начнёт прогрессировать, - для развития плаценты (Renaud SJ. et al., 2008). В доношенных сроках беременности ДК способствуют активизации иммунной системы в направлении синтеза противовоспалительных цитокинов Th2-типа при сокращении провоспалительных цитокинов Th1, воздействующих на созревание шейки матки и подготовку к родам (Nagamatsu T., 2010).

Существенный процесс в образовании рецептивности - это ангиогенез. При нормальном сосудистом развитии обеспечивается функциональная подготовка эндометрия и его готовность к имплантации. Благодаря адекватному росту сосудов происходит полноценная плацентация, чтобы облегчает доставку питательных веществ и кислорода к плоду. В ходе ангиогенеза образуются новые кровеносные сосуды. Он включает в себя ряд этапов. На первом

активируются эндотелиальные клетки, на втором разрушается базальная мембрана, на третьем мигрируют эндотелиальные клетки, на четвертом происходит их пролиферация, на пятом этапе формируется сосуд за счет образования новой базальной мембраны (Гаврилова Т.Ю. и соавт., 2006). Процесс ангиогенеза регулируют ангиогенные активаторы и ингибиторы в виде ангиопоэтина-2, матриксных протеинов, эпидермального фактора роста (EGF), ростовых факторов - VEGF, цитокинов, ионов, метаболитов, протеаз, эритропоэтина, интегрин $\alpha v \beta 3$ (Strowitzki T et al. 2006; Guzeloglu-Kayisli O. et al., 2009). Также существенный ангиогенный эффект в эндометрии оказывается матриксными металлопротеиназами (MMP) и тканевыми ингибиторами матриксных металлопротеиназ (TIMP) (Curry TE Jr, Osteen KG., 2003; Guzeloglu-Kayisli O. et al, 2009). При этом сосудисто-эндотелиальный фактор роста (VEGF) является самым важным регулятором ангиогенеза, ему отводится основная роль, когда развивается физиологический и патологический ангиогенез в эндометрии, также им осуществляется ряд иммунорегулирующих функций (Jee BC et al. 2009). В семейство VEGF входят: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGFD и плацентарный фактор роста (PGF), 2 трансмембранных рецептора - KDR (или Flk-1) и Flt-1 и единственный рецептор (sflt), действующий в качестве антагониста VEGF.

VEGF экспрессируют клетки трофобласта, железистого эпителия, а также клетки эндометрия. Общеизвестно, что в эндометрии, наряду с эпителиальными и стромальными клетками, источник VEGF представлен скоплениями нейтрофильных гранулоцитов, принимающим прямое участие в процессе пролиферации сосудов эндометрия. В эндометрии VEGF удалось обнаружить на протяжении менструального цикла с возрастанием уровня экспрессии от средней фазы пролиферации до секреторной. (Torrey D. S. et al., 1996). Этим и обусловлена максимальная активность эндометриальных клеток. Важный механизм, регулирующий экспрессию VEGF, представлен гипоксией. В результате неадекватной сосудистой перфузии в тканях может резко снизиться экспрессия VEGF и ангиогенез может нарушиться, а значит, и нарушится

рецептивность эндометрия и произойдет самопроизвольный выкидыш (Hannan N. J. et al., 2011).

Если процессы ангиогенеза в эндометрии меняются, могут нарушиться циклическая трансформация эндометрия, имплантация, в результате чего произойдет самопроизвольный выкидыш. Ольховская М.А. отметила сокращение в 3, 2 раза уровня VEGF в эндометрии у пациенток с неудачными попытками ЭКО. Иммуногистохимическое исследование эндометрия у женщин с неудачными попытками ЭКО в анамнезе показало сниженное содержание сосудисто-эндотелиального фактора роста. Кроме того, у них отсутствует тенденция к увеличению его экспрессии от глубоких гистологических слоев эндометрия к поверхностным. При этом уменьшение содержания VEGF, как и его чрезмерное увеличение, имеющее место при аденомиозе, может рассматриваться в качестве неполноценной функциональной активности эндометрия в течение «имплантационного окна» и прогностически неблагоприятного фактора исхода программы ВРТ (Seo W. S. et al. 2011).

В конце 1990-х годов 20-го столетия была получена информация о том, что наряду с клетками иммунной системы (в виде Т-лимфоцитов, макрофагов, гранулоцитов, моноцитов, GM-CSF синтезируют эндотелиальные и эпителиальные клетки органов репродуктивной системы: гранулезные клетки фолликулов, клетки стромальной и децидуальной тканей, эпителиальные клетки эндометрия (Giacomini G. et al., 1995), клетки маточных труб, NK-клетки эндометрия и эпителиальные клетки трофобласта. Максимальную экспрессию GM-CSF удалось обнаружить в эпителиальных клетках эндометрия в середине секреторной фазы менструального цикла (Chegini N. et al., 1999). Он содержится в больших количествах в смывах из маточной полости (Hannan N. J. et al. 2011; Gargiulo A. R. et al., 2004 ;Boomsma C. M. et al., 2010). Кроме того, удалось доказать, что со времени первого деления эмбрионом на его поверхности экспрессируются рецепторы к GM-CSF (Jenkins B. J. et al. 1999). Spandorfer S. D. и соавт., 1998 подчеркнули, что в результате культивирования эмбрионов в культуре эндометрия при добавлении GM- CSF в дозах, превышающих 130

пг/мл, улучшались исходы ЭКО (Spandorfer S. D. et al. 1998). Но Seo W. S. и соавт., 2011 не была обнаружена связь между экспрессией GM-CSF в тканях эндометрия в цикле, которые предшествуют ЭКО и частотой наступления беременности (Seo W. S. et al., 2011). Отмечено снижение сывороточного уровня GM-CSF в процессе беременности у пациенток, у которых отмечено привычное невынашивание беременности, что указывает на смещенный баланс иммунологической реакции с Th2 и Treg в сторону Th1 и Th17 (Perricone R. et al., 2003).

На данный момент все три колонестимулирующих фактора являются доступными в виде рекомбинантной формы и активно используются в разных сферах медицины.

В последние годы ведутся исследования по их клиническому применению в репродуктивной медицине. Имеются данные о положительном влиянии всех трех CSF на качество эмбрионов (Ziebe S. et al. 2013; Agerholm I., et al., 2010; Dumoulin J. C. et al., 2010) и/или рецептивность эндометрия в протоколах ЭКО. Показано, что орошение полости матки G-CSF перед переносом эмбрионов, а также его подкожное введение с целью подготовки эндометрия (Gleicher N. et al., 2013) у женщин с привычным невынашиванием (Scarpellini F. et al., 2009) и повторными неудачами имплантации в циклах ЭКО (Würfel W. et al., 2010) увеличивает толщину эндометрия и частоту наступления беременности в циклах ЭКО. Следует отметить, что частота наступления беременности при применении GM-CSF в день переноса эмбрионов в два раза выше, чем при применении G-CSF. Но с позиций использования в клинической практике, самый перспективный - это все же G-CSF, потому что использование GM-CSF провоцирует различные побочные эффекты.

В последние годы стало известно, что в циклической трансформации эндометрия участвуют многие гены. Оказывается, при открытии «окна имплантации» в эндометрии усиливается экспрессия примерно 395 генов, и одновременно снижается экспрессия около 186 других генов (D. Naouzi и др., 2009). Исследования последних лет позволили расширить наши знания,

касающиеся особенностей морфофункционального состояния эндометрия в период «окна имплантации». Список молекул, участвующих в процессе имплантации, увеличивается практически каждый год, но пока не удается полностью понять механизм их действия. Знания, имеющиеся на сегодняшний день, требуют детальной расшифровки передачи сигналов и механизмов действия уже известных регуляторов имплантации. Продолжается поиск маркеров рецептивности эндометрия, позволяющих на практике оценивать степень повреждения эндометрия, а также служить основой для разработки тактики прегравидарной подготовки.

1.2. Аденомиоз-ассоциированное бесплодие. Возможные причины неудач ВРТ

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) выделяет 22 причины женского и 16 причин мужского бесплодия. Женское бесплодие встречается у 35-40% бесплодных браков, на долю мужского бесплодия приходится 30-35%.

Несмотря на сложности в точной оценке в соответствии с эпидемиологическими исследованиями, выявлено, что эндометриозом страдает до 5-10% женщин. Этот диагноз поставлен почти 5, 5 млн. женщин в США и примерно 16 млн. в Европе. Медико-социальное значение этой болезни обусловлено тем, что заболеванием страдают главным образом женщины в репродуктивном возрасте. Чаще всего этот диагноз ставят женщинам в возрасте от 25 до 34 лет.

При обнаружении заболевания в молодом возрасте можно прогнозировать его тяжёлое протекание впоследствии. Эндометриоз имеется у 50% женщин, у которых отмечена дисменорея, в том числе у 50% подростков, у которых отмечена тяжелая дисменорея, и у 75% женщин с хроническими тазовыми болями. Официальная статистика свидетельствует о неуклонном росте показателя заболеваемости рассматриваемой болезнью (Российский статистический ежегодник, 2010). В нашей стране за период 1999-2009 гг. его рост составлял 72, 9% (в 1999 г. - 218, а в 2009 г. - 377 на 100 000 женской

популяции) (Леваков С.А. и др., 2012). В соответствии с данными исследования Global Study of Women's Health (GSWH), проведенным по инициативе ВОЗ, у 65% пациенток эндометриозу сопутствовала боль, а у 1/3 из них наступило бесплодие; на одно лишь бесплодие (без болей) указали 14% женщин с этим диагнозом.

Как правило, эндометриоз рассматривается в качестве иммунозависимого, дисгормонального, генетически детерминированного заболевания, при котором присутствует и разрастается за пределами маточной полости ткань, морфофункциональные характеристики которой напоминают эндометрий.

На данный момент лечение генитального эндометриоза - весьма сложная и нерешенная проблема в гинекологии. Особенное медико-социальное значение данное заболевание приобретает у молодых женщин, у которых развилось бесплодие. (Адамян Л.В. и др., 2006). Эндометриоз бывает наружным и внутренним. Принято считать, что понятие «эндометриоз» в область научной литературы ввел В. Bell (1892). Немного раньше Н. Muller (1854) и К. von Rokitansky (1860) была дана морфологическая характеристика эндометриоза (Качалина Т.С. и др., 2011).

Однако повсеместное признание и распространение терминов «эндометриоз» и «аденомиоз» произошло только в 20-е годы XX века. Аденомиоз или внутренний эндометриоз - пенетрация (внедрение) железистого и стромального компонентов базального слоя эндометрия в миометрий на различную глубину (в наиболее тяжелых случаях - вплоть до серозного покрова) с развитием хронического воспаления. (Bird et al, 1972).

«Внутренний эндометриоз матки» следует считать совершенно самостоятельным заболеванием, обозначая его термином «аденомиоз», а не «эндометриоз». (Haney A. F., 1991).

В Научном центре акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН приняты клиническая классификации эндометриоза тела матки, позволяющая выделить 4 стадии распространения эндометриозидных гетеротопий. Диффузная форма внутреннего эндометриоза (аденомиоза):

- Стадия 1. Патологический процесс ограничен подслизистой оболочкой тела матки.

- Стадия 2. Патологический процесс переходит на мышечные слои.

- Стадия 3. Распространение патологического процесса на всю толщину мышечной стенки до ее серозного покрова.

- Стадия 4. Вовлечение в патологический процесс, помимо матки, париетальной брюшины малого таза и соседних органов.

Внутренний эндометриоз, или аденомиоз, является заболеванием, при котором эндометриодная ткань поражает тело матки, перешеек и интерстициальные отделы маточных труб. Наружный эндометриоз и аденомиоз в последнее годы рассматривают как два самостоятельных заболевания. Это связано с тем, что аденомиоз развивается из базального слоя эндометрия, тогда как наружный эндометриоз - продукт распространения клеток функционального слоя эндометрия за пределы их обычной локализации. Несомненно, особенности генеза требуют различной тактики ведения больных, страдающих этими заболеваниями. Аденомиоз выявляется у 40-45% женщин с необъяснимым первичным бесплодием, у 50-58% - со вторичным; также аденомиоз является причиной нарушения репродуктивной функции у 15, 3% женщин с привычными выкидышами в анамнезе и в 28% сочетается с внутриматочными синехиями (Газазян М.Г. и соавт., 2001; Баскаков В.П. и соавт., 2002).

У больных эндометриозом повышено количество макрофагов, которое не коррелирует со стадией протекающей болезни (Olive D.L. et al, 1985). В зависимости от локализации и степени распространения патологического процесса принято выделять несколько форм аденомиоза. Выделяют диффузную, очаговую и узловую формы аденомиоза. Очаговая и узловая формы наблюдаются несколько реже диффузной. При этих формах заболевания выявляется гиперплазия мышечной ткани, окружающей очаги гетеротопического эндометрия (Вихляева Е.М., 2002). В отечественной литературе для аденомиоза предлагается клиническая классификация, выделяющая 3 гистологически определяемые степени распространения эндометриодной инвазии. Она

рассматривает диффузное поражение миометрия в зависимости от глубины проникновения эндометриоидных гетеротопий (Е.М. Вихляева и соавт., 2002, А. и. Ищенко и соавт., 2013, Дамиров М.М. и др., 2010):

- I степень - патологический процесс ограничен подслизистой оболочкой тела матки, при этом прорастание слизистой оболочки в толщу подлежащего миометрия происходит на глубину одного поля зрения при малом увеличении микроскопа;

- II степень - проникновение гетеротопических очагов до середины миометрия;

- III степень - в патологический процесс вовлечен весь мышечный слой матки до ее серозного покрова.

При вовлечении в патологический процесс париетальной брюшины малого таза и соседних органов, наряду с поражением матки, некоторые авторы выделяют IV степень поражения (Ищенко А. и., Кудрина Е.А., 2008;. Дамиров М.М, 2010).

Причины возникновения и механизм развития эндометриоза до настоящего времени до конца не ясны. Не вызывает сомнений, что аденомиоз - это эстроген-зависимое заболевание, так как клинически он проявляет себя в репродуктивном возрасте, и, наоборот, в период менопаузы признаки его в большинстве случаев угасают. Известно, что женщины с «низким содержанием» эстрогенов (спортсменки, курящие) имеют более низкий риск заболеть. Кроме того, считается, что у женщин, имеющих II группу крови, риск развития эндометриоза повышен.

Возможные предрасполагающие факторы аденомиоза: (Адамян Л.А. с соавт., 2006; Дамиров М.М., 2010).

1. Повреждения эндометрия (выскабливание матки, длительное использование ВМК).

2. Воспалительные процессы в эндометрии.

3. Генетическая предрасположенность.

4. Нарушения общего и местного иммунитета.

5. Гормональный дисбаланс в виде абсолютной или относительной гиперэстрогении, прогестероновая недостаточность, изменения в экспрессии рецепторов к эстрогенам и прогестерону в структурах эндометрия.

6. Экология и социальные факторы.

Субстанции, контролирующие процессы апоптоза и пролиферации в эндометрии и оказывающие влияние на его инвазивные свойства:

- Разные типы молекул адгезии (интегрины, кадгерины, селектины) (Lesseyet al, 1994; Margarit I et al. 2010).

- Многочисленные цитокины (интерлейкины (IL)-6, 8, 10, 11, лейкемиоингибирующий фактор - ЛИФ(LIF) (Campo S., 2012; Mikolajczyk, 2006; Xiao, 2010).

- Гликопротеиды (муцины, гликоделин А) (Wei et al., 2009).

- Ангиогенные стимуляторы (сосудисто-эндотелиальный фактор роста - СЭФР и другие ростовые факторы) (Goteri et al, 2009; Kang et al., 2009).

- Продукты окислительного стресса (реактивные соединения кислорода, пероксинитриты) (Ota et al, 1999).

- Матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы (Ищенко А. и. и соавт, 2008; Li et al, 2006).

- Фосфоинозитиды и продукты их обмена (Дамиров М.М., 2010).

Развитие эндометриоза как генетически обусловленной патологии - одна из ведущих концепций (Hemmings R., et al, . 2004). Аденомиоз развивается из базального слоя эндометрия, тогда как наружный эндометриоз - продукт распространения клеток функционального слоя эндометрия за пределы их обычной локализации. Несомненно, особенности генеза требуют различной тактики ведения больных, страдающих этими заболеваниями. При этом подчеркивается, что локализация гетеротопических очагов в миометрии при аденомиозе сопровождается рядом характерных особенностей, отличающих его от других локализаций генитального эндометриоза.

Аденомиоз развивается в результате пенетрации железистого и стромального компонентов базального слоя эндометрия в подлежащий

эндометрий. Аденомиоз не может возникнуть в результате «ретроградной менструации» и имплантации элементов функционального эндометрия на органах брюшной полости, в отличие от наиболее распространенной имплантационной теории патогенеза наружного эндометриоза. (А. и. Ищенко, Е.А. Кудрина, 2008, М.М. Дамиров, 2010). В возникновении внутреннего эндометриоза, по мнению многих авторов, основную роль играют гормональная и иммунологическая теории (Адамян Л.В., Кулаков В. и, 1998; Дамиров М.М., 2004; Kim J., E.Y. Straun, 2000).

Данные литературных источников свидетельствуют о зависимости развития аденомиоза от гормонального статуса, нарушения содержания и соотношения стероидных, в основном женских половых гормонов. Для возникновения эндометриоза в первую очередь имеют значение особенности деятельности гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы. В особенности наличие хаотичных пиковых выбросов фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов, со снижением базального уровня прогестерона (А. и. Ищенко, Е.А. Кудрина, 2002).

Так, в лютеиновой фазе менструального цикла на фоне значительной базальной экскреции имеют место дополнительные выбросы фолликулостимулирующего гормона и снижение выброса лютеинизирующего гормона (Шинкарева Л.Ф. с соавт., 1985; M.D. Hornstein, R.E. Gleason et al., 1993). Произошедшие гормональные изменения, в свою очередь, стимулируют дальнейшую пролиферацию и гиперплазию эктопированной ткани эндометрия (R.L. Barbieri, 1992). Развитие заболевания происходит на фоне абсолютной или относительной гиперэстрогении, особенно на фоне измененной рецепторной функции эндометрия (L. Gu, L. Zhang, F. Gu, 1996). В ответ на длительную эстрогенную стимуляцию непосредственным результатом такого влияния является развитие пролиферации, гиперпластических процессов эндометрия и аденомиоза.

1.2.1. Иммунологические аспекты нарушения фертильности при аденомиозе

Хотелось бы уделить особое внимание разбору иммунной теории, которая на сегодняшний день является наиболее актуальной и дискуссионной. Большое количество исследований свидетельствует о том, что развитие аденомиоза происходит в связи с нарушенным иммунным равновесием, а именно Т-клеточным иммунодефицитом, при котором снижается активность Т-лимфоцитов, одновременно активируется В-лимфоцитарная система и снижается функция естественных киллеров (Адамян Л.В., Кулаков В. и., 1998; Damowski, 1991; J. Kim, E.Y. Straun, 2000). Такие больные характеризуются общими признаками иммунодефицита и аутоиммунизации, в результате которых ослабляется иммунный контроль, что формирует условия для имплантации и функциональные очаги эндометрия развиваются вне их нормальной локализации (А. и. Ищенко, Е.А. Кудрина, 2002).

Повышенной активности этих макрофагов способствует рост секреции цитокинов IL1, IL6, IL8 и TNF α . Очевидно, у этих макрофагов происходит нарушение способности к фагоцитозу, в результате чего сокращается фагоцитоз клеток эндометрия (Sidell N. et al, 2002). Можно предположить, что ткань эндометрия, которая на протяжении большого времени находится в не характерных для неё местах, может приобрести ряд антигенных свойств, в результате чего в организме развивается системная иммунная реакция, проявляющаяся изначально в запуске механизмов синтеза IgE (он наиболее чувствителен к слабым антигенным раздражителям). Впоследствии происходит локальное повышение концентрации антиген-специфического IgE, способного к фиксации на поверхности базофилов и тучных клеток, что способствует сенсibilизации к антигенам эндометрия. Взаимодействуя с присутствующими в брюшной полости клетками эндометрия, рассматриваемые клетки вступают в реакцию дегрануляции, при которой происходит выброс значительного числа тромбопластиновых протеаз, что приводит к локальной активации тромбообразования.

Появляющиеся микротромбы в связи с адгезией к антигенной ткани формируют вокруг нее «экран», который препятствует контакту между антигенной структурой и факторами иммунной защиты, таким образом охраняя от иммунных повреждений и способствуя приросту эктопического эндометрия. Прирастающая ткань способствует постоянному образованию Ig, и рассмотренный процесс повторяется снова и снова, благодаря чему формируются благоприятные условия для разрастания эндометриоза (Волков Н. и соавтр., 2010).

Есть труды, свидетельствующие о том, что иммунный ответ на эктопический эндометрий сохраняется, но является весьма ограниченным. Выявлен рост цитокинов IL6, IL8 и TNF α , а также сокращение молекул ICAM-1 (Intercellular adhesion molecule-1 – молекула межклеточной адгезии-1) и рецепторов CD14 (рецептор, который важен при фагоцитозе бактерий либо клеток после апоптоза) и HLA-DR (рецептор, который важен при распознавании антигенов экстрацеллюлярного матрикса) (Izumiya C. et al, 2003). При этом отмечается угнетенное состояние функции апоптоза клеток эндометрия у пациенток с эндометриозом, в результате чего может увеличиваться число жизнеспособных регургитированных клеток (Harada T. et al, 2004).

Эндометрию пациенток с диагнозом «эндометриоз» свойственно уменьшение чувствительности к прогестерону, причиной чего является генетически детерминированная неадекватная экспрессия ряда матриксных металлопротеиназ, что, разумеется, обеспечивает распространение и выживание эндометриоидных гетеротопий (Osteen K.G. et al, 2003).

Также, для того чтобы эндометриоидные имплантаты выжили, большое значение отводится факторам ангиогенеза, концентрация которых увеличена в перитонеальной жидкости у пациенток с диагнозом, «эндометриоз», и связана со стадией развития патологических процессов (Halme P.R. et al 1993).

Репродуктивные нарушения у пациенток с диагнозом «эндометриоз» представлены бесплодием и/или невынашиванием беременности. Репродуктивные нарушения у таких пациенток связаны с изменениями

нормальной анатомии матки, органов малого таза, маточных труб и яичников, с гематологическими нарушениями, хроническим бессимптомным эндометритом, иммунологическими сбоями, генетическими особенностями, гормональными нарушениями (Эндометриоз и бесплодие. Рекомендации Практического Комитета Американского Общества Репродуктивной Медицины, 2006; Эндометриоз: диагностика, лечение и реабилитация. Федеральные клинические рекомендации. М., 2013).

В результате воздействия указанных факторов нарушается созревание и оплодотворение яйцеклетки, транспортировка оплодотворенной яйцеклетки к месту имплантации, а также плацентация имплантация.

Все перечисленные факторы приводят к бесплодию и невынашиванию беременности. При выявлении у пациенток аденомиоза II и III стадии им показано применение ВРТ.

Клинические проявления аденомиоза обширны и находятся в прямой зависимости от степени распространения патологического процесса. Основными клиническими проявлениями заболевания являются нарушение менструальной функции, болевой синдром, нарушение психоэмоциональной сферы и бесплодие.

Нарушение менструальной функции при аденомиозе по современным данным встречается от 55 до 80% (Адамян Л.В., Андреева Е.Н, 2001; Дамиров М.М., 2004). При I степени распространения аденомиоза менструальный цикл чаще бывает двухфазным, могут наблюдаться предменструальные кровянистые выделения в течение 2-4 дней, менструации нередко обильные. Изменений размеров матки в зависимости от фаз менструального цикла не наблюдается. При II степени распространения отмечаются пред- и постменструальные выделения, менструации, как правило, приобретают характер меноррагии. Наблюдается недостаточность лютеиновой фазы цикла, а также увеличение размеров матки, при этом матка чаще имеет шарообразную форму и отклонена кзади, плотной консистенции, болезненная при пальпации, нередко фиксирована в заднем своде (Дамиров М.М., 2004). Дисменорея встречается у 25-91% больных (Пересада О.А., 2001).

Выраженный болевой синдром напрямую связан с распространенностью внутреннего эндометриоза. По мере того как последняя увеличивается, особенно если в процесс вовлекается вся стенка матки, происходит усиление болей (Вихляева Е.М., 2002). Боль может появляться в предменструальный период и активизироваться в начале менструации. На первой стадии болезни боли обладают циклическим характером, но по мере того как она прогрессирует происходит нарушение цикличности болей и они становятся хроническими. При этом пациентки жалуются на боли в тазовой области, не зависящие от менструации или полового акта (Радзинский В.Е. с соавт., 2001).

Еще одна важная жалоба, которую предъявляют в 46-60% случаев, это бесплодие (Адамян Л.В. и др., 2006), обладающее при аденомиозе, как правило, вторичным характером (И. и. Куценко с соавт., 2003). Аденомиоз обнаружен у 40-45% пациенток с необъясненным первичным бесплодием, у 50-58% - со вторичным. Кроме того, в результате аденомиоза нарушается репродуктивная функция у 15, 3% женщин с привычным выкидышем в анамнезе и в 28% ему сопутствуют внутриматочные синехии (Газазян М.Г. и соавт., 2001; Баскаков В.П., и соавт., 2002).

В настоящее время для диагностики аденомиоза применяются такие методы, как ультразвуковое исследование, гистероскопия, гистеросальпингография, магнитно-резонансная томография (Судома И.А. и др, 2005; Ищенко А. и., Кудрина Е.А, 2008; Дамиров М.М, 2010; Вихляева Е.М, 2002).

Полученные некоторыми исследователями данные (Подзолкова Н. И. и соавт., 2007) свидетельствуют о том, что комплексное клинико-инструментальное обследование больных с подозрением на аденомиоз, включающее гистероскопию, гистеросальпингографию и трансвагинальную эхографию с доплерометрией периферического кровотока, позволяет достаточно эффективно диагностировать аденомиоз.

В настоящее время в диагностике аденомиоза немаловажное значение отводится трансвагинальному ультразвуковому исследованию (УЗИ). Высокая

информативность метода, неинвазивность, безвредность УЗИ способствуют его широкому применению в качестве скринингового метода диагностики аденомиоза, позволяя проводить дифференциальную диагностику между различными гинекологическими заболеваниями (Ищенко А. и., Кудрина Е.А., 2008; Дамиров М.М., 2010). Вместе с тем, приводимые в литературе данные об информативности УЗИ в выявлении аденомиоза достаточно разноречивы и колеблются от 54% до 94% (Ищенко А. и., Кудрина Е.А., 2008; Озерская И.А. и др., 2003; Судома И.А. и др., 2005).

Во многом это связано с тем, что диагностика заболевания базируется на определенных косвенных эхографических признаках. Наиболее характерными ультразвуковыми признаками аденомиоза являются увеличение матки, ассиметричное утолщение стенок матки, наличие участков повышенной эхогенности в миометрии с прерывистым контуром, зазубренность и неравномерность толщины базального слоя эндометрия, наличие гипо- и анэхогенных участков в миометрии (Дамиров М.М., 2010; Судома И.А., 2005).

При проведении УЗИ в динамике менструального цикла отмечается, что появляются ультразвуковые признаки эндометриоза за 3-5 дней до менструации и или исчезают или значительно уменьшаются - к седьмому дню цикла (И. и. Куценко, 2002).

Основными современными методами неинвазивной диагностики аденомиоза является трансвагинальное УЗИ и МРТ (N. Di Donato et al., 2015; L.García et al., 2011). Эти методы абсолютно безопасны, не имеют противопоказаний и позволяют исследовать все слои стенки матки (Адамян и др., 2002; Баскаков и др. 2002). Информативность МРТ составляет 42-64% (Адамян Л.В., Кулаков В. и., 1998). МРТ диагностика аденомиоза основана на обнаружении толщины разделительной зоны «миометрий-эндометрий» 8-12 мм, отображающей локальную гиперплазию миоцитов, окружающих эндометриальные гетеротопии. В то же время, когда аденомиоз не сопровождается выраженной локальной гладкомышечной гиперплазией, что

возможно при ранних стадиях аденомиоза, данные МРТ неинформативны (Дамиров М.М., 2004; Brosens I.A. et al., 1995).

Кроме того, МРТ - дорогостоящий метод с ограниченной доступностью, что затрудняет его применение для ранней диагностики заболевания, когда его симптоматика отсутствует или слабовыражена. В настоящее время, по мнению многих авторов (Демидов В.Н., Хачатрян А.К., Гус А. и., 1997), выделены ведущие (основные) эхографические признаки заболевания, к которым относят:

- увеличение матки в основном за счет переднезаднего размера и ассиметричное утолщение одной из стенок;
- зоны повышенной эхогенности круглой или овальной формы в миометрии, анэхогенные участки или кистозные полости, содержащие мелкодисперсную взвесь;
- нечеткий контур полости матки (неравномерность толщины базального слоя эндометрия, его зазубренность);
- зоны повышенной эхогенности в миометрии, дающие линейные акустические тени;
- гиперэхогенные линейные структуры на границе эндометрия и миометрия.

Более четкая визуализация наблюдается на более поздних стадиях, когда уже можно обнаружить ультразвуковые критерии аденомиоза (Демидова В.Н. и др., 1996). Впервые для оценки активности аденомиоза предложили использовать данные доплерографии внутренней подвздошной и маточной артерии. У больных аденомиозом к особенностям периферического кровообращения, выявляемых доплерометрически, относят (Поморцев, Т.Б Астафьева О.В., Макухина А.В., 2002) сокращение амплитуды волновых колебаний во внутренних подвздошных и маточных артериях; достоверное возрастание сосудистой сопротивляемости внутренних подвздошных и маточных артерий, которые питают матку, по сравнению с показателями в норме; кроме того, меняется рисунок доплеровского сигнала, который отражается от внутренних подвздошных и маточных артерий: имеет место

появление дополнительного сглаженного зубца А, что способствует резкому увеличению длительности полупериода фазы систолы.

Показатели доплерометрических индексов периферической сосудистой резистентности сопротивления (пульсационного индекса) у пациентов с аденомиозом достоверно превышают ($p(0,05) - p(0,01)$). Эти же индексы у здоровых женщин в секреторной фазе менструального цикла на каждом уровне сосудистого русла матки, степень их увеличения коррелирует с уровнем распространенности аденомиоза (Макухина Т.Б, 2004).

Положительный вклад в диагностику внутриматочной патологии, в том числе и аденомиоза, внесло широкое внедрение в клиническую практику эндоскопического метода исследования - гистероскопии (Дамиров М.М., 2010). Точность диагностики аденомиоза при проведении гистероскопии колеблется в широких пределах от 32, 2% до 91, 4% (А. И. Ищенко, Е.А. Кудрина, 2008; Дамиров М.М., 2010; Г.М. Савельева и соавт., 1990) Указанные авторы считают, что аденомиоз - наиболее сложный для эндоскопической диагностики вид патологии, с большим количеством ложноположительных и ложноотрицательных результатов.

Гистероскопическая картина аденомиоза зависит от места расположения устьев эндометриoidных образований, степени поражения самого эндометрия, а также срока исследования (Вихляева Е.М., 2002). Оптимальным сроком для выявления аденомиоза считается 6-9-й дни менструального цикла (Ищенко А. И, Кудрина Е.А., 2008;. Вихляева Е.М, 2002). Выявление аденомиоза при проведении гистероскопии основывается на визуализации устьев эндометриoidных ходов в виде темно-красных точечных отверстий на фоне бледно-розового оттенка слизистой матки, из которых может выделяться темная кровь; расширение полости матки и ее деформация; петлистый, скалистый рисунок стенок матки (по типу «булыжной мостовой»); многочисленные расширения устьев желез по всем стенкам полости матки на фоне выраженного фиброза стромы миометрия (по типу «пчелиных сот») (Ищенко А. и., Кудрина Е.А., 2008; Вихляева Е.М., 2002; Дамиров М.М., 2010).

Перечисленные признаки у больных аденомиозом определяются либо диффузно по всем стенкам полости матки, либо на отдельных ее участках. В сомнительных случаях проводится прицельная биопсия миометрия под гистероскопическим контролем с последующим проведением электрогемостаза биопсированного участка (Ищенко А. и., Кудрина Е.А., 2008).

Подтверждая диагноз аденомиоза можно точно сказать о четком влиянии данного патологического процесса на состояния эндометрия, а именно – на рецептивность. Ряд работ свидетельствуют об изменении иммунореактивности и нарушении цитокинового баланса у больных аденомиозом на системном и местном уровне с избыточной активацией продукции провоспалительных цитокинов даже при ранних стадиях заболевания. При этом открытым остается вопрос гормоноопосредованной цитокиновой регуляции на начальных этапах репродуктивного процесса у данных пациентов, что и определило актуальность данного исследования. Интерес к нюансам гормоноопосредованной цитокиновой регуляции и к возможностям коррекции цитокинового баланса путем проведения предгравидарной подготовки к циклу ЭКО пациенток с ранними стадиями аденомиоза напрямую связан с клиническими запросами практического здравоохранения, в том числе и с повышением эффективности методик ВРТ у данных пациенток.

1.2.2. Основные направления в лечении аденомиоз-ассоциированного бесплодия

Согласно современным подходам, лечение аденомиоза должно преследовать несколько целей: устранение или «облегчение» клинических симптомов заболевания и восстановление репродуктивной функции пациенток. С целью фармакотерапии аденомиоза рекомендованы препараты: прогестины, агонисты гонадотропин-рилизинг-гормона (аГнРГ), левоноргестрелвыделяющая внутриматочная система и нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) (Johnson NP. et al, 2013). Учитывая необходимость длительного лечения, при выборе препарата необходимо иметь в виду их эффективность, безопасность

и переносимость. В настоящее время появились данные рандомизированного контролируемого исследования, свидетельствующие о лучшей эффективности прогестагенов с целью долгосрочной терапии эндометриоза (Casper RF., 2017).

Патогенетическое воздействие диеногеста.

Диеногест относится к прогестагенам четвертого поколения, сочетает в себе свойства производных 19-нортестостерона и прогестерона и, таким образом, характеризуется хорошей переносимостью, отсутствием негативных метаболических эффектов, высокой биодоступностью при приеме внутрь, обладает антиандрогенным и антипролиферативным эффектом, умеренным ингибирующим действием на секрецию гонадотропинов (Oettel M. et al., 1995; Klipping C. et al., 2010; Ищенко А. и., Кудрина Е.А., 2008). Воздействие диеногеста в первую очередь связано с индукцией состояния псевдодецидуализации с последующей блокадой пролиферации и атрофией очагов эндометриоза (Чернуха П.Е. 2012). Кроме того, диеногест воздействует на значительное количество звеньев патогенеза заболевания, а именно: ингибирует экспрессию ферментов ароматазы (фермента, благодаря которому в эндометриоидных очагах поддерживается локальная гиперэстрогения) и циклооксигеназы-2, снижает продукцию простагландинов, нарушает неоангиогенез и активирует апоптоз (Yamanaka K. et al, 2012; Miyashita M. et al., 2014).

Еще одним звеном патогенеза эндометриоза, на которое оказывает воздействие диеногест, является локальная резистентность к прогестерону в очаге, за счет которой также поддерживается гиперэстрогенный фон. Связан этот механизм с недостаточностью фермента 17-β-гидроксистероиддегидрогеназы, функция которого заключается в превращении наиболее активного эстрадиола в менее активный эстрон. В норме этот фермент активируется при взаимодействии прогестерона с прогестероновыми рецепторами типа В (ПР-В).

Однако в эндометриоидных очагах экспрессия ПР-В снижена, что, в свою очередь, обусловлено локальным повышением экспрессии прогестероновых рецепторов типа А (ПР-А). Хотя в настоящее время функции изоформ фермента

изучены недостаточно, известно, что ПР-А оказывает супрессивное воздействие на ПР-В (G R Attia et al., 2000). Зарубежные коллеги доказали способность диеногеста увеличивать экспрессию ПР-В в очагах эндометриоза, за счет чего также реализуется один из механизмов патогенетического воздействия на заболевание (Hayashi A. et al 2012); Grandi G. et al., 2017.

Также известно, что клетки эктопированных эндометриоидных очагов выделяют значительное количество цитокинов. Цитокины, в свою очередь, играют роль сигнальных молекул, которые способствуют пролиферации и дифференциации клеток в очаге эндометриоза. Кроме того, они сенситизируют периферические нервные окончания, что в том числе приводит к развитию и прогрессированию симптомов хронической тазовой боли у пациенток. Также в перитонеальной жидкости женщин с эндометриозом значительно повышено содержание фактора некроза опухоли- α (TNF α), который отражает степень прогрессирования заболевания и связанного с ним бесплодия, а также может способствовать злокачественной трансформации клеток в очаге. Исследованиями подтверждено снижение секреции интерлейкинов (IL) - IL-6, IL-8, а также TNF α на фоне лечения диеногестом, что отражается на его клинической эффективности (Grandi G. et al, 2016; Grandi G., Mueller M., 2016) Дополнительным аспектом патогенетической терапии эндометриоза диеногестом является его участие в ингибировании внутриклеточного сигнального пути PI3K/AKT/ mTOR (отвечает за рост и пролиферацию клеток), индукции аутофагии (способ утилизации ненужных клеток или органелл) и, как следствие, активации апоптоза эндометриоидных клеток в эктопированном очаге (Choi J. et al, 2015).

Авторы недавно проведенного проспективного когортного рандомизированного исследования, включавшего 198 участниц с диагностированным эндометриозом, показали равную эффективность гозерелина и диеногеста в отношении снижения выраженности болевых симптомов (хроническая тазовая боль, дисменорея) и профилактики рецидива заболевания. Многие исследователи сделали вывод о предпочтительном назначении

диеногеста с целью про-лонгированной терапии (более 6 месяцев), так как терапия агонистами ГнРГ сопряжена с гипоэстрогенными проявлениями, наиболее серьезным из которых является снижение показателя минеральной плотности костной ткани, и не может считаться оптимальной альтернативой с целью долгосрочного лечения аденомиоза (Takaesu Y. et al, 2016.).

Кроме того, показано, что супрессивная гормональная терапия на протяжении 3-6 месяца перед протоколом ЭКО дает возможность повышения эффективности протокола. При этом частота клинической беременности у пациенток, применяющих диеногест, была достоверно выше аналогичного показателя у пациенток без гормонального лечения и была выше такового у женщин, пользующихся аГнРГ. Вероятно, эффект диеногеста обуславливается не только его влиянием на эктопическую ткань: препарат может оказывать положительное воздействие на эутопический эндометрий.

В частности, (А. Hayashi и соавт. 2012) было доказано, что его применение позволяет увеличить соотношение PR-B/PR-A и снизить соотношение ER β /ER α , в результате чего снижается так называемая «прогестероновая резистентность» эндометрия, свойственная эндометриозу (Hayashi A., et al 2012). Возможно, это способствует обеспечению оптимальных условий образования «окна имплантации». Также вполне вероятно, что благодаря более «мягкому» режиму угнетения образования эстрадиола яичниками при помощи диеногеста в сравнении с аГнРГ обеспечиваются оптимальные условия кровоснабжения матки перед планированием беременности.

Довольно большая частота рецидивов эндометриоза, незначительная частота восстановления фертильности и побочные эффекты гормонального лечения вынудили некоторых ученых выработать качественно новые методы противорецидивного лечения эндометриоза. Один из таких методов представлен селективной иммунотерапией. Предполагаемый механизм, которым объясняется имплантация и прогрессивная пролиферация эктопического эндометрия, представлен иммунной дисрегуляцией (Parrott E., Buterworth M., et al., 2001; Devlieger R.D., Hooghe T., 2003). Благодаря расшифровке процессов клеточного

и гуморального иммунитета удалось установить и привести характеристику большого числа цитокинов, которые, как оказалось, выступают в роли неотъемлемых модуляторов иммунного ответа (Егорова В.Н., Попович А.М., 2004). Связываясь с особыми рецепторами на мембране клеток-мишеней, они воздействуют на процессы хемотаксиса, активации, дифференцировки и пролиферации клеток. Цитокины являются семейством пептидов, к которым примыкают ростовые факторы, факторы некроза опухолей, трансформирующие факторы роста, колониестимулирующие факторы, интерфероны, интерлейкины. Продукцию цитокинов клетки осуществляют, только если в организме присутствует антиген. Благодаря этому развивается иммунная реакция, охраняющая постоянную внутреннюю среду организма от всего, что является генетически чужеродным. В связи с этим неудивительно, что применение цитокинов как иммунных средств открывает множество перспектив для клиницистов (Сельков С.А., 2008).

Целесообразное применение разных иммуномодуляторов с целью восстановить функцию иммунной системы - одна из основных задач нынешней медицины. Препарат деринат способствует активизации процессов клеточного и гуморального иммунитета. Иммуномодулирующий эффект обуславливает стимуляция В-лимфоцитов, активация Т-хелперов. Деринат способствует активации неспецифической резистентности организма, оптимизации воспалительных реакций, и иммунному ответу на комплекс бактериальных, вирусных и грибковых антигенов. Способствует стимулированию репаративных и регенераторных процессов, повышению устойчивости организма к инфекциям, регуляции гемопоэза (нормализует число тромбоцитов, фагоцитов, гранулоцитов, лимфоцитов, лейкоцитов). Имея выраженную лимфотропность, Деринат способствует также стимулированию дренажно-детоксикационной функции лимфатической системы и значительному снижению чувствительности клеток к вредоносному воздействию химиотерапевтических средств и лучевой терапии. Препарат не обладает эмбриотоксическим, тератогенным и канцерогенным действиями, что дает нам возможность принимать в

предгравидарной подготовке. После применения дерината отмечена нормализация числа CD4-лимфоцитов, активности каталазы, концентрации IgM, IL-1 β , IL-16, IL-8, C3-, C4- и C5-компонентов системы комплемента, активности и интенсивности фагоцитоза нейтрофилов, коррекция концентрации TNF α , IL-2, IL-18, INF- γ , G-CSF, продуктов ПОЛ, кислород зависимой активности нейтрофилов и активности СОД.

Резюмируя приведенные данные литературы, можно сделать заключение о том, что основным резервом, повышения эффективности ЭКО у пациенток с аденомиозом является улучшение имплантационного фактора эндометрия. В связи с этим предгравидарная подготовка больных аденомиозом, в том числе ранних степеней, требует поиска новых комплексных подходов, охватывающих многообразие факторов, способствующих развитию заболевания. Современные представления о характере иммунных нарушений при аденомиозе, предположительно диктуют необходимость введения в комплекс предгравидарной подготовки пациенток к циклу ЭКО адекватной, патогенетически обоснованной, в том числе и иммуномодулирующей терапии.

ГЛАВА II. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Результаты проспективного этапа исследования пациенток с бесплодием и аденомиозом 1 степени

В соответствие с дизайном исследования нами были обследованы 226 пациенток с длительным бесплодием, проходивших лечение с применением ЭКО в отделениях вспомогательных репродуктивных технологий Базовой акушерско-гинекологической клиники ФГБОУ ВО КубГМУ г. Краснодара и клинике репродукции «Эмбрио» г. Краснодара. Особое внимание в клинико-анамнестических данных уделялось анализу параметров, снижающих результативность ЭКО, в том числе оказывающих отрицательное влияние на возможное количество получаемых ооцитов, качество эмбриона и имплантационный фактор эндометрия. К ним относятся возраст пациенток, особенности менструальной и репродуктивной функции, перенесенные гинекологические заболевания и оперативные вмешательства, хроническая соматическая патология. В результате обследования у 192 (84, 9%) был выявлен аденомиоз 1 степени. Из них 172 пациентки с бесплодием - ассоциированным с аденомиозом 1 степени (основная группа) приняли участие в данном исследовании; группой контроля послужили 45 практически здоровых женщин фертильного возраста, участвующих в программе «Суррогатное материнство».

2.1.1. Клиническая характеристика обследованных пациенток

Все обследованные женщины были в репродуктивном возрасте, который персонально варьировал от 27 до 35 лет и в среднем составил $31, 2 \pm 2, 8$ года, с $M_0=32$ года. Возраст пациенток контрольной группы составил $31, 1 \pm 2, 9$ лет, с $M_0=33$ года. Достоверных различий между возрастными данными у пациенток с бесплодием и контрольной группой не наблюдалось ($p > 0, 05$), что доказывает однородность обследуемых групп по этому признаку (табл. 1, рис. 2).

Росто-весовые показатели в когорте обследованных варьировали в достаточно широких пределах: вес от 48 до 82 кг, рост от 156 до 178 см, ИМТ от 19, 7 до 30, 4 кг/м². ИМТ выше 30, 0 кг/м², что соответствовало ожирению I степени, был у 15 пациенток (12 - основная группа, 3 - контрольная группа).

Таблица 1

Распределение пациенток по возрасту

Возрастной период	Основная группа, n=172		Контроль n=45	
	Абс.	%	Абс.	%
25-28	63	36, 6	16	35, 5
29-32	71	41, 2	19	42, 2
33-35	38	22, 1	10	22, 2

где символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контроле.

символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контроле.

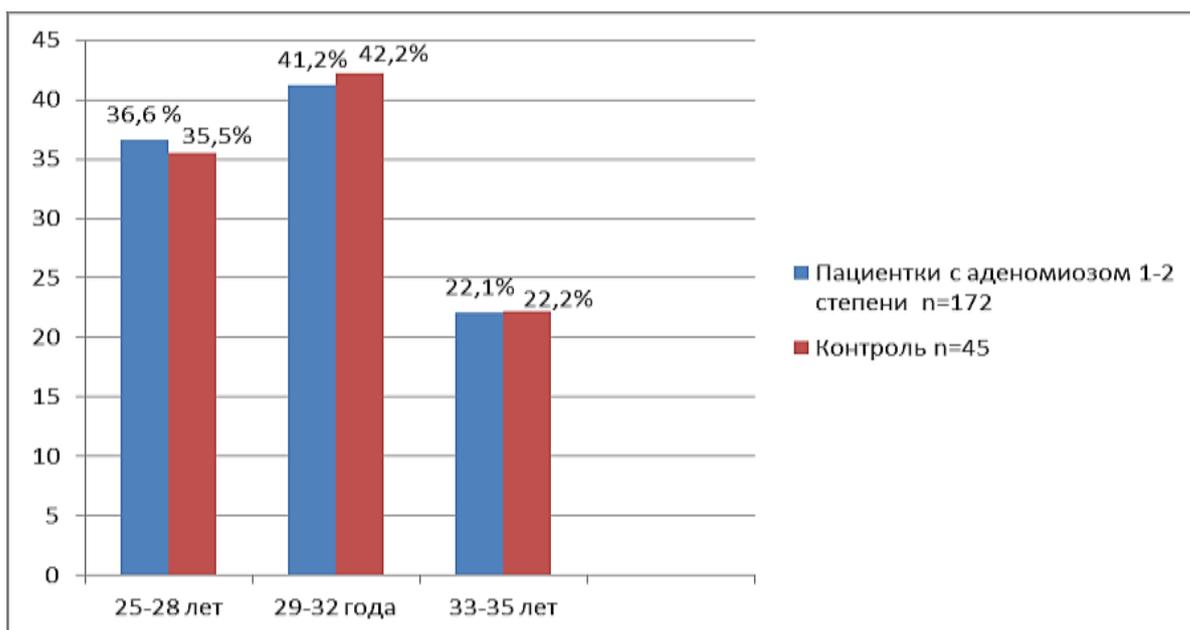


Рисунок 2. Распределение пациенток по возрасту.

У пациенток с аденомиозом 1 степени средний возраст менархе составил $13, 6 \pm 1, 2$ года, что достоверно не отличалось от аналогичного показателя группы контроля ($13, 4 \pm 1, 1$), $p > 0, 05$.

Параметры менструальной функции у обследуемых пациенток

Группы	Возраст менархе	Продолжительность менструального цикла	Длительность менструации
Основная группа, n=172	13, 6±1, 2	25, 7±3, 2*	6, 4±1, 2*
Контроль, n=45	13, 4±1, 1	28, 5±1, 2	4, 6±0, 7

где символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контроле.

При этом обращало на себя внимание, что продолжительность менструального цикла в основной группе составила 25, 7±3, 2 дня, что имело статистически значимое различие от пациенток контрольной группы - 28, 5±1, 2 дня ($p < 0, 05$).

Статистически значимое достоверное различие у пациенток с аденомиозом было выявлено и по длительности менструального кровотечения (основная группа - 6, 4±1, 2 дня, контроль - 4, 6±0, 7 дней) ($p < 0, 05$). Причем 72 (41, 8%) пациентки утверждали, что такая длительность менструального кровотечения у них наблюдалась с менархе.

Ведущим клиническим симптомом явилось бесплодие. Длительность бесплодия составила от 3 до 8 лет, составляя в среднем 5, 6±2, 2 года. Первичное бесплодие имело место у 108 (62, 0%) пациенток, вторичное - у 64 (37, 2%) пациентки (табл. 3, рис. 3).

Таблица 3

Факторы бесплодия у обследованных женщин с аденомиозом 1 степени

	Абсолютное количество пациенток	%
Первичное бесплодие	108	62, 0
Вторичное бесплодие	64	37, 2
Фактор бесплодия		
Аденомиоз 1 степени	149	86, 6
Аденомиоз 1 степени + трубно - перитонеальный фактор	23	13, 3

Изолированно, как возможная причина бесплодия, аденомиоз 1 степени был верифицирован у 149 (64, 5%) пациенток, у 23 (13, 3%) аденомиоз ранних степеней сочетался с трубно-перитонеальным фактором. Первая попытка ЭКО предстояла 126 (73, 3%) пациенткам, вторая - 46 (26, 7%) пациенткам. При этом диагноз аденомиоза у пациенток с отрицательной первой попыткой ЭКО ранее не был выставлен ни в одном случае.

Помимо бесплодия наиболее частой жалобой, которую предъявляли пациентки основной клинической группы была дисменорея (циклический патологический процесс, характеризующийся ноющими болями внизу живота за 2 - 5 дня до наступления менструации и выраженной болью в дни менструации). Дисменорея различной степени тяжести присутствовала у 167 (97%) пациенток с аденомиозом, тогда как в контрольной группе частота встречаемости составила всего 11, 1%, причем за счет дисменореи легкой степени.

Таблица 4

Клинические симптомы у пациенток с аденомиозом 1 степени

	Основная группа, n=172		Контрольная группа, n=45	
Дисменорея	167	97	5	11, 1
Кровомазание до и после менструации	96*	55, 8*	0	0
Кровомазание в середине менструального цикла	24*	13, 9*	0	0
Гиперменорея	145*	84, 3*	0	0
Бесплодие	172*	100*		

где: символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контроле.

символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контроле.

Следует отметить, что дисменорея является наиболее частой и иногда единственной предъявляемой жалобой при аденомиозе ранних степеней (Адамян Л.В., Сухих Г.Т. 2007; Адамян Л.В., Кулаков В. и., 2006; Сидорова И. С., Унанян А. Л., 2011)

Выраженность дисменореи обследуемыми пациентками отмечалась как легкая в 37, 8%, средней тяжести - 50, 6% и тяжелую степень дисменореи отметили 20 (11, 6%) пациенток основной клинической группы.

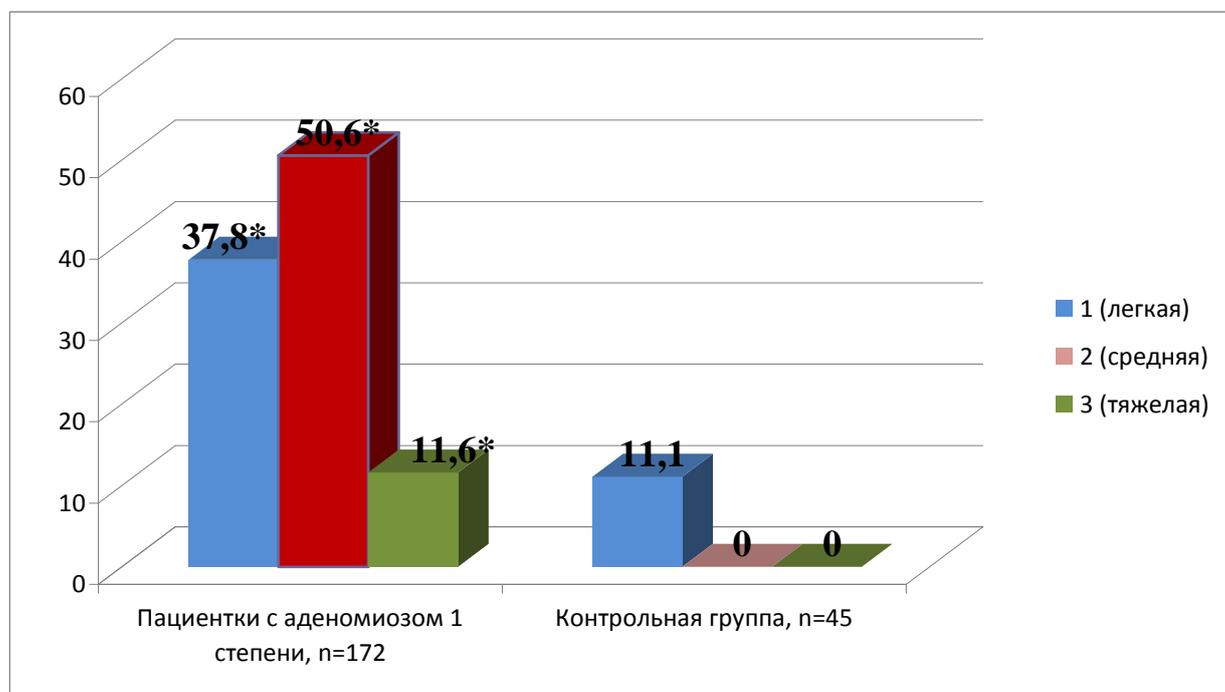


Рисунок 3. Выраженность дисменореи у пациенток с аденомиозом

Среди нарушений менструальной функции наиболее часто у пациенток основной группы была гиперменоррея - 145(84, 3%) пациенток. В сочетании с описанной ранее увеличенной длиной менструального кровотечения данный симптом вызывает анемизацию пациенток, что в дальнейшем было отмечено при описании соматической патологии.

Жалобы на кровомазание до и после менструации (незначительные кровянистые выделения) при подробном опросе предъявляли 24 (13, 9%) пациентки основной группы.

В целом мы обнаружили, что большинство вышеуказанных жалоб пациентки предъявляют лишь при тщательном опросе, так как большинство из них считают данную симптоматику нормальным проявлением менструального цикла.

Таким образом, у больных с ранними стадиями аденомиоза наиболее часто встречаются дисменорея, гипер- и полименоррея пред- и постменструальные кровомазания, неустойчивый, со склонностью к укорочению менструальный цикл. Полученные нами данные подтверждают известные сведения о том, что клиническая симптоматика ранних степеней аденомиоза малоспецифична и

часто не позволяет своевременно верифицировать заболевание (Адамян Л.В., Кулаков В. и., 2006; Радзинский В. Е. и соавтр. 2011; Адамян Л.В. и др., 2013). Однако, при наличии любой формы бесплодия, следует обращать внимание на эту скудную симптоматику и расширять диагностический поиск, так как доказано, что аденомиоз снижает возможности репродуктивного потенциала женщины и при проведении ВРТ может сказываться на его результативности (Судома И.А., 2005).

Анализируя соматический анамнез у пациенток основной группы, мы обратили внимание на высокую (164 (95, 3%) больных), статистически значимо отличающуюся от группы контроля (25 (55, 5 %) женщин) встречаемость перенесенных детских инфекций (ветряная оспа, краснуха, эпидемический паротит) ($p < 0, 05$). Хронический тонзиллит или аденоиды в периоде адренархе и пубертатном периоде отмечали 112 (65, 1%) пациенток, хронический гайморит - 31 (18, 0%) пациентка, тогда как в группе контроля данные заболевания имели статистически значимо меньшую встречаемость - 5 (11, 1%) и 2 (4, 4%) пациентки соответственно) ($p < 0, 05$). В целом отмечено увеличение частоты возникновения острых респираторных заболеваний у пациенток с аденомиозом по сравнению с группой контроля, как в детстве, так и во взрослом возрасте. Обращает на себя внимание более значимая частота встречаемости вегетососудистых дистоний в препубертатном и постпубертатном периоде у пациенток с аденомиозом по сравнению с контрольной группой (50, 0%, против 13, 3%) ($p < 0, 05$). Аппендэктомия в детском возрасте перенесли 37 (13, 3%) пациенток основной группы, тогда как в группе данная операция отмечена всего лишь в 5% случаев и, чаще - уже после становления менструальной и репродуктивной функции.

Как уже упоминалось выше, среди соматических заболеваний у пациенток с аденомиозом преобладали железодефицитные анемии (ЖДА) - 156 пациенток (90, 6%). Причем в 3-х (1, 7%) случаях была выявлена анемия 2 степени, в связи с чем была проведено дополнительное обследование у гематолога и интенсивное

лечение ЖДА, прежде чем включить пациенток в цикл предгравидарной подготовки к ЭКО.

Таблица 5

Структура основных экстрагенитальных заболеваний в когорте обследуемых

Экстрагенитальные заболевания	Основная группа, n=172		Контрольная группа, n=45	
	Абс.	%	Абс.	%
Анемия	156*	90, 6*	2	4, 4
ВСД	102*	59, 3*	8	17, 7
Хронический гастрит	78*	45, 3*	6	13, 3
Хронический холецистит, ЖКБ	16*	9, 3*	2	4, 4
Ожирение	12*	6, 9*	3	6, 6
Гипотиреоз	5*	2, 9*	0	0
Хронический пиелонефрит	5*	2, 9*	0	0
Сахарный диабет II типа	3*	1, 7*	0	0

где: символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контроле.

символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контроле.

На втором месте по встречаемости выявлена вегето-сосудистая дистония (ВСД) (102 - 59, 3%), в основном по кардиальному и гипотоническому типу. На третьем - патологии органов желудочно-кишечного тракта (45, 3%) и гепато-билиарного комплекса, которые имели место у 9, 3% больных с аденомиозом. Ожирение 1 степени отмечалось у 6, 9% пациенток. Гипотиреоз и сахарный диабет в основной группе были выявлены в единичных случаях, имели малую степень выраженности и встречались у 2, 9 и 1, 7% пациенток соответственно (рис 4.).

При сборе репродуктивного анамнеза у пациенток основной группы установлено, что лишь 32 (18, 6%) из них имели своевременные роды, тогда как в контрольной группе роды отмечены у всех женщин - у 45 (100%), (р 0, 05). Внематочная беременность в анамнезе присутствовала у 46 (26, 7%) пациенток основной группы, и лишь у 2-х (4, 4%) в контрольной группе.

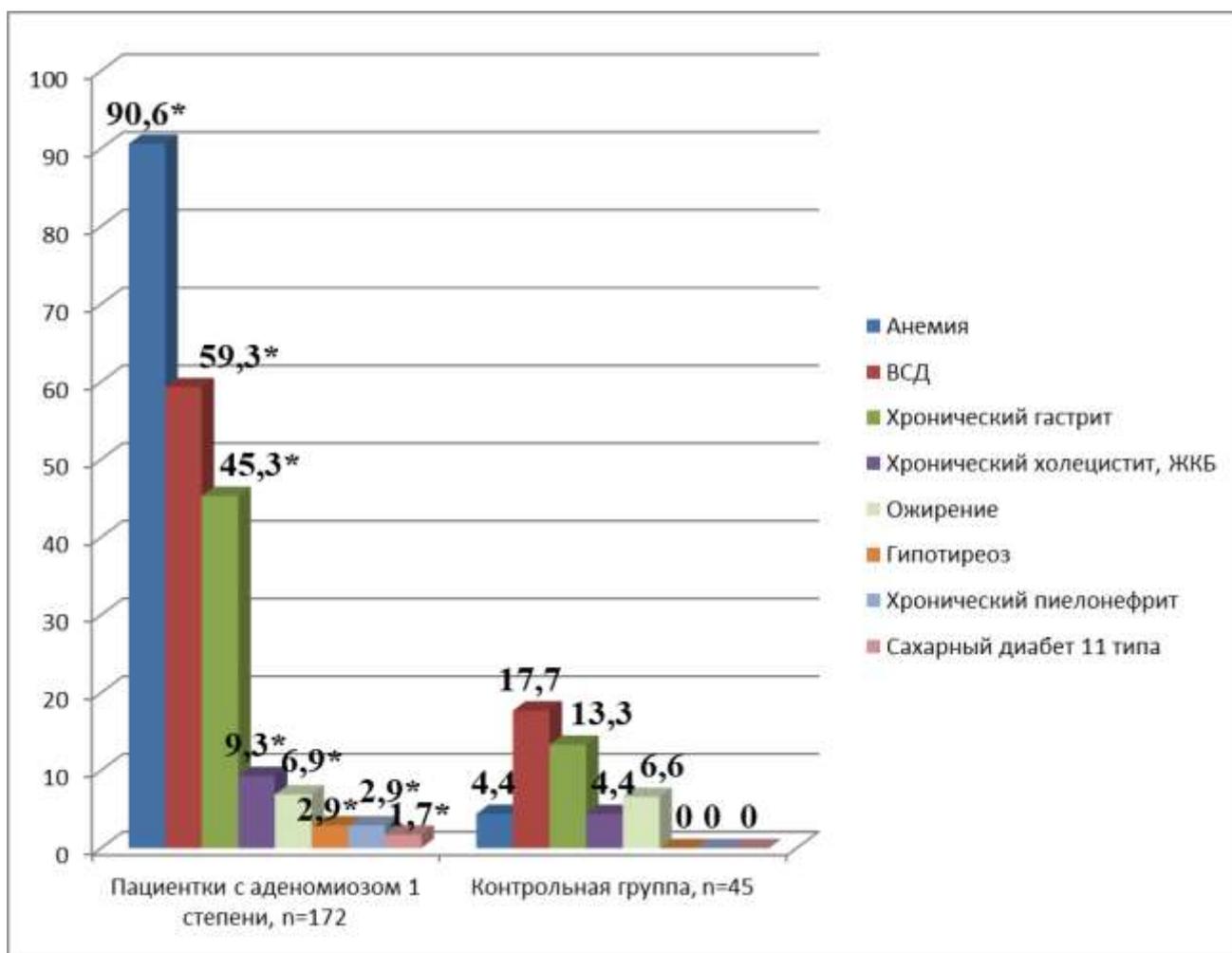


Рисунок 4. Структура основных экстрагенитальных заболеваний в когорте обследуемых

Таблиц 6

Репродуктивный анамнез у пациенток с бесплодием, ассоциированным с аденомиозом 1 степени

	Основная группа, n=172		Контрольная группа, n=45	
Внематочная беременность	46*	26,7*	2	4,4
Артифициальные аборты	34*	19,7*	5	11,1
Самопроизвольный выкидыш/замершая беременность	16*	9,3*	1	2,2
Преждевременные роды	2*	11,6*	0	0
Срочные роды	32*	18,6*	45	100

где символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контроле.

Артифициальные аборты достоверно чаще отмечены в анамнезе пациенток основной группы - 34 (19,7%) и 5 (11,1%), ($p < 0,05$). А также выявлены

достоверные различия между группами в частоте неразвивающейся беременности или самопроизвольного выкидыша - 16 (9, 3%) и 1 (2, 2%), соответственно, $p < 0,05$.

Таблица 7

Частота перенесенных основных гинекологических заболеваний у пациенток
аденомиозом

Гинекологические заболевания	Основная группа, n=172		Контрольная группа, n=45	
	Абс.	%	Абс.	%
Кандидозный кольпит	42	24,4	11	24,4
Бактериальный вагиноз	94*	54,6	6	13,3
Трихомоноз	14*	8,1	2	4,4
Хламидиоз	23*	13,3	1	2,2
Гиперпластические процессы эндометрия	28*	16,2	0	0
Хронический эндометрит и (или) сальпингоофорит	86*	50	4	8,8
Нарушения менструально- овариального цикла	59	34,3	0	0
Патология шейки матки	97*	56,3	12	26,6
Опухоли и опухолевидные образования яичников	43*	25	1	2,2

где: символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контроле.

символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контроле.

В гинекологическом анамнезе у пациенток основной группы бактериальные вагинозы встречались чаще в 5 раз, трихомоноз - в 2 раза, хламидиоз - в 7 раз чаще, чем у пациенток контрольной группы. В равной доле пациенток основной и контрольных групп наблюдались только кандидозные кольпиты (табл. 7, рис. 5.). Все пациентки получали соответствующее лечение с обязательным контролем излеченности методами ПЦР и бактериальными исследованиями.

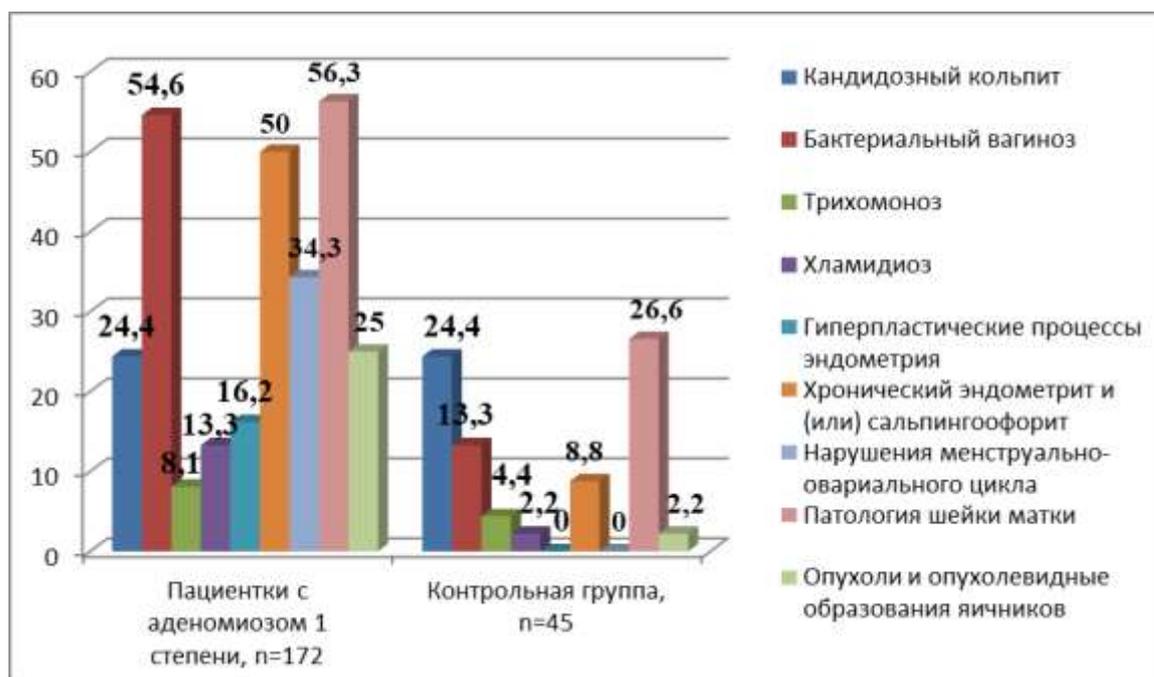


Рисунок 5. Частота перенесенных основных гинекологических заболеваний у пациенток с аденомиозом

Хронические воспалительные заболеваний женских половых органов (хронический метроэндометрит и/или сальпингоофорит) в анамнезе выявлены у 86 (50%) пациенток основной группы. Но при этом основной ведущей клиникой воспалительного процесса у 61 (70, 9%) пациентки был болевой синдром, в то время как в посевах из цервикального канала присутствовала лишь условно-патогенная флора в невысоких титрах, то есть противовоспалительная и антибактериальная терапия проводилась практически *ex juvantibus*. Патология шейки матки (эктопии, эктропион, лейкоплакии) в анамнезе наблюдалась у 97 (56, 3%) женщин с аденомиозом (контроль - 26, 6%). В качестве лечения использовалась диатермокоагуляция шейки, криодеструкция и лазеровапоризация. Ювенильные кровотечения, требовавшие лечебных мероприятий (гормонотерапия, витаминотерапия, ФТЛ), отмечались в анамнезе у 22 (12, 7%) пациенток основной группы. Гиперпластические процессы в анамнезе (простая гиперплазия или полип эндометрия выявлены у 28 (16, 2%) пациенток основной группы, в анамнезе у пациенток контрольной группы данная патология не встречалась.

Перенесенные оперативные вмешательства на органах малого таза

Оперативные вмешательства	Основная группа, n=172		Контрольная группа, n=45	
	Абс.	%	Абс.	%
Гистероскопия	172	100	0	0
Диагностическая лапароскопия	172	100	0	0
Тубэктомия односторонняя	17	9,8	0	0
Тубэктомия двусторонняя	4	2,3	0	0
Пластика маточной трубы	2	1,2	1	2,2
Фимбриальная эвакуация	2	1,2	1	2,2
Операции на яичниках	43	25	0	0

где: символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контроле.

По поводу трубной беременности ранее были прооперированы (лапароскопическим доступом) 23 (13, 3%) пациентки основной группы. Операции на придатках (ушивание или коагуляция яичника по поводу апоплексии яичника или энуклеация ретенционных кист яичника) была проведена 43 (25%) пациенткам с аденомиозом.

Таким образом, при сборе гинекологического анамнеза, выявлена статистически достоверно увеличенная частота гинекологических заболеваний у пациенток основной группы.

При проведении объективного осмотра и бимануального влагалищного исследования все пациентки имели оволосение по женскому типу, ни в одном случае не было выявлено воспалительных процессов влагалища и патологии шейки матки, что подтверждено микроскопическим исследованием мазков отделяемого из цервикального канала и влагалища. На момент исследования у всех пациенток основной и контрольной группы определялся нормоценоз влагалища согласно общепринятым критериям.

У 27 (15, 6%) пациенток основной и у 3 (6, 6%) пациенток контрольной группы при гинекологическом осмотре была выявлена фоновая патология шейки матки; эктопия цилиндрического эпителия у 14 (8, 1%) больных; лейкоплакия – у 6 (3.4%); посттравматическая деформация шейки матки - у 7 (4, 05%). Данным

пациенткам в процессе настоящего исследования была проведена радиотерапия с помощью электрохирургического высокочастотного радиоволнового ножа ЭХВЧ-80-03 ФОТЕК. При проведении гинекологического осмотра особое внимание уделялось оценке величины, формы и консистенции матки в динамике менструального цикла, болезненности при пальпации. Форма матки приближалась к шаровидной во 2-й фазе менструального цикла практически у всех пациенток основной группы, консистенция чаще оценивалась как плотная, безболезненная или чувствительная при пальпации. При определении размеров у 32 (18, 6%) пациенток с аденомиозом матка была увеличена до 5 недель беременности. При пальпации придатков у 112 (65, 1%) пациенток основной группы патологии выявлено не было, у 60 (34, 8%) было выявлено тяжистость и смещение позиции придатков, что косвенно указывало на наличие спаечного процесса в малом тазу.

2.1.2. Результаты лабораторной и инструментальной диагностики в исследуемых группах

При проведении стандартных лабораторных исследований более чем у половины пациенток – у 102 (59, 3%) выявлена железодефицитная анемия 1 степени, несмотря на то, что по данным анамнеза противоанемическая терапия с применением препаратов железа им проводилась на первичном амбулаторном этапе. Данные остальных стандартных общеклинических лабораторных анализов, взятых у пациенток согласно приказу от 30 августа 2012 г. N 107н (общий анализ мочи, биохимический анализ крови, коагулограмма) у пациенток с бесплодием и аденомиозом 1 степеней были в пределах физиологической нормы, достоверно не отличались от группы контроля.

2.1.2.1 Гормональный профиль и оценка параметров овариального резерва

Исследование репродуктивных гормонов в периферической крови проводилось на 2-3 день цикла и 19-21 день цикла у всех пациенток основной группы и у группы контроля (Табл. 9). С целью оценки фолликулярного резерва у всех пациенток основной и контрольной групп определялся уровень антимюллера гормона на 2-3 день менструального цикла.

Таблица 9

Концентрация гонадотропных и стероидных гормонов в периферической крови у пациенток основной и контрольной групп на 2-3-й день менструального цикла
(M±m)

Показатель	Основная группа, n=172	Контрольная группа, n=45
ЛГ, МЕ/л	8, 21±1, 8*	6, 2±1, 2*
ФСГ, МЕ/л	8, 89±1, 5*	5, 13±1, 1*
Эстрадиол, пмоль/л	295, 4±17, 4	283, 6±78, 7
Прогестерон, нмоль/л	2, 61±0, 3	2, 48±0, 3
АМГ, нг/мл	5, 5±1, 2	5, 6±1, 8

где: символ «*» соответствует статистически значимому различию средних значений показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контрольной группе

Исследование гормонального профиля показало, что у пациенток основной и контрольной групп репродуктивный гормональный статус по всем параметрам соответствовал нормальным референсным промежуткам, определяемым при нормоэстрогеновом овуляторном менструальном цикле с полноценной второй фазой. Однако отклонения внутри групп были достаточны для того, чтобы выявить некоторые изменения в гормональном профиле у пациенток с аденомиозом.

Результаты определения белковых и стероидных гормонов на 3-5-й день менструального цикла свидетельствуют о достоверном повышении базальных уровней ЛГ и ФСГ при аденомиозе 1 степени (ЛГ - 8, 21±1, 8 МЕ/л и ФСГ - 8, 89±1, 5 МЕ/л), против группы контроля (ЛГ - 6, 2±1, 2 МЕ/л, ФСГ - 5, 13±1,

1МЕ/л) и для обоих показателей $p < 0,05$. Базальные уровни эстрадиола, прогестерона в первую фазу цикла статистически значимо не отличались от группы контроля ($p > 0,05$).

Таблица 10

Концентрация гонадотропных и стероидных гормонов в периферической крови у пациенток основной и контрольной групп на 19-21-й день менструального цикла
($M \pm m$)

Показатель	Основная группа, n=172	Контрольная группа, n=45
Эстрадиол, пмоль/л	602, 6 \pm 123, 5	585, 4 \pm 98, 2
Прогестерон, нмоль/л	25, 1 \pm 2, 7*	33, 2 \pm 2, 1
Э/П, у.е	24, 1 \pm 3, 2*	17, 6 \pm 1, 2

где: символ «*» соответствует статистически значимому различию средних значений показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контрольной группе.

На 19-21 день менструального цикла выявлено достоверное снижение уровня прогестерона у пациенток с аденомиозом относительно группы контроля (основная группа - 25, 1 \pm 2, 7 нмоль/л, 33, 2 \pm 2, 1 нмоль/л в контроле), $p < 0,05$, при этом уровень прогестерона оставался в пределах нормального референсного промежутка для пациенток репродуктивного возраста. Наиболее показательную относительную гиперэстрогению на 19-21 день цикла у пациенток с аденомиозом демонстрировал показатель отношения уровня эстрогена к уровню прогестерона (Э/П), который был статистически значимо выше в основной группе (24, 1 \pm 3, 2 против 17, 6 \pm 1, 2 в группе контроля).

На сегодняшний день определение овариального резерва путем измерения АМГ (антимюллеров гормон) в сыворотке крови женщины является наиболее клинически значимым параметром. У обследуемых пациенток основной и контрольной групп уровень АМГ находился в пределах нормального референсного промежутка, достоверно по группам не отличался и составил 5, 5 \pm 1, 2 нг/мл у пациенток с аденомиозом и 5, 6 \pm 1, 8 нг/мл у пациенток группы контроля ($p > 0,05$).

2.1.2.2. Результаты ультразвукового исследования

Ультразвуковое исследование с применением ЦДК у всех обследуемых пациенток позволило оценить размеры и структурные особенности стенок и полости матки, толщину функционального слоя эндометрия, наличие овуляции и динамику функции яичников, а также выявить кровотоки у пациенток с бесплодием, ассоциированным с аденомиозом 1-й степеней. Исследование проводилось последовательно на 7-8 день менструального цикла, в дни предполагаемой овуляции, определяемой по мочевому тесту и на 19-21 день менструального цикла.

Таблица 11

Размеры матки и ее структурных элементов в динамике менструального цикла сравнительно по группам

Параметры	Основная группа, n=172		Контрольная группа, n=45	
	7-8 дц	19-21 дц	7-8 дц	19-21 дц
Длина тела матки, мм	53±1, 3	54±2, 1	52±1, 2	53±1, 4
Переднезадний размер, мм	38±1, 4	44±2, 1*	38±1, 2	40±1, 3
Ширина, мм	51±1, 1	56±1, 5*	51±1, 2	52±1, 2
Объем матки, см ³ V = [(a+b+c) ³ /60, 79]	53, 7±1, 3	66, 1±1, 3*	52, 71±1, 2	57, 6±1, 4
Толщина эндометрия	6, 2±0, 9*	10, 2±2, 6*	9, 4±1, 3	13, 3±1, 67

где: символ «*» соответствует статистически значимому различию средних значений показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контрольной группе.

Ультразвуковые данные у пациенток с бесплодием, ассоциированным с аденомиозом, представлены в таблице 11. При эхографии у всех пациенток была обнаружена визуализация переходной зоны более 5 мм, у 156 (96, 7%) - на 19-21 день цикла матка приобретала более округлую форму, хотя увеличение размера

матки до 4-5 недель беременности обнаруживалось лишь у 38 (22, 1%) пациенток. (рис. 6)

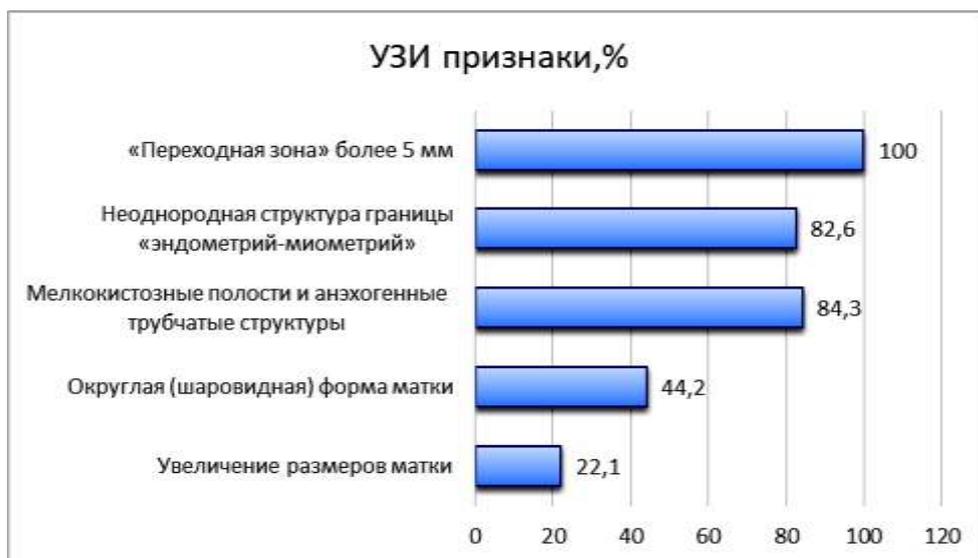


Рисунок 6. Эхографические признаки аденомиоза в основной клинической группе

Мелкокистозные образования округлой форм и трубчатые анэхогенные структуры в миометрии и переходной зоне размерами от 2 до 4 мм встречались у 145 (84, 3%) пациенток, неоднородность структуры границы «эндометрий-миометрий» наблюдалась у 143 (82, 6%) пациенток.

Таблица 12

Эхографические признаки аденомиоза в основной клинической группе

Группы	Основная группа, n=172	
	Абс.	%
Увеличение размеров матки	38	22, 1
Округлая (шаровидная) форма матки	76	44, 2
Мелкокистозные полости и анэхогенные трубчатые структуры	145	84, 3
Неоднородная структура границы «эндометрий-миометрий»	143	82, 6
«Переходная зона» более 5 мм	172	100

При проведении биометрии матки осуществлялось цветное доплеровское картирование с последующей качественной оценкой кривых скоростей кровотока в маточной артерии.

Выявлено, что у всех пациенток с аденомиозом наблюдался высокорезистентный кровоток в маточной артерии, гемодинамические

показатели статистически значимо ($p < 0,05$) превышали соответствующие значения у пациенток группы контроля. (табл. 13).

Таблица 13

Показатели гемодинамики в маточной артерии у пациенток с аденомиозом 1 по сравнению с группой контроля

Показатели гемодинамики	Основная группа, n=172	Контрольная группа, n=45
R med маточных артерии	9,5±0,01*	7,9±0,01
IR med маточных артерии	0,95±0,04*	0,85±0,04
PI маточных артерий	3,42±0,01*	2,95±0,01

где: символ «*» соответствует статистически значимому различию средних значений показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контрольной группе.

Таблица 14

Размеры яичников и ее структурных элементов в динамике менструального цикла сравнительно по группам

Параметры	Основная группа, n=172		Контрольная группа, n=45	
	Абс.	%	Абс.	%
Наличие доминантного фолликула	156	90,6	44	97,7
Наличие УЗИ признаков овуляции	146	84,9	42	93,3
Наличие желтого тела	172	100	45	100
Объем яичников, см ³	7,4±1,1		8,1±1,6	

где: символ «*» соответствует статистически значимому различию средних значений показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контрольной группе.

При ультразвуковом исследовании структуры и функции яичников выраженных статистических изменений у пациенток относительно группы контроля выявлено не было. Размеры и объем яичников соответствовали стандартным данным 7,4±1,1 см³ - пациентки с аденомиозом, 8,1±1,6 см³ - контроль. В исследуемом менструальном цикле наличие доминантного фолликула, желтого тела и ультразвуковых признаков овуляции было выявлено практически у 100% пациенток как в основной, так и в контрольной группах.

Таким образом, данные УЗИ у пациенток основной группы соответствовали общепризнанным критериям наличия аденомиоза 1-й степени. При этом присутствовал высокорезистентный кровоток в маточной артерии, что согласно последним литературным данным также является диагностическим маркером наличия аденомиоза (Поморцев А.В. и др., 2015)

2.1.2.3. Результаты гистероскопии

С целью уточнения диагноза всем пациенткам с клиническими признаками аденомиоза проводилась гистероскопия с отдельным диагностическим выскабливанием матки (при подозрении на гиперпластический процесс) или цуг-биопсией эндометрия.

У всех пациенток определялись малые гистероскопические критерии аденомиоза (Савельева Г.М. и соавт., 2001г., Дамиров М.М., 2002 г; Дамиров М.М., 2004. - 316 с; Бреусенко В.Г., Савельева Г.М., Каппушева Л.М., 2015г.) изолированно или в различных сочетаниях. У 154 (89, 5%) пациенток визуализировались эндометриоидные ходы в виде открытых кровотокащих «глазков», неровный рельеф стенок выявлен у 62 (36, 1%) пациенток.

Таблица 15

Гистероскопические критерии аденомиоза, определяемые
у пациенток основной группы

Критерии	Основная группа, n=172	
	Абс.	%
Неровный рельеф стенок матки	62	36, 1
Открытые и закрытые устья эндометриоидных ходов «глазки»	154	89, 5

При гистологическом исследовании материал, полученный в результате отдельного выскабливания матки или биопсии эндометрия, пролиферативный

тип эндометрия (ранняя пролиферация) верифицирован у 98, 8% пациенток, у 6 (3, 5%) выявлены фоновые гиперпластические процессы.

Таблица 16

**Результаты гистологического исследования эндометрия
у пациенток с аденомиозом**

Данные гистологического исследования	Основная группа, n=172	
	Абс.	%
Пролиферативный тип эндометрия (ранняя пролиферация)	170	98, 8
Неатипическая (простая) гиперплазия эндометрия	2	1, 2
Железистый (железисто-фиброзный) эндометриальный полип	4	2, 3

2.1.2.4. Результаты магнитно-резонансной томографии

МРТ в диагностике аденомиоза обладает высокими возможностями, так как удается наиболее четко выявить характерные для аденомиоза изменения, но его высокая стоимость и труднодоступность не позволяют использовать его в качестве метода скрининга. Мы провели данное исследование, учитывая, что нашим пациенткам с бесплодием, ассоциированным с аденомиозом, предстояло ЭКО.

Первая степень распространенности аденомиоза:

- утолщение переходной зоны эндометрий-миометрий до 0, 5 см и более, неравномерное на разных участках матки, «зазубренность» переходной зоны;
- трубчатые образования и/или кистозные полости в переходной зоне диаметром до 2 мм, направленные к миометрию;
- в миометрии отдельные мелких очаги или зоны неоднородной структуры, мелкие кисты, расположенные непосредственно у переходной зоны, без четких контуров.

МРТ критерии, выявленные у пациенток с аденомиозом

Критерии	Основная группа, n=172	
	Абс.	%
Утолщение переходной зоны эндометрий-миометрий более 0, 5 см	172	100
Трубчатые образования и/или кистозные полости в переходной зоне диаметром до 2 мм и более, направленные к миометрию;	145	84, 3
Отдельные мелких очаги или зоны неоднородной структуры в миометрии, мелкие кисты без четких контуров, расположенные непосредственно у переходной зоны	172	100

МРТ проводили в I фазе менструального цикла при не полностью опорожненном мочевом пузыре и очищенной толстой кишке. В основной группе у всех пациенток было выявлено утолщение переходной зоны эндометрий-миометрий более 0, 5 см и отдельные мелкие очаги или зоны неоднородной структуры в миометрии, мелкие кисты без четких контуров, расположенные непосредственно у переходной зоны. При этом на T2-взвешенных изображениях аденомиоз во всех случаях характеризовался наличием гетерогенного утолщения зоны «соединения» между эндо- и миометрием, то есть зоны сигнала низкой интенсивности перемежались с зонами высокой интенсивности. У 84, 3% имелись трубчатые образования и/или кистозные полости в переходной зоне диаметром до 2 мм и более направленные к миометрию.

Использование предлагаемых МРТ-признаков позволило нам с высокой достоверностью верифицировать аденомиоз 1 степени и, естественно, его следует считать итоговым, уточняющим компонентом инструментальной диагностики у пациенток с подозрением на аденомиоз, готовящихся к программе ЭКО.

Таким образом, у пациенток с аденомиозом 1 степени репродуктивного возраста преобладают следующие клинические признаки: статистически

значимое укорочение менструального цикла и увеличение длительности менструального кровотечения с момента менархе (25, 7±3, 2 дня, контроль - 28, 5±1, 2 дня, 6, 4±1, 2 дня, контроль - 4, 6±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 озвучивались пациентками только при нацеленном опросе.

В соматическом анамнезе у пациенток с аденомиозом выявлена высокая (95, 3% больных), статистически значимо отличающаяся от группы контроля встречаемость перенесенных детских инфекций и адено tonsиллита (65, 1% пациенток) и острых респираторных заболеваний ($p < 0, 05$).

Среди соматических заболеваний у пациенток с аденомиозом статистически значимые отличия от группы контроля наблюдались по группе железодефицитной анемии (90, 6), НЦД (59, 3%), патологии органов желудочно-кишечного тракта (45, 3%) и гепато-билиарного комплекса, которые имели место 9, 3% больных с аденомиозом, ($p < 0, 05$).

В акушерском анамнезе достоверно чаще отмечены искусственные аборты ($p < 0, 05$), замершая беременность и самопроизвольный выкидыш (9, 3%), $p < 0, 05$.

При сборе гинекологического анамнеза у пациенток основной группы преобладала статистически достоверно увеличенная частота следующих гинекологических заболеваний: хронический метроэндометрит и/или сальпингоофорит (50% пациенток), дисбиозы и ИППП (70, 9% пациенток), нарушения менструально-овариального цикла и гиперпластические процессы эндометрия (44, 4% пациенток). В целом, гинекологическая патология у пациенток основной группы в анамнезе встречалась значительно чаще, чем у группы контроля, ($p < 0, 05$). Однако отмечено, что основной ведущей клиникой воспалительного процесса у 70, 9% пациенток был болевой синдром, противовоспалительная и антибактериальная терапия проводилась *ex juvantibus*.

При исследовании гормонального профиля и показателей овариального резерва (АМГ) у пациенток с аденомиозом нами не было выявлено статистически значимых отличий от стандартных референсных промежутков, определяемых при нормоэстрогеновом овуляторном менструальном цикле с полноценной второй фазой. Однако обращала на себя внимание относительная гиперэстрогения во второй фазе менструального цикла, определяемая отношением уровня эстрогенов к прогестерону ($24, 1 \pm 3, 2$ - основная группа, $17, 6 \pm 1, 2$ - контроль, $p < 0, 05$), что обосновывает целесообразность предгравидарной подготовки прогестагенами к циклу ЭКО у данных пациенток.

Таким образом, верификация диагноза «аденомиоз» проведена расширенными инструментальными исследованиями, в ходе которых выявлено наличие ультразвуковых признаков аденомиоза. Так у всех пациенток была обнаружена ячеистость миометрия и визуализация переходной зоны более 5 мм, у (96, 7%) - на 19-21 день цикла матка приобретала более округлую форму у большинства (84, 3%) больных, определялись мелкокистозные и трубчатые структуры в миометрии и переходной зоне пациенток и неоднородность структуры границы «эндометрий-миометрий» - 82, 6% пациенток. 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-диагностики, при этом у части больных, особенно с аденомиозом 1 степени, выявлялись дополнительные верификационные критерии патологического процесса, не визуализируемые при УЗИ.

Результаты гистероскопии были относительно малоинформативны, так как основным критерием, выявляемым у пациенток с аденомиозом ранних степеней были открытые кровотокащие «глазки» и темно-синюшные «глазки», выявляемые у большинства пациенток, что весьма неспецифично и имеет малую верификационную значимость.

Резюмируя вышеизложенное, мы пришли к выводу, что у пациенток с бесплодием, тем более с неудачными попытками в анамнезе, в обязательном

порядке требуется исключение или подтверждение аденомиоза ранних степеней, требуется тщательный сбор анамнеза и жалоб пациенток, применение расширенного протокола УЗИ с обязательным введением в него доплерометрии маточных сосудов и МРТ органов малого таза.

2.2. Исходная рецептивность эндометрия и цитокиновые профили периферической крови и цервикальной слизи пациенток с аденомиозом 1 степени

2.2.1. Морфологическая характеристика пайпель-биоптатов эндометрия

Морфологический анализ пайпель-биоптатов эндометрия показал, что в «окно nidации» у всех пациенток 1 и 2 групп наблюдалась секреторная трансформация эндометрия. При этом в контрольной группе, в большинстве случаев (86, 6%) биоптатов эндометрия находились в средней стадии фазы секреции менструального цикла, что соответствует нормальному морфологическому состоянию «окна имплантации». У 6 (13, 3%) пациенток эндометрий соответствовал ранней стадии секреции, поздняя фаза секреции не наблюдалась ни у одной пациентки.

У пациенток 1 и 2 групп при отсутствии межгрупповых различий наблюдалось статистически значимое увеличение пациенток, чей эндометрий находился в ранней фазе секреции в момент предполагаемого «окна nidации» (49, 3% и 50% соответственно). И лишь 1/3 пациенток имели среднюю фазу секреции. Обращало на себя внимание, что при аденомиозе ранних степеней эндометрий у 20, 5% женщин 1 группы и у 18, 4% женщин второй группы имел морфологическую структуру, характерную для фазы поздней секреции (наблюдались пикнотические изменения ядер клеток железистого эпителия, стаз в спиральных артериолах, а также наличие большого количества лимфоцитов, полиморфно-ядерных лейкоцитов (ПМЯЛ) и эндометриальных стромальных

гранулоцитов). При этом в контрольной группе пациенток с фазой поздней секреции такого не наблюдалось.

Таблица 18

Результаты морфологического исследования в эндометрии у пациенток с аденомиозом.

Результаты морфологического исследования эндометрия	1 группа, n=73		2 группа, n=76		4 группа, n=45	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Ранняя фаза секреции	36*	49,3	38*	50	6	13,3
Средняя фаза секреции	22*	30,1	24*	31,6	39	86,6
Поздняя фаза секреции	15*	20,5	14*	18,4	0	0

где символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контроле, $p < 0,05$

Известно, что формирование имплантационного окна эндометрия характеризуется выраженными ультраструктурными изменениями эндометриальных эпителиальных клеток, в том числе, определяющим является формирование на апикальной поверхности клеток куполоподобных выпячиваний - пиноподии и этот процесс связан с периодом максимальной рецепторной активности эндометрия.

Результаты морфологического исследования с определением преобладания той или иной стадии развития пиноподий эндометрия показали, что в 4 группе (контроль) преобладали пациентки с превалированием (40-60% клеток) в пайпель-биоптате развитых пиноподий - 42 (93,3%). У пациенток 1 и 2 клинических групп в эндометрии преобладали развивающиеся пиноподии 56 и 54 (76,7% и 71,1%), тогда как зрелые развитые пиноподии в превалирующем количестве визуализировались у 27 (36,9%) пациенток 1 группы и 26 (34,2%) 2 группы.

Обращало на себя внимание то, что при аденомиозе наблюдалось наличие достаточно большого количества пациенток с наличием в эндометрии в момент предполагаемого «окна имплантации» доминирующего числа клеток эпителия с

регрессирующими пиноподиями (15 (20, 5% - 1 группа; 14 (18, 4%) - 2 группа), тогда как в контроле таких пациенток не наблюдалось.

Таблица 19

Особенности формирования пиноподий в эндометрии у пациенток
с аденомиозом

Вид пиноподий	1 группа, n=73		2 группа, n=76		4 группа, n=45	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Развивающиеся пиноподии	56*	76, 7*	54*	71, 1*	7	15, 5
Развитые пиноподии	27*	36, 9*	26*	34, 2*	42	93, 3
Регрессирующие пиноподии	15*	20, 5*	14*	18, 4*	0	0
Наличие пиноподий различной формы	36*	49, 3*	42*	55, 2*	1*	2, 2
Наличие пиноподий разных размеров	43*	58, 3*	49*	28, 5*	1*	2, 2

где: символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контроле, $p < 0, 05$

По данным нашего исследования только у 36-38% пациенток с аденомиозом были выявлены абсолютно зрелые пиноподии. Напротив, у большинства пациенток клинических групп наблюдались отставания созревания или преждевременное созревание пиноподий, что безусловно подтверждает наличие сниженного рецептивного состояния эндометрия у пациенток с аденомиозом даже ранних степеней.

Появление пиноподий - гормоноопосредованный и строго контролируемый сигнальными молекулами процесс. К настоящему времени доказана роль многих цитокинов и факторов роста в патогенезе аденомиоза (Адамян Л.В., Кулаков В. и., 1998; Damowski, 1991; J. Kim, E.Y. Straun, 2000) и при этом цитокины являются сигнальными молекулами, которые обеспечивают слаженную работу практически всех звеньев иммунитета, в том числе формируя иммунологическую толерантность организма и обеспечивая рецептивность эндометрия в самом начале гестационного процесса, в том числе и при применении ВРТ.

На первом этапе нашего исследования проведено сравнение показателей уровня провоспалительных и противовоспалительных цитокинов

периферической крови в динамике естественного менструального цикла у пациенток с 1 степенью аденомиоза и пациенток контрольной группы.

Таблица 20

Уровень цитокинов периферической крови в динамике естественного менструального цикла у пациенток с 1 степенью аденомиоза и пациенток контрольной группы

Показатели, пкг/мл,	1 группа, n=73		2 группа, n=76		4 группа, n=45	
	2-5 день МЦ	21 день МЦ	2-5 день МЦ	21 день МЦ	2-5 день МЦ	21 день МЦ
IL1 β	92, 6 \pm 9, 63*	167, 3 \pm 49, 1*■	91, 8 \pm 10, 2*	157, 03 \pm 44, 64*■	49, 8 \pm 10, 6	66, 2 \pm 9, 6■
IL 8	54, 6 \pm 12, 8*	69, 2 \pm 15, 1*■	51, 7 \pm 13*	65, 7 \pm 13, 7*■	25, 1 \pm 5, 05	33, 7 \pm 6, 61■
IL 6	80, 1 \pm 16, 7*	91, 5 \pm 25, 1*■	80, 8 \pm 16, 8*	81, 9 \pm 19, 5*■	46, 3 \pm 6, 59	36, 2 \pm 4, 94■
IL 4	20, 9 \pm 4, 7*	23, 5 \pm 4, 7*■	20, 91 \pm 4, 7*	23, 3 \pm 4, 79*■	14, 6 \pm 3, 23	21, 3 \pm 3, 6■
IL 10	22, 2 \pm 6, 7*	23, 8 \pm 6, 8■	21, 3 \pm 6, 02*	23, 2 \pm 5, 2■	14, 9 \pm 2, 9	23, 7 \pm 2, 97■
RAIL	417, 8 \pm 43, 06*	425, 5 \pm 41, 9*■	422, 3 \pm 52, 02*	430 \pm 48, 6*■	348, 1 \pm 30, 34	394, 9 \pm 26, 5■8
VEGF	290, 4 \pm 93, 98*	316, 8 \pm 99, 5*■	254 \pm 96, 62*	279 \pm 101, 5*■	37, 4 \pm 10, 9	49, 8 \pm 13, 2■

где: символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контроле, $p < 0, 05$

где символ «■» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в 1-й фазе цикла, $p < 0, 05$

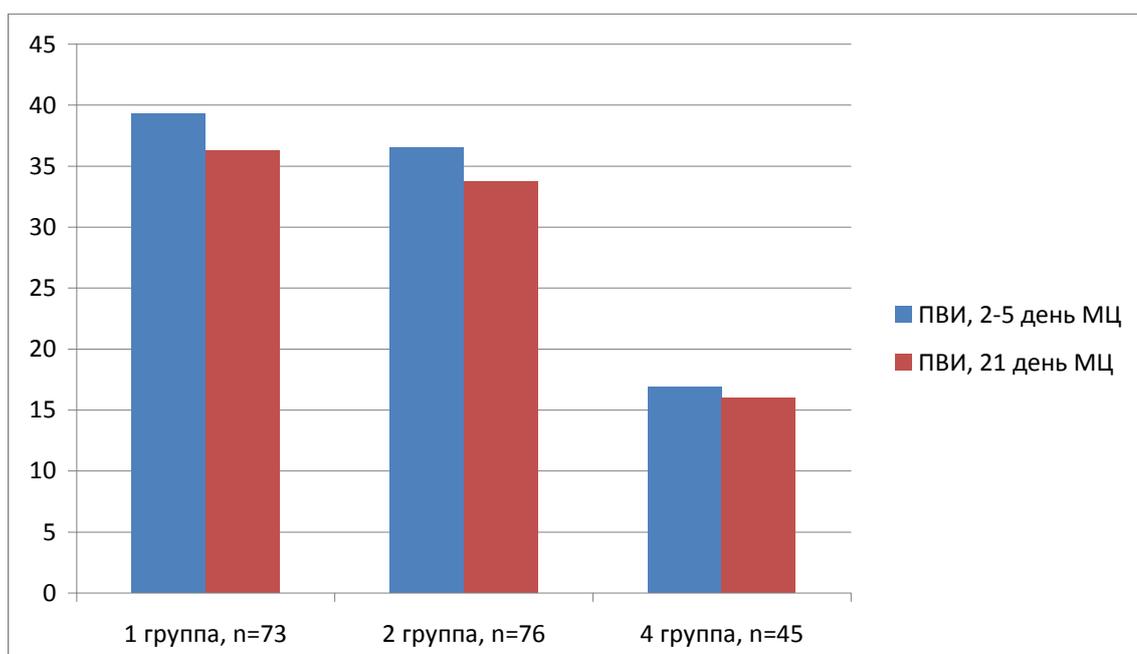


Рисунок 7. Уровень ПВИ периферической крови в динамике естественного менструального цикла у пациенток с 1 степенью аденомиоза и пациенток контрольной группы

Статистически значимой разницы содержания провоспалительных (IL-1 β , IL-8, IL-6) и противовоспалительных (RAIL, IL-4, IL-10) в периферической крови у пациенток 1 и 2 клинических групп выявлено не было. Обнаружено, что в первой фазе менструального цикла у пациенток с аденомиозом (1 и 2 группы) имеется статистически высоко значимое повышенное содержание уровня провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-8, IL-6) периферической крови по сравнению с контрольной группой (4 группа), ($p < 0,001$), (табл. 20).

Во вторую фазу менструального цикла уровень провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-8, IL-6) достоверно значимо возрастал ($p < 0,001$) как в контрольной группе, так и в группах пациенток с аденомиозом 1 степени (Таб 21.рис 9.). Причем, у пациенток 1 и 2 групп, наблюдался более активный прирост уровня провоспалительных интерлейкинов на 21-24 день менструального цикла, по сравнению с группой контроля (4 группа). Так уровень IL-1 β в первую фазу цикла составил у пациенток 1 и 2 групп соответственно 92, 6 \pm 9, 63 пг/мл и 91, 8 \pm 10, 2 пг/мл, против 49, 8 \pm 10, 6 пг/мл в контроле. Во вторую фазу содержание IL-1 β составило 167, 3 \pm 49, 1 пг/мл и 157, 03 \pm 44, 6 пг/мл соответственно в 1 и 2

клинических группах с приростом в 1, 8 раз. Тогда как в группе контроля прирост содержания IL-1 β на 21-24 день цикла составил всего 0, 74. Подобная динамика наблюдалась и в отношении IL-8. Уровень IL-6 в группе контроля на 21-24 день цикла умеренно снижался по сравнению с 2-5 днем МЦ (36, 2 \pm 4, 94 пг/мл против 46, 3 \pm 6, 59 пг/мл), при этом у пациенток с ТПБ и аденомиозом отмечалась тенденция к увеличению его содержания (2-5ДМЦ - 80, 1 \pm 16, 7 пг/мл и 21-24 ДМЦ - 91, 5 \pm 25, 1 пг/мл).

Анализ полученных результатов содержания противовоспалительных цитокинов периферической крови также выявил статистически значимое повышение RAIP, IL-4, IL-10 у пациенток 1 и 2 клинических групп по сравнению с группой контроля (4 группа), ($p < 0, 001$), как в первую, так и во вторую фазу цикла. Концентрация противовоспалительных цитокинов во вторую фазу цикла хоть и имела характер достоверного возрастания ($p < 0, 001$) в 1 и 2-й клинической группе, однако по модулю прирост был менее выражен, чем в группе провоспалительных цитокинов. Очевидно, что при анализе результатов исследования цитокинового профиля наиболее показательным является расчет провоспалительного индекса (ПВИ), отражающего в нашем случае баланс цитокинов в семействе IL-1, как отношение IL-1 β /RAIP - 1*100.

Расчетная величина ПВИ позволила показать статистически значимые различия ($p < 0, 001$) баланса про- и противовоспалительных цитокинов между группами пациенток с аденомиозом (1 группа - 39, 3 \pm 11, 3, 2 группа - 36, 5 \pm 10, 3) и группой контроля - 16, 9 \pm 3, 92

При оценке уровня продукции ключевого стимулятора ангиогенеза - фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF) - в периферической крови отмечено статистически значимое повышение данного цитокина в лютеиновой фазе цикла, как в контрольной группе (49, 8 \pm 13, 2 пкг/мл против 37, 4 \pm 10, 9 пкг/мл в фолликулярной фазе), так и в клинических группах больных (290, 4 \pm 93, 98 пкг/мл против 316, 8 \pm 99, 5 пкг/мл - 1 группа и 254 \pm 96, 62 пг/мл против 279 \pm 101, 5 пкг/мл - 2 группа). При этом в течение всего менструального цикла

уровень VEGF у пациенток с аденомиозом статистически значимо превышал таковой в группе контроля ($p < 0,001$).

Поскольку эндокринная система контролирует иммунологическую реактивность организма, а эндокринные функции подвержены афферентному влиянию иммунной системы (Кетлинский С.А. и др., 2008), параметры овуляторного менструального цикла (ОМЦ) у здоровых женщин репродуктивного возраста обусловлены только цикличностью функционирования системы «гипоталамус - гипофиз - яичники», а уровень их цитокинового статуса меняется в зависимости от фаз ОМЦ, т.е. в зависимости от гормонального фона (Ширшев С.В., 1999). Возникающий после овуляции умеренный сдвиг баланса регуляторных факторов в сторону цитокинов с противовоспалительной активностью обеспечивает эффект «окна нидации» в эндометрии с последующей возможной имплантацией бластоцисты и во многом способствует успешному развитию беременности. Лютеиновая фаза в норме сопровождается умеренным повышением IL1b, IL8, что обеспечивается повышенным уровнем ЛГ и появлением хорионического гонадотропина в случае зачатия (Кетлинский С.А. и др., 2008). Включение процесса апоптоза в финале менструального цикла обуславливается снижением уровня ЛГ, который обеспечивает усиленную выработку цитокинов провоспалительного звена (Мусаходжаева Д.А., Хайдарова Ф.А., 2009). В этой связи интерес представляют полученные нами данные, что у пациенток с аденомиозом, в том числе и на фоне умеренного выраженного «дисгормоноза», изначально присутствует ярко выраженное превалирование провоспалительного потенциала цитокинового профиля и проявления патологически избыточного ангиогенеза при дефиците противовоспалительной реакции, нарастающее в лютеиновую фазу менструального цикла, что, несомненно, отражается на репродуктивном потенциале и возможно обеспечивает неудовлетворительную рецептивность эндометрия.

2.2.2. Исследование цитокинов в цервикальной слизи

Система цитокинов является одной из главных составляющих местного противовирусного и противоопухолевого иммунитета и в норме цервикальная слизь характеризуется высоким уровнем провоспалительных цитокинов, которые выполняют функцию основных медиаторов развития местной воспалительной реакции, острофазового и иммунного ответа организма (Долгушин И. и. 2010). Ранее доказано, что наиболее подходящим субстратом для неинвазивного исследования локального цитокинового баланса полости матки, в том числе и для оценки рецептивности эндометрия является цервикальная слизь (ЦС) (Сеидова Л.А, 2015).

Известно, что в норме цитокины, секретируемые при первичном иммунном ответе, практически не поступают в кровоток и не оказывают системных эффектов, то есть действуют локально (Серов, В.Н. и др., 2012). Определение в периферической крови высоких уровней цитокинов всегда свидетельствует о нарушении принципа локальности функционирования цитокиновой сети, что может наблюдаться при интенсивных, длительно текущих воспалительных, аутоиммунных процессах, сепсисе, онкологических заболеваниях, то есть состояниях, сопровождающихся генерализованной активацией клеток иммунной системы (Буданов П.В. и др., 2009).

В связи с изложенным интерес представляет изучение особенностей цитокиновой регуляции локального иммунитета шейки матки по содержанию в цервикальной слизи следующих цитокинов: LIF, LIF-R, IL-6, IL-10, VEGF, GM-CSF в цервикальном отделяемом у пациенток с 1 степенью аденомиоза и пациенток контрольной группы.

Концентрация LIF в ЦС у пациенток 1 и 2 групп была статистически значимо ниже, чем в 4 группе как на 3-й так и 7-й дни после пика ЛГ (соответственно 4, 21±1, 6 пг/мл и 17, 12±6, 8 пг/мл - 1 группа, 4, 3±1, 6 пг/мл и 17, 6±7, 1 пг/мл - 2 группа, против 10, 5±2, 2 пг/мл и 33, 4±8, 5 пг/мл), ($p < 0, 001$). Также достоверно была снижена и концентрация LIF-R (83, 38±14, 41 пг/мл и

138, 8±36, 9 пг/мл; 84, 3±14, 8 пг/мл и 138, 2±38, 22 пг/мл против 104, 4±12, 4 пг/мл и 218, 8±15, 7 пг/мл), ($p < 0, 001$).

Таблица 21

Уровень цитокинов цервикальной слизи в динамике естественного менструального цикла у пациенток с аденомиозом и пациенток контрольной группы

Показатели, пг/мл	1 группа, n=73			2 группа, n=76			4 группа, n=45		
	2-5 ДМЦ	ЛГ+3	ЛГ+7	2-5 ДМЦ	ЛГ+3	ЛГ+7	2-5 ДМЦ	ЛГ+3	ЛГ+7
LIF	-	4, 21± 1, 6*■	17, 12±6, 8*■	-	4, 3± 1, 6*■	17, 6± 7, 1*■	-	10, 5± 2, 2■	33, 4± 8, 5■
LIF-R	-	83, 38± 14, 41*■	138, 8±36, 9*■	-	84, 3± 14, 8*	138, 2± 38, 22*	-	104, 4± 12, 4■	218, 8± 15, 7■
IL6	105, 8± 15, 3*	420, 31± 39, 7*■	497, 7±79, 4*■	107, 8± 8, 6*■	433, 4± 37, 3*■	504, 5± 90, 5*■	58, 1±12, 1	156, 9± 13, 4■	131, 4± 11, 6■
IL10	6, 8± 4, 1*	8, 8± 2, 7■	9, 9± 6, 04*■	6, 9± 4, 18*	8, 8± 2, 7*■	10, 5± 5, 9*■	2, 74±1, 24	10, 6± 2, 5■	9, 65± 1, 7
VEGF	181, 5±59, 42*	316, 7± 103, 6*■	381, 7±95, 9*■	173, 9± 58*, 8■	309, 3± 107, 5*■	377, 32± 101, 1*■	51, 4±6, 2	140, 52± 164, 24■	164, 2± 15, 5■
GM-CSF	3, 7± 1, 6*	35, 6± 9, 4*■	20, 8± 6, 07*■	3, 8± 1, 5*■	35, 3± 9, 5*■	21, 8± 6, 7*■	12, 01±3, 14	64, 9± 20, 6■	53, 9± 27, 38■
ПВИ1	15, 6± 2, 2*	52, 3± 15, 2*	69, 9± 38, 8*	16, 6± 2, 8*	51, 7± 15, 1*	70, 9± 40, 0*	17, 8±2, 1	14, 3± 3, 8	14, 3± 3, 8

где: символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контроле, $p < 0, 05$

где символ «■» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в динамике менструального цикла, $p < 0, 05$

Содержание GM-CS, как одного из известных показателей иммунной рецептивности эндометрия в клинических группах, было статистически значимо снижено относительно контроля уже в фолликулярной фазе менструального цикла (3, 7±1, 6 пг/мл и 3, 8±1, 5 пг/мл, против 12, 01±3, 14 пг/мл), ($p < 0, 001$). Подобная тенденция сохранялась и в лютеиновой фазе, $p < 0, 001$ (Табл. 21). При анализе содержания VEGF в цервикальной слизи у пациентов с аденомиозом 1-й степени выявлено его статистически значимое увеличение ($p < 0, 005$) по сравнению с группой контроля. Известно, что на ранних стадиях имплантации

VEGF участвует в координации процессов дифференцировки, миграции и инвазии трофобласта, так как является одним из ключевых регуляторов проницаемости сосудов, способствует проницаемости кровеносных сосудов и пролиферативной активности эндотелиальных клеток, подавляет апоптоз, стимулирует высвобождение из оксида азота и простациклина эндотелиальных клеток, что способствует вазодилатации (Strowitzki T et al. 2006). Однако 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. Концентрация IL-6 в обеих клинических группах 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 (Табл. 21). Напротив, уровень противовоспалительного ИЛ4, в фолликулярной фазе цикла у пациенток с аденомиозом был достоверно увеличен ($6,8 \pm 4,1$ пг/мл против $2,74 \pm 1,24$ пг/мл в контроле), однако в предполагаемом «окне nidации» адекватно не нарастал, соответствуя практически показателям в контрольной группе (4 группа) ($8,8 \pm 2,7$ пг/мл и $9,9 \pm 6,04$ пг/мл - 1 группа, $8,8 \pm 2,7$ пг/мл и $10,5 \pm 5,9$ пг/мл - 2 группа, против $10,6 \pm 2,5$ пг/мл и $9,65 \pm 1,7$ пг/мл).

Таким образом, наблюдался сдвиг цитокинового баланса в сторону активации провоспалительного звена, определяемый увеличением отношения IL6/IL10 (ПВИ1) цервикальной слизи ($62,3 \pm 13,2$ у.е - основная группа, $14,3 \pm 3,8$ у.е - контроль), что еще раз подчеркивает имеющийся локальный дисбаланс провоспалительного и противовоспалительного цитокиновых звеньев у пациенток с аденомиозом.

В целом по данным нашего исследования у пациенток с аденомиозом ранних степеней имеются выраженные дефекты рецептивности эндометрия, обусловленные как непосредственными участниками процесса имплантации LIF, LIF-R и GM-CS, так и общим цитокиновым сдвигом в сторону активации

провоспалительного звена. В целом полученные результаты свидетельствуют о наличии дефектов имплантационного фактора у пациенток с аденомиозом ранней степени, способствуя снижению фертильности данных пациенток.

2.3. Динамика уровня цитокинов периферической крови и параметров имплантационного потенциала эндометрия в цервикальной слизи у пациенток с аденомиозом 1-й степени на фоне различной предгравидарной подготовки, в том числе и в посттрансферном периоде

При исследовании исходных параметров цитокинового баланса нами было выявлено наличие исходных иммунных дисфункций в системе цитокинов по принципу гиперактивации провоспалительного звена. Наличие исходных иммунных дисфункций в системе цитокинов может быть серьёзной причиной нарушения имплантации и неправильного развития плаценты, и в конечном итоге, отсутствия или потери беременности (GuzelogluKayisli O. et al., 2009). В нашем исследовании была осуществлена попытка коррекции этого процесса на этапе предгравидарной подготовки к циклу ЭКО.

2.3.1. Динамика уровня цитокинов периферической крови у пациенток с аденомиозом 1-й степени на фоне различной предгравидарной подготовки, в том числе и в посттрансферном периоде

На фоне предгравидарной подготовки микронизированным прогестероном (схема 1, группа 1) уровень провоспалительных (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, составляя с ней статистически высоко значимую разницу, $p < 0,005$ (табл. 22).

Динамика уровня цитокинов и VEGF в сыворотке периферической крови в зависимости от вида предгравидарной подготовки у пациенток с аденомиозом

Параметры, пг/мл			1 группа, n=73	2 группа, n=76	4 группа, n=45
IL1 β	исходно	M	175, 3*	176, 3*	60, 2
		q	48, 2	44, 6	13, 7
	после ПГ	M	125, 6*	82, 4*■	
		q	17, 9	23, 0	
	эко	M	125, 5*	82, 4*■	60, 2
		q	17, 3	27, 2	13, 5
IL8	исходно	M	64, 3*	62, 1*	32, 2
		q	15, 0	13, 7	6, 6
	после ПГ	M	48, 8*	49, 6*	
		q	5, 9	10, 7	
	эко	M	49, 4*	49, 4*	32, 2
		q	6, 0	10, 5	6, 6
IL6	исходно	M	99, 6*	109, 2*■	36, 9
		q	25, 2	26, 0	5, 2
	после ПГ	M	69, 4*	48, 8*■	
		q	17, 0	8, 5	
	эко	M	69, 4*	48, 5*■	38, 2
		q	20, 4	8, 4	5, 1

где: символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контроле, $p < 0, 05$

где символ «■» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в 1-й клинической группе, $p < 0, 05$

На фоне предгравидарной подготовки с применением диеногеста (группа 2) уровень провоспалительных (IL1 β , IL8, IL6) снижался более интенсивно. Изменения уровня провоспалительных интерлейкинов у пациенток 2-й группы составил высокосignificantную статистическую разницу ($p < 0, 005$) при сравнении с аналогичными параметрами у пациенток 1-й группы. Так, если при применении диеногеста IL1 β снизился до $82, 4 \pm 23, 0$ пг/мл, то при применении микронизированного прогестерона составил $125, 6 \pm 17, 9$ пг/мл, ($p < 0, 005$). Подобная статистически высокосignificantная направленность прослеживалась и в отношении IL8 и IL6, ($p < 0, 005$) (табл. 24). Несмотря на выраженное снижение параметров провоспалительного пула при применении диеногеста (группа 2), при сравнении с группой контроля отмечалось сохраняющееся увеличение уровней провоспалительных цитокинов периферической (IL1 β , IL8, IL6) ($82,$

4±23, 0 пг/мл, 49, 6±10, 7 пг/мл и 48, 8±8, 5 пг/мл соответственно, против 60, 2±13, 7 пг/мл, 32, 2±6, 6 пг/мл и 36, 9±5, 2 пг/мл), что составило статистически значимую разницу относительно здоровых женщин ($p < 0, 01$).

При исследовании уровней (IL1 β , IL8, IL6) в посттрансферном периоде мы не выявили статистически значимой разницы ($p > 0, 01$) с показателями, определенными на фоне предгравидарной подготовки, все тенденции сохранялись в полном объеме (табл. 23).

Таблица 23

Динамика уровня цитокинов в периферической крови в зависимости от вида предгравидарной подготовки у пациенток с аденомиозом

Параметры, пг/мл			1 группа, n=73	2 группа, n=76	4 группа, n=45
IL4	исходно	M	24, 1*	23, 5*	21, 5
		q	4, 8	4, 8	3, 5
	после ПГ	M	18, 9*	21, 3■	
		q	4, 8	4, 9	
	эко	M	18, 9*	20, 2	19, 3
		q	4, 5	5, 1	3, 0
IL10	исходно	M	22, 4*	21, 7*	24, 5
		q	5, 8	5, 2	3, 0
	после ПГ	M	21, 4	23, 5■	
		q	5, 4	5, 5	
	эко	M	21, 7	23, 3■	24, 4
		q	5, 3	5, 3	3, 2
RAIL	исходно	M	412, 2*	412, 2*	389, 6
		q	41, 6	48, 9	26, 6
	после ПГ	M	409, 2*	409, 3*	
		q	53, 5	47, 7	
	эко	M	409, 2*	409, 2*	397, 2
		q	51, 8	55, 7	26, 6

где: символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контроле, $p < 0, 05$

где символ «■» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей 1-й клинической группы, $p < 0, 05$

При исследовании параметров противовоспалительного пула (IL4, IL10 и RAIL) у пациенток 1-й группы на фоне проведения предгравидарной подготовки обнаружены статистически значимые различия по сравнению с исходными показателями 2-й фазы естественного менструального цикла IL4 -18, 9±4, 8

пг/мл, IL10 - 21, 4±5, 4 пг/мл и RAIIL - 409, 2±53, 5 пг/мл) против (24, 1±4, 8 пг/мл, 22, 4±5, 8 пг/мл и 412, 2±41, 6 пг/мл, соответственно, исходно), $p < 0,03$. Такие же различия между параметрами были выявлены у пациенток 2-й группы. Динамика уровней противовоспалительных интерлейкинов на фоне предгравидарной подготовки составила статистически значимую разницу против исходных показателей в 1-й и 2-й группах ($p < 0,03$), против показателей группы контроля ($p < 0,03$), однако статистически значимых межгрупповых различий выявлено не было ($p > 0,01$).

При сравнении результатов, полученных в посттрансферном периоде, статистически значимой разницы показателей не было выявлено ни по одному параметру противовоспалительного пула цитокинов ($p > 0,01$).

Таким образом, на фоне предгравидарной подготовки как микронизированным прогестероном, так и диеногестом мы выявили статистически высоко значимое уменьшение уровня провоспалительных интерлейкинов и менее выраженное по модулю, но статистически значимое увеличение уровня противовоспалительных цитокинов.

Таблица 24

Изменение ПВИ на фоне различной предгравидарной подготовки

где символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению

Параметры, пг/мл			1 группа, n=73	2 группа, n=76	4 группа, n=45
ПВИ	исходно	M	36, 3*	33, 7*	16, 0
		q	11, 1	9, 7	4, 0
	после ПГ	M	31, 3*	20, 1*■	
		q	7, 0	5, 1	
	эко	M	30, 4*	20, 8*■	16, 4
		q	7, 3	8, 2	3, 8

со средними значениями аналогичных показателей в контроле, $p < 0,05$

где символ «■» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей 1-й клинической группы, $p < 0,05$

сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контроле, $p < 0,05$

где символ «■» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей 1-й клинической группы, $p < 0,05$

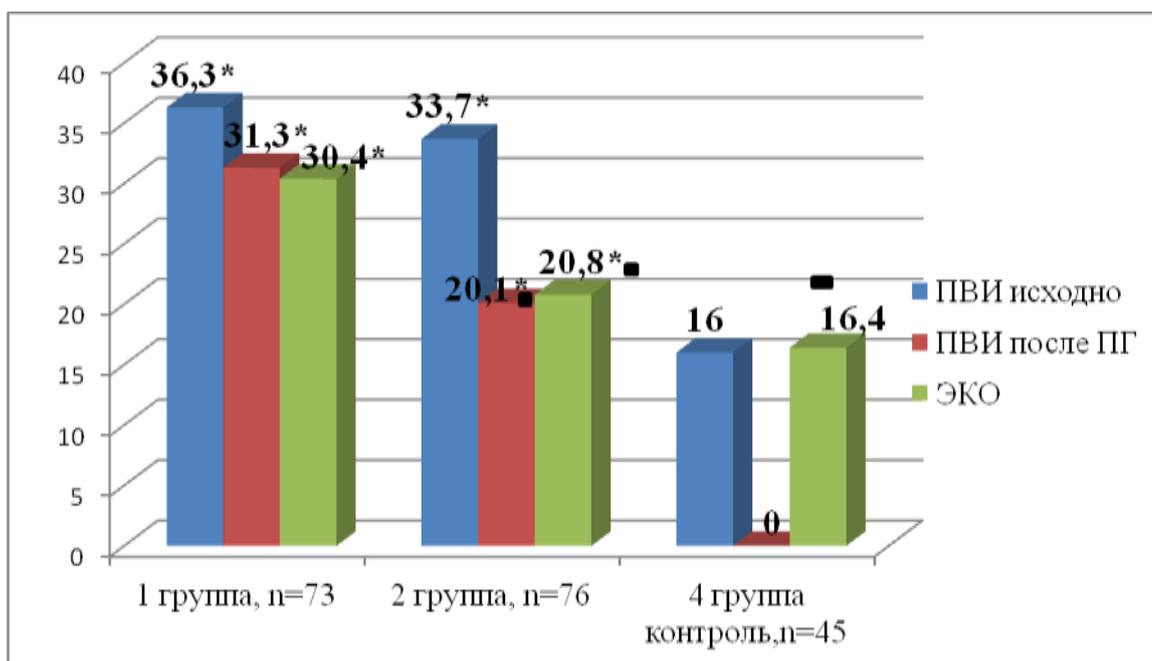


Рисунок 8. Изменение ПВИ на фоне различной предгравидарной подготовки

Наиболее показательно данная динамика прослеживается при вычислении провоспалительного индекса (ПВИ), определяемого как отношение $IL1\beta / RA1L * 10$.

Исходно во 2-й фазе менструального цикла ПВИ составил $36,3 \pm 11,1$ в 1-й группе, $33,7 \pm 7,0$ во 2-й группе, что составило статически высоко значимую разницу с показателем группы контроля $16,0 \pm 4,0$, $p < 0,005$. На фоне применения микронизированного прогестерона (1 группа) ПВИ снизился до $31,3 \pm 7,0$, на фоне применения диеногеста до $20,1 \pm 5,1$, что составило статистически высокостатистическую разницу сравнительно с исходными показателями обеих групп и выраженную, высокостатистическую значимую межгрупповую разницу, $p < 0,005$. Отмечено более интенсивное снижение уровня ПВИ у пациентов 2-й группы $20,1 \pm 5,1$ против $31,3 \pm 7,0$ в 1-й группе. Однако уровень показателей группы контроля не был достигнут ни в первой, ни во 2-й клинических группах. (табл. 24, рис. 9).

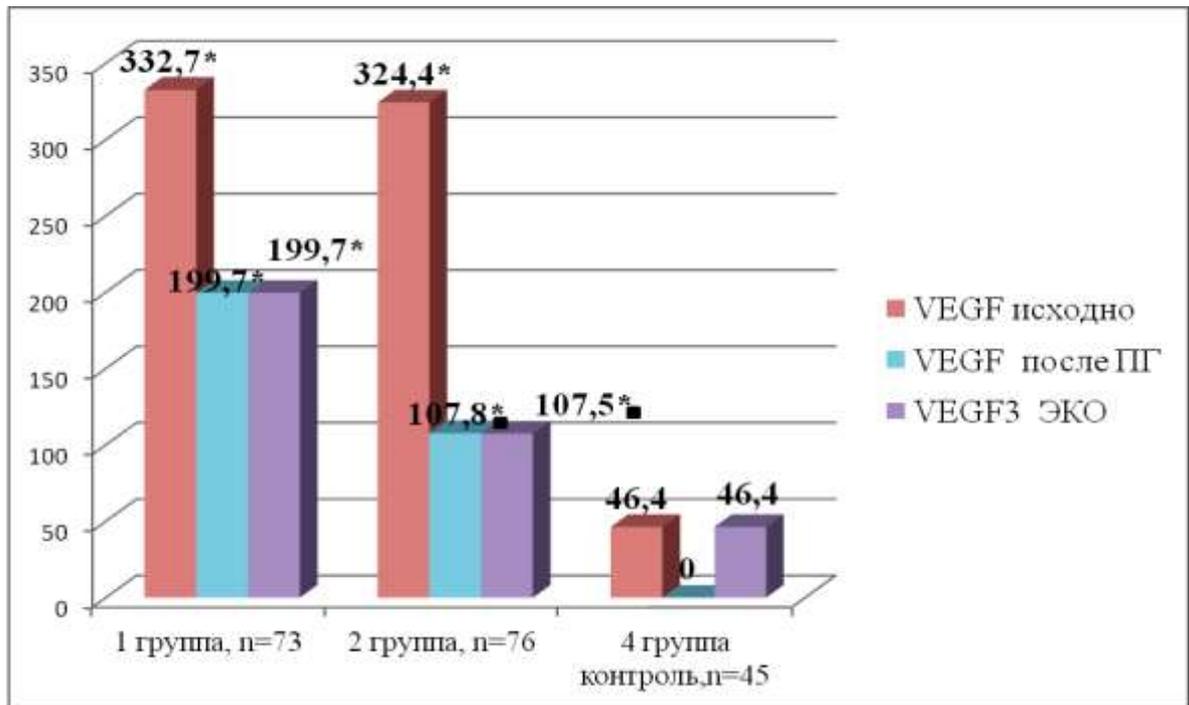
Динамика уровня VEGF на фоне различной предгравидарной подготовки

Параметры, пг/мл			1 группа, n=73	2 группа, n=76	4 группа, n=45
VEGF	исходно	М	332,7*	324,4*	46,4
		q	98,8	101,3	13,1
	после ПГ	М	199,7*	107,8*■	
		q	68,9	23,6	
	эко	М	199,7*	107,5*■	46,4
		q	72,9	26,4	11,1

где символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контроле, $p < 0,05$

где символ «■» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей 1-й клинической группы, $p < 0,05$

При анализе динамики показателей уровня VEGF в периферической крови выявлено высоко статистически значимое его уменьшение на фоне проведения предгравидарной подготовки у пациентов с аденомиозом 1 степеней.



где: символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контроле, $p < 0,05$

где символ «■» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей 1-й клинической группы, $p < 0,05$

Рисунок 9. Динамика уровня VEGF на фоне различной предгравидарной подготовки

При этом у пациенток 2 группы данный показатель снижался статистически значимо интенсивней $107, 8 \pm 23, 6$ пг/мл против $199, 7 \pm 68, 9$ пг/мл в 1-й группе, сравнительно с исходным $324, 4 \pm 101, 3$ пг/мл - 2 группа и $332, 7 \pm 98, 8$ пг/мл - 1 группа, ($p < 0, 005$), однако не достиг уровня контроля ($46, 4 \pm 13, 1$ пг/мл).

2.3.2 Динамика уровня LIF, про- и противовоспалительных цитокинов, GM-CSF и VEGF в цервикальной слизи в зависимости от вида предгравидарной подготовки у пациенток с аденомиозом

Сравнительная оценка динамики изменения концентрации LIF в ЦС в зависимости от используемой схемы предгравидарной подготовки показала, что в группах наблюдались статистические высоко значимые различия в зависимости от используемого гестагена между группами как на 3-й, так и на 7-й день после пика ЛГ. Так, уровень LIF на ЛГ+7 у пациентов 1-й группы увеличился до $21, 3 \pm 4, 9$ пг/мл, что на высоком уровне статистической значимости отличилось от исходных параметров естественного цикла ($p < 0, 005$). Во 2-й группе (ПГ с диеногестом) также обнаружен статистически значимый от исходного прирост уровня LIF как на 3-й, так и на 7-й день после пика ЛГ ($p < 0, 005$), причем прирост показателя был достоверно выше, чем у пациентов 1-й группы (1-я группа - $6, 3 \pm 2, 4$ пг/мл и $21, 3 \pm 4, 9$ пг/мл против $8, 2 \pm 5, 3$ пг/мл и $28, 4 \pm 5, 8$ пг/мл во 2-й группе), ($p < 0, 005$). Однако несмотря на проведенную предгравидарную подготовку средние показатели LIF по группам 1 и 2 были достоверно значимо ниже показателей группы контроля ($10, 5 \pm 2, 2$ пг/мл - ЛГ+3 и $34, 3 \pm 8, 5$ пг/мл) ($p < 0, 005$).

На фоне предгравидарной подготовки уровень LIFR достоверно значимо увеличился по сравнению с исходным на 3-й и 7-й день после пика ЛГ у пациентов 1-й и 2-й группы ($p < 0, 005$). Прирост показателей у пациентов 2-й группы был достоверно значимо выше, чем у пациентов 1-й группы ($p < 0, 05$). При этом, несмотря на активный прирост, после проведенной предгравидарной

подготовки уровень экспрессии LIF-R не достиг показателей группы контроля, как в 1-й так и во 2-й клинических группах ($p < 0,005$) (табл. 26).

Таблица 26

Концентрации LIF и LIF-R в ЦС с аденомиозом и бесплодием в зависимости от вида предгравидарной подготовки

Параметры, пг/мл			1 группа, n=73		2 группа, n=76		4 группа, n=45	
			ЛГ+3	ЛГ+7	ЛГ+3	ЛГ+7	ЛГ+3	ЛГ+7
LIF	исходно	М	3,8*	19,5*	3,9*	18,7*	10,5	34,3
		q	1,6	6,89	1,7	3,2	2,2	8,5
	после ПГ	М	6,3*	21,3*	8,2*■	26,6*■	*	*
		q	2,4	4,9	4,8	6,1	*	*
	эко	М	6,3*	22,5*	8,2*■	28,4*■	10,5	34,1
		q	2,5	5,5	5,3	5,8	2,3	8,3
LIF-R	исходно	М	103,6*	223,7*	83,0*■	139,2*■	103,6	223,7
		q	12,4	15,7	14,3	35,4	12,4	15,7
	после ПГ	М	90,3*	167,4*	90,5*■	193,4*■	*	*
		q	13,7	30,4	14,3	29,2	*	*
	эко	М	90,2*	167,4*	90,5*■	189,4*■	103,2	221,3
		q	14,8	31,3	13,4	25,2	12,4	15,6

где: символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контроле, $p < 0,05$

где символ «■» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей 1-й клинической группы, $p < 0,05$

При анализе динамики концентрации Л6 в цервикальной слизи на фоне проведения предгравидарной подготовки выявлено, что данный показатель достоверно снижается у пациенток 1-й и 2-й группы как на 3-и, так и на 7-е сутки после пика ЛГ ($p < 0,005$), причем более выражено - на фоне применения диеногеста (2-я группа). Следует отметить однако, что несмотря на снижение показателя, среднее его значение не достигает такого в контроле ($249,3 \pm 61,0$ пг/мл - 2-я группа, $132,9 \pm 11,6$ пг/мл - 4-я группа (контроль), ($p < 0,005$).

Таблица 27

Уровень содержания цитокинов в цервикальной слизи у пациенток с бесплодием и аденомиозом в зависимости от вида проведенной предгравидарной подготовки

Параметры, пг/мл			1 группа, n=73		2 группа, n=76		4 группа, n=45	
			ЛГ+3	ЛГ+7	ЛГ+3	ЛГ+7	ЛГ+3	ЛГ+7
IL6	исходно	M	423, 5*	516, 7*	454, 5*	554, 3*	154, 6	132, 9
		q	39, 7	79, 4	36, 5	96, 1	13, 4	11, 6
	после ПГ	M	307, 6*	326, 4*	236, 0*■	257, 3*■	-	-
		q	79, 5	64, 8	68, 2	65, 3	-	-
	эко	M	326, 4*	326, 4*	249, 3*■	249, 3*■	154, 6	132, 9
		q	60, 0	60, 0	63, 3	61, 0	13, 0	11, 5
IL10	исходно	M	8, 1*	6, 3*	8, 3*	8, 4*	10, 2	9, 4
		q	2, 7	6, 0	2, 6	5, 7	2, 5	1, 7
	после ПГ	M	9, 6*	9, 6*	9, 6*	9, 7*	-	-
		q	1, 4	1, 5	1, 4	1, 6	-	-
	эко	M	9, 6*	9, 6*	9, 6*	9, 6*	10, 2	9, 3
		q	1, 3	1, 4	1, 4	1, 6	2, 5	1, 6
ПВИ1	исходно	M	52, 3*	69, 9*	51, 7*	70, 9*	14, 3	14, 3
		q	15, 2	38, 8	15, 1	40, 0	3, 8	3, 8
	после ПГ	M	25, 5*	34*	25, 7*■	29, 9*■	--	--
		q	7, 4	11, 1	9, 9	9, 6	-	--
	эко	M	25, 6*	34*	30, 0*■	28, 5*■	15, 2	13, 6
		q	6, 8	9, 8	9, 8	9, 7	3, 8	2, 4

где: символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контроле, $p < 0, 05$

где символ «■» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей 1-й клинической группы, $p < 0, 05$

Наряду с этим наблюдалось синхронное достоверное увеличение IL10, однако не столь значимое по модулю разницы и не имеющее статистически достоверной разницы межгрупповых различий, ($p > 0, 1$) (1-я группа ЛГ+7 - $6, 3 \pm 6, 0$ пг/мл - исходно, $9, 6 \pm 1, 5$ пг/мл после ПГ, 2-я группа $8, 4 \pm 5, 7$ пг/мл - исходно, $9, 7 \pm 1, 6$ пг/мл - после ПГ).

При определении динамики соотношений концентраций провоспалительных и противовоспалительных интерлейкинов в цервикальной слизи наиболее показательным оказался показатель ПВИ1, определяемый как отношение IL6/IL10. Выявлено, что коррекция цитокинового дисбаланса за счет выраженного статистически значимого снижения экспрессии цитокинов

провоспалительного звена на фоне предгравидарной подготовки наблюдается как в 1-й так и во 2-й группе, (1-я группа ЛГ+7 69, 9±38, 8 пг/мл =- исходно, 34±11, 1 пг/мл- после ПГ, 2-я группа - 70, 9±40, 0 пг/мл исходно и 29, 9±9, 6 пг/мл после ПГ диеногестом). При этом, как видно из полученных результатов статистически достоверная межгрупповая разница также присутствует ($p < 0,005$). При этом величина ПВИ1, рассчитанная у пациенток 2-й группы, несмотря на достоверное снижение, не достигает контрольного уровня (13, 6±2, 4 для ЛГ+7), ($p < 0,005$).

Таблица 28

Динамика уровня содержания GM-CSF и VEGF в цервикальной слизи у пациенток с бесплодием и аденомиозом в зависимости от вида проведенной предгравидарной подготовки

Параметры, пг/мл			1 группа, n=73		2 группа, n=76		4 группа, n=45	
			ЛГ+3	ЛГ+7	ЛГ+3	ЛГ+7	ЛГ+3	ЛГ+7
GM-CSF	исходно	M	35, 7	18, 9	36, 1	19, 4	59, 0	33, 6
		q	9, 5	6, 1	9, 4	6, 6	20, 6	27, 4
	после ПГ	M	45, 2	35, 3	51, 7*■	37, 0*■		
		q	11, 9	10, 4	13, 6	10, 8		
	эко	M	45, 2	34, 6	51, 7*■	36, 5*■	60, 0	32, 6
		q	11, 5	10, 1	14, 4	10, 7	20, 0	27, 1
VEGF	исходно	M	356, 8	419, 9	356, 8*■	427, 6*■	134, 5	156, 4
		q	103, 6	95, 9	108, 2	102, 3	25, 2	15, 5
	после ПГ	M	216, 4	268, 9	210, 0*■	228, 9*■		
		q	22, 3	24, 5	32, 3	47, 0		
	эко	M	216, 4	265, 9	200, 0*■	262, 4*■	132, 6	156, 4
		q	23, 2	25, 9	33, 8	47, 8	25, 7	15, 3

где: 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 анализе динамики содержания GM-CSF на фоне сравниваемых видов предгравидарной подготовки выявлено, что уровень его достоверно ($p < 0,005$) увеличивался у пациенток обеих клинических групп (1-я группа - ЛГ +3 - 45, 2 ±11, 9 пг/мл, ЛГ+7 - 35, 3±10, 4 пг/мл, 2-я группа ЛГ +3 - 51, 7±13, 6 пг/мл, ЛГ +7

- $37, 0 \pm 10, 8$ пг/мл против $35, 7 \pm 9, 5$ пг/мл и $18, 9 \pm 6, 1$ пг/мл, $36, 1 \pm 9, 4$ пг/мл и $19, 4 \pm 6, 6$ пг/мл, соответственно исходно). При этом максимальное увеличение концентрации GM-CSF на фоне приема диеногеста наблюдалось во 2-й клинической группе, не достигающее, однако, уровня контрольных значений ($p < 0, 03$).

При анализе динамики содержания VEGF в цервикальной слизи на фоне проведения предгравидарной подготовки у пациентов с аденомиозом 1-й степени выявлено его статистически значимое уменьшение ($p < 0, 005$) без достижения уровня контроля, но более выраженное у пациенток 2-й группы ($228, 9 \pm 47, 0$ пг/мл против $268, 9 \pm 24, 5$ пг/мл в 1-й группе) (табл. 28).

Анализируя полученные данные в целом, следует заключить, что у пациенток с аденомиозом 1-й степени на фоне предгравидарной подготовки микронизированным прогестероном наблюдается некоторая положительная динамика как уровня цитокинов периферической крови, так и параметров имплантационного потенциала эндометрия. При этом на фоне предгравидарной подготовки диеногестом в имплантационном потенциале эндометрия отмечались существенно более позитивные изменения по сравнению с применением микронизированного прогестерона. Это позволяет сделать вывод о том, что в условиях измененного цитокинового баланса и снижения имплантационного потенциала эндометрия при аденомиозе 1-й степени, диеногест является препаратом выбора, который помимо ингибирующего действия на пролиферацию эктопической ткани эндометрия осуществляет иммуотропные эффекты, снижая уровень провоспалительных интерлейкинов центрального звена, уменьшает патологический неоангиогенез и опосредованно улучшает рецепторную активность эндометрия, что отражается на его клинической эффективности. Показано также, что диеногест не вызывает полную нормализацию исследуемых показателей в условиях аденомиоза (снижение параметров до уровня возрастной нормы), что свидетельствует о недостаточности его иммуотропных эффектов для полноценной коррекции

нарушенного цитокинового баланса и имплантационного потенциала эндометрия.

2.4 Оценка эффективности ЭКО, течения гестационного процесса и исхода родов у пациенток с аденомиозом на фоне различной предгравидарной подготовки

Для оценки эффективности ЭКО на фоне предгравидарной подготовки основные группы были разделены по принципу результативности ЭКО.

Пациентки с положительной попыткой - (Б+), с отрицательно - (Б-)

2.4.1. Цитокины в фолликулярной жидкости и качество эмбрионов у пациенток с аденомиозом

Известно, что циклические изменения уровней гормонов во время физиологического менструального цикла и на фоне стимуляции гиперовуляции сопровождаются изменением параметров иммунитета, и, прежде всего, концентраций цитокинов в фолликулярной жидкости (ФЖ) и сыворотке крови (E. Dimetriadis et al., 2005.) Согласно данным Machelon V., et al, фолликулогенез опосредуется селективной продукцией цитокинов в фолликулярной жидкости, в том числе, - провоспалительными цитокинами (IL-1, IL-6, TNF- α), хемокинами (IL-8, MCP-1), ростовыми факторами (GM-CSF), которые во многом определяют качество яйцеклеток (Emilie D. et al, 1994.)

В связи с изложенным, интерес представляло изучение в фолликулярной жидкости пациенток с аденомиозом уровня содержания регуляторного Th1-цитокина (IL-2), противовоспалительных Th2-цитокинов (IL-4, IL-10), а также провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-8 и IL-6) и фактора роста (GM-CSF) врожденного иммунитета.

Уровень цитокинов фолликулярной жидкости у пациенток с аденомиозом
по сравнению с группой контроля

Показатели, пг/мл	1 группа, n=73		2 группа, n=76		4 группа - контроль	
	«1Б+» n=17	«1Б-» n=56	«2Б+» n= 23	2Б - n=53	4Б+ n=20	4Б- n=25
IL-1β	21, 3±3, 37	20, 1±3, 6	21, 7±3, 1	20, 1±3, 7	21, 4±3, 46	22, 5±3, 1
IL-8	24, 2±4, 2	23, 1±4, 3	24, 1±4, 5	21, 9±4, 19	23, 5±3, 5	23, 4±4, 4
IL-6	19, 1±5, 4	19, 7±5, 6	19, 4±5, 6	18, 9±5, 1	18, 9±5, 6	19, 6±5, 4
IL-2	25, 8±5, 2	26, 3±5, 2	26, 1±5, 1	25, 8±4, 7	25, 4±4, 6	25, 6±5, 3
IL-4	10, 9±2, 8	10, 7±2, 5	11, 1±2, 9	10, 7±2, 5	10, 5±2, 6	10, 2±2, 9
IL-10	10, 4±1, 2	10, 3±1, 3	10, 3±1, 4	10, 3±1, 3	10, 2±1, 4	10, 3±1, 4
GM-CSF	146, 5±10, 7	147, 3±12, 4	149, 1±11, 0	148, 5±10, 2	148, 5±11, 2	146, 3±10, 8
ПВИф	1, 8±3, 37	1, 9±3, 43	1, 9±2, 1	1, 8±3, 2	1, 9±2, 46	1, 8±2, 1

где: 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, $p < 0, 05$

Анализ уровня цитокинов на пике стимулированной суперовуляции в фолликулярной жидкости показал, что в клинических группах у пациенток с ранними степенями аденомиоза в контроле не зависел от результативности цикла ЭКО. Так концентрация провоспалительных цитокинов IL-1β составила в группах «1Б+» - 21, 3±3, 37 пг/мл, в «1Б-» - 20, 1±3, 6 пг/мл, соответственно, в «2Б+» и «2Б-» - 21, 7±3, 1 пг/мл и 20, 1±3, 7 пг/мл, соответственно, не отличаясь от групп контроля 4Б+ и 4Б - 21, 4±3, 46 пг/мл и 22, 5±3, 1 пг/мл, соответственно, $p > 0, 05$. Уровень IL-6 составил в «1Б+» 19, 1±5, 4 пг/мл, в группах «1Б-» - 19, 7±5, 6 пг/мл, в «2Б+» и «2Б-» - 19, 4±5, 6 пг/мл и 18, 9±5, 1 пг/мл, соответственно, также достоверно не отличаясь от уровня в группах контроля 4Б+ и 4Б - 18, 9±5, 6 пг/мл и 19, 6±5, 4 пг/мл, соответственно, $p > 0, 05$.

Содержание регуляторного цитокина IL-2 также не имело как межгрупповых, так и внутригрупповых статистических значимых различий, оставаясь на уровне показателей контроля (табл. 29.)

Концентрация GM-CSF в ФЖ были сопоставимы во всех группах, не зависели от исхода программы и составили в среднем $146, 6 \pm 12, 7$ пг/мл в группах пациенток с аденомиозом и $146, 3 \pm 11, 2$ пг/мл в контроле, $p > 0, 05$.

При том содержание провоспалительных цитокинов в ФЖ пациенток с аденомиозом и практически здоровых женщин не имели достоверных отличий, расчет провоспалительного индекса для данного вида биожидкости (ПВИф), как отношение IL-6/ IL-10 продемонстрировал все же преобладание провоспалительного компонента как в группе контроля, так и в группах больных аденомиозом. Так, в группах «1Б+» и «1Б-» ПВИф составил $1, 8 \pm 3, 37$ и $1, 9 \pm 3, 43$, соответственно, в «2Б+» и «2Б-» - $1, 9 \pm 2, 1$ пг/мл и $1, 8 \pm 3, 2$ пг/мл, не отличаясь от групп контроля 4Б+ и 4Б- - $1, 9 \pm 2, 46$ пг/мл и $1, 8 \pm 2, 1$ пг/мл, соответственно, $p > 0, 05$.

Концентрация фактора роста GM-CSF в ФЖ была сопоставима в обеих группах и не зависела от исхода программы, составив в среднем $146, 6 \pm 12, 7$ в группах пациенток с аденомиозом и $146, 3 \pm 11, 2$ в контроле ($p > 0, 05$).

Выявленная нами умеренно доминирующая провоспалительная активность вполне оправдана в преовуляторном фолликуле, тем более что IL-6 помимо провоспалительного эффекта оказывает ингибирующее действие на секрецию эстрадиола и прогестерона гранулезными клетками, стимулированными ФСГ и тем самым способствует лютеонизации овулировавших фолликулов (Вихляева Е.М. и др., 2012).

Таким образом мы не выявили существенных различий среди показателей цитокинового баланса ФЖ у пациенток репродуктивного возраста с аденомиозом ранних степеней, в том числе по результативности программ у этих пациенток, что в совокупности с хорошими результатами фолликуло- и эмбриогенеза очевидно подтверждает отсутствие эмбрионального фактора, обуславливающего неудачу ЭКО.

2.4.2 Особенности стимуляции суперовуляции, фолликуло- и оогенеза у пациенток в исследуемых группах

При анализе результативности протокола выявлено, что в группах пациенток с аденомиозом в 4 группе (контроль) продолжительность стимуляции составила $8, 8 \pm 1, 5$ дней, как в подгруппах 4Б+ так и в 4Б-. Длительность стимуляции, ежедневная доза индуктора и суммарная доза препарата во всех группах достоверно не различались (табл. 30).

Таблица 30

Параметры индуцированного цикла гестации у пациенток с аденомиозом в цикле ЭКО

Параметр	1 группа, n=73		2 группа, n=76		4 группа, n=45	
	«1Б+» n=17	«1Б-» n=56	«2Б+» n= 23	2Б - n=53	4Б+ n=20	4Б- n=25
Средняя ежедневная доза индуктора, МЕ	181±89	200±96	187±68	184±95	198±101	181±78
Суммарная доза препарата в протоколе, МЕ	1995±735	1850±785	1850±576	1995±506	2000±608	1995±545
Продолжительность стимуляции	8, 7±1, 1	8, 8 ±1, 11	8, 6±1, 2	9, 1±1, 6	8, 9±1, 3	8, 8±1, 5
Общее количество фолликулов	8, 2±1, 4	8, 7±1, 3	8, 9±1, 6	9, 1±1, 2	8, 9±1, 2	9, 2±1, 6
Общее количество аспирированных ооцитов	7, 9±2, 1	7, 3±1, 7	7, 2±1, 6	7, 8±1, 1	7, 5±1, 3	7, 8±1, 3
Количество незрелых ооцитов	0, 6±0, 7	0, 6±0, 8	0, 5±0, 6	0, 6±0, 7	0, 5±0, 8	0, 6±0, 5
Количество дегенеративных ооцитов	0, 1±0, 2	0±0	0±0	0±0	0, 1±0, 1	0, 1±0, 2

где: 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, $p < 0, 05$

На основании проведенного сравнительного анализа результатов индукции овуляции не было выявлено статистически значимых различий между основными и дополнительными группами по общему количеству полученных и аспирированных фолликулов: $8, 2 \pm 1, 4$ и $8, 7 \pm 1, 3$ (группы 1 Б+ и «1Б-»), $8, 9 \pm 1, 6$

и 9, 1±1, 2 (группы «2Б+» и 2Б) и (8, 9±1, 2 и 9, 2±1, 6) - контроль (4-я группа), $p > 0, 1$. Среднее число полученных эмбрионов на пациентку составило в группах «1Б+» и «1Б-» (6, 17±1, 2 и 5, 8±1, 1), в группах 2 Б+ и «2Б-» - 6, 7±1, 2 и 6, 3±0, 8 - соответственно, в группе контроля - 6, 1±1, 1 и 6, 2±0, 8 соответственно, что не составило статистически достоверной межгрупповой разницы.

Всем пациенткам, включенным в исследование, была проведена оценка параметров раннего эмбриогенеза в программе ЭКО. На третьи сутки после оплодотворения доля эмбрионов хорошего качества в группе 1 Б+ составила 45%, а в группе «1Б-» 46, 9%, в группе 2 Б+ и «2Б-» - 44, 5% и 45, 2% соответственно. В контрольной группе 4 Б+ и 4Б- у здоровых женщин доля эмбрионов с нормальным оплодотворением составила 46, 2% и 46, 8%.

Таблица 31

Характеристики эмбрионов 3-го дня культивирования у пациенток гестации
у пациенток с аденомиозом в цикле ЭКО

Параметр	1 группа, n=73		2 группа, n=76		4 группа, n=45		Итог о «1Б+» n=17
	«1Б+» n=17	«1Б-» n=56	«2Б+» n= 23	2Б - n=53	4Б+ n=20	4Б- n=25	
Эмбрионы хорошего качества	67 / 45%	219 / 46, 9%	89 / 44, 5%	212 / 45, 2%	81 / 46, 2%	98 / 46, 8%	766
Эмбрионы удовлетворитель ного качества	57/39, 0%	187 / 35, 7%	82 / 41, 4%	195/41, 6%	72/0, 41%	87/41, 6%	680
Эмбрионы плохого качества	22 / 15, 1%	61 /17, 3	27/13, 6%	61/13, 1	22/12, 5%	24/11, 4%	217
Общее количество полученных эмбрионов	146	467	198	468	175	209	1663

где: 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, $p < 0, 05$

Статистически достоверной разницы между группами по количеству полученных эмбрионов хорошего качества обнаружено не было. При анализе

эмбрионов, остановившихся в развитии до 5-х суток культивирования, статистических различий между исследуемыми группами также выявлено не было, $p > 0,08$). В группе пациенток с наступившей беременностью остановка эмбрионов в развитии до 5-х суток культивирования наблюдалась в среднем в 28,1% случаев, в группе женщин с отсутствием беременности – в 30,2% случаев, как у пациенток с аденомиозом, так и в группе контроля.

Таблица 32

Характеристики эмбрионов 5-го дня культивирования у пациенток гестации у пациенток с аденомиозом в цикле ЭКО

Параметр	1 группа, n=73		2 группа, n=76		4 группа, n=45	
	«1Б+» n=17	«1Б-» n=56	«2Б+» n= 23	2Б - n=53	4Б+ n=20	4Б- n=25
Эмбрионы хорошего качества	58/55, 2%	186/57, 1%	89/57, 7%	193/57, 4%	69/56, 6%	87/56, 1%
Эмбрионы удовлетворительного качества	23/21, 9%	73/22, 3%	34/22, 1%	73/21, 7%	28/22, 9%	33/21, 2%
Эмбрионы плохого качества	24/22, 8%	67/20, 5%	31/20, 1%	70/20, 8%	25/20, 4%	35/22, 6%
Общее количество полученных эмбрионов	105	326	154	336	122	155

где: 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, $p < 0,05$

В целом процент оплодотворения составил 74,3% и достоверно по основным и дополнительным группам не различался.

Всем пациенткам основных и контрольной групп было перенесено по 2 эмбриона хорошего качества.

Таким образом, по данным нашего исследования у пациенток с аденомиозом ранних степеней по сравнению с фертильными здоровыми женщинами отсутствовали статистически значимые отклонения в фолликуло- и эмбриогенезе, которые могли бы повлиять на частоту удачных попыток ЭКО.

2.4.3. Особенности раннего эмбриогенеза и исходов гестации у пациенток с аденомиозом в цикле ЭКО

Несмотря на отсутствие статистической разницы параметров эмбриогенеза частота наступления биохимической беременности была статистически значимо ниже в 1-й группе (21 пациентка (28, 7%), по сравнению с группой контроля (25 пациенток (55, 5%), $p < 0, 01$.

Таблица 33

Характеристики раннего эмбриогенеза и исходов гестации у пациенток с аденомиозом в цикле ЭКО

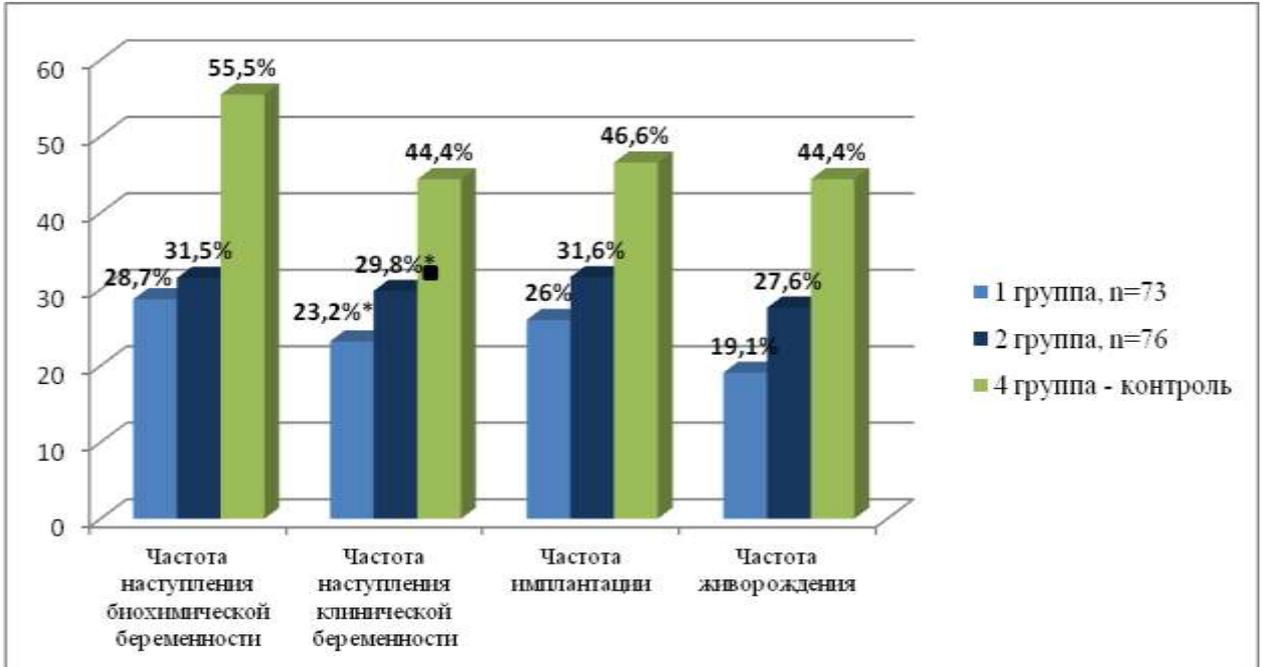
Параметр	1 группа, n=73		2 группа, n=76		4 группа, n=45	
	«1Б+» n=17	«1Б-» n=56	«2Б+» n= 23	2Б - n=53	4Б+ n=20	4Б- n=25
Среднее число полученных эмбрионов на пациентку	6, 17	5, 8	6, 7	6, 3	6, 1	6, 2
Процент оплодотворения	75%	73, 7%	72, 6	74, 5	75, 7	74, 1
Количество перенесенных эмбрионов в полость матки	2	2	2	2	2	2
Частота наступления биохимической беременности	21/28, 7%		24/31, 5%		25/55, 5%	
Частота наступления клинической беременности	17/23, 2%*		23/29, 8%*■		20/44, 4%	
Частота имплантации	19 / 26%		24 / 31, 6%		21 / 46, 6%	
Частота живорождения	14 / 19, 1%		27, 6%		44, 4%	

где: 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, $p < 0, 05$

Во 2-й группе при проведении предгравидарной подготовки диеногестом, биохимическая беременность состоялась у 24 женщин (31, 5%), что составило статистически значимую положительную разницу с 1-й группой (21 пациентка

(28, 7%), при этом, относительно группы контроля (25 пациенток (55, 5%) показатель наступления биохимической беременности был статистически значимо ниже, $p < 0, 01$. Такая же тенденция прослеживалась при анализе частоты имплантации и наступления клинической беременности (рис. 10).



где: 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, $p < 0, 05$

Рисунок 10. Характеристики раннего эмбриогенеза и исходов гестации у пациенток с аденомиозом в цикле ЭКО

В первой группе беременность родами в доношенном сроке у 9 пациенток, из них была 1 двойня. У 2-х пациенток состоялись ранние преждевременные роды на сроке 32 (одноплодная беременность) и преждевременные роды - 35 недель (двойня). Всего в 1 группе родилось 14 (19, 1%) условно здоровых детей. Частота прерывания беременности в первой группе составила 23, 5% (4), из них было две замерших беременности и два самопроизвольных выкидыша на сроке 9-10 недель. Во второй группе беременность завершилась родами у 20 пациенток, состоялись одни преждевременные роды двойней на сроке 34 недели, в итоге родилось 22 ребенка. Потери беременности составили 8, 7% (2), из них одна замершая беременность и один самопроизвольный выкидыш 7-8 недель. В

группе контроля беременность завершилась срочными родами у 20 пациенток, в том числе одной двойней. Преждевременных родов и выкидышей в контрольной группе не было, родился 21 ребенок. Частота прерывания беременности в третьей группе составила 28, 6% (4), из них три неразвивающихся беременности и один поздний выкидыш при сроке 20 недель беременности. Таким образом, частота прерывания беременностей была статистически значимо высока в 1-й группе по сравнению со 2-й группой и группой контроля. Частота живорождения в исследуемых группах составила 19, 1%, 27, 6% и 44, 4% в 1-й, 2-й и 3-й группах, соответственно ($p=0, 075$). Следовательно, в группах женщин с аденомиозом (1-я и 2-я группы) наблюдалось статистически значимое снижение частоты зачатия и живорождения (χ^2 , $p=0, 059$), по сравнению с группой контроля и эти показатели были наиболее низкими у пациенток с аденомиозом, которые вступали в цикл ЭКО без предгравидарной подготовки. На фоне предгравидарной подготовки диеногестом (2-я группа), показатели зачатия и живорождения статистически значимо увеличивались относительно 1-й группы, однако не достигали таковых в группе контроля.

2.5. Разработка дифференцированной предгравидарной подготовки в зависимости от характеристик имплантационного фактора эндометрия

При сравнительном анализе исходов ЭКО у пациенток 1-й и 2-й групп с группой контроля мы выявили, что несмотря на удовлетворительные результаты параметров фолликуло- и эмбриогенеза (Глава 2.4), частота наступления биохимической беременности в 1-й группе (предгравидарная подготовка микронизированным прогестероном) была минимальна и составила 28, 7% от переноса, во 2-й клинической группе (предгравидарная подготовка диеногестом) частота наступления биохимической беременности была статистически значимо выше и составила 31, 5%, однако по сравнению с группой контроля данный показатель был статистически значимо снижен (группа контроля - 55, 5%) $p<0, 05$. Такие же тенденции отмечены и в частоте наступлении

клинической беременности (1-я группа - 17 (23, 2%), 2-я группа - 23 (29, 8%), контроль - 20 (44, 4%). При этом при сравнении с данным отчета РАРЧ за 2015 год (37, 6% из расчета на перенос), частота наступления клинической беременности у наших пациенток была статистически значимо меньше как в первой, так и во второй клинических группах (табл. 34).

Таблица 34

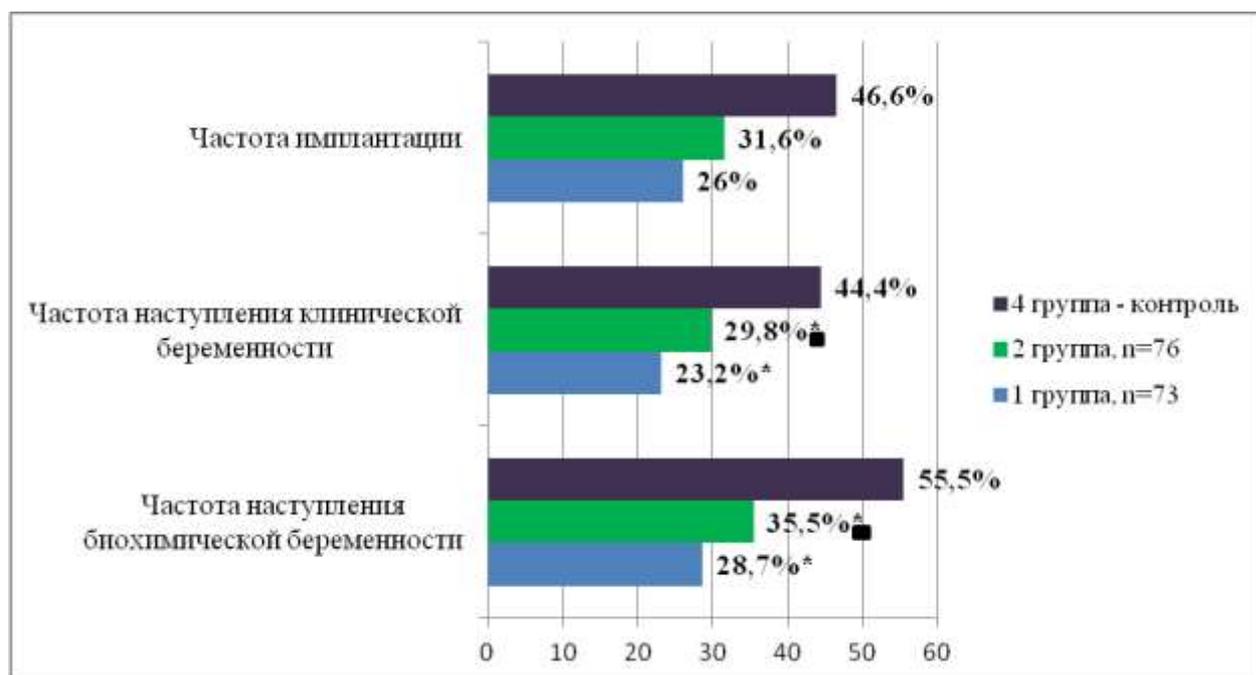
Характеристики раннего эмбриогенеза и исходов гестации у пациенток с аденомиозом в цикле ЭКО в зависимости от вида предгравидарной подготовки

Параметр	1 группа, n=73		2 группа, n=76		4 группа, n=45	
	«1Б+» n=17	«1Б-» n=56	«2Б+» n= 23	2Б - n=53	4Б+ n=20	4Б- n=25
Среднее число полученных эмбрионов на пациентку	6, 17	5, 8	6, 7	6, 3	6, 1	6, 2
Процент оплодотворения	75	73, 7	72, 6	74, 5	75, 7	74, 1
Количество перенесенных эмбрионов в полость матки	2	2	2	2	2	2
Частота наступления биохимической беременности	абс	21	27	25		
	%	28, 7*	35, 5*■	55, 5		
Частота наступления клинической беременности	абс	17	23	20		
	%	23, 2*	29, 8*■	44, 4		
Частота имплантации	абс	19	24	21		
	%	26	31, 6	46, 6		

где: 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, $p < 0, 05$

Это позволило сделать вывод, что при наличии дефектов имплантационного фактора эндометрия предгравидарная подготовка микроинтерализованным прогестероном у большинства пациенток была малорезультативна. (рис. 11)



где: 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, $p < 0,05$

Рисунок 11. Характеристики раннего эмбриогенеза и исходов гестации у пациенток с аденомиозом в цикле ЭКО в зависимости от вида предгравидарной подготовки

Предгравидарная подготовка диеногестом была более эффективна, однако у определенного количества пациенток не привела к позитивному результату. По данной причине нами еще раз был проанализирован цитокиновый статус периферической крови, параметры имплантационного фактора эндометрия и их динамика у пациенток с удачной и неудачной попытками ЭКО на фоне предгравидарной подготовки диеногестом на 19-21 день менструального цикла. Пациентки с положительным результатом ЭКО были объединены в группу «2Б+», с отрицательным в группу «2Б-».

Таблица 35

Концентрация цитокинов периферической крови у пациенток с первой степенью аденомиоза 2-й группы, 1-й группы и пациенток контрольной группы

Показатели, пг/мл	1-я группа, n=73		2-я группа, n=76		4 группа, n=45
	Исходно	После ПГ	Исходно	После ПГ	
IL-1 β	165, 9 \pm 48, 3*	125, 2 \pm 18, 0*	178, 9 \pm 63, 4*	113, 0 \pm 38, 8*■	66, 2 \pm 2, 1
IL-8	68, 5 \pm 14, 7*	47, 1 \pm 6, 0*	79, 3 \pm 19, 8*	51, 6 \pm 9, 2*■	33, 7 \pm 6, 6
IL-6	90, 4 \pm 25, 4*	69, 6 \pm 16, 6*	95, 1 \pm 28, 4*	50, 9 \pm 10, 7*■	36, 2 \pm 4, 9
IL-4	23, 3 \pm 4, 8*	21, 4 \pm 4, 8*	25, 6 \pm 4, 0*	21, 6 \pm 5, 1*	21, 3 \pm 3, 6
IL-10	23, 6 \pm 5, 9	21, 8 \pm 5, 5	24, 9 \pm 5, 6	23, 2 \pm 5, 0	23, 7 \pm 2, 9
RAIL	425, 0 \pm 41, 7*	399, 9 \pm 54, 5	420, 3 \pm 40, 4*	397, 9 \pm 55, 2	394, 9 \pm 26, 5
VEGF	314, 3 \pm 100, 6*	201, 9 \pm 69, 0*	322, 1 \pm 104, 6*	117, 9 \pm 26, 0*■	49, 8 \pm 13, 2
ПВИ	39, 0 \pm 11, 1*	32, 0 \pm 7, 2*	41, 9 \pm 13, 8*	28, 3 \pm 8, 7*■	16, 9 \pm 3, 9

где: 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 в 1-й клинической группе, $p < 0, 05$

Из таблицы 35 следует, что в 1-й группе после ПГ только два показателя периферической крови, IL-4 и RAIL, приблизились к показателям контрольной группы ($p > 0, 05$). Во 2-й группе кроме этих же показателей добавился третий, близкий к значениям контрольной группы IL-10 ($p > 0, 05$). По остальным показателям периферической крови статистически значимое преимущество для 2-й группы установить не удалось.

Таблица 36

Уровни достоверности для попарного сравнения концентрации цитокинов периферической крови у пациенток сравниваемых групп

(критерий Манни-Уитни)

Показатели, пг/мл	1-я группа и 2-я группа		1-я группа и контроль		2-я группа и контроль	
	Исходно	После ПГ	Исходно	После ПГ	Исходно	После ПГ
IL-1 β	0, 096798	0, 003248	0, 000000	0, 000000	0, 000000	0, 000000
IL-8	0, 000526	0, 007770	0, 000000	0, 000000	0, 000000	0, 000000
IL-6	0, 362109	0, 000000	0, 000000	0, 000000	0, 000000	0, 000000

Продолжение таблицы 36

IL-4	0,015814	0,805043	0,027837	0,631758	0,000000	0,846909
IL-10	0,077120	0,038319	0,310625	0,014220	0,093759	0,721368
RAIL	0,505137	0,783082	0,000683	0,594804	0,001599	0,571542
VEGF	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
ПВИ	0,117258	0,001281	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000

На втором этапе анализировали концентрацию цитокинов в цервикальной слизи у пациенток.

Таблица 37

Концентрация цитокинов в цервикальной слизи у пациенток с первой степенью аденомиоза 2-й группы, 1-й группы и пациенток контрольной группы

Показатели, пг/мл	1-я группа, n=73		2-я группа, n=76		4 группа, n=45
	Исходно	После ПГ	Исходно	После ПГ	
LIF	17,2±6,8*	22,8±5,5*	19,6±6,9*	27,0±6,0*■	33,1±8,3
LIF-R	139,0±36,8*	166,7±30,3*	142,1±36,9*	190,9±24,6*■	218,8±15,7
IL-6	496,6±79,4*	325,1±64,4*	431,2±136,1*	233,1±80,3*■	131,4±11,6
IL-10	9,7±5,9	9,3±1,5	10,6±5,0	9,3±1,5	9,7±1,7
ПВИ-1	72,4±38,5*	36,3±11,0*	52,9±35,4*	26,0±10,4*■	13,9±2,2

где: 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 в 1-й клинической группе, $p < 0,05$

Таблица 38

Уровни достоверности для попарного сравнения концентрации цитокинов в цервикальной слизи у пациенток сравниваемых групп (критерий Манни-Уитни)

Показатель и, пг/мл	1-я группа и 2-я группа		1-я группа и 4 группа		2-я группа и 4 группа	
	Исходно	После ПГ	Исходно	После ПГ	Исходно	После ПГ
LIF	0,033493	0,002994	0,158900	0,000000	0,013226	0,000000
LIF-R	0,630438	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
IL-6	0,009735	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
IL-10	0,085478	0,781389	0,036482	0,993342	0,819438	0,736280
ПВИ-1	0,003304	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000

Из таблицы 38 следует, что в 1-й группе после ПГ только один показатель цитокинов в цервикальной слизи, IL-10, приблизился к показателю контрольной группы ($p > 0,05$). Во 2-й группе такой же показатель был близок к значениям контрольной группы IL-10 ($p > 0,05$). По остальным показателям цервикальной слизи статистически значимое преимущество для 2-й группы установить не удалось.

Таблица 39

Уровень цитокинов периферической крови у пациенток с первой степенью аденомиоза и пациенток контрольной группы

Показатели, пг/мл	группа «2Б+», n=23		группа «2Б-», n=53		4 группа, n=45
	Исходно	После ПГ	Исходно	После ПГ	
IL1 β	127, 4 \pm 12, 7*■	82, 9 \pm 18, 4*■	202, 2 \pm 63, 7*	126, 0 \pm 38, 2*	66, 2 \pm 2, 1
IL 8	59, 4 \pm 8, 8*■	49, 8 \pm 7, 8*■	87, 9 \pm 16, 7*	52, 4 \pm 9, 7*	33, 7 \pm 6, 6
IL 6	75, 7 \pm 13, 2*■	47, 4 \pm 4, 8■	103, 5 \pm 29, 1*	52, 4 \pm 12, 1*	36, 2 \pm 4, 9
IL 4	22, 2 \pm 4, 4■	19, 34, 6 \pm 2, 4■	27, 09 \pm 2, 7*	22, 5 \pm 4, 9	21, 3 \pm 3, 6
IL 10	22, 5 \pm 4, 3	21, 9 \pm 4, 7	26, 1 \pm 5, 7*	23, 8 \pm 4, 5	23, 7 \pm 2, 9
RAIL	409, 8 \pm 25, 9	346, 4 \pm 43, 4■	424, 8 \pm 44, 7*	420, 2 \pm 43, 9*	394, 9 \pm 26, 5
VEGF	125, 4 \pm 28, 7*■	103, 1 \pm 28, 7*■	264, 1 \pm 97, 5*	124, 3 \pm 24, 7*	49, 8 \pm 13, 2

где: 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 в «2Б-» клинической группе, $p < 0,05$

При анализе уровня провоспалительных цитокинов периферической крови (Табл. 40) выявлено, что в группе «2Б+» исходный уровень IL-1 β , IL-8, IL-6 был достоверно ниже, чем аналогичные показатели в группе Б-, $p < 0,005$. При проведении предгравидарной подготовки диеногестом уровень всех цитокинов провоспалительного пула статистически значимо снижался, причем практически равнозначно по модулю, но при этом из-за гораздо более высоких исходных значений уровней в группе «2Б-», не достигал параметров группы контроля, статистически высоко значимо отличаясь от них, $p < 0,005$ (табл. 39).

Уровень противовоспалительных цитокинов по данным нашего исследования в группе «2Б-», хоть и статистически значимо отличался от группы

«2Б+», но при этом разница в абсолютных значениях параметров не была столь высока, как при подсчете уровня провоспалительных цитокинов. При этом отмечалось равнозначное по модулю снижение их уровней на фоне предгравидарной подготовки диеногестом. Наиболее объективно этот диссонанс демонстрирует ПВИ, который исходно составил $31, 2 \pm 3, 3$ у пациенток группы «2Б+» и в группе «2Б-» - $46, 5 \pm 14, 1$. На фоне предгравидарной подготовки динамика снижения ПВИ была статистически значимо выраженной, и в итоге ПВИ составил в группе «2Б+» - $19, 2 \pm 4, 1$, а в группе «2Б-» - $30, 2 \pm 9, 4$.

Таблица 40

Уровень ПВИ периферической крови (исходный уровень и после проведения предгравидарной подготовки диеногестом) ($IL-1\beta/RAIL * 100$).

группа «2Б+», n=23	Исходно	$31, 2 \pm 3, 3^{* \blacksquare}$
	После ПГ	$19, 2 \pm 4, 1$
группа «2Б-», n=53	Исходно	$46, 5 \pm 14, 1^{* \blacksquare}$
	После ПГ	$30, 2 \pm 9, 4^{*}$
4 группа (контроль), n=45		$16, 9 \pm 3, 9$

где символ «*» соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в контроле, $p < 0, 05$

где символ « \blacksquare » соответствует статистически значимому различию показателей по сравнению со средними значениями аналогичных показателей в «2Б-» клинической группе, $p < 0, 05$

Таблица 41

Уровень достоверности различия значений концентрации цитокинов периферической крови у пациенток с 1-й степенью аденомиоза группы «2Б+» и группы «2Б-» исходно

Показатели, пг/мл	Исходно		Уровень достоверности
	группа «2Б+», n=23	группа «2Б-», n=53	
IL-1 β	$127, 4 \pm 12, 7$	$202, 2 \pm 63, 7$	0, 000045
IL-8	$59, 4 \pm 8, 8$	$87, 9 \pm 16, 7$	0, 000000
IL-6	$75, 7 \pm 13, 2$	$103, 5 \pm 29, 1$	0, 000036
IL-4	$22, 2 \pm 4, 4$	$27, 09 \pm 2, 7$	0, 000004
IL-10	$22, 5 \pm 4, 3$	$26, 1 \pm 5, 7$	0, 009943
RAIL	$409, 8 \pm 25, 9$	$424, 8 \pm 44, 7$	0, 343431
VEGF	$125, 4 \pm 28, 7$	$264, 1 \pm 97, 5$	0, 000000
ПВИ	$31, 2 \pm 3, 3$	$46, 5 \pm 14, 1$	0, 000064

При проведении сравнительного анализа выявлено, что из сравниваемых показателей, определяемых в периферической крови до проведения предгравидарной подготовки между группами «2Б+» и «2Б-», индикаторными могут быть следующие показатели: IL1 β , IL8, IL6, IL4, IL10, VEGF, ПВИ.

Таблица 42

Параметры, определяющие имплантационный фактор в цервикальной слизи у пациенток с первой степенью аденомиоза и пациенток контрольной группы на ЛГ+7

Показатели, пг/мл	группа «2Б+», n=23		группа «2Б-», n=53		4 группа, n=45
	Исходно	После ПГ	Исходно	После ПГ	ЛГ+7
LIF	24, 5 \pm 4, 7*■	28, 1 \pm 3, 9	17, 4 \pm 6, 9*	23, 6 \pm 6, 3*	33, 4 \pm 8, 5
LIF-R	175, 6 \pm 16, 9*■	197, 8 \pm 16, 8	127, 8 \pm 30, 2*	178, 5 \pm 24, 6*	218, 8 \pm 15, 7
IL6	277, 5 \pm 37, 1*■	140, 2 \pm 30, 3	498, 7 \pm 100, 4*	223, 6 \pm 33, 6*	131, 4 \pm 11, 6
IL10	9, 9 \pm 5, 9*	9, 5 \pm 2, 3	11 \pm 5, 8*	9, 4 \pm 1, 5	9, 6 \pm 1, 7
VEGF	239, 5 \pm 34, 7*■	176, 7 \pm 35, 7	392, 5 \pm 98, 7*	298, 5 \pm 3, 5*	164, 2 \pm 15, 5
GM-CS	31, 5 \pm 5, 7*■	50, 6 \pm 6, 8	20, 4 \pm 6, 4*	36, 7 \pm 2, 4*	53, 9 \pm 7, 38
ПВИ -1	36, 2 \pm 10, 5*■	16, 2 \pm 5, 4	63, 2 \pm 37, 6*	29, 7 \pm 9, 6*	14, 4 \pm 2, 5

где: 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 в «2Б-» клинической группе, $p < 0, 05$

При анализе показателей, определяющих имплантационный потенциал эндометрия, в группе «2Б-» отмечались те же тенденции: исходный уровень LIF и LIF-R был значительно снижен по сравнению с группой «2Б+» ($p < 0, 005$), прирост показателей в динамике по модулю был сходным, однако в группе «2Б-» не достиг уровня контроля. Уровень VEGF в группе «2Б-», как в периферической крови, так и в цервикальной слизи был максимален и даже на фоне предгравидарной подготовки диеногестом статистически значимо отличался от группы контроля ($p < 0, 005$). ПВИ1, определяемый как соотношение IL-6/ IL-10 свидетельствовал о патологическом преобладании провоспалительных

цитокинов на местном уровне у пациенток с неудачной попыткой ЭКО (группа «2Б-»).

Таким образом, повторный статистическом анализ данных позволил установить, что у части пациенток с аденомиозом 1-й и 2-й степени наблюдаются более выраженные иммунные дисфункции на системном уровне, сопровождающиеся более значимым снижением имплантационного потенциала эндометрия, который мы определили как очень низкий.

Таблица 43

Уровень достоверности различия значений концентрации цитокинов в цервикальной слизи у пациенток с 1-й степенью аденомиоза группы «2Б+» и группы «2Б-» исходно

Показатели, пг/мл	Исходно		Уровень достоверности
	группа «2Б+», n=23	группа «2Б-», n=53	
LIF	24, 5±3, 7	17, 4±6, 9	0, 000029
LIF-R	175, 1±21, 9	127, 7±32, 8	0, 000000
IL-6	276, 1±57, 5	498, 5±100, 4	0, 000000
IL-10	9, 9±1, 9	11, 0±5, 8	0, 995480
ПВИ-1	29, 3±9, 3	63, 2±37, 6	0, 000174

Проведя анализ достоверности отличий, мы получили данные свидетельствующие о том, что из сравниваемых показателей, определяемых в цервикальной слизи до проведения предгравидарной подготовки между группами «2Б+» и «2Б-» индикаторными могут быть показатели: LIF, LIF-R, IL-6 и ПВИ -1.

Проведя сравнительный анализ различия показателей в группах 1 и 2 между положительными и отрицательными попытками ЭКО, мы получили следующие результаты (табл. 44).

Среди показателей крови наибольшее количество различий между значениями показателей в периферической крови для успешной и неуспешной попытки ЭКО наблюдалось для IL-1β, IL-6, IL-4, IL-10, RAIP, VEGF, ПВИ. Среди показателей цервикальной слизи наибольшее количество различий между

значениями показателей для клинически беременных и небеременных наблюдалось для LIF, LIF-R, IL-6, IL-10, ПВИ-ЦС.

Таблица 44

Результаты анализа различия показателей между группами «1Б+» и «1Б-»
и «2Б+» и «2Б-»

Показатели, пг/мл	1 группа	2 группа	Количество случаев различия
	Исходно	Исходно	
IL1 β	1	1	2
IL8	0	1	1
IL-6	1	1	2
IL-4	1	1	2
IL-10	1	1	2
RAIL	1	0	1
VEGF	1	1	2
ПВИ	1	1	2
LIF	1	1	2
LIF-R	1	1	2
IL-6	1	1	2
IL-10	0	0	0
ПВИ-1	1	1	2

Поэтому с помощью графического анализа категоризованных гистограмм были выделены три показателя: LIF, ПВИ, ПВИ-1(Рис.12-14) Эти показатели обладали малой дисперсией и незначительным перекрытием значений для успешной и неудачной попыток ЭКО.

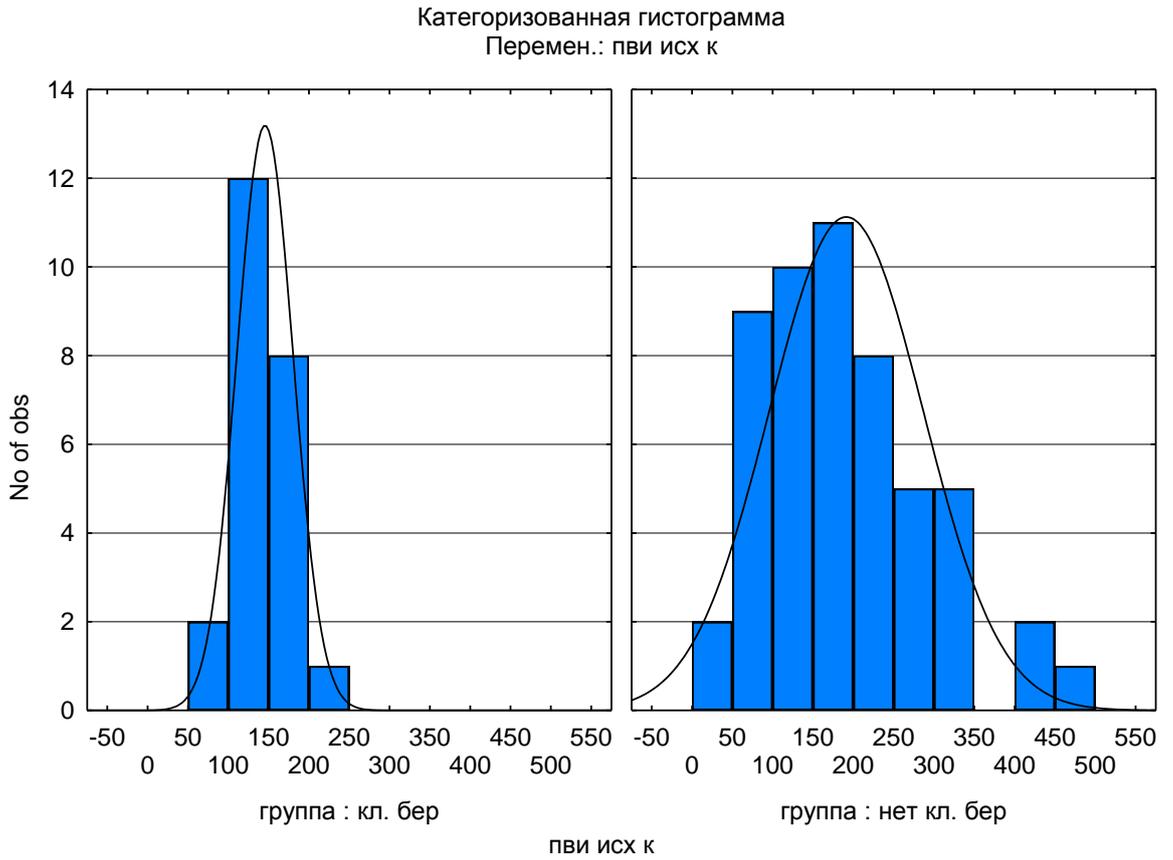


Рисунок 12. Категоризованные гистограммы для исходного показателя
ПВИ периферической крови

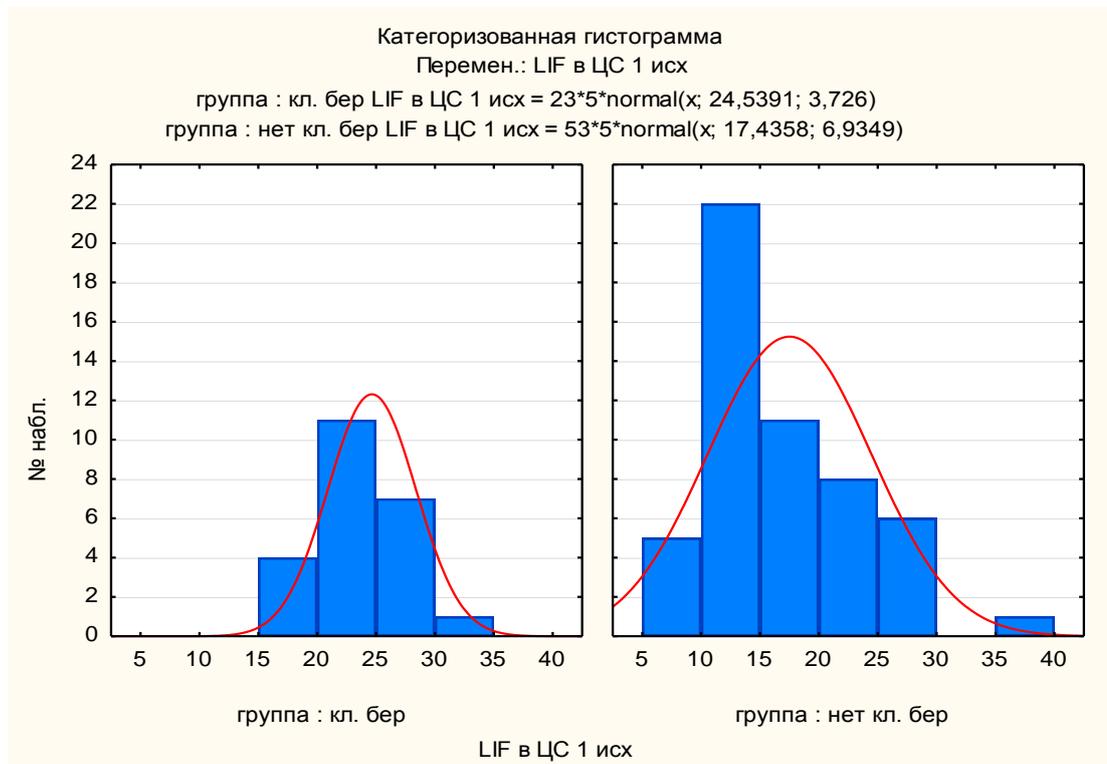


Рисунок 13. Категоризованные гистограммы для исходного показателя
LIF цервикальной слизи

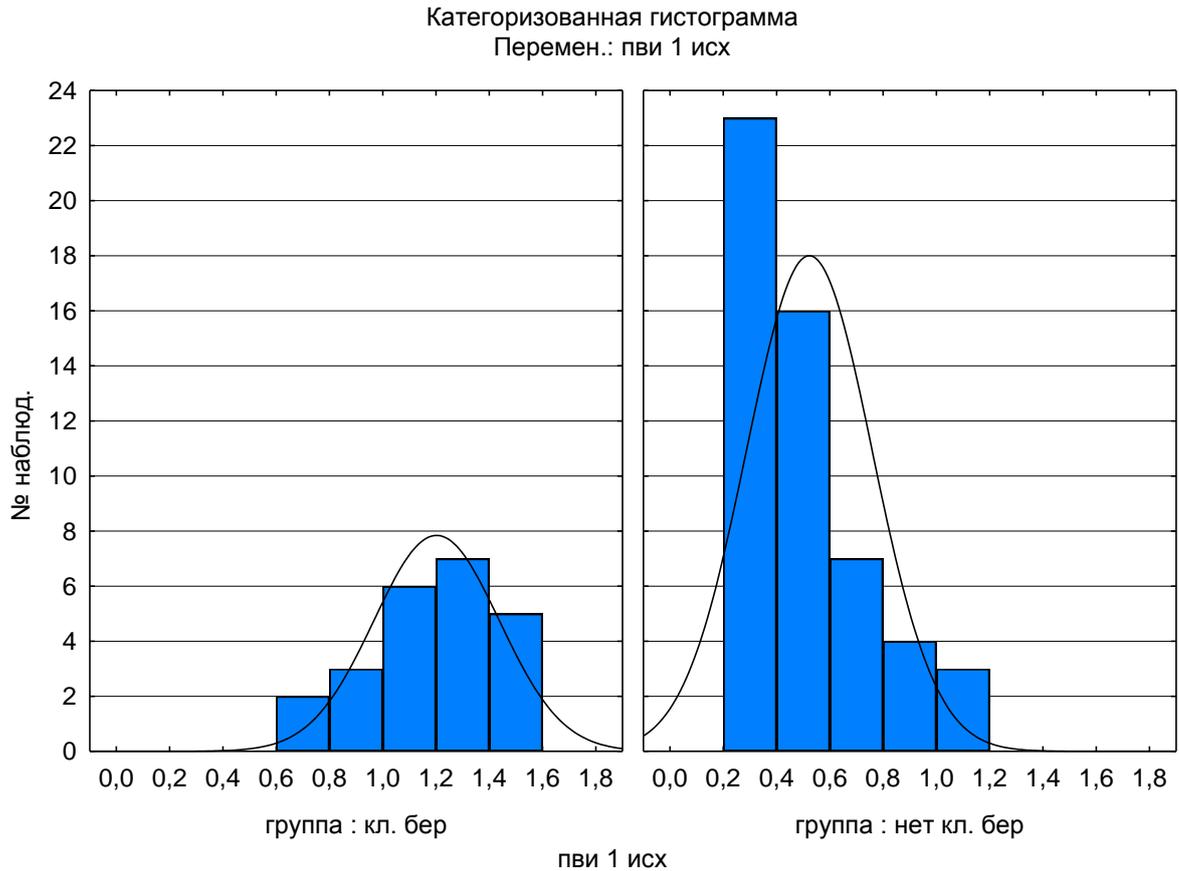


Рисунок 14. Категоризованные гистограммы для исходных показателей
ПВИ-цервикальной слизи

Предположив, что хотя по отдельности каждый показатель был индикативен, но сочетанность показателей могла усилить различия в группах клинически беременных и небеременных для этого комбинаторно определили размещения как сумму показателей, в которую включены как показатели цитокинового статуса периферической крови, так и показатели, определяющие уровень имплантационного потенциала эндометрия, определяемые в цервикальной слизи. После многократного сравнения для отдельных показателей и для сочетания показателей с помощью ROC-анализа выделили следующие показатели: LIF, ПВИ, ПВИ-1.

Используя метод логистической регрессии и ROC-анализа, мы получили для суммы трех показателей площадь под кривой ROC-анализа самое наибольшее значение, что указывает на очень хорошие прогностические возможности модели, характеризующей 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 специфичностью - 76, 8%), для ПВИ > 28, 7 у.е. (чувствительность 76, 5% и специфичностью - 78, 5%) и для ПВИ1 > 35, 7 у.е. (чувствительность - 72, 5% и специфичностью - 77, 8%). Суммарный оптимальный порог для данных показателей - 88, 9 у.е., с чувствительностью и специфичностью метода суммарного определения 82, 4% и 83, 6% соответственно (табл. 45).

Таблица 45

Данные ROC-анализа показателей низкого имплантационного потенциала

	Площадь под кривой	Оптимальный порог	Чувствительность, %	Специфичность, %	P-значение
LIF	0, 567	24, 5	77, 5	76, 8	0, 00676*
ПВИ	0, 675	28, 7	76, 5	78, 5	0, 0087*
ПВИ 1	0, 647	35, 7	78, 5	77, 8	0, 0238*
Суммарно	0, 721	88, 9	82, 4	83, 6	2, 3E-05*

Пациентки с аденомиоз-ассоциированным бесплодием, имеющие данные показатели имплантационного фактора на фоне предгравидарной подготовки диеногестом, восстанавливаются практически в значениях контрольной группы, что позволяет улучшить результативность ВРТ.

Таблица 46

Данные ROC-анализа показателей очень низкого имплантационного потенциала

	Площадь под кривой	Оптимальный порог	Чувствительность, %	Специфичность, %	P-значение
LIF	0, 677	18, 4	87, 5	75, 9	0, 009009*
ПВИ	0, 597	45, 7	82, 5	79, 5	0, 009995*
ПВИ 1	0, 658	49, 1	72, 5	77, 8	0, 01764*
Суммарно	0, 785	113, 2	85, 2	84, 4	2, 8E-05*

При этом 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%) суммарный оптимальный порог для данных показателей

- 113, 2 у.е., с чувствительностью и специфичностью метода суммарного определения 85, 2% и 84, 4% соответственно.

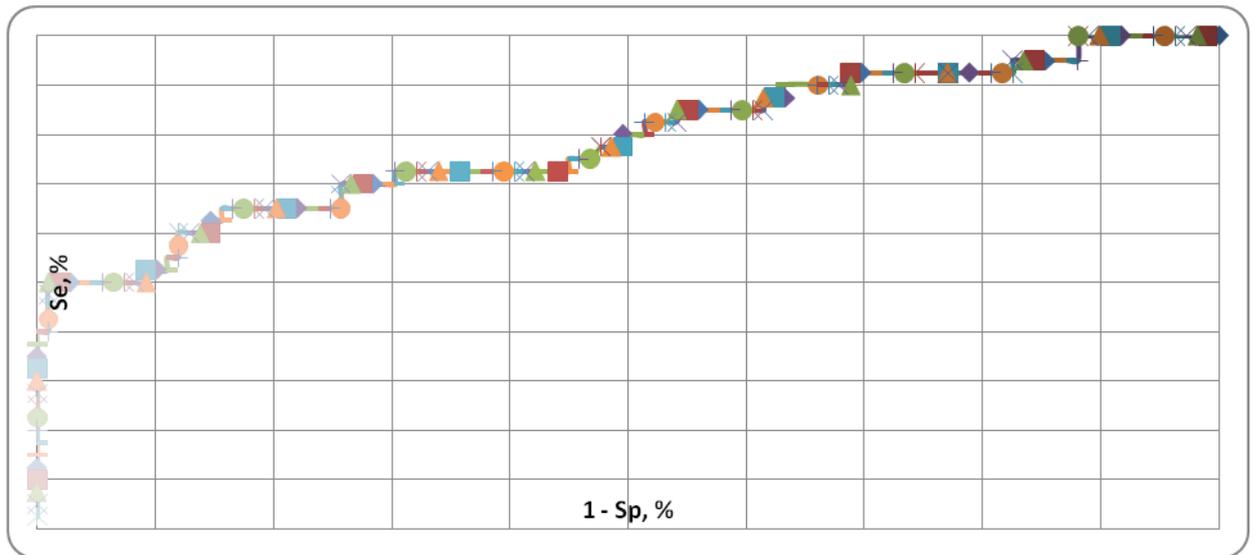


Рисунок 15. ROC - кривая для суммы индикативных показателей

То есть, пациентки с аденомиозом 1-й степени при выявлении вышеуказанных параметров имеют низкую прогностическую вероятность беременности в связи с критически сниженным имплантационным потенциалом эндометрия, который даже на фоне предгравидарной подготовки диеногестом не восстанавливается в контрольных значениях, и, следовательно, требует включения в комплекс предгравидарной подготовки дополнительной иммуностропной терапии.

Известно, что в реализации клеточного иммунного ответа участвуют цитокины, продуцируемые Тх2-клетками (Симбирцев А.С., 2004) в то время как продукция таких провоспалительных цитокинов как ИЛ-1 β , ИЛ-8 и ИЛ-6 необходима не только для клеточных цитотоксических реакций, но и для нормального протекания ранних этапов эмбриогенеза и имплантации (Чистякова Г.Н. и др; Ashkar A., 2001). В этой связи нами показано, что у пациенток группы «2Б-» наблюдаются многократно превышенные относительно группы «2Б+» и группы контроля уровни ИЛ-1 β , ИЛ-8 и ИЛ-6.

В свою очередь Th2-цитокины (ИЛ-4, ИЛ-10) обеспечивают не только преобладание гуморального иммунного ответа (Симбирцев А.С., 2004), но и

ангиогенез и гемопоэз в тканях материнского и зародышевого происхождения, стимуляцию инвазии трофобласта, в то время как Th1-цитокины ограничивают этот процесс (Чистякова Г.Н. и др; Ashkar A., 2001). Поэтому выявленное в нашем исследовании преобладающее повышение провоспалительных цитокинов периферической крови, что наглядно демонстрирует ПВИ, можно рассматривать в качестве фактора, способствующего нарушению процесса имплантации оплодотворенной яйцеклетки (Сидельникова В.М., 2009; Van Mourik MS. et al., 2009).

Активную роль в процессе имплантации играет ингибирующий лейкемию фактор LIF, максимальный уровень которого в цервикальной слизи выявляется именно на стадии имплантации (Сеидова Л.А. и др., 2015; Bentin-Ley U. 2000; Serafini P. C. et al., 2009). У пациенток группы «2Б-» нами было выявлено минимальное количество данного цитокина, что вероятно связано с избыточным количеством IL1 β , а также опосредуется повышенным уровнем IL-6, так как эти цитокины кодируются собственными генами, но имеют общность в строении и способность взаимодействовать с рецепторной субъединицей gp130, что обеспечивает одинаковую схему передачи внутриклеточного активационного сигнала и частичное перекрывание биологических свойств (Brinsden P. R. et al. 2009).

Известно, что процессы иммунного воспаления и коагуляции являются взаимосвязанными и взаимоактивируемыми (Emson C., 2004; Yoshida H., 2009). Роль цитокинов в опосредовании индуцированной воспалением коагуляции подтверждается сообщениями, описывающими способность цитокинов, таких как IL-1, IL-6 усиливать экспрессию VEGF, что инициирует патологический неоангиогенез у пациенток с аденомиозом даже ранних степеней и приводит к дисбалансу между про- и антикоагуляционными реакциями. В целом, эти дисфункции способствуют внутрисосудистой коагуляции, нарушению процессов имплантации и развитию экстраэмбриональных структур и самого эмбриона.

Как показывают наши исследования, при умеренно выраженных иммунологических дисфункциях (группа «2Б+») иммуотропного эффекта

диеногеста вполне достаточно для их полноценной коррекции. Однако в условиях глубоких дисфункций как на системном, так и на местном уровне, наблюдаемых у женщин с аденомиозом 1-й степени и неудачной попыткой ЭКО, даже на фоне предгравидарной подготовки диеногестом целесообразно дополнительное применение иммуномодулятора прямого действия для полноценного восстановления местного цитокинового баланса и параметров, определяющих имплантационный фактор эндометрия.

В нашем исследовании в качестве иммунокорректора был выбран дезоксирибонуклеинат натрия, механизм действия которого связан с коррегирующим влиянием практически на все звенья иммунной системы. Созданный на основе низкомолекулярной ДНК из молок лососевых рыб, данный иммуномодулятор повышает функциональную активность фагоцитирующих клеток, участвует в регуляции антиоксидантного действия, что подтверждает значение экзогенных нуклеиновых кислот любого происхождения в поддержании гомеостаза и перспективность их применения в качестве иммунокорректоров при состояниях, сопровождающихся развитием вторичной иммунологической недостаточности (Федянина, Л.Н., 2007). Наряду с этим дезоксирибонуклеинат натрия проявляет свойства индуктора цитокинов с избирательным регуляторным эффектом по отношению к ранним гемопозитическим цитокинам (IL-3 и GM-CSF), а также свойства стимулятора продукции цитокинов, вырабатываемых преимущественно Th1-клетками (IFN γ), т.е. способствует развитию клеточного иммунного ответа (Серебряная, Н.Б., 2010). В настоящее время считается доказанным TLR9-опосредованный механизм иммуотропных эффектов препарата нуклеиновых кислот животного происхождения в отношении функциональных дефектов клеток врожденного иммунитета (Русинова Т.В. и др., 2016).

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 (Ковальчук Л.В. и др., 2000; Русинова Т.В. и др.,

2016), что не может опосредованно не влиять на качество имплантационного фактора эндометрия. Также многочисленными исследованиями доказано отсутствие мутагенного, тератогенного, эмбриотоксического, канцерогенного действий, аллергизирующих свойств, цитогенетических эффектов дезоксирибонуклеината натрия. Препарат разрешен к применению даже во время беременности и является одним из лекарственных средств (по данным РЛС), применяемых при эндометриозе (Регистр лекарственных средств России // Энциклопедия лекарств и товаров аптечного ассортимента, 2017). Поэтому мы предполагаем, что сочетание дезоксирибонуклеината натрия с диеногестом, чьи гормоноопосредованные иммуномодулирующие свойства уже в достаточной мере изучены (Куценко И. и. и др., 2018), позволят взаимопотенцировать и усилить влияние на имеющийся у пациенток с аденомиозом и бесплодием цитокинозависимо сниженный имплантационный потенциал эндометрия.

2.6. Сравнительная характеристика динамики уровня цитокинов периферической крови и параметров рецептивности эндометрия у пациенток с аденомиозом на фоне предгравидарной подготовки диеногестом и деринатом, в том числе и в посттрансферном периоде

В ходе исследования нами были выбраны пациентки с низким рецептивным потенциалом (сформирована 3-я клиническая группа), которым проведена предгравидарная подготовка, заключающаяся в приеме диеногеста в дозе 2 мг в сутки в течение 3 месяцев и внутримышечное введение дезоксирибонуклеината натрия 75 мг (5 мл 1, 5% раствора) внутримышечно с интервалом введения 48 часов, 5 инъекций на курс, во второй фазе цикла предшествующего фертильному начиная с ЛГ+3. Сравнение динамики цитокинов периферической крови и локальных параметров имплантационного потенциала проводилось с группой «2Б-»(неудачная попытка ЭКО после проведения предгравидарной подготовки диеногестом, очень низкий имплантационный потенциал) и с группой контроля (4 группа).

2.6.1. Сравнительная характеристика динамики уровня цитокинов периферической крови у пациенток с аденомиозом на фоне предгравидарной подготовки диеногестом и деринатом, в том числе и в посттрансферном периоде

Таблица 47

Динамика уровня провоспалительных цитокинов в сыворотке периферической крови в зависимости от вида предгравидарной подготовки у пациенток с аденомиозом

Параметры, пг/мл			3 группа, n=77	«2Б-», n=53	4 группа, n=45
IL1 β	исходно	M	215, 4*	202, 2*	60, 2
		q	10, 0	63, 7	13, 7
	после ПГ	M	60, 2■	126, 0*	60, 2
		q	13, 8	38, 2	13, 7
эко		M	60, 1■	126, 5*	60, 2
		q	13, 5	31, 4	13, 5
IL8	исходно	M	90, 7*	87, 9*	32, 2
		q	10, 2	16, 7	6, 6
	после ПГ	M	33, 5■	52, 4*	32, 2
		q	7, 5	12, 1	6, 6
эко		M	32, 2■	54, 5*	32, 2
		q	7, 7	8, 1	6, 6
IL6	исходно	M	115, 5*	103, 5*	36, 9
		q	4, 0	29, 3	5, 2
	после ПГ	M	36, 9■	52, 4*	36, 9
		q	4, 8	12, 1	5, 2
эко		M	35, 7■	53, 8*	38, 2
		q	5, 7	9, 3	5, 1

где: 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-», ($p < 0, 005$)

У пациенток 3-й клинической группы на фоне предгравидарной подготовки деринатом и диеногестом (схема 3) уровень провоспалительных (IL1 β , IL8, IL6) статистически высоко значимо снижался относительно исходных параметров ($60, 2 \pm 13, 8$ пг/мл, $33, 5 \pm 7, 5$ пг/мл, $36, 9 \pm 4, 8$ пг/мл, соответственно, против $215, 4 \pm 60, 2$ пг/мл, $90, 7 \pm 10, 2$ пг/мл, $115, 5 \pm 4, 0$ пг мл- исходно), $p < 0, 005$. Обращало на себя внимание более выраженное снижение уровня

провоспалительных интерлейкинов по сравнению с соответствующими параметрами группы «2Б-» (предгравидарная подготовка диеногестом, неудачная попытка ЭКО) (60, 2±13, 8 пг/мл, 33, 5±7, 5 пг/мл, 36, 9±4, 8 пг/мл, против 126, 5±38, 2 пг/мл, 52, 4±9, 7 пг/мл, 53, 4±12, 1 пг/мл, $p < 0,005$) соответственно. При этом уровень (IL1 β , IL8, IL6) у пациенток 3-й группы достигал параметров группы контроля (табл. 47).

Таблица 48

Динамика уровня противовоспалительных цитокинов в сыворотке периферической крови в зависимости от вида предгравидарной подготовки у пациенток с аденомиозом

Параметры, пг/мл			3 группа, n=77	«2Б-», n=53	4 группа, n=45
IL4	исходно	M	28, 6*	27, 1*	21, 5
		q	2, 4	2, 7	3, 5
	после ПГ	M	21, 5■	22, 1*	21, 5
		q	3, 5	4, 9	3, 5
	эко	M	22, 1■	22, 3*	19, 3
		q	3, 5	5, 3	3, 0
IL10	исходно	M	27, 4*	26, 1*	24, 5
		q	5, 6	5, 7	3, 0
	после ПГ	M	24, 5■	23, 8*	24, 5
		q	3, 1	4, 5	3, 0
	эко	M	24, 4■	23, 7*	24, 4
		q	3, 5	5, 0	3, 2
RAIL	исходно	M	420, 3*	424, 8*	389, 6
		q	44, 1	44, 7	26, 6
	после ПГ	M	397, 2■	420, 2*	389, 6
		q	26, 7	40, 3	26, 6
	эко	M	389, 6■	422, 3*	397, 2
		q	26, 7	34, 2	26, 6

где: 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-», ($p < 0,005$)

На фоне проведения предгравидарной подготовки деринатом и диеногестом у пациенток 3-й группы при исследовании параметров противовоспалительного пула (IL4, IL10 и RAIL) обнаружены статистически значимые различия по сравнению с исходными показателями IL4 - 21, 5±3, 5

пг/мл, IL10 - 24, 5±3, 1 пг/мл и RAIIL - 397, 2±26, 7 пг/мл) против (28, 6±2, 4 пг/мл, 27, 2±3, 5 пг/мл и 420, 3±44, 1 пг/мл, соответственно, исходно), $p < 0,05$. Обращало на себя внимание несколько более выраженное снижение данных показателей по сравнению с соответствующими показателями в группе «2Б-» ($p < 0,03$). Причем уровень провоспалительных интерлейкинов после комплексной предгравидарной подготовки практически соответствовал группе контроля (4-я группа). При сравнении результатов, полученных в посттрансферном периоде, статистически значимой разницы показателей не было выявлено ни по одному параметру как про- так и противовоспалительного пула цитокинов ($p > 0,01$).

Таким образом, как на фоне предгравидарной подготовки с использованием направленной специфической иммунотерапии, у пациенток с выраженными изменениями цитокинового баланса мы выявили статистически высоко значимое уменьшение уровня провоспалительных интерлейкинов и менее выраженное, хотя и статистически значимое снижение уровня противовоспалительных по сравнению с группой пациенток, которым применяли только диеногест. Те же самые тенденции наглядно демонстрировал провоспалительный индекс (ПВИ).

Таблица 49

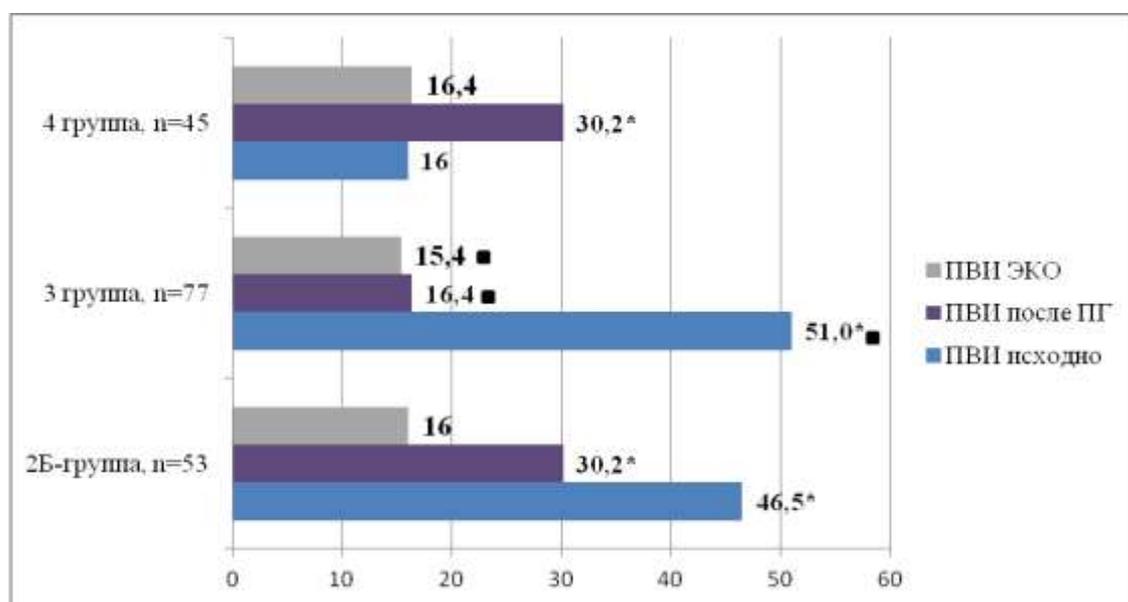
Динамика ПВИ в сыворотке периферической крови в зависимости от вида предгравидарной подготовки у пациенток с аденомиозом

Параметры, пг/мл			3 группа, n=77	«2Б-» группа, n=53	4 группа, n=45
ПВИ	исходно	М	51, 0*■	46, 5*	16, 0
		q	5, 1	14, 1	4, 0
	после ПГ	М	16, 4■	30, 2*	16, 0
		q	3, 6	9, 4	4, 0
	эко	М	15, 4■	30, 2*	16, 4
		q	3, 4	3, 3	3, 8

где: 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-», ($p < 0,005$)

Исходно ПВИ составил $51,0 \pm 5,1$ - в 3-й группе, $46,5 \pm 14,1$ - в группе «2Б-», что составило статистически высоко значимую разницу с показателем группы контроля - $16,0 \pm 4,0$, $p < 0,005$. На фоне применения диеногеста и дерината (3-я группа) ПВИ снизился до $16,4 \pm 3,6$, на фоне применения диеногеста до $30,2 \pm 9,7$, что составило статистически высокостатистически значимую межгрупповую разницу сравнительно с исходными показателями обеих групп и выраженную высокостатистически значимую межгрупповую разницу $p < 0,005$. Отмечено более интенсивное снижение уровня ПВИ у пациентов 3-й группы, причем показатели ПВИ в 3-й группе достигли уровня контроля ($16,0 \pm 4,0$).



где: 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-», ($p < 0,005$)

Рисунок 16. Динамика ПВИ в сыворотке периферической крови в зависимости от вида предгравидарной подготовки у пациенток с аденомиозом

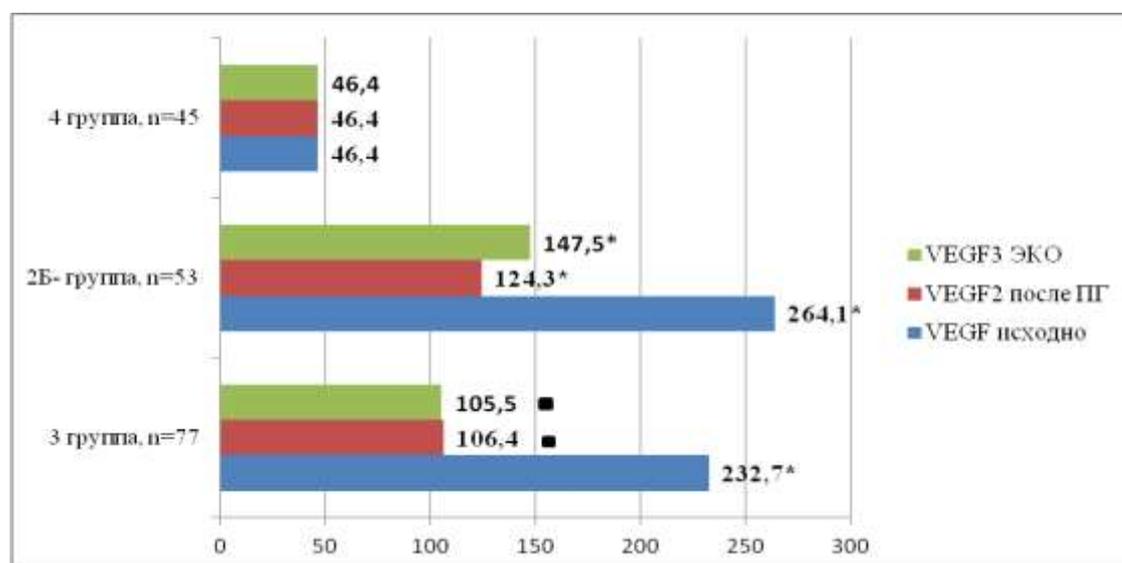
На фоне проведения предгравидарной подготовки анализ динамики уровня сосудисто-эндотелиального фактора в периферической крови показал высоко статистически значимое уменьшение уровня VEGF как в 3-й, так и в группе «2Б-». Однако максимальное приближение к показателям группы контроля выявлено только у пациенток 3-й группы ($106,4 \pm 12,6$ – 4-я группа, $124,3 \pm 24,7$ – группа «2Б-», против - $46,4 \pm 13,1$ - контроль).

Динамика VEGF в сыворотке периферической крови в зависимости от вида предгравидарной подготовки у пациенток с аденомиозом

Параметры, пг/мл			3 группа, n=77	группа «2Б-», n=53	4 группа, n=45
VEGF	исходно	М	232, 7*	264, 1*	46, 4
		q	64, 4	97, 5	13, 1
	после ПГ	М	106, 4■	124, 3*	46, 4
		q	12, 6	24, 7	13, 1
	эко	М	105, 5■	147, 5*	46, 4
		q	14, 2	9, 3	11, 1

где: 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-», ($p < 0, 005$)



где: 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-», ($p < 0, 005$)

Рисунок 17. Динамика VEGF в сыворотке периферической крови в зависимости от вида предгравидарной подготовки у пациенток с аденомиозом

При исследовании динамики уровня VEGF в посттрансферном периоде мы не выявили статистически значимой разницы ($p > 0, 01$) с показателями, полученными на фоне предгравидарной подготовки, все тенденции сохранялись (табл. 50, рис. 17).

2.6.2. Динамика уровня LIF, про- и противовоспалительных цитокинов, GM-CSF и VEGF в цервикальной слизи в зависимости от вида предгравидарной подготовки у пациенток с аденомиозом

Сравнительная оценка динамики изменения концентрации LIF в ЦС в зависимости от используемой схемы предгравидарной подготовки выявила статистические высоко значимые различия показателей в клинических группах. Так, уровень LIF на ЛГ+3 у пациентов 3-й группы (ПГ с диринатом и диеногестом) 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 естественного цикла ($p < 0, 005$) и практически соответствовало показателям группы контроля ($10, 5 \pm 2, 2$ пг/мл - ЛГ+3; $34, 3 \pm 8, 5$ пг/мл - ЛГ+7). В 3-й группе (ПГ с диеногестом) также обнаружен статистически значимый от исходного прирост уровня LIF как на третий, так и на седьмой день после пика ЛГ ($p < 0, 005$), но прирост показателя был достоверно ниже, чем у пациентов 4-й группы ($p < 0, 05$) (табл. 51).

Таблица 51

Концентрации LIF и LIF-R в ЦС с аденомиозом и бесплодием в зависимости от вида предгравидарной подготовки

Параметры, пг/мл			3 группа, n=77		группа «2Б-», n=53		4 группа, n=45	
			ЛГ+3	ЛГ+7	ЛГ+3	ЛГ+7	ЛГ+3	ЛГ+7
LIF	исходно	М	3, 6*	11, 7*	3, 4*	17, 6*	10, 5	34, 3
		q	0, 8	3, 5	0, 8	6, 9	2, 2	8, 5
	после ПГ	М	9, 8*■	34, 1*■	7, 2*	23, 6*	10, 5	34, 3
		q	2, 1	8, 5	2, 5	6, 3	2, 2	8, 5
	эко	М	9, 2*■	33, 2*■	6, 9*	23, 5*	10, 5	34, 1
		q	2, 0	7, 1	2, 5	5, 8	2, 3	8, 3
LIF-R	исходно	М	63, 0*	116, 0*	63, 0*	127, 0*	103, 6	223, 7
		q	5, 3	22, 9	4, 6	30, 2	12, 4	15, 7
	после ПГ	М	104, 6■	223, 7■	90, 2*	178, 5*	103, 6	223, 7
		q	12, 0	15, 9	11, 2	13, 8	12, 4	15, 7
	эко	М	108, 2■	223, 7■	89, 3*	174, 2*	103, 2	221, 3
		q	11, 9	17, 1	12, 0	15, 0	12, 4	15, 6

где: 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 уровня LIF-R в цервикальной слизи на фоне предгравидарной подготовки деринатом и диеногестом (3-я группа) выявлено достоверно значимо увеличение экспрессии LIF-R по сравнению с исходным на 3-й и 7-й день после пика ЛГ у пациентов «2Б-» и 3-й группы ($p < 0,005$). Однако прирост показателей у пациентов 3-й группы был достоверно значимо выше, чем у пациентов группы «2Б-» ($p < 0,05$) и после проведенной предгравидарной подготовки уровень экспрессии LIF-R в 3-й группе достиг показателей группы контроля (табл. 51).

Таблица 52

Уровень экспрессии цитокинов в цервикальной слизи у пациенток с бесплодием и аденомиозом в зависимости от вида проведенной предгравидарной подготовки

Параметры, пг/мл			3 группа, n=77		группа «2Б-», n=53		4 группа, n=45	
			ЛГ+3	ЛГ+7	ЛГ+3	ЛГ+7	ЛГ+3	ЛГ+7
IL-6	исходно	М	454, 5	494, 3	454, 5*	498, 5*	154, 6	132, 9
		q	34, 3	78, 4	34, 9	100, 4	13, 4	11, 6
	после ПГ	М	192, 2■	134, 6	310, 2*	223, 6*	154, 6	132, 9
		q	15, 6	11, 2	30, 0	68, 2	13, 4	11, 6
	эко	М	193, 8■	133, 7	315, 2*	221, 6*	154, 6	132, 9
		q	13, 1	11, 5	28, 5	41, 1	13, 0	11, 5
IL-10	исходно	М	9, 3	10, 1	9, 3	11, 0*	10, 2	9, 4
		q	0, 9	1, 4	0, 9	5, 8	2, 5	1, 7
	после ПГ	М	11, 8	9, 6	9, 6	9, 4	10, 2	9, 4
		q	3, 1	2, 0	1, 5	1, 5	2, 5	1, 7
	эко	М	11, 4	9, 4	9, 2	9, 8	10, 2	9, 3
		q	2, 7	1, 9	1, 5	1, 7	2, 5	1, 6
ПВИ1	исходно	М	48, 8*	48, 9*	47, 2*	45, 3*	15, 1	14, 4
		q	15, 2	18, 8	15, 1	17, 6	3, 8	3, 8
	после ПГ	М	16, 2*■	14, 1*■	32, 2*	29, 1*	15, 1	14, 4
		q	2, 4	4, 1	9, 9	9, 6	3, 8	3, 8
	эко	М	15, 8*■	14, 2*■	32, 7*	28, 5*	15, 2	13, 6
		q	1, 8	2, 1	9, 8	9, 7	3, 8	2, 4

где: 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 динамики показателей экспрессии IL6 в цервикальной слизи на фоне проведения предгравидарной подготовки выявлено, что, несмотря на достоверно значимое снижение в обеих группах (ЛГ+3 и ЛГ+7), наиболее значимо практически приближаясь к уровню контроля IL6, снижается на фоне

направленной иммунотерапии (3-я группа), и среднее значение его уровня максимально приближается к параметрам группы контроля (192, 8±13, 1 пг/мл и 134, 6±11, 2 пг/мл – 3-я группа, 154, 6±15, 6 пг/мл и 132, 9±11, 6 пг/мл - контроль), ($p < 0, 005$). В группе «2Б-» уровень IL-6 также достоверно снижается, но при этом не достигает группы контроля (310, 2±30, 0 и 269, 3±40, 9 пг/мл - группа «2Б-»; 154, 6±15, 6 пг/мл и 132, 9±11, 62 пг/мл - контроль), ($p < 0, 005$). При этом в 3-й наблюдается некоторое статистически значимое увеличение уровня IL10 на фоне иммунотерапии. (3-я группа ЛГ+7 - 9, 3±0, 9 пг/мл - исходно, 10, 1±1, 4 пг/мл после ПГ. В группе «2Б-» напротив, наблюдается лишь тенденция к увеличению уровня IL10 9, 3±0, 9 пг/мл - исходно, 9, 6±1, 7 пг/мл против 10, 2±2, 5 пг/мл в контроле.

При этом на фоне ПГ с деринатом и диенгестом (3-я группа) соотношение интерлейкинов, изменяясь за счет более выраженного статистически значимого снижения экспрессии цитокинов провоспалительного звена максимально приближается к группе контроля, что наиболее наглядно демонстрирует ПВИ1 ЛГ+7 (3-я группа -48, 9±18, 8 исходно, 14, 1±4, 1 после ПГ; группа «2Б-» 45, 3±17, 6 исходно, 29, 7±9, 6 после ПГ, против 14, 4±2, 5 в контроле ($p < 0, 005$) (табл. 52).

Таблица 53

Динамика уровня экспрессии GM-CSF и VEGF в цервикальной слизи у пациенток с бесплодием и аденомиозом в зависимости от вида проведенной предгравидарной подготовки

Параметры, пг/мл			3 группа, n=77		группа «2Б-», n=53		4 группа, n=45	
			ЛГ+3	ЛГ+7	ЛГ+3	ЛГ+7	ЛГ+3	ЛГ+7
GM-CSF	исходно	M	31, 6*	20, 4*	31, 6*	20, 4*	59, 0	33, 6
		q	5, 0	8, 6	5, 3	6, 4	20, 6	7, 4
	после ПГ	M	57, 4■	35, 4■	42, 7*	26, 7*	59, 0	33, 6
		q	5, 0	2, 6	8, 5	3, 8	9, 6	4, 4
эко	M	59, 3■	37, 5*■	43, 2*	26, 7*	60, 0	32, 6	
	q	2, 3	6, 4	8, 1	3, 4	20, 0	7, 1	
VEGF	исходно	M	356, 8*	419, 9*	392, 5*	435, 3*	134, 5	156, 4
		q	101, 8	99, 0	99, 9	97, 3	25, 2	15, 5
	после ПГ	M	134, 5■	156, 4■	298, 5*	301, 9*	134, 5	156, 4
		q	25, 6	16, 1	98, 7	24, 4	25, 2	15, 5

Продолжение таблицы 53

	эко	M	132, 6■	154, 4■	259, 7*	265, 9*	132, 6	156, 4
		q	27, 2	16, 8	37, 8	27, 4	25, 7	15, 3

где: 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 динамики показателей экспрессии GM-CSF на фоне предгравидарной подготовки с деринатом выявлено, что уровень его достоверно значимо ($p < 0, 03$) и максимально увеличивался у пациенток 3-й группы, приближаясь к показателям группы контроля (ЛГ+7 (3-я группа $35, 4 \pm 2, 6$ пг/мл, группа «2Б-» - $29, 3 \pm 3, 8$ пг/мл, контроль - $33, 6 \pm 7, 4$ пг/мл),

При анализе динамики показателей уровня VEGF в цервикальной слизи выявлено интенсивное, приближающееся к контрольным цифрам, высоко статистически значимое уменьшение уровня экспрессии VEGF у пациенток 3-й группы ($p < 0, 005$), по сравнению с группой «2Б-». (табл. 53).

Таким образом, на фоне предгравидарной подготовки диеногестом в сочетании с дезоксирибонуклеинатом натрия у пациенток с очень низким имплантационным потенциалом на фоне снижения уровня VEGF и провоспалительных цитокинов нормализуется провоспалительный цитокиновый индекс периферической крови и практически до параметров контрольной группы восстанавливаются показатели местного иммунитета, в первую очередь определяющие иммунологический надзор за имплантацией.

Очевидно, что воздействие диеногеста в первую очередь связано с индукцией состояния псевдодецидуализации с последующей блокадой пролиферации в очагах эндометриоза, а также очевидно нормализацией активности естественных клеток-киллеров и макрофагов и опосредовано снижением уровня провоспалительных цитокинов. Однако при выраженных иммунологических дисфункциях на местном уровне иммуотропного 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.

2.7. Оценка эффективности ЭКО, течения гестационного процесса и исхода родов

В последнем этапе нашего исследования мы провели сравнительный анализ результативности циклов ЭКО при всех видах предгравидарной подготовки, группы на дополнительные по принципу удачной попытки ЭКО (клиническая беременность Б+) и неудачной попытки ЭКО (отсутствие клинической беременности Б-), группой контроля служили пациентки, наблюдаемые по программе суррогатного материнства

2.7.1 Особенности стимуляции суперовуляции, фолликуло- и оогенеза у пациенток в исследуемых группах

При анализе результативности протокола выявлено, что в группах пациенток аденомиозом и в 4-й группе (контроль) длительность стимуляции, ежедневная доза индуктора и суммарная доза препарата во всех группах достоверно не различались (табл. 54)

Таблица 54

Параметры индуцированного цикла гестации у пациенток с аденомиозом
в цикле ЭКО

Параметр	1 группа, n=73		2 группа, n=76		3 группа, n=77		4 группа, n=45	
	«1Б+»- n=17	«1Б-» n=56	«2Б+» n=23	«2Б-» n=53	3Б+ n=28	3Б- n=49	4Б+ n=20	4Б- n=25
Средняя ежедневная доза индуктора, МЕ	181±89	200±96	187±68	184±95	181±89	200±96	198±101	181±78

Продолжение таблицы 54

Суммарная доза препарата в протоколе, МЕ	1995±7 35	1850±7 85	1850±5 76	1995±5 06	1995±7 35	1850±7 85	2000±6 08	1995±5 45
Продолжительность стимуляции	8, 7±1, 1	8, 8±1, 11	8, 6±1, 2	9, 1±1, 6	8, 7±1, 1	8, 8±1, 11	8, 9±1, 3	8, 8±1, 5
Общее количество фолликулов	8, 2±1, 4	8, 7±1, 3	8, 9±1, 6	9, 1±1, 2	8, 2±1, 4	8, 7±1, 3	8, 9±1, 2	9, 2±1, 6
Общее количество аспирированных ооцитов	7, 9±2, 1	7, 3±1, 7	7, 2±1, 6	7, 8±1, 1	7, 5±1, 1	7, 3±1, 7	7, 5±1, 3	7, 8±1, 3
Количество незрелых ооцитов	0, 6±0, 7	0, 6±0, 8	0, 5±0, 6	0, 6±0, 7	0, 6±0, 7	0, 6±0, 8	0, 5±0, 8	0, 6±0, 5
Количество дегенеративных ооцитов	0, 1±0, 2	0±0	0±0	0±0	0, 1±0, 2	0±0	0, 1±0, 1	0, 1±0, 2

где: 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-», ($p < 0, 005$)

На основании проведенного сравнительного анализа результатов индукции овуляции не было выявлено статистически значимых различий между основными и дополнительными группами по общему количеству полученных и аспирированных фолликулов: 8, 2±1, 4 и 8, 7±1, 3 (групп «1Б+» и «1Б-»), 8, 9±1, 6 и 9, 1±1, 2 («2Б+» и «2Б-» группы) и (8, 9±1, 2 и 9, 2±1, 6) - контроль (4Б+ и 4Б- группы), $p > 0, 1$. Среднее число полученных эмбрионов на пациентку составило в группах «1Б+» и «1Б-» (6, 17±1, 2 и 5, 8±1, 1), в группах «2Б+» и «2Б-» - 6, 7±1, 2 и 6, 3±0, 8 - соответственно, в группе контроля 4Б+ и 4Б- (6, 1±1, 1 и 6, 2±0, 8, соответственно), что не составило статистически достоверной межгрупповой разницы.

Всем пациенткам, включенным в исследование, была проведена оценка параметров раннего эмбриогенеза в программе ЭКО. На третьи сутки после оплодотворения доля эмбрионов хорошего качества в группе «1Б+» составила 45%, а «1Б-» 46, 9%, в группе «2Б+» и «2Б-» - 44, 5% и 45, 2% соответственно. В контрольной группе 4Б+ и 4Б- у здоровых женщин доля эмбрионов с нормальным оплодотворением составила 46, 2% и 46, 8%.

Характеристики эмбрионов 3-го дня культивирования у пациенток гестации
у пациенток с аденомиозом в цикле ЭКО

Параметр		1 группа, n=73		2 группа, n=76		3 группа, n=77		4 группа, n=45	
		«1Б+»- n=17	«1Б-» n=56	«2Б+» n=23	«2Б-» n=53	3Б+ n=28	3Б- n=49	4Б+ n=20	4Б- n=25
Эмбрионы хорошего качества	Абс.	67	219	89	212	144	150	81	98
	%	45, 8	46, 9	44, 5	45, 2	44, 2	44, 6	46, 2	46, 8
Эмбрионы удовл. качества	Абс.	57	187	82	195	137	137	72	87
	%	39	35, 7	41, 4	41, 6	42	42	41	41, 6
Эмбрионы плохого качества	Абс.	22	61	27	61	45	61	22	24
	%	15, 1	17, 3	13, 6	13, 1	13, 8	17, 3	12, 5	11, 4
Общее количество полученных эмбрионов	Абс.	146	467	198	468	326	326	175	209

где: 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-», ($p < 0, 005$)

Статистически достоверной разницы между группами по количеству полученных эмбрионов хорошего качества обнаружено не было. При анализе эмбрионов, остановившихся в развитии до 5-х суток культивирования, статистических различий между исследуемыми группами также выявлено не было, ($p > 0, 08$). В группе пациенток с наступившей беременностью остановка эмбрионов в развитии до 5-х суток культивирования наблюдалась в среднем в 28, 1% случаев, в группе женщин с отсутствием беременности – в 30, 2% случаев, как у пациенток с аденомиозом, так и в группе контроля.

Характеристики эмбрионов 5-го дня культивирования у пациенток гестации
у пациенток с аденомиозом в цикле ЭКО

Параметр		1 группа, n=73		2 группа, n=76		3 группа, n=77		4 группа, n=45	
		«1Б+»- n=17	«1Б-» n=56	«2Б+» n=23	«2Б-» n=53	3Б+ n=28	3Б- n=49	4Б+ n=20	4Б- n=25
Эмбрионы хорошего качества	Абс.	58	186	89	193	127	139	69	87
	%	55, 2	57, 1	57, 7	57, 4	53, 1	54, 5	56, 6	56, 1
Эмбрионы удовл. качества	Абс.	23	73	34	73	23	73	28	33
	%	21, 9	22, 3	22, 1	21, 7	21, 9	22, 3	22, 9	21, 2
Эмбрионы плохого качества	Абс.	24	67	31	70	58	57	25	35
	%	22, 8	20, 5	20, 1	20, 8	24, 2	22, 4	20, 4	22, 6
Общее количество полученных эмбрионов	Абс.	105	326	154	336	239	255	122	155

где: 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-», ($p < 0, 005$)

В целом процент оплодотворения составил 74, 3% и достоверно по основным и дополнительным группам не различался.

Всем пациенткам основных групп и контрольной группы было перенесено по 2 эмбриона хорошего качества.

Таким образом, по данным нашего исследования у пациенток с аденомиозом ранних степеней по сравнению с фертильными здоровыми женщинами отсутствовали статистически значимые отклонения в фолликуло- и эмбриогенезе, которые могли бы повлиять на частоту удачных попыток ЭКО.

2.7.2 Течение беременности и исход родов у пациенток с аденомиозом в цикле ЭКО в зависимости от вида предгравидарной подготовки

Сравнительный анализ результативности ЭКО показал, что несмотря на отсутствие статистической разницы параметров эмбриогенеза частота наступления биохимической беременности была статистически значимо ниже в 1 группе (21 пациентка (28, 7%), по сравнению с группой контроля (21 пациенток (46, 6%), $p < 0, 01$. Во 2-й группе, при проведении предгравидарной подготовки диеногестом, биохимическая беременность состоялась у 25 женщин (32, 8%), что составило статистически значимую положительную разницу с 1-й группой (21 пациентка (28, 7%), при этом, относительно группы контроля показатель наступления биохимической беременности был статистически значимо ниже, $p < 0, 01$. Такая же тенденция прослеживалась при анализе частоты имплантации и наступлении клинической беременности (рис. 18).

Таблица 57

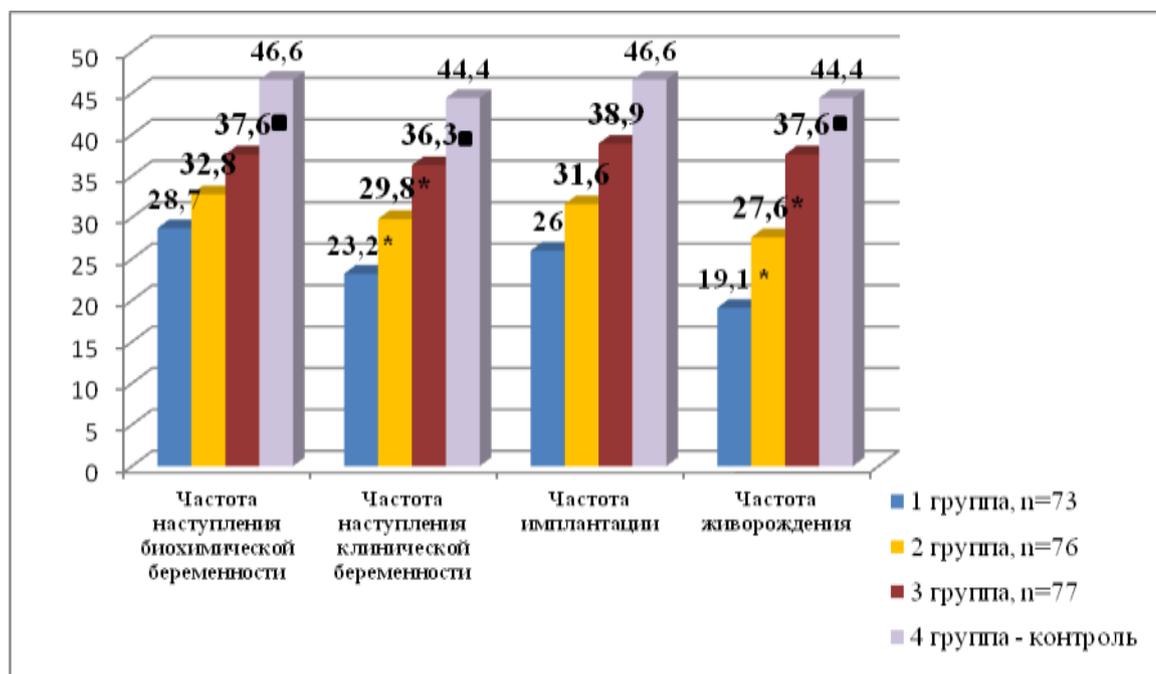
Характеристики раннего эмбриогенеза и исходов гестации у пациенток с аденомиозом в цикле ЭКО в зависимости от вида предгравидарной подготовки

Параметр		1 группа, n=73		2 группа, n=76		3 группа, n=77		4 группа, n=45	
		«1Б+»- n=17	«1Б-» n=56	«2Б+» n=23	«2Б-» n=53	3Б+ n=28	3Б- n=49	4Б+ n=20	4Б- n=25
Среднее число полученных эмбрионов на пациентку		6, 17	5, 8	6, 7	6, 3	6, 2	6, 1	6, 1	6, 2
Процент оплодотворения		75	73, 7	72, 6	74, 5	74	72, 7	75, 7	74, 1
Количество перенесенных эмбрионов в полость матки		2	2	2	2	2	2	2	2
Частота наступления биохимической беременности	абс	21*		25*		29■		21	
	%	28, 7		32, 8		37, 6■		46, 6	
Частота наступления клинической беременности	абс	17*		23*		28■		20	
	%	23, 2*		29, 8*		36, 3■		44, 4	
Частота имплантации	абс	19*		24*		30■		21	
	%	26		31, 6		38, 9		46, 6	

Частота живорождения	абс	14*	21*	29■	20
	%	19,1*	27,6*	37,6■	44,4

где: 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 «2» группе, ($p < 0,005$)



где: 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 «2» группе, ($p < 0,005$)

Рисунок 18. Характеристики раннего эмбриогенеза и исходов гестации у пациенток с аденомиозом в цикле ЭКО в зависимости от вида предгравидарной подготовки

При проведении сочетанной предгравидарной подготовки дезоксирибонуклеинатом натрия и диеногестом у пациенток с максимально сниженным имплантационным потенциалом (3-я группа) частота биохимической беременности достигла 37,6%, что практически соответствовало показателям группы контроля (55,5% - 4-я группа). Частота наступления клинической беременности у пациенток 3-й группы составила 36,3%. Частота имплантации - 38,9% и живорождения - 36,6% при проведении предгравидарной подготовки диеногестом и дезоксирибонуклеинатом натрия также существенно превышала

соответствующие показатели в 1-й и 2-й клинических группах, соответствуя средним показателям, представленным в отчете РАРЧ и максимально приближалась к показателям контрольной группы. (табл. 58).

Таблица 58

Сравнительная характеристика течения беременности и исходов гестации у пациенток с аденомиозом в цикле ЭКО

Течение беременности и родов		1 группа, n=73	2 группа, n=76	3 группа, n=77	4 группа, n=45
Клиническая беременность	абс	17*	23*	28*■	20
	%	23, 2*	29, 8*	36, 3	44, 4
Частота живорождения	абс	14*	21*	28*■	20
	%	19, 1*	27, 6*	36, 3*	44, 4
Роды в срок		9*	16*	24*■	18
		12, 3*	21, 1*	31, 2*■	40
Из них: Естественные роды	абс	6*	12*	19*■	16
	%	66, 6*	75*	79, 1*■	88, 8
Из них: К/сечение	абс	3	4	4■	4
	%	33, 4	25	16, 6■	11, 2
Двойни	абс	2	2	1	1
	%	2, 7*	2, 6*	1, 3■	2, 2
Замершая беременность	абс	1*	1*	1	0
	%	5, 8	4, 3	3, 5■	0
Самопроизвольный выкидыш	абс	2*	2*	0	0
	%	11, 7*	8, 6*	0	0
Ранние преждевременные роды	абс	1*	0	0	0
	%	5, 8*	0	0	0
Преждевременные роды	абс	4*	4	0	1
	%	23, 5*	17, 3*	0	5
Угрожающий с/выкидыш	абс	6*	5*	5*	1
	%	35, 2	21, 7	17, 9*■	5
Ретрохориальная гематома	абс	4*	4*	2*	1
	%	23, 5*	17, 3*	7, 1*■	5
Угрожающие преждевременные роды	абс	6*	4*	3*	1
	%	35, 3*	17, 3*	10, 7*■	5
Маловодие	абс	10*	8*	5*	1
	%	58, 8*	34, 8*	17, 8■	5
Многоводие	абс	1*	2*	0	0
	%	5, 8*	8, 6*	0	0
СЗРП	абс	4*	3*	2*■	0
	%	23, 5*	13, 0*	7, 1*■	0
Преэклампсия	абс	2*	0	0	0
	%	11, 7*	0	0	0

где: 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 «2» группе, ($p < 0, 005$)

При анализе течения гестационного процесса и исхода родов выявлено, что в группе контроля беременность завершилась срочными родами у 20 (44,

4%) пациенток, в том числе двойней. Преждевременных родов и выкидышей в контрольной группе не было, родился 21 ребенок, то есть частота живорождения составила 46, 6%. В 1 группе беременность завершилась родами в доношенном сроке у 12, 3% пациенток, из них была одна двойня. У 4 (23, 5%) пациенток состоялись преждевременные роды - в сроке 34-35 недель, у 1 (5, 8%) - ранние преждевременные роды на сроке 32 недели (двойня). Всего в 1-й группе родилось 14 (19, 1%) условно здоровых детей. Частота прерывания беременности в первой группе составила 17, 6%, из них была одна замершая беременность и два самопроизвольных аборта на сроке 9-10 недель. 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 составили 12, 9, 0%, из них одна замершая беременность и два самопроизвольных аборта 7-8 недель.

Наиболее позитивные результаты показали пациентки 3-й группы (диеногест + дезоксирибонуклеинат натрия). Частота наступления клинической беременности у них составила 36, 6%, частота живорождения - 36, 6%. Состоялась 1 (3, 5%) замершая беременность на сроке 12 недель.

Известно, что течение беременности у пациенток после ЭКО характеризуется высокой частотой развития акушерской патологии и невынашивания беременности, что может нивелировать успех репродуктивных технологий. (Агзамова А.С., 2015). В нашем исследовании также отмечено высокое статистически значимо отличающееся от группы контроля ($p < 0, 005$) увеличение частоты угрозы прерывания беременности, часто сопровождающейся возникновением ретрохориальной гематомы (23, 5%) у пациенток с аденомиозом 1-й степени, которым использовался стандартный протокол (35, 5% против 5% в контроле). Частота плацентарной недостаточности у пациенток 1-й группы составила 64, 6% с выявлением маловодия (58, 8%) и задержки внутриутробного развития в 23, 55%, что статистически высоко значимо превышало частоту данных осложнений у пациенток контрольной

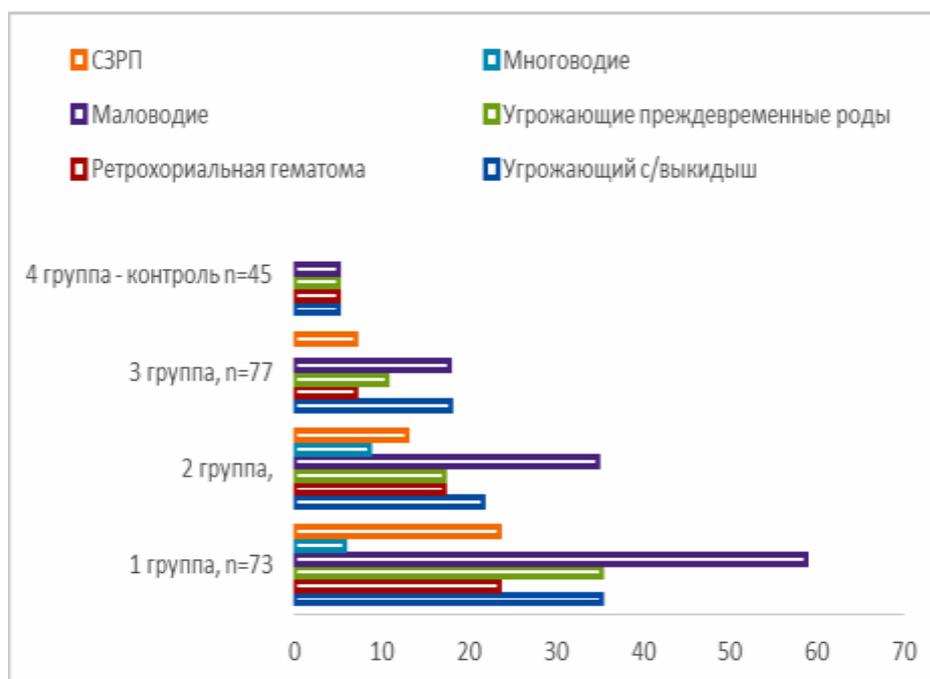
группы (маловодие - 5%) ($p < 0,005$). Умеренной преэклампсией гестационный процесс у пациенток 1-й группы осложнился в 11,7% случаев.

У пациенток, получивших в качестве предгравидарной подготовки диеногест (2-я группа), процент осложнений беременности был достоверно ниже ($p < 0,005$), чем в 1-й клинической 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 13,3% случаев (табл. 58, рис.19).

При применении сочетанной предгравидарной подготовки (дезоксирибонуклеинат натрия и диеногест) – 3-я группа - гестационный процесс протекал с минимальным количеством осложнений по сравнению с пациентками всех клинических групп и максимально приблизился к показателям группы контроля. Так угрожающий самопроизвольный выкидыш у них регистрировался в 17,9% случаев, угрожающие преждевременные роды в 10,7%, плацентарная недостаточность - в 17,8%, СЗРП - 7,1% случаев (табл. 58, рис. 19).

Оценка доношенных новорожденных по шкале АПГАР не выявила достоверных различий между клиническими группами и группой контроля, а также выраженных межгрупповых различий. Так, в 1-й группе новорожденные на первой минуте были оценены на $7,4 \pm 1,3$ балла, во 2-ой группе $7,6 \pm 1,2$ балла, в 3-й группе – на $7,8 \pm 1,6$ балла, при показателях группы контроля $7,8 \pm 1,1$ балла. На пятой минуте также достоверных различий с группой контроля и межгрупповой разницы выявлено не было (1 группа - $8,5 \pm 1,3$ балла, 2 группа - $8,4 \pm 1,4$ балла, 3 группа $8,3 \pm 1,8$ балла).

Таким образом, у пациенток с аденомиозом на фоне предгравидарной подготовки микронизированным прогестероном наблюдалось статистически значимое снижение частоты зачатия и живорождения ($\chi^2, p = 0,059$) и статистически значимое увеличение частоты осложнений беременности по сравнению с группой контроля ($\chi^2, p = 0,062$).



где: 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 «2» группе, ($p < 0,005$)

Рисунок 19. Сравнительная характеристика течения беременности и исходов гестации у пациенток с аденомиозом в цикле ЭКО

На фоне предгравидарной подготовки диеногестом (2-я группа), показатели зачатия и живорождения статистически значимо увеличивались (χ^2 , $p = 0,062$), а частота осложнений гестационного процесса достоверно значимо уменьшалась относительно 1-й группы, однако показатели не достигали таковых в группе контроля. На фоне предгравидарной подготовки (3-я группа) с параллельным применением диеногеста и неспецифической иммуномодуляции дезоксирибонуклеинатом натрия отмечались наиболее высокие, максимально приближающиеся к показателям группы контроля (4-я группа) среднестатистическим показателям отчета РАРЧ частоты зачатия и живорождения, при этом выявлено минимальное (для пациенток с аденомиозом и ЭКО) количество осложнений беременности.

Таким образом, изолированное применение диеногеста в качестве препарата для предгравидарной подготовки у пациенток с аденомиозом позволило улучшить результативность методов ЭКО у пациенток с умеренно

сниженным репродуктивным потенциалом. У части пациенток с аденомиозом и выраженным снижением имплантационного потенциала к улучшению результативности ЭКО привела лишь патогенетически обоснованная сочетанная терапия диеногестом с применением в качестве иммунокорректора дезоксирибонуклеата натрия.

Проведенный анализ в целом показал, что пациентки с аденомиозом даже в случае удачной попытки ЭКО относятся к группе высокого риска по развитию акушерской и перинатальной патологии. Аденомиоз, снижая качество имплантационного фактора ведет к развитию первичной хориальной и вторичной плацентарной недостаточности, что приводит к развитию различных осложнений беременности, повышает риск невынашивания и неонатальной заболеваемости. Таким образом, совершенно очевидна необходимость индивидуального ведения пациенток с бесплодием, ассоциированным с аденомиозом даже ранних степеней, что в свою очередь, приведет к уменьшению осложнений во время беременности и улучшению перинатальных исходов.

ГЛАВА III. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Возможность реализации репродуктивной функции у женщин с аденомиозом является одной из актуальных проблем современной науки (Краснопольская и др. 2015, Кулаков В. и др., 2015, Назаренко Т.А. и др., 2016). Развитие вспомогательных репродуктивных технологий (ЭКО, ИКСИ, вспомогательный хэтчинг, культивирование эмбрионов до стадии бластоцисты, криоконсервация эмбрионов, преимплантационная генетическая диагностика, донация ооцитов, спермы) привело к тому, что практически не осталось диагнозов, при которых было бы невозможно получить потомство у супружеских пар с бесплодием. Однако эффективность данной процедуры резко снижается у женщин с гинекологическими патологиями, среди которых особое место занимает аденомиоз (Гошовская С.В., Бурдина Н.В. и др., 2015; Светлаков А.В., 2012). Аденомиоз выявляется у 40-45% женщин с необъяснимым первичным бесплодием, у 50-58% - с вторичным, и является причиной нарушения репродуктивной функции у 15, 3% женщин с привычными выкидышами в анамнезе (М.Г. Газазян и соавт., 2001; В.П. Баскаков и соавт., 2002).

Основными причинами репродуктивных нарушений у больных аденомиозом являются изменения нормальной анатомии матки, гормональные нарушения, генетические особенности, иммунологические нарушения (Эндометриоз и бесплодие. Рекомендации Практического Комитета Американского Общества Репродуктивной Медицины. *Fertility and Sterility*. 2006; Эндометриоз: диагностика, лечение и реабилитация. Федеральные клинические рекомендации. М., 2013).

В целом исследователями неоднократно доказано, что качество ооцитов зависит, в основном, от возраста пациентки и генетических факторов, и это подтверждается тем, что применение в программе ЭКО полученных от молодых женщин донорских ооцитов сопровождается у возрастных пациенток увеличением частоты имплантации и уменьшением ранних репродуктивных

потерь по сравнению с их сверстницами, у которых в процедуре ЭКО используются собственные ооциты (Белоцерковцева Л.Д., 2008). Имеются сведения о наличии и возможном влиянии на качество эмбриона дисбаланса цитокинов в фолликулярной жидкости с доминирующим вектором сдвига баланса в сторону цитокинов с иммуносупрессорной и противовоспалительной активностью, которые проявляют свой суммарный биологический эффект как на системном уровне, так и в микроокружении фолликула. (Вартанян, 2011). Морфофункциональное состояние эндометрия определяет возможность наступления беременности, осложнения гестационного процесса и успешное ее завершение. Известно, что частота встречаемости патологических изменений эндометрия обуславливающих сниженный имплантационный потенциал при бесплодии, достигает 88%, при неэффективных попытках ЭКО - 77, 5% (Кузнецова Н.С., 2015; Белоцерковцева Л.Д., Коноваленко Л.В., 2013).

Следует признать, что на сегодняшний день имеются лишь единичные исследования, посвященные проблемам ЭКО у женщин с аденомиозом (Крстич, Е.В., 2010, Ермоленко К.С. и др., 2013). Анализ исследований показал, что при аденомиозе и бесплодии мало изучен эмбриональный фактор, а результаты ряда работ демонстрируют наличие нарушения рецептивности эндометрия и гормональной регуляции на общем и местном уровнях (Судома И.А., Чернышев В.П., 2015). Кроме этого при данном заболевании выявляется дисрегуляция продукции противовоспалительных цитокинов клетками как в периферической крови, так и эндометрия (Судома И.А., Чернышев В.П., 2015), а также другие иммунологические нарушения, которые могут влиять на фертильность. Все это может служить доминирующей причиной нарушения механизмов имплантации эмбриона и, как следствие, являться причиной низкой результативности программ ЭКО у пациенток с аденомиозом даже ранних степеней. При анализе исследований, касающихся вопроса результативности программ ВРТ обращал на себя внимание тот факт, что аденомиоз, как причина неудач ЭКО, рассматривается в аспекте распространенных форм, тогда как касательно влияния аденомиоза ранних степеней на эмбриональный фактор и

имплантационный фактор эндометрия имеются лишь единичные данные (Вартанян, 2011; Краснопольская К.В, 2013).

Кроме того, необходимо отметить, что в настоящее время не до конца сформирован единый подход к обследованию пациенток с необъяснимым бесплодием, неудачными попытками ЭКО и при подозрении на аденомиоз ранних степеней. Вместе с тем исследователи полагают, что решение этих вопросов наиболее целесообразно через оптимизацию методик предгравидарной подготовки у данного контингента женщин. Поскольку прогресс в поиске стратегии, позволяющей уменьшить число неудач в программе ЭКО у пациенток с аденомиозом ранних степеней, развивается небольшими темпами, поиск путей дальнейшего совершенствования программ ЭКО является несомненно актуальным. В связи с вышеперечисленным детальную разработку предгравидарной подготовки к циклу ЭКО можно отнести к факторам, открывающим перспективу повышения эффективности программы ЭКО у данных пациенток.

В связи с вышеуказанным и в соответствие с дизайном исследования были обследованы 172 пациентки с бесплодием и аденомиозом 1-й степени (основная группа), проходивших лечение с применением ЭКО в отделении вспомогательных репродуктивных технологий Базовой акушерско-гинекологической клиники ФГБОУ ВО КубГМУ г. Краснодара и клинике репродукции «Эмбрио» г. Краснодара и 45 практически здоровых женщин фертильного возраста, наблюдавшихся в указанных клиниках по программе суррогатного материнства (группа контроля).

Далее в ходе исследования все пациентки с аденомиозом были разделены на три клинические группы, соответственно проводимой предгравидарной подготовке, и в последствии дополнительно по мере проведения ЭКО внутри групп были выделены подгруппы пациенток («Б+» и «Б-») - с удачной и неудачной попыткой.

Особое внимание в клинико-anamнестических данных уделялось анализу параметров, снижающих результативность ЭКО, в том числе оказывающих

отрицательное влияние на возможное количество получаемых ооцитов, качество эмбриона и имплантационный фактор эндометрия. К ним относятся возраст пациенток, особенности менструальной и репродуктивной функции, перенесенные гинекологические заболевания и оперативные вмешательства, хроническая соматическая патология. Все обследуемые пациентки находились в репродуктивном возрасте, который варьировал от 27 до 35 лет и в среднем составил $31, 2 \pm 2, 8$ года. В целом 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 высказывались пациентками только при нацеленном опросе.

В соматическом анамнезе у пациенток с аденомиозом выявлена высокая (95, 3% больных), статистически значимо отличающаяся от группы контроля встречаемость перенесенных детских инфекций и адено tonsиллита (65, 1% пациенток) и острых респираторных заболеваний ($p < 0, 05$).

Среди соматических заболеваний у пациенток с аденомиозом статистические значимые отличия от группы контроля наблюдались по частоте железодефицитных анемий (90, 6% пациенток), НЦД (59, 3% пациенток), патологии органов желудочно-кишечного тракта (45, 3% пациенток) и гепато-билиарного комплекса, которые имели место в 9, 3% больных с аденомиозом, ($p < 0, 05$).

В акушерском анамнезе достоверно чаще отмечены искусственные аборты ($p < 0, 05$), замершая беременность и самопроизвольный выкидыш (9, 3% больных), $p < 0, 05$.

При сборе гинекологического анамнеза у пациенток основной группы преобладало статистически достоверное увеличение частоты хронического

метроэндометрита и/или сальпингоофорита (50% пациенток), дисбиозов и ИППП (70, 9% пациенток), нарушений менструально-овариального цикла и гиперпластических процессов эндометрия (44, 4% пациенток). В целом, гинекологическая патология у пациенток основной группы в анамнезе встречалась значительно чаще, чем в группе контроля ($p < 0, 05$). Однако отмечено, что основной ведущей клиникой воспалительного процесса у 70, 9% пациенток был болевой синдром, противовоспалительная и антибактериальная терапия проводилась по сути «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, несмотря на наличие у 13, 3% пациенток наряду с аденомиозом трубного фактора бесплодия, у них не обнаружено маркеров инфекционно-воспалительного процесса, в том числе по результатам гистологического и бактериологического исследования эндометрия. При этом у них уже были неудачные попытки ЭКО, что позволяет ассоциировать неудачу ЭКО у данных пациенток с аденомиозом ранних степеней.

При исследовании гормонального профиля и показателей овариального резерва (по уровню АМГ) у пациенток основной группы нами не было выявлено статистически значимых отличий от стандартных референсных промежутков, определяемых при нормоэстрогеновом овуляторном менструальном цикле с полноценной второй фазой. 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, $p < 0, 05$), что обосновывает целесообразность предгравидарной подготовки прогестагенами к циклу ЭКО у данных пациенток.

Верификация диагноза «аденомиоз» проведена расширенными инструментальными исследованиями, в ходе которых выявлено наличие ультразвуковых признаков аденомиоза. Так у всех пациенток была визуализировалась переходная зона более 5 мм, у 96, 7% - на 19-21-й день цикла

матка приобретала более округлую форму, у большинства больных (84, 3%) определялись мелкокистозные и трубчатые структуры в миометрии и переходной зоне пациенток и неоднородность структуры границы «эндометрий-миометрий» - 82, 6% пациенток. 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-диагностики, при этом у части больных, особенно с аденомиозом 1-й степени, выявлялись дополнительные верификационные критерии патологического процесса, не визуализируемые при УЗИ.

Результаты гистероскопии были относительно малоинформативны, так как основным критерием, выявляемым у пациенток с аденомиозом ранних степеней были открытые, кровоточащие «глазки», что весьма неспецифично и имеет малую верификационную значимость.

Резюмируя вышеизложенное, мы пришли к выводу, что у пациенток с бесплодием, тем более с неудачными попытками в анамнезе, в обязательном порядке требуется исключение или подтверждение аденомиоза ранних степеней. Необходим тщательный сбор анамнеза и жалоб пациенток, применение расширенного протокола УЗИ с обязательным введением в него доплерометрии маточных сосудов и МРТ органов малого таза. И 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 снижает возможности репродуктивного потенциала женщины и при проведении ВРТ может сказываться на его результативности.

Учитывая доказанную роль иммунных нарушений в патогенезе аденомиоза, мы изучили параметры цитокинового баланса периферической крови у пациенток основной группы (IL1 β , IL8, IL4, IL-6, IL-10, RAIL, VEGF) на 2-5 день цикла и 21-23 дни цикла. Для исследования рецептивности эндометрия производили гистологическое исследование пайпель-биоптата на 21-23 день

менструального цикла и определяли концентрацию LIF, LIF-R, GM-CSF, IL-6, IL-10, VEGF-A в цервикальной слизи (неинвазивный метод исследования локального цитокинового баланса полости матки) в дни менструального цикла, определенные по мочевому тесту на овуляцию (ЛГ+3, ЛГ+7).

Известно, что формирование имплантационного окна эндометрия характеризуется выраженными ультраструктурными изменениями эндометриальных эпителиальных клеток, в том числе определяющим является формирование на апикальной поверхности клеток куполоподобных выпячиваний - пиноподии и этот процесс связан с периодом максимальной рецепторной активности эндометрия. По данным нашего исследования только у 37, 2% пациенток с аденомиозом были выявлены абсолютно зрелые пиноподии, а у большинства пациенток основной группы наблюдалось отставание созревания 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, безусловно, 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. Как уже отмечалось, к настоящему времени доказана роль многих цитокинов и факторов роста в патогенезе аденомиоза (Bagot C. et al, 2001; Шуршалина А.В. и др., 2011; Creus M. et al, 2003), при этом цитокины являются сигнальными молекулами, которые обеспечивают слаженную работу практических всех звеньев иммунитета, формируя иммунологическую толерантность организма и обеспечивая рецептивность эндометрия в самом начале гестационного процесса, в том числе и при применении ВРТ.

Нами выявлено, что у пациенток с аденомиозом, в том числе и на фоне умеренного выраженного «дисгормоноза» изначально присутствует ярко выраженное превалирование провоспалительного потенциала цитокинового

профиля периферической крови при дефиците противовоспалительной реакции. Так расчетная величина ПВИ ($IL-1\beta/RAIL -1*100$) позволила показать статистически значимые различия ($p<0,001$) баланса про- и противовоспалительных цитокинов в группах пациенток с аденомиозом и группе контроля (1-я группа - $39,3 \pm 11,3$ пг/мл, 2 группа - $36,5 \pm 10,3$ пг/мл, контроль - $16,9 \pm 3,92$ пг/мл), проявления патологически избыточного ангиогенеза (VEGF в среднем $279 \pm 101,5$ пкг/мл против $49,8 \pm 13,2$ пкг/мл в контроле, ($p<0,001$), нарастающее в лютеиновую фазу менструального цикла, что, несомненно, отражается на репродуктивном потенциале и возможно обеспечивает неудовлетворительную рецептивность эндометрия.

При исследовании локального цитокинового баланса полости матки у пациенток с аденомиозом ранних степеней выявлены выраженные дефекты рецептивности эндометрия, обусловленные непосредственными участниками процесса имплантации LIF, LIF-R и GM-CS. Концентрация LIF в ЦС у пациенток основной группы была статистически значимо ниже, чем в группе контроля как на 3-й так и 7-й дни после пика ЛГ (соответственно $4,21 \pm 1,6$ 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-CS, как одного из известных показателей иммунной рецептивности эндометрия 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 в сторону активации провоспалительного звена, определяемый увеличением отношения $IL6/IL10$ (ПВИ1) цервикальной слизи (в среднем $62,3 \pm 13,2$ у.е - основная группа, $14,3 \pm 3,8$ у.е - контроль). При анализе содержания VEGF в цервикальной слизи у пациенток с аденомиозом 1-й степени выявлено его статистически значимое увеличение ($p<0,005$) по сравнению с группой контроля. Концентрация $IL-6$ 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 в 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.

Для исключения эмбрионального фактора в ходе нашего исследования у женщин участниц программ ЭКО при проведении трансвагинальной пункции одновременно с забором ооцитов, забирали фолликулярную жидкость и определяли в ней концентрацию цитокинов (IL-1 β , IL-8, IL-6, IL-2, IL-4, IL-10, GM-CSF). В итоге нами была выявлена умеренно доминирующая провоспалительная активность, которая вполне оправдана в преовуляторном фолликуле, тем более что IL-6, помимо провоспалительного эффекта, оказывает ингибирующее действие на секрецию эстрадиола и прогестерона гранулезными клетками, стимулированными ФСГ и тем самым способствует лютеонизации овулировавших фолликулов (Вихляева Е.М., Татарчук Т.Ф., Савельева Г.М., 2012). При этом мы не выявили существенных различий среди показателей цитокинового баланса ФЖ у пациенток репродуктивного возраста с аденомиозом ранних степеней, $p > 0,01$. Также не отмечалось статистически достоверных различий в цитокиновом балансе у пациенток с неудачными и удачными попытками ЭКО, $p > 0,01$. В совокупности с хорошими результатами фолликуло- и эмбриогенеза это подтверждает отсутствие эмбрионального фактора у пациенток с аденомиозом ранних степеней, обуславливающего неудачу ЭКО. Так, концентрация провоспалительного цитокина IL-1 β составила в среднем $21,3 \pm 3,37$ пг/мл, не отличаясь от групп контроля - $22,5 \pm 3,1$ пг/мл,

$p > 0,05$. Средний уровень IL-6 составил $19,1 \pm 5,4$ пг/мл, также достоверно не отличаясь от уровня в группе контроля - в среднем $18,9 \pm 5,6$ пг/мл независимо от исхода ЭКО, $p > 0,05$. Содержание провоспалительных цитокинов в ФЖ пациенток с аденомиозом и практически здоровых женщин не имели достоверных отличий, расчет ПВИф, как отношение IL-6/IL-10 продемонстрировал преобладание провоспалительного компонента как в группе контроля, так и в группах больных аденомиозом, $p > 0,05$. Концентрация фактора роста GM-CSF в ФЖ была сопоставима в обеих группах и не зависела от исхода программы, составив в среднем $146,6 \pm 12,7$ в группах пациенток с аденомиозом и $146,3 \pm 11,2$ в контроле ($p > 0,05$).

Кроме того, на основании проведенного сравнительного анализа результатов индукции овуляции нами не было найдено статистически значимых различий между основными, дополнительными группами и контролем по общему количеству полученных и аспирированных фолликулов, по сравнению с фертильными здоровыми женщинами отсутствовали статистически значимые отклонения в эмбриогенезе, которые могли бы повлиять на частоту удачных попыток ЭКО, $p > 0,01$. Статистически достоверной разницы между группами по количеству полученных эмбрионов хорошего качества обнаружено не было, $p > 0,01$. При анализе эмбрионов, остановившихся в развитии до 5-х суток культивирования, статистических различий между исследуемыми группами также выявлено не было, $p > 0,08$). В группе пациенток с наступившей беременностью остановка эмбрионов в развитии до 5-х суток культивирования наблюдалась в среднем в 28,1% случаев, в группе женщин с отсутствием беременности – в 30,2% случаев, как у пациенток с аденомиозом, так и в группе контроля.

Принимая во внимание выявленную относительную гиперэстрогению во второй фазе менструального цикла, определяемую отношением уровня эстрогенов к прогестерону и, следовательно, целесообразность назначений гестагенов у данных пациенток, нами была проведена предгравидарная подготовка к циклу ЭКО различными прогестагенами. Пациентки 1-й группы

получали микронизированный прогестерон в дозе 200 мг с 16-го по 25-й день цикла в течение 3-х циклов, пациентки 2-й группы - диеногест в дозе 2 мг в сутки в течение 3-х месяцев.

Сравнительный анализ показал, что после проведения различной предгравидарной подготовки, у пациенток с аденомиозом 1-й степеней, получавших микронизированный прогестерон (1-я группа), наблюдается некоторая положительная динамика как уровня цитокинов периферической крови, так и параметров имплантационного потенциала эндометрия. Так, уровень провоспалительных (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 результатов группы контроля, составляя с ней высоко статистически значимую разницу, $p < 0,005$. После проведения предгравидарной подготовки диеногестом (2-я группа) в имплантационном потенциале эндометрия отмечались существенно более позитивные изменения по сравнению с аналогичными показателями при применении микронизированного прогестерона. Изменения уровня провоспалительных интерлейкинов (IL1 β , IL8, IL6) у пациенток 2-й группы составили высокосignificantную статистическую разницу ($p < 0,005$) при сравнении с аналогичными параметрами у пациенток 1-й группы. Подобная статистически высокосignificantная направленность прослеживалась и в отношении IL8 и IL6, ($p < 0,005$). Динамика уровней противовоспалительных интерлейкинов на фоне различной предгравидарной подготовки составила статистически незначимую разницу против исходных показателей в 1 и 2 группах ($p > 0,01$), против показателей группы контроля ($p > 0,01$), не было выявлено и статистически значимых межгрупповых различий ($p > 0,01$). Наиболее показательную данную динамику отражает ПВИ, определяемый как отношение IL1 β /RAIL*10. На фоне применения диеногеста ПВИ снизился до 20, 1 \pm 5, 1, что составило статистически высокосignificantную разницу сравнительно с исходными показателями и выраженную высокостатистически значимую межгрупповую разницу, $p < 0,005$.

Однако уровень ПВИ периферической крови группы контроля не был достигнут ни в первой, ни во 2-й клинических группах (контроль - $16, 0 \pm 3, 4$). При проведении предгравидарной подготовки диеногестом выявлен статистически значимый от исходного прирост уровня LIF и LIFR как на 3-й, так и на 7-й день после пика ЛГ ($p < 0, 005$). Однако несмотря на проведенную предгравидарную подготовку средние показатели LIF и LIFR по группам 1 и 2 были достоверно значимо ниже показателей группы контроля, ($p < 0, 005$).

Это позволяет сделать вывод о том, что в условиях измененного цитокинового баланса и снижения имплантационного потенциала эндометрия при аденомиозе 1-й степени, диеногест является потенциальным препаратом выбора, который помимо ингибирующего действия на пролиферацию эктопической ткани эндометрия осуществляет иммулотропные эффекты, снижая уровень провоспалительных интерлейкинов центрального звена, уменьшает патологический неоангиогенез и опосредованно улучшает рецепторную активность эндометрия, что отражается на его клинической эффективности. Показано, что в ряде случаев диеногест не вызывает полной нормализации исследуемых показателей в условиях аденомиоза, что свидетельствует о недостаточности его иммулотропных эффектов для полноценной коррекции нарушенного цитокинового баланса и имплантационного потенциала эндометрия.

При сравнительном анализе эффективности ЭКО у пациенток 1-й и 2-й группы с группой контроля мы выявили, что, несмотря на удовлетворительные результаты параметров фолликуло- и эмбриогенеза (Глава 2), частота наступления биохимической беременности в 1-й группе (предгравидарная подготовка микронизированным прогестероном) была минимальна и составила 28, 7% от переноса; во 2-й клинической группе (предгравидарная подготовка диеногестом) частота наступления биохимической беременности была статистически значимо выше и составила 31, 5%, однако по сравнению с группой контроля данный показатель был статистически значимо снижен (группа контроля - 55, 5%), $p < 0, 05$. Такие же тенденции отмечены и в частоте

наступлении клинической беременности (1-я группа - 17 пациенток (23, 2%), 2-я группа - 23 (29, 8%), контроль - 20 (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 первой, так и во второй клинических группах.

Это позволяло сделать вывод, что при наличии дефектов имплантационного фактора эндометрия предгравидарная подготовка микронизированным прогестероном у большинства пациенток была малорезультативна. Предгравидарная подготовка диеногестом была более эффективна, однако у определенного количества пациенток не привела к позитивному результату. По данной причине мы проанализировали цитокиновый статус периферической крови, параметры имплантационного фактора эндометрия и их динамику с позиции удачной и неудачной попытки ЭКО на фоне предгравидарной подготовки диеногестом на 19-й-21-й день менструального цикла. Пациентки с положительным результатом ЭКО были объединены в группу «2Б+», с отрицательным в группу «2Б-».

При анализе уровня провоспалительных цитокинов периферической крови (табл. 40) выявлено, что в группе «2Б+» исходно уровень IL-1 β , IL-8, IL-6 был достоверно ниже, чем аналогичные показатели в группе «2Б-», $p < 0,005$. При проведении предгравидарной подготовки диеногестом уровень всех цитокинов провоспалительного пула статистически значимо снижался, причем практически равнозначно по модулю, но при этом из-за гораздо более высоких исходных значений уровней в группе «2Б-», не достигал параметров группы контроля, статистически высоко значимо отличаясь от них, $p < 0,005$ (Табл. 40).

Уровень противовоспалительных цитокинов, в группе «2Б-», хоть и статистически значимо отличались от группы «2Б+», но при этом разница в абсолютных значениях параметров не была столь высока, как при подсчете уровня провоспалительных цитокинов. При этом отмечалось равнозначное по модулю снижение их уровней на фоне предгравидарной подготовки диеногестом. Наиболее объективно этот диссонанс демонстрирует ПВИ,

который исходно составил $31, 2 \pm 3, 3$ у пациенток группы «2Б+» и группы «2Б-» $46, 5 \pm 14, 1$, $p < 0, 005$. На фоне предгравидарной подготовки динамика снижения ПВИ была статистически значимо выраженной и в итоге ПВИ составил в группе «2Б+» $19, 2 \pm 4, 1$, а в группе «2Б-» $30, 2 \pm 9, 4$.

При анализе показателей, определяющих имплантационный потенциал эндометрия, в группе «2Б-» отмечались те же тенденции: исходный уровень LIF и LIF-R был значительно снижен по сравнению с группой «2Б+» ($p < 0, 005$), прирост показателей в динамике по модулю был сходным, однако в группе «2Б-» не достиг уровня контроля. Уровень VEGF в группе «2Б-», как в периферической крови, так и в цервикальной слизи был максимален и даже на фоне предгравидарной подготовки диеногестом статистически значимо отличался от группы контроля ($p < 0, 005$). ПВИ1, определяемый как соотношение IL-6/ IL-10 свидетельствовал о патологическом преобладании провоспалительных цитокинов на местном уровне у пациенток с неудачной попыткой ЭКО в группе «2Б-», ($p < 0, 005$).

Таким образом, статистический анализ позволил установить, что у части пациенток с аденомиозом 1-й степени наблюдаются более выраженные иммунные дисфункции на системном уровне, сопровождающиеся более выраженным снижением имплантационного потенциала эндометрия, который мы определили как очень низкий. Проведя анализ достоверности отличий, мы получили данные, свидетельствующие о том, что из сравниваемых показателей, определяемых в цервикальной слизи, до проведения предгравидарной подготовки между группами «2Б+» и «2Б-» индикаторными могут быть показатели: LIF, LIF-R, IL-6 и ПВИ -1. Среди показателей цервикальной слизи наибольшее количество различий между значениями показателей для клинически беременных и небеременных наблюдалось для LIF, LIF-R, IL-6, IL-10, ПВИ-ЦС. Далее с помощью графического анализа категоризованных гистограмм были выделены три показателя: LIF, ПВИ, ПВИ-1. Эти показатели обладали малой дисперсией и незначительным перекрытием значений для успешной и неудачной попытки ЭКО.

Используя метод логистической регрессии и ROC-анализ, мы получили для суммы трех показателей площадь под кривой ROC-анализа самое 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%). Суммарный оптимальный порог для данных показателей - 88, 9 у.е., с чувствительностью и специфичностью метода суммарного определения 82, 4% и 83, 6% соответственно. «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%) суммарный оптимальный порог для данных показателей - 113, 2 у.е., с чувствительностью и специфичностью метода суммарного определения 85, 2% и 84, 4% соответственно. Для пациенток с «низким имплантационным потенциалом» иммуностропных эффектов диеногеста достаточно и включение диеногеста в программу предгравидарной подготовки существенно повышает эффективность ЭКО при аденомиозе ранних степеней. Пациентки с аденомиозом 1-й степени при выявлении «очень низкого имплантационного потенциала» эндометрия имеют малую прогностическую вероятность беременности в связи с его критическим снижением, которое даже на фоне предгравидарной подготовки диеногестом не восстанавливается в контрольных значениях, и, следовательно, требует включения в комплекс предгравидарной подготовки дополнительной иммуностропной терапии.

В нашем исследовании в качестве иммунокорректора был выбран дезоксирибонуклеинат натрия, механизм действия которого связан с коррегирующим влиянием практически на все звенья иммунной системы.

Созданный на основе низкомолекулярной ДНК из молок лососевых рыб, данный иммуномодулятор повышает функциональную активность фагоцитирующих клеток, участвует в регуляции антиоксидантного действия, что подтверждает значение экзогенных нуклеиновых кислот любого происхождения в поддержании гомеостаза и перспективность их применения в качестве иммунокорректоров при состояниях, сопровождающихся развитием вторичной иммунологической недостаточности (Федянина, Л.Н., 2007). Наряду с этим дезоксирибонуклеинат натрия проявляет свойства индуктора цитокинов с избирательным регуляторным эффектом по отношению к ранним гемопоетическим 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). В настоящее время считается доказанным TLR9-опосредованный механизм иммуностропных эффектов препарата нуклеиновых кислот животного происхождения в отношении функциональных дефектов клеток врожденного иммунитета (Русинова Т.В. и др., 2016).

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 (Ковальчук Л.В. и др., 2000; Русинова Т.В. и др., 2016), что не может опосредованно не влиять на качество имплантационного фактора эндометрия. Также многочисленными исследованиями доказано отсутствие мутагенного, тератогенного, эмбриотоксического, канцерогенного действий, алергизирующих свойств, цитогенетических эффектов дезоксирибонуклеината натрия. Препарат разрешен к применению даже во время беременности и является одним из лекарственных средств (по данным РЛС), применяемых при эндометриозе. (Регистр лекарственных средств России // Энциклопедия лекарств и товаров аптечного ассортимента, 2017). Поэтому мы предположили, что сочетание дезоксирибонуклеината натрия с диеногестом, чьи гормоноопосредованные иммуномодулирующие свойства уже в достаточной мере

изучены (Куценко И. и др., 2018), позволят взаимопотенцировать и усилить влияние на имеющийся у пациенток с аденомиозом и бесплодием цитокинозависимо сниженный имплантационный потенциал эндометрия.

На фоне проведения предгравидарной подготовки дезоксирибонуклеинатом натрия и диеногестом (прием диеногеста в дозе 2 мг в сутки в течение 3-х месяцев и внутримышечное введение дерината 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) у пациенток 3-й группы (очень сниженный имплантационный потенциал) при исследовании параметров противовоспалительного пула (IL4, IL10 и RAIF) 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 RAIF - $397, 2 \pm 26, 7$ 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 комплексной предгравидарной подготовки практически соответствовал группе контроля (4-я группа), ($p > 0, 01$). При сравнении результатов, полученных в посттрансферном периоде, статистически значимой разницы показателей не было выявлено ни по одному параметру как про- так и противовоспалительного пула цитокинов ($p > 0, 01$).

Таким образом, как на фоне комплексной предгравидарной подготовки с использованием направленной специфической иммунотерапии, у пациенток с выраженными изменениями цитокинового баланса мы выявили статистически высоко значимое уменьшение уровня провоспалительных интерлейкинов и менее выраженное уровня противовоспалительных по сравнению с группой пациенток, которым применяли только диеногест (2-я группа), $p < 0, 05$. Те же самые тенденции наглядно демонстрировал провоспалительный индекс (ПВИ). На фоне применения диеногеста и дезоксирибонуклеината натрия (3-я группа) ПВИ снизился до $16, 4 \pm 3, 6$ у.е, на фоне применения диеногеста группа «2Б-» до $30, 2 \pm 9, 7$ у.е., что составило статистически высокосignificantную разницу сравнительно с исходными показателями обеих групп и выраженную

высокостатистически значимую межгрупповую разницу, $p < 0,005$. Отмечено более интенсивное снижение уровня ПВИ у пациентов 3-й группы, причем показатели ПВИ в 3-й группе достигли уровня контроля ($16,0 \pm 4,0$).

Сравнительная оценка динамики изменения концентрации LIF и LIF-R в ЦС в зависимости от используемой схемы предгравидарной подготовки выявила статистические высоко значимые различия показателя в клинических группах. Так, уровень LIF на ЛГ+3 у пациентов 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 естественного цикла ($p < 0,005$) 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 цервикальной слизи, изменяясь за счет более выраженного статистически значимого снижения экспрессии цитокинов провоспалительного звена, максимально приближался к группе контроля, что наиболее наглядно демонстрирует ПВИ1 (3-я группа $-48,9 \pm 18,8$ исходно, $14,1 \pm 4,1$ после ПГ; группа «2Б-» $45,3 \pm 17,6$ исходно, $29,7 \pm 9,6$ после ПГ, против $14,4 \pm 2,5$ в контроле).

Таким образом, на фоне предгравидарной подготовки диеногестом в сочетании с дезоксирибонуклеинатом натрия у пациенток с очень низким имплантационным потенциалом на фоне снижения уровня провоспалительных цитокинов нормализуется провоспалительный индекс периферической крови и практически до параметров контрольной группы восстанавливаются показатели местного иммунитета, определяющие иммунологический надзор за имплантацией.

Очевидно, что воздействие диеногеста в первую очередь 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 местном уровне иммуотропного 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.

На последнем этапе нашего исследования мы провели сравнительный анализ результативности циклов ЭКО при всех видах предгравидарной подготовки. Группой контроля служили пациентки, наблюдаемые по программе суррогатного материнства. При анализе течения гестационного процесса и исхода родов выявлено, что в группе контроля беременность завершилась срочными родами у 20 (44, 4%) пациенток, в том числе двойней. Преждевременных родов и выкидышей в контрольной группе не было, родился 21 ребенок, то есть частота живорождения составила 46, 6%. В 1-й группе беременность завершилась родами в доношенном сроке у 12, 3% пациенток, из них была 1 двойня. У 4 (23, 5%) пациенток состоялись преждевременные роды - в сроке 34-35 недель, у 1 (5, 8%) ранние преждевременные роды на сроке 32 недели - двойня. Всего в 1-й группе родилось 14 (19, 1%) условно здоровых детей. Частота прерывания беременности в первой группе составила 17, 6%, из них была одна замершая беременности и 2 самопроизвольных аборта на сроке 9-10 недель. 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 составили 12, 9, 0%, из них одна замершая беременность и 2 самопроизвольных аборта на сроке 7-8 недель.

Наиболее позитивные результаты показали пациентки 3-й группы (диеногест+дезоксирибонуклеинат натрия). Частота наступления клинической беременности у них составила 36, 6%, частота живорождения - 36, 6%. Состоялась одна (3, 5%) замершая беременность на сроке 12 недель.

Таким образом, на фоне предгравидарной подготовки диеногестом (2-я группа), показатели зачатия и живорождения статистически значимо увеличивались (χ^2 , $p=0,062$), а частота осложнений гестационного процесса достоверно значимо уменьшалась относительно 1-й группы, однако показатели не достигали таковых в группе контроля, в связи с тем, что в эту группу изначально вошли пациентки и с «низким», и с «очень низким имплантационным потенциалом» эндометрия.

На фоне предгравидарной подготовки (3-я группа - «очень низкий имплантационный потенциал» эндометрия) с применением диеногеста и неспецифической иммуномодуляции дезоксирибонуклеинатом натрия отмечались наиболее высокие максимально приближающиеся к показателям группы контроля (4-я группа) 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.

Проведенный анализ в целом показал, что пациентки с аденомиозом даже в случае удачной попытки ЭКО относятся к группе высокого риска по развитию акушерской и перинатальной патологии. Аденомиоз, снижая качество имплантационного фактора, ведет к развитию первичной хориальной и вторичной плацентарной недостаточности, что приводит к развитию различных осложнений беременности, повышает риск невынашивания и неонатальной заболеваемости. Таким образом, совершенно очевидна необходимость индивидуального ведения пациенток с бесплодием, ассоциированным с

аденомиозом даже ранних степеней, что в свою очередь, приведет к уменьшению осложнений во время беременности и улучшению перинатальных исходов.

ВЫВОДЫ

1. Аденомиоз 1 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 позволяет 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 2 раза ($IL1\beta/RAIL$), $p<0,05$.

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 4 раза в цервикальной слизи, $p<0,05$.

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 специфичностью - 76,8%), для $ПВИ>28,7$ у.е. (чувствительность 76,5% и специфичностью - 78,5%) и для $ПВИ1>35,7$ у.е. (чувствительность - 72,5% и специфичностью - 77,8%). Суммарный оптимальный

порог для данных показателей - 88, 9 у.е., с чувствительностью и специфичностью метода 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 специфичностью -75, 9%), для ПВИ>45, 7 у.е. (чувствительность 82, 5% и специфичностью - 79, 5%) и для ПВИ1>49, 1 у.е, (чувствительность 72, 5% и специфичностью -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 иммуностропных 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 , $p=0, 805$), уменьшает количество осложнений беременности, (χ^2 , $p=0, 712$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У пациенток, идущих в протокол ЭКО с целью 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 $IL1\beta$ и RAIIL и рассчитывать $PBI = IL1\beta / RAIIL * 100$, в цервикальной слизи - определять параметры, отражающие состояние имплантационного потенциала эндометрия, - LIF, IL6, IL10 и рассчитывать $PBI-ЦС = IL6 / IL10$.

3. При $LIF < 24, 5$ пг/мл, $PBI > 28, 7$ у.е. и $PBI-ЦС > 35, 7$ 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 3-х месяцев.

4. При $LIF < 18, 2$ пг/мл $PBI > 45, 7$ у.е. и для $PBI-ЦС > 49, 1$ у.е. с суммарным оптимальный порог $> 113, 2$ у.е. потенциал оценивается как «очень низкий» и с целью предгравидарной подготовки назначается прием диеногеста в дозе 2 мг в сутки в течение 3-х месяцев и внутримышечное введение дезоксирибонуклеината 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 условных сокращений

АМГ– антимюллеров гормона

аГнРГ– 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 – магнито-резонансная томография

МЦ–менструальный цикл

НГЭ –наружный генитальный эндометриоз

НПВС– нестероидные противовоспалительные средства

ОТ-ПЦР–полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией

ПВИ – провоспалительный индекс

ПВИ-ЦС –провоспалительный индекс цервикальной слизи

ПМЯЛ–полиморфно-ядерные лейкоциты

р-чФСГ –рекомбинантный фолликулостимулирующий гормон человека

ТВПТ–трансвагинальная пункция

ТВУЗИ – трансвагинальное ультразвуковое исследование

ТФР- β 1–трансформирующий фактор роста β 1

УЗИ – ультразвуковое исследование

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

TNF α – фактора некроза опухоли α

VEGF–сосудисто-эндотелиальный фактор роста

ЛИТЕРАТУРА

1. Адамян Л.В., Кулаков В. и //Эндометриозы - М., 1998. – 320 с.
2. Адамян Л.В., Яроцкая Е.Л. Генитальный эндометриоз: дискуссионные вопросы и альтернативные подходы к диагностике и лечению // Журнал акушерства и женских болезней 2002 - Т. LI, вып. 3. - С. 103-111.
4. Адамян Л.В., Гусаева Х.З., Василенко И.А. и др. Цитокины в перитонеальной жидкости и периферической крови больных с сочетанными доброкачественными заболеваниями матки.//Проблемы репродукции, 2008. - №6. - С. 16-19.
5. Адамян, Л. В. Роль современной гормонмодулирующей терапии в комплексном лечении генитального эндометриоза / Л. В. Адамян, Е. Н. Андреева // Проблемы репродукции, 2011. - № 6. - С. 66-77.
6. Адамян Л.В. Эндометриоз: диагностика, лечение и реабилитация / Л.В. Адамян, Е.Н Андреева, И.А. Аполохина и др. - М.: Медицина, 2013. - 65 с
7. Астафьева О.В., Поморцев А.В., Макухина Т.Е. Оценка информативности доплерографии в диагностике внутреннего эндометриоза // Актуальные проблемы перинатологии: Мат-лы научно-практ. конф- Анапа, 2002 - С.49-50.
8. Бабиченко И. и., Самойлов М.В., Серебренникова К.Г., Бессмертная В.С., Мусаева М.Г. Рецепторы к эстрогенам и прогестерону в эндометрии женщин при бесплодии. Вестн РУДН 2007. – С. 48-52.
9. Баскаков В.П., Цвелев Ю.В., Рухляда Н.Н. Проблема современной диагностики аденомиоза матки //Ж. акушерства и жен. Болезней, 2002.- № 1. - С. 105-111.
10. Барто Р. А., Чечнева М. А. Ультразвуковая диагностика ретроцервикального эндометриоза // Альманах клинической медицины, 2015. – С. 93-99.
11. Белоусов, М.А. Озерская, И.А. //Трехмерная эхография полости матки / М.А.Белоусов, // Ультразвуковая и функциональная диагностика, 2003. – С. 36-40.

12. Белоцерковцева Л.Д., Коноваленко Л.В., Корнеева Е.В., Бондарева Е.В., Шишанок О.Ю. Влияние возраста пациенток на частоту биологических потерь в программах ЭКО: опыт работы / Проблемы репродукции, 2008. - № 3. – С. 53-56.
13. Буданов, П.В. Дискоординация системного воспаления при внутриутробной инфекции / П.В. Буданов, А.Н. Стрижаков, В.В. Малиновская [и др.] // Вопр. гинекологии, акушерства и перинатологии. -2009. -Т. 8, No 2. -С. 61-68
14. Бреусенко В.Г., Савельева Г.М., Каппушева Л.М. // Атлас и руководство «Гистероскопия» М.-2015г.
15. Вартанян Э. В., Мартышкина Е. Ю., Цатурова К. А. //Роль сочетанной патологии в неудачных протоколах эоко// Акушерство, гинекология и репродукция, 2011.
16. Виноградова Л.В., Мишиева Н.Г., Абубакиров А.Н., Левков Л.А., Мартынова М.В. // Гормональные особенности циклов ЭКО, стимулированных человеческим менопаузальным гонадотропином и рекомбинатным ФСГ в протоколах с антагонистом гонадотропин-рилизинг гормона // Научно-практический журнал Акушерство и гинекология - 2014г- №11
17. Вихляева Е.М., Железнов Б. и. Эндометриоз. // Руководство по эндокринной гинекологии. М.- 2002, - С. 487 - 570.
18. Волков Н. и. //Эндометриоз как причина бесплодия. Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению: руководство / Под ред. Г.Т. Сухих и Т.А. Назаренко. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010: 114-128.
19. Гаврилова Т.Ю. Ангиогенез и ангиогенные факторы роста в патогенезе аденомиоза. Т.Ю. Гаврилова, Л.В. Адамян. В.Ш. Гурджиев//Журнал акушерства и женских болезней (спецвыпуск). - 2006.-С. 56-57
20. Газазян М.Г., Иванова Т.С. //Эффективность различных видов гормональной терапии при внутреннем эндометриозе // Актуальные вопросы оперативной гинекологии и репродукции человека: Сб. тр. 1-го Кубанского конгр. по гинекологии.- Анапа.- 2001.- С. 192-193
21. Гланц. С. //Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. - М., Практика, 1999. - 459 с.

22. Дамиров, М. М. //Сопоставление ультразвуковых и морфологических симптомов аденомиоза / М.М. Дамиров, А.М. Шабанов // Акушерство и гинекология. - 2002. - № 5. - С. 28-32
23. Дамиров М.М. Аденомиоз. - М.: ООО «Бином - Пресс», 2004. - 316 с.
24. Дамиров М. М. // Генитальный эндометриоз - болезнь активных и деловых женщин - Москва : Изд-во БИНОМ, 2010. - 191 с. ISBN 978-5-9518-0413-6
25. Дамиров М.М., Шабанов А.М. //Новый взгляд на патогенез аденомиоза. Журнал им. Н.В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь». 2013;(3):23-27.
26. Демидов В.Н., Адамян Л.В., Хачатрян А.К., Внутренний эндометриоз // Ультразвуковая диагностика. -1996.- № 1 С. 32-42.
27. Демидов В.Н., Адамян Л.В., Гус А. и., Хачатрян А.К. //Эхография органов малого таза у женщины. Вып.1. Эндометриоз: практическое пособие. - М., 1997.- С. 35-46.
28. Денисова И.Н., Кулакова В. и., Шевченко Ю.Л., Хамтова Р.М.. //Клинические рекомендации для практикующих врачей, основанные на доказательной медицине: пер. с англ / Под ред. 2-е изд. испр. М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. 1248 с
29. Долгушин И. и, Долгушина В.Ф., Телешева Л.Ф., Абрамовских О.С., Зотова М.А., Ахматова А.Н.// Содержание цитокинов в цервикальной слизи женщин с хроническим цервицитом, ассоциированным с папилломавирусной инфекцией, в зависимости от вирусной нагрузки // Цитокины и воспаление, 2010, № 4, С.
30. Дюжева Е.В. //Гормональная подготовка эндометрия у пациенток с неэффективными попытками ЭКО в анамнезе: Автореф. дис. канд. мед. наук. М 2010.
31. Егорова В.Н., Попович А.М.// Ронколейкин опыт применения в хирургии и реаниматологии.- Санкт-Петербург. ООО «БИОТЕХ», - 2004.- 40с.
32. Зайцев В.М., Лифляндский В.Г., Маринкин В. и. - Прикладная медицинская статистика, 2006
33. Ищенко, А. и. Эндометриоз. Диагностика и лечение /А. и. Ищенко, Е.А. Кудрина. - М., 2002. - 104 с.

34. Ищенко А. и., Кудрина Е.А. //Эндометриоз: диагностика и лечение эндометриоза: М- МИА.2008-176с.
35. Ищенко А. И., Жуманова Е. Н., Ищенко А. А., Горбенко О. Ю., Чунаева Е. А., Агаджанян Э.С., Савельева Я. С. // Современные подходы в диагностике и органосохраняющем лечении аденомиоза//Акушерство, гинекология и репродукция 7, №3, 2013
36. Калинин С.Ю., Жиленко М. и., Гусакова Д.А., Дымова А.В.// Подготовка к беременности женщин с гипоплазией эндометрия. Гинекология. 2014; 16(5): 62-6.
37. Качалина Т.С., Семерикова М.В., Стронгин Л.Г. //Современные представления о патогенезе наружного генитального эндометриоза (обзор). Современные технологии в медицине. 2011. 1: 117-122.
38. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. - СПб.: Фолиант, 2008. - 560 с.
39. Ключаров И.В, Савельев С.Е // Оценка диагностической ценности гистероскопии //Вятский медицинский вестник, №1, 2005.
40. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Рубакова Э. и. Система цитокинов: учебное пособие. -М.: Янус-К, 2000. - 64 с.
41. Коган, Е. А., Аكوпова, Е. О., Унанян, А. Л. Бесплодие при эндометриозе: краткий очерк современных представлений / Е.А. Коган, Е.О. Аكوпова, А.Л. Унанян // Пространство и Время. - 2017. - № 1(27). - С. 251-259.
42. Корсак В.С.// 20-й юбилейный отчет регистра ВРТ за 2014 год. Российская ассоциация репродукции человека. - СПб., 2016. - 48с.
43. Корсак, В. С. Стероидные рецепторы нормального эндометрия / Корсак В.С. // Акушерство и гинекология. - 2002. - № 4. - С. 5-7
44. Краснопольская К.В., Назаренко Т.А.//Клинические аспекты лечения бесплодия в браке. Диагностические и терапевтические программы с использованием методов восстановления естественной фертильности и вспомогательных репродуктивных технологий: руководство. /М: ГЭОТАР-Медиа, 2013. -376 с.

45. 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 №3, 2014
46. Крылова Ю.С., Кветной И.М., Айламазян Э.К.// Рецептивность эндометрия: молекулярные механизмы регуляции имплантации // Журнал акушерства и женских болезней. - 2013. - № 2. - С. 63-74
47. Кулаков, В. И. Лечение женского и мужского бесплодия. Вспомогательные репродуктивные технологии / В. и. Кулаков, Б.В. Леонов, Л.Н. Кузьмичев. - М.: МИА, 2005. - 592 с;
48. Кулаков В. и. //Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению /ред.. М.: ГЭОТАР -Медиа, 2005. -616 с.
49. Куценко И. и. Клинико-морфологическая диагностика и особенности лечения различных по активности форм генитального эндометриоза // Дис. докт. мед. наук. Краснодар, 1995.
50. Куценко, И. и. Ультразвуковая диагностика аденомиоза I степени распространения // И. и. Куценко, Е. и. Кравцова, А.Н. Симовоник, О.А. Рудеева // Современные проблемы науки и образования. - 2017. - № 6.
51. Куценко И. и., Кравцовой Е. и., Авакимян В.А., Батмен С.К.//Оценка эффективности ЭКО, течения беременности и исхода родов в зависимости от вида предгравидарной подготовки при аденомиозе 1-2 степени с низким имплантационным потенциалом эндометрия // Современные проблемы науки и образования, 2018
52. Леваков С.А., Хамошина М.Б. //Эндометриоз: мировой прорыв в медикаментозном лечении. StatusPraesens. М.: Редакция журнала StatusPraesens, 2012. 16 с.
53. Макухина Т.Б. Клинико-эхографическая диагностика кнутренного эндометриоза тела матки. Автореф..канд. мед. наук. (14.00.01).-Краснодар.-2004.-23с.

54. Марченко Л.А. //Современный взгляд на отдельные аспекты эндометриоза (обзор литературы) // Проблемы репродукции. - 2011. - №17 (1). - С. 61-66
55. Назаренко Т. А. Стимуляция функции яичников. М.: МЕДпресс-информ, 2013. С. 82-83
56. Назаренко Т.А., Краснопольская К.В. //»Бедный ответ«. Тактика ведения пациенток со сниженной реакцией на стимуляцию гонадотропинами в программах ЭКО. МЕДПресс-информ, 2012, 75 с.
57. Незнамова Н.В., Иванова О.Ю., Мальцева А.Н., Конопля А.А., Локтионов А.Л.// Коррекция нарушений врожденного иммунитета при аденомиозе использованием в стандартном лечении сочетания иммуномодулятора и антиоксиданта // Современные проблемы науки и образования. - 2015. - № 5.
58. Непомнящих Л. М., Лушникова Е. Л., Пекарев О. Г., Лушникова А. К., Никитенко Е. В.// Патоморфологические аспекты внутреннего эндометриоза// Сибирский онкологический журнал, 2012.
59. Нифантова Р. В.// Вспомогательные репродуктивные технологии в терапии женского и мужского бесплодия. Проблемы и перспективы // Социально-экономические проблемы воспроизводства и замещения поколений населения России в XXI в. Мат. науч.-практ. конф. - Екатеринбург, 2011. - С. 132-135.
60. Носенко Е.Н., Саенко А. и., Парницкая О. и., Головатюк Е.П. Особенности формирования пиноподий в эндометрии в зависимости от наличия в нем хронических воспалительных и гиперпролиферативных процессов у женщин хороших ответчиков с неудачными попытками вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) в анамнезе // Современные проблемы науки и образования. - 2014. - № 6;
61. Озерская, И.А. Атлас гинекологической ультразвуковой нормы / И.А. Озерская. - М.: Видар-М, 2010..
62. Ольховская, М. А. Комплексная оценка состояния эндометрия в программе ЭКО: автореф. дис. канд. мед. наук: 14.00.01 / Ольховская Мария Андреевна. - М, - 2007. - 28 С.

63. Оразов М.Р. //К вопросу о некоторых серологических маркерах при тазовой боли, обусловленной аденомиозом //Акушерство, гинекология и репродукция, Т7, №4, 2013
64. Пересада, О.А. Клиника, диагностика и лечение генитального эндометриоза: учеб. пособие /О.А. Пересада. - Минск, 2001. - 274 с.
65. Побединский, Н. М. Стероидные рецепторы нормального эндометрия / Н.М. Побединский, О. и Балтущая, А. и. Омеляненко // Акушерство и гинекология. - 2000. - №3. С. 5-7.
66. Подзолкова, Н.М. Гиперпластические процессы эндометрия / Н.М. Подзолкова, И.В. Кузнецова. - М., 2007.
67. Поморцев А.В., Лобанов К.А., Зубахин А.Г., Макухина Т.Б.//Ультразвуковая диагностика аденомиоза// Кубанский научный медицинский вестник, №2-2015
68. Пономаренко К.Ю., Мороцкая А.В., Грекова В.А. Экспрессия рецепторов прогестерона и эстрадиола в эндометрии у женщин с нарушениями в репродуктивной системе // Журнал акушерства и женских болезней. - 2016- Т. LXV, спецвып. - С. 40-41.
69. Радзинский В.Е., Сорокина А.В., Жилина Н.В., Морозов С.Г. Иммунологические детерминанты аденомиоза с позиции доказательной медицины // Вестник РУДН. Сер. «Медицина. Акушерство и гинекология». - 2010. - № 6. - С. 268-273
70. Радзинский В.Е., Сорокина А.В., Жилина Н.В., Морозов С.Г. // Цитокины в сыворотке крови больных аденомиозом// Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина, 2010
71. Радзинский В.Е., Гус А. и., Семятов С.М., Бутарева Л.Б. Эндометриоз: учебно-методическое пособие. М.- 2001. -52с.
72. Российский статистический ежегодник. М.: Росстат, 2010. 813 с.
73. Русинова Т.В., Чудилова Г.А., Колесникова Н.В. Сравнительная оценка иммуностропных эффектов *in vitro* дерината и синтетического агониста TLR9 на рецепторную функцию нейтрофильных гранулоцитов и моноцитов в норме и

- при инфекционном процессе //Кубанский научный медицинский вестник, 2016. - №5(160). - С.94-97.
74. Савельева Г.М. //Значение дополнительных методов исследования в диагностике опухолей и опухолевидных образований яичников // Междунар. мед журнал. 2001. - № 1 - С. 79-87.
75. Савельева Г.М., Богинская Л.М., Штыров С.В., Тангиева З.С. Динамическая лапароскопия у гинекологических больных //Акушерство и гинекология.- 1990.- №2, С. 10-13.
76. Саидданеш Ш.Ф. Современные методы диагностики распространенных форм эндометриоза/ Саидданеш Ш. Ф., Чупрынин В. Д. [и др.] // Акушерство и гинекология: ООО»Издательский дом «Бионика», 2017, N N 5.-С.39-43
77. Сеидова Л.А., Перминова С.Г., Демура Т.А. Исследование маркеров рецептивности эндометрия в цервикальной слизи как неинвазивный метод оценки имплантационного потенциала // Акушерство и гинекология. - 2015. - № 5. - С. 74-79
78. Сеидова Ф.А., Яворовская К.А. Паракринные регуляторы имплантации. //Проблемы репродукции. -2010. -т.16. -№3. -с. 7-10
79. Сельков С.А., Павлов Р.В., Аксененко В.А. Использование ронколейкина в комплексной терапии генитального эндометриоза: пособие для врачей / Под ред. Э.К. Айламазяна. - СПб.: Н-Л, 2008.
80. Серебряная, Н.Б. Нуклеотиды как регуляторы иммунного ответа / Н.Б.Серебряная // Иммунология. - 2010. -№5. - С.273-281.
81. Серов, В.Н. Современный подход к терапии бактериального вагиноза у беременных во втором триместре / В.Н. Серов, О. и Михайлова, А.А. Балущкина [и др.] // Вопр. гинекологии, акушерства и перинатологии. -2012. -Т. 11, № 5. -С. 19-24.
82. Серов В.В., Пауков В.С. Воспаление: Руководство для врачей. М.: Медицина, 1995.
83. Сидельникова В.М. Эндокринология беременности в норме и при патологии. 2-е изд. М.: МЕДпресс-информ, 2009.

84. Славин М.Б. Методы системного анализа в медицинских исследованиях// М.: Медицина, 1989. - 304 с.
85. Судома И.А. Сравнительная характеристика результативности программ экстракорпорального оплодотворения у пациенток с аденомиозом и трубно-перитонеальным бесплодием // Вестник Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина. - 2005. - № 658. - С. 98-104.
86. Татарчук Т.Ф., Калугина Л.В. К вопросу о лечении гиперплазии эндометрия //Репродуктивная эндокринология. - 2012. - № 2 (4). - С. 88-92.
87. Федянина, Л.Н. Иммуномодулирующая активность низкомолекулярной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) из молок лососевых рыб: автореф. Дис. докт. мед. наук / Л.Н. Федянина. - Владивосток, 2007. - 50 с
88. Хайдарова Ф.А., Мусаходжаева Д.А., Музафарова С.А. //Взаимосвязь цитокинов с уровнем антимюллеровского фактора при синдроме поликистозных яичников //Журнал 'Цитокины и воспаление', 2009, № 4
89. Чернуха ПЕ. Современные прогестагены в лечении эндометриоза. (обзор международных исследований). Проблемы репродукции. 2012
90. Чистякова Г.Н., Газиева И.А., Ремизова И. и., Черданцева Г.А., Черешнев В.А. Оценка цитокинового профиля при физиологически и патологически протекающей беременности // Цитокины и воспаление. 2007. - Т.6, № 1. - С. 3-8;
91. Шарфи Ю. Н. // Роль гемодинамических и молекулярно-биологических факторов рецептивности эндометрия в программах экстракорпорального оплодотворения // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук// Санкт-Петербург – 2015.
92. Шарфи Ю.Н.//Цитокины и факторы роста как маркеры имплантационной способности эндометрия в циклах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО)// Журнал акушерства и женских болезней 2013г.
93. Шинкарева Л.Ф., Пименова Л. и., Серебренникова К.Г. Динамика содержания циклического 3'5'-аденозинмонофосфата в плазме крови у больных генитальным эндометриозом //Акушерство и гинекология. - 1985.- N11, С. 44.

94. Ширшев С.В. Механизмы иммунного контроля процессов репродукции. - Екатеринбург, 1999. - 381 с.
95. Шкляр А.А., Адамян Л.В., Коган Е.А., Парамонова Н.Б., Козаченко И.Ф., Гаврилова Т.Ю., Кононов С.Н.// Трудности диагностики узловой и диффузной форм аденомиоза// Научно-практический журнал «Акушерство и гинекология»№3, 2015
96. Шнейдерман М.Г., Левков Л.А., Калинина Е.А., Смольникова В.Ю., Павлович С.В., Мишиева Н.Г., Абубакиров А.Н., Алиева К.У., Казарян Л.М., Аксененко А.А., Куземин А.А., Дюжева Е.В., Беляева Н.А., Фатхудинов Т.Х., Макаров А.В., Афян А. и., Владимирова И.В. // Новый способ прегравидарной подготовки «тонкого» эндометрия - альтернатива гормональному лечению// Научно-практический журнал Акушерство и гинекология №1 / 2015
97. Шрамко С.В., Зорина В.Н., Баженова А.Г., Зорина Р.М., Рябичева Т.Г., Чевычалова Е.В., Зорин Н.А. // Регуляторно-транспортные белки и цитокины в крови больных с заболеваниями матки //Акушерство и гинекология 2016.-N 5.- С.104-108.
98. Шуршалина, А. В. Морфо - функциональные перестройки эндометрия в «окно имплантации» / А.В. Шуршалина, Т.А. Демур // Акушерство и гинекология. - 2011. - № 7. С. 9-13.
99. Эндометриоз: диагностика, лечение и реабилитация. Федеральные клинические рекомендации. М., 2013. 65 с.
100. Эндометриоз и бесплодие. Рекомендации Практического Комитета Американского Общества Репродуктивной Медицины. Fertility and Sterility. 2006. Т.86, прил. 4. Р.156-160.
101. Achache H., Revel A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation // Hum. Reprod.- 2006.- Vol. 12, № 6.- P. 731-746
102. Agerholm I., [et al.] //Culture of human oocytes with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor has no effect on embryonic chromosomal constitution// Reprod. Biomed. - 2010. - Vol. 20, № 4. - P.477-484

103. Ashkar A., Croy B. (2001) Functions of uterine natural killer cells are mediated by interferon gamma production during murine pregnancy. *Semin Immunol.* V. 13: P. 235-241.
104. Attia G R, Zeitoun K, Edwards D, Johns A, Carr B R, and. Bulun S E, Progesterone receptor isoform A but not B is expressed in endometriosis. *J. Clin. Endocrinol. Metab*, 2000, 85(8): 2897-2902.
105. Bagot C., KlimanH., TaylorH. Maternal Hoxa 10 is required for pinipod formation in the development of mouse uterine receptivity to embryo implantation // *Dev. Dyn.* - 2001. - Vol. 222, N 3. - P. 538-544.
106. Barbieri R.L. Hormone treatment of endometriosis: the estrogen threshold hypothesis // *Am J Obstet Gynecol* -1992. V.166, №2, P.740-745.
107. Barnhart K, Dunsmoor-Su R, Coutifaris C.Effect of endometriosis on in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2002 Jun;77(6):1148-55.
108. 10. Bedaiwy MA, Dahoud W, Skomorovska-Prokvolit Y, et al. Abundance and Localization of Progesterone Receptor Isoforms in Endometrium in Women With and Without Endometriosis and in Peritoneal and Ovarian Endometriotic Implants. *Reprod Sci.* 2015;22(9):1153-61.
109. Boomsma C. M. [et al.] // Ovarian stimulation for in vitro fertilization alters the intrauterine cytokine, chemokine, and growth factor milieu encountered by the embryo//*Fertil. Steril.* - 2010. - Vol. 94, № 5. - P. 1764-1768.
110. Brinsden P. R. [et al.] Recombinant human leukemia inhibitory factor does not improve implantation and pregnancy outcomes after assisted reproductive techniques in women with recurrent unexplained implantation failure / // *Fertil. Steril.* - 2009. - Vol. 91, suppl. 4. - P. 1445-1447.
111. Brosens J.J. Uterine junctional zone: function and disease//J.J. Brosens, N.M. de Souza, F.G. Barker// *The Lancet.* - 1995. - Vol.346. - № 8974. - P. 558-560.
112. Brosens I. Non-invasive methods of diagnosis of endometriosis. P. Puttemans, R. Campo, S. Gordts, J.J. Brosens J// *Current Opinion Obstetrics and Gynecology.*-2003.- Vol. - 15. -P.519 - 522.

113. Bufang Xu, Xiaoxi Sun, Ling Wu¹⁰. Pinopodes, leukemia inhibitory factor, integrin- β 3, and mucin-1 expression in the peri-implantation endometrium of women with unexplained recurrent pregnancy loss // *Fertil. Steril.* -2012.-Vol. 98 N 2.-P. 389-395
114. Bukulmez O., Arid A, Oral E., et al. IL-8 expression and modulation in human preovulatory follicles and ovarian cells. *Endocrinology* 1996; 12: 1233-1239.
115. Burney R.O., Giudice L.C. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. *Fertil Steril.* 2012. 98 (3): 511-519.
116. Cakmak H., Taylor H. S. Implantation failure: molecular mechanisms and clinical treatment // *Hum. Reprod. Update.* - 2011. - Vol. 17. - P. 242-253.
117. Campo S. Adenomyosis and infertility/ S. Campo, V. Campo, G. Benagiano// *Reproductive BioMedicine Online.*- 2012. -Vol.24. - P.35-46.
118. Gargiulo A. R. [et al.] // Detection of implantation-related cytokines in cervicovaginal secretions and peripheral blood of fertile women during ovulatory menstrual cycles/ *Fertil. Steril.* - 2004. - Vol. 82, suppl. 3. - P. 1226-1234.
119. Carver J., Martin K., Spyropoulou I., Barlow D., Sargent I., Mardon H. An in-vitro model for stromal invasion during implantation of the human blastocyst // *Hum. Reprod.* -2006. - Vol. 18. - P. 283-290.
120. Casper RF. Progestin-only pills may be a better first-line treatment for endometriosis than combined estrogen-progestin contraceptive pills., *Fertil. Steril.*, 2017, 107(3): 533-536.
121. Chegini N. [et al.] // The expression, activity and regulation of granulocyte macrophage-colony stimulating factor in human endometrial epithelial and stromal cells/ *Hum. Reprod.* - 1999. - Vol. 5, № 5. - P. 459-466.
122. Chen H. F. [et al.] // Expression of leukemia inhibitory factor and its receptor is not altered in the decidua and chorionic villi of human anembryonic pregnancy/ *Hum. Reprod.* - 2004. - Vol. 19, № 7. - P. 1647-1654.
123. Choi J, Jo M, Lee E, Lee DY, Choi D. Dienogest enhances autophagy induction in endometrial cells by impairing activation of AKT, ERK1/2, and mTOR. *Fertil. Steril.*, 2015, 104(3): 655-664.

124. C. Cetrorelix Albano, G. Grimb // The luteal phase of nonsupplemented cycles after ovarian superovulation with human menopausal gonadotropin and the gonadotropin-releasing hormone antagonist /,
125. Giacomini G. [et al.] // Epithelial cells are the major source of biologically active granulocyte macrophage colony-stimulating factor in human endometrium/ Hum. Reprod. - 1995. - Vol. 10, № 12. - P. 3259-3263
126. Cork B. A // Expression of interleukin (IL)-11 receptor by the human endometrium in vivo and effects of IL-11, IL-6 and LIF on the production of MMP and cytokines by human endometrial cells in vitro/Cork B. A. [et al.] // Hum. Reprod. - 2002. - Vol. 8, № 9. - P. 841-848.
127. Cramer D.W., Missmer S.A. The epidemiology of endometriosis. Ann N Y Acad Sci. 2002. 955: 11-22.
128. Creus M., Ordi J., Fábregues F., Casamitjana R., Carmona F., Cardesa A. et al. The effect of different hormone therapies on integrin expression and pinopode formation in the human endometrium: a controlled study. Hum. Reprod. 2003; 18(4): 683-93.
129. Curry TE Jr, Osteen KG. The matrix metalloproteinase system: changes, regulation, and impact throughout the ovarian and uterine reproductive cycle. Endocr Rev 2003; 24 (4): 428-65.
130. Guzeloglu-Kayisli O, Kayisli UA, Taylor HS. The Role of Growth Factors and Cytokines during Implantation: Endocrine and Paracrine Interactions. Semin Reprod Med 2009; 27 (1): 62-79.
131. De Ziegler D., Borghese B., Chapron C. Endometriosis and infertility: pathophysiology and management // Lancet. 2010. Vol.376, №9742. P.730-738.
132. Dekel N et al. Inflammation and Implantation. Am J Reprod Immunol 2010; 63 (1): 17-21.
133. Devlieger R.D., Hooghe T. And Timmerman D. Uterine adenomyosis in the infertility clinic // Hum. Reprod 2003 -№ 2, P. 139-147.

134. Di Donato N et al. //Diagnosis and laparoscopic management of a rare endometriosis-related peritoneal mass with rapid growth in early pregnancy. J Obstet Gynaecol Res. (2015)
135. Dimitriadis E. [et al.] //Cytokines, chemokines and growth factors in endometrium related to implantation // Hum. Reprod. Update. 2005. Vol. 11. Iss. 6. P. 613-630.
136. Dimitriadis E., Interleukin-11, IL-11 receptoralpha and leukemia inhibitory factor are dysregulated in endometrium of infertile women with endometriosis during the implantation window / C. Stoikos, M. Stafford-Bell et al. //J. Reproduction Immunology. - 2006. - Vol. 69. - P. 53-64.
137. Dmowski P.W, Braun D.P. Immunology of endometriosis. Best Pract Res Clin Obstet Gyn 2004; 18(2): 245-63.
138. Dumoulin J. C. [et al.] //Effect of in vitro culture of human embryos on birthweight of newborns// Hum. Reprod. - 2010. - Vol. 25, № 3. - P. 605-612
139. Emilie D., Lefevre A. IL-6 biosynthesis in human preovulatory follicles: some of its potential roles at ovulation // J. Clin. Endocrin. Metab. 1994. V.79. P.633-642.
140. Fleischer A.C., Transvaginal sonography of the endometrium during induced cycles / C.M. Herbert, G.A. Hill et al. // J. Ultrasound Medicine. - 1991. -Vol. 110. - P. 93-95.
141. Fauconnier A., Chapron C. Endometriosis and pelvic pain: epidemiological evidence of the relationship and implications. Hum Reprod Update. 2005. 11 (6): 595-606.
142. Franasiak JM, Holoch KJ, Yuan L, et al. Prospective assessment of midsecretory endometrial leukemia inhibitor factor expression versus $\alpha\beta 3$ testing in women with unexplained infertility. Fertil Steril. 2014;101(6):1724-31.
143. Gleicher N. [et al.]A pilot cohort study of granulocyte colony-stimulating factor in the treatment of unresponsive thin endometrium resistant to standard therapies// Hum. Reprod. - 2013. - Vol. 28, № 1. - P. 172-177.
144. Goteri G, Lucarini G, Montik N, Zizzi A, Stramazotti D, Fabris G, Tranquilli AL, Ciavattini A. Int J Gynecol Pathol. Expression of vascular endothelial growth

- factor (VEGF), hypoxia inducible factor-1alpha (HIF-1alpha), and microvessel density in endometrial tissue in women with adenomyosis. || 2009 Mar;28(2):157-63.
145. Grandi G, Mueller MD, Bersinger NA, Facchinetti F, McKinnon BD. The association between progestins, nuclear receptors expression and inflammation in endometrial stromal cells from women with endometriosis. *Gynecol. Endocrinol*, 2017, 0(0): 1-4.
146. Grandi G, Mueller M, Bersinger N, Papadia A, Nirgianakis K, Cagnacci A, McKinnon B. Progestin suppressed inflammation and cell viability of tumor necrosis factor- α -stimulated endometriotic stromal cells. *Am. J. Reprod. Immunol*, 2016, 76(4): 292-298.
147. Granot I, Gnainsky Y, Dekel N. Endometrial inflammation and effect on implantation improvement and pregnancy outcome. *Reproduction* 2012; 144 (6): 661-8.
148. GuzelogluKayisli O. [et al.] The role of growth factors and cytokines during implantation: endocrine and paracrine interactions/ // *Semin. Reprod. Med.* - 2009. - Vol. 27, № 1. - P. 62-79
149. endometriotic cells? A systematic review. *Inflamm. Res.*, 2016, 65(3): 183-192.
150. Gu L., Zhang L., Gu F. Histologic examination and immunohistochemical analysis of estrogen and progesterone receptors of eutopic and ectopic endometrium in patients with endometriosis.// *Chung Hua Fu Chan Ko Tsa Chih* 1996. - V.31, № 10, P. 582-585.
151. Halasz M, Szekeres-Bartho J. The role of progesterone in implantation and trophoblast invasion. *J Reprod Immunol*. 2013;97(1):43-50.
152. Halme P.R. Angiogenic activity of peritoneal fluid from women with endometriosis. *Fertil Steril*. 1993. 59: 778-782.
153. Hannan N. J. [et al.]// Analysis of fertility-related soluble mediators in human uterine fluid identifies VEGF as a key regulator of embryo implantation/ // *Endocrinology*. - 2011. - Vol. 152, № 12. - P. 4948-4956.
154. Haouzi D., Mahmoud K., . Fourar M, Bendhaou K., Dechaud H, Vos J. De, Reme T., Dewailly D., Hamamah S.// Identification of new biomarkers of human endometrial

- receptivity in the natural cycle / Human reproduction. - 2009. - Vol. 24. - №1. - P. 198-205
155. Harada T., Kaponis A., Iwabe T. et al. Apoptosis in human endometrium and endometriosis. *Hum. Reprod.* 2004. 19: 29-38
156. Hayashi A, Tanabe A, Kawabe S, Hayashi M, Yuguchi H, Yamashita Y, Okuda K, Ohmichi M. Dienogest increases the progesterone receptor isoform B/A ratio in patients with ovarian endometriosis. *J. Ovarian Res*, 2012, 5(1):
157. Hemmings R., Rivard M., Olive D.L. et al. Evaluation of risk factors associated with endometriosis. *Fertil Steril.* 2004. 81 (6): 1513-1521.
158. Hilton, D. J. LIF: lots of interesting functions / D. J. Hilton // *Trends in biochemical sciences.*- 1992. - Vol. 17. - №2. - P. 72-76.
159. Hornstein M.D., Gleason R.E., Orav J, Haas S.T., Friedman A.J., Rein M.S., Hill J.A., Barbieri R.L. The reproducibility of the revised American Fertility Society classification of endometriosis // *Fertil Steril.* 1993. -V.59, №5, P. 1015-1021
160. Izumiya C., Maeda N. Coordinated but depressed expression of human leukocyte antigen-DR, intercellular adhesion molecule-1, and CD14 on peritoneal macrophages in women with pelvic endometriosis. *Fertility and Sterility.* 2003. 80 (Suppl. 2): 768-775.
161. Jee B.C et al. Expression of vascular endothelial growth factor-A and its receptor-1 in a luteal endometrium in patients with repeated in vitro fertilization failure. *Fertil Steril* 2009; 91 (2): 528-534.
162. Jenkins B. J. A cell type-specific constitutive point mutant of the common beta-subunit of the human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), interleukin (IL)-3, and IL-5 receptors requires the GM-CSF receptor alpha-subunit for activation/ [et al.] // *J. Biol. Chem.* - 1999. - Vol.274, № 13. - P. 8669-8677.
163. Johnson N.P, Hummelshoj L. Consensus on current management of endometriosis. *Hum. Reprod*, 2013, 28(6): 1552-1568.
164. Kadaman, P.H. Hormonal regulation of implantation / P.H. Kadaman, H.S. Taylor // *Obstet. Gynecol. Clin. N. Am.* - 2004. Vol. 31. - P. 745-66.

165. Klipping C, Duijkers I, TA F, SF K, Schuett B. Pharmacodynamic study of four oral dosages of dienogest. *Fertility and Sterility*. 2010, 94(suppl 1, 4): S181, Abstract P-304.
166. Kim J. and Strawn E.Y. Adenomyosis: a frequent cause of abnormal uterine bleeding. // *J. Obstet. Gynecol.* -2000 V. 95, P 23.
167. Kuivasaari P., Hippelainen M. [et al.] Effect of endometriosis on IVF/ICSI outcome: stage III-IV endometriosis worsens cumulative pregnancy and live-born rates // *Human Reprod.* - 2005. - Vol. 20, N11. - P. 3130-3135
168. Lessey B. A. Endometrial receptivity and the window of implantation // *Baillieres Best. Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.*-2000.-Vol. 14, N5.-P.775-778. 92
169. Li T., Li Y. -G., Pu D. -M. Matrix metalloproteinase- 2 and -9 expression correlated with angiogenesis in human adenomyosis. // *Gyn Obstet Invest.* 2006. -v.62. -№4. - pp. 229-235.
170. Matson P.L, Yovich J.L. The treatment of infertility associated with endometriosis by in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1986 Sep;46(3):432-4.
171. Mikolajczyk M, Wirstlein P, Skrzypczak J. *Hum Reprod.* 2006 Dec;21(12):3054-8. Epub 2006 Sep 25. Leukaemia inhibitory factor and interleukin 11 levels in uterine flushings of infertile patients with endometriosis.
172. Miyashita M, Koga K, Takamura M, Izumi G, Nagai M, Harada M, Hirata T, Hirota Y, Fujii T, Osuga Y. Dienogest reduces proliferation, aro-matase expression and angiogenesis, and increases apoptosis in human endometriosis. *Gynecol. Endocrinol.*, 2014, 3590, 9: 1-5.
173. Moldenhauer L. M. GM-CSF is an essential regulator of T cell activation competence in uterine dendritic cells during early pregnancy in mice // *J. Immunology.*- 2010. -Vol. 185, N 11.-P.7085-7096.
174. Mor G et al. Inflammation and pregnancy: the role of the immune system at the implantation site. *Ann N Y Acad Sci* 2011; 1221: 80-7.
175. Nagamatsu T, Schust DJ. The contribution of macrophages to normal and pathological pregnancies. *Am J Reprod Immunol* 2010; 63 (6): 460-71.

176. Nikas, G. Endometrial receptivity: changes in cell-surface morphology / G. Nikas // *Seminars in reproductive medicine*. - 2000. - Vol. 18. - №3. - P. 229-235.
177. Oettel M, Carol W, Elger W, Kaufmann G, Moore C, Romer W, Klinger G, Schneider B, Schroder J, Sobek L, Walter F, Zimmermann H. A 19-norpro-gestin without 17(alpha)-ethinyl group II: Dienogest from a pharmacodynamic point of view, *Drugs of Today*. 1995, 31(7): 517-36.
178. Ohbayashi N., Ikeda O., Taira N., Yamamoto Y., Muromoto R., Y. Sekine, K. Sugiyama, T. Honjoh, T. Matsuda //LIF- and IL-6-induced acetylation of STAT3 at Lys-685 through PI3K/Akt activation / // *Biological & pharmaceutical bulletin*. - 2007. - Vol. 30. - №10. - P. 1860-1864
179. Olive D.L., Winberg J.B., Haney A.F. Peritoneal macrophages and infertility: The association between cell number and pelvic pathology. *Fertil.Steril*. 1985. 44: 772-777.
180. Olivennes F., Fanchin R., Ledee N. et al. Perinatal outcome and developmental studies on children born after IVF [review] // *Hum. Reprod. Update*. - 2002. - Vol. 8, No. 2. - P. 117-128.
181. Opøien HK, Fedorcsak P, Byholm T, Tanbo T. Complete surgical removal of minimal and mild endometriosis improves outcome of subsequent IVF/ICSI treatment. *Reprod Biomed Online* 2011; 23(3):389-395.
182. Osteen K.G., Igarashi T.M., Yeaman G.R., Bruner-Tran K.L. Steroid and cytokine regulation of matrix metalloproteinases and the pathophysiology of endometriosis. *Gynecol. Obstet. Invest*. 2003. 21:155-163.
183. Ota H., Igarashi S., Hatazawa J., Tanaka T. Immunohistochemical assessment of superoxide dismutase expression in endometriosis and adenomiosis.// *Fertil. Steril* 1999.- № 72, P. 129-134.
184. Ozkan S., Murk W., Arici A. Endometriosis-associated infertility. *Ann N Y Acad Sci*. 2008. 1127: 92-100.
185. Parrott E., Buterworth M., Green A. et al. Adenomyosis a result of disordered stromal differentiation.// *Am. J. Pathool.*- 2001- V.159, P 623-630.
186. Perricone R. [et al.] GM-CSF and pregnancy: evidence of significantly reduced blood concentrations in unexplained recurrent abortion efficiently reverted by

- intravenous immunoglobulin treatment/ // J. Reprod. Immunol. - 2003. - Vol. 50, № 3. - P. 232-237
187. Psychoyos A. Hormonal control of uterine receptivity for nidation //J. Reprod. Fertil. Suppl.- 1976.- Vol. 25.- P.17-28
188. Psychoyos, A. Scanning electron microscopy of the surface of the rat uterine epithelium during delayed implantation / A. Psychoyos, P. Mandon // Journal of reproduction and fertility. - 1971. - Vol. 26. - №1. - P. 137-138.
189. Quinn C. E., Casper R. F.44. Pinopodes: a questionable role in endometrial receptivity //Human Reproduction Update.-2009.-Vol.15, N.2. -P.229-236.
190. Renaud SJ, Graham CH. The role of macrophages in utero-placental interactions during normal and pathological pregnancy. Immunol Invest 2008; 37 (5): 535-64.
191. Rocha A.L., Reis F.M., Taylor R.N. Angiogenesis and endometriosis. Obstet Gynecol. Int. 2013. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/859619>.
192. Scarpellini F. [et al.] // Use of granulocyte colony-stimulating factor for the treatment of unexplained recurrent miscarriage: a randomised controlled trial/ Hum. Reprod. - 2009. - Vol. 24, № 11. - P. 2703-2708.
193. Seo W. S. [et al.] Expression of endometrial protein markers in infertile women and the association with subsequent in vitro fertilization outcome/ // Fertil. Steril. - 2011. - Vol. 95, № 8. - P. 2707-2710.
194. Sidell N., Han S.W., Parthasarathy S. Regulation and modulation of abnormal immune responses in endometriosis. Ann. NY Acad. Sci. 2002. 665: 159-173.
195. Spandorfer S. D. [et al.] //Granulocyte macrophage-colony stimulating factor production by autologous endometrial coculture is associated with outcome for in vitro fertilization patients with a history of multiple implantation failures/ // J. Reprod. Immunol. - 1998. - Vol. 40, № 5. - P.377-381.
196. Stewart C. Leukaemia inhibitory factor and the regulation of preimplantation development of the mammalian embryo // Mol. Reprod. Dev. - 1994. - Vol.39. - P. 233-238.
197. Strowitzki T et al. The human endometrium as a fertility-determining factor. Hum Reprod 2006; 12 (5): 617-30.

198. Takaesu Y, Nishi H, Kojima J, Sasaki T, Nagamitsu Y, Kato R, Isaka K. Dienogest compared with gonadotropin-releasing hormone agonist after conservative surgery for endometriosis, *J. Obstet. Gynaecol. Res.*. 2016, 42(9): 1152-1158
- Torry D. S. [et al.] Vascular endothelial growth factor expression in cycling human endometrium/ // *Fertil. Steril.* - 1996. - Vol. 66, № 1. - P. 72-80.
199. The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Current clinical irrelevance of luteal phase deficiency: a committee opinion. *Fertil Steril.* 2015;103(4):27-32.
200. Tuckerman E et al. Uterine natural killer cells in peri-implantation endometrium from women with repeated implantation failure after IVF. *J Reprod Immunol* 2010; 87: 60-6.
201. Van Mourik MS, Heijnen CJ, Macklon NS. Embryonic implantation: cytokines, adhesion molecules, and immune cells in establishing an implantation environment. *J Leukoc Biol* 2009; 85 (1): 4-19.
202. Vercellini P, Vigano P, Somigliana E. Adenomyosis: epidemiological factors. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2006; 20: 465-477. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2006.01.017
203. Wilczynski JR. Th1/Th2 cytokines balance - yin and yang of reproductive immunology. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005; 122 (2): 136-43.
204. Würfel W. [et al.] High pregnancy rates with administration of granulocyte colony-stimulating factor in ART-patients with repetitive implantation failure and lacking killer-cell immunoglobulin-like receptors/ // *Hum. Reprod.* - 2010. - Vol. 25, № 8. - P. 2151-2152.
205. Xiao Y, Sun X, Yang X, Zhang J, Xue Q, Cai B, Zhou Y. Fertil Steril Leukemia inhibitory factor is dysregulated in the endometrium and uterine flushing fluid of patients with adenomyosis during implantation window.. 2010 Jun;94(1):85-9. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.03.012. Epub 2009Apr 9.
206. Yamanaka K, Xu B, Suganuma I, Kusuki I, Mita S, Shimizu Y, Mizuguchi K, Kitawaki J. Dienogest inhibits aromatase and cyclooxygenase-2 expression and

prostaglandin E 2 production in human endometriotic stromal cells in spheroid culture. *Fertil. Steril*, 2012, 97(2): 477-482.

207. Young SL. Oestrogen and progesterone action on endometrium: a translational approach to understanding endometrial receptivity. *Reprod Biomed Online*. 2013;27:497-505. doi: 10.1016/j.rbmo.2013.06.010. Serafini P. C. [et al.] // Endometrial claudin-4 and leukemia inhibitory factor are associated with assisted reproduction outcome/ *Reprod. Biol. Endocrinol.* - 2009. - Vol. 19, № 7. - P. 30.

208. Ziebe S //A randomized clinical trial to evaluate the effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) in embryo culture medium for in vitro fertilization/. [et al.] // *Fertil. Steril.* - 2013. - Vol. 99, № 6. - P. 1600-1609.

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. //Кравцова Е. И., Куценко И. И., Авакимян В. А., Данилова Н. Р., Колесникова Е. В.//ГБОУ ВПО Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России, Краснодар, Россия// Тематический выпуск, приуроченный к I-му Калининградскому научному иммунологическому форуму (27 - 30 июня 2016 г), объединяющему XIII конференцию иммунологов Урала, симпозиум по первичным иммунодефицитам «J Project» Том 10 (19), Номер 2 (1), Июнь 2016

2. Гормоноопосредованная цитокиновая регуляция имплантационного потенциала эндометрия у пациенток с аденомиозом и неудачными попытками ЭКО.// Куценко И. и., Кравцова Е. и., Авакимян В.А., Томина О. В., Сторожук П. Г. // ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, г. Краснодар Россия (350063, Краснодар, ул. Седина, 4.// Кубанский научный медицинский вестник.

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 Medical Herald of the South of Russia 2017;8(4):61-67

4. Оценка эффективности ЭКО, течения беременности и исхода родов в зависимости от вида предгравидарной подготовки при аденомиозе 1-2 степени с низким имплантационным потенциалом эндометрия», Куценко И. и., Кравцовой Е. и., Авакимян В.А., Батмен С.К.. //Современные проблемы науки и образования, 2018.