

На правах рукописи

ВАСЮХИНА АННА АЛЕКСАНДРОВНА

**ВЛИЯНИЕ КАЧЕСТВЕННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ЭНДОМЕТРИЯ
НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОВЕДЕНИЯ ЭКО У ЖЕНЩИН
С ТРУБНО-ПЕРИТОНЕАЛЬНЫМ БЕСПЛОДИЕМ**

14.01.01 – Акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Самара – 2016

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

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент

Балтер Регина Борисовна

Официальные оппоненты:

Давидян Лиана Юрьевна, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ульяновский государственный университет» Министерства образования и науки Российской Федерации, кафедра последипломного образования и семейной медицины, профессор кафедры;

Лазарева Наталья Владимировна, доктор медицинских наук, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный экономический университет» Министерства образования и науки Российской Федерации; Институт национальной экономики; кафедра экологии и безопасности жизнедеятельности, профессор кафедры.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Уфа.

Защита диссертации состоится «_____» _____ 201_г. в 10 часов на заседании диссертационного совета Д 208.085.04 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (443079, г. Самара, пр. К. Маркса, 165 Б).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке (443001, г. Самара, ул. Арцыбушевская, 171) и на сайте (<http://www.samsmu.ru/science/referats/>) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «_____» _____ 201_г.

Ученый секретарь диссертационного совета,

доктор медицинских наук, доцент

Жирнов Виталий Александрович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Вспомогательные репродуктивные технологии занимают всё более важное место в решении проблем воспроизводства населения и продолжают популяризоваться в современной гинекологической практике [Серебренникова К.Г., 2004; Элдер К., Дэйл Б., 2008, Моисеева И.В., Тюмина О.В., 2014 и др.].

Отметим, что успех проводимых мероприятий во многом зависит от предварительной подготовки организма [Казанцева Т.А., 2007; Комиссарова Ю.В., 2010, Мельников В.А., Самыкина О.В., 2014 и др.]. При этом основным показателем адекватности подготовки является состояние эндометрия как места nidации, имплантации и последующего развития беременности [Аржанова О.Н., Кошелева Н.Г., Громыко Г.Л., Ковалева Т.Г., Тышкевич О.В., 2001; Гомазков О.А., 2001; Artini P.G., Monti M., Fasciani A., 2002 и др.].

Степень разработанности темы исследования. Несмотря на то, что ткани эндометрия доступны для исследования, он был и остается объектом пристального изучения [Радзинский В.Е., Милованов А.П., 2004; Бурлев В.А., Зайдиева З.С., Ильясова Н.А., 2008]. И сегодня вопросы его физиологии и патологии, в частности связанные с подготовкой эндометрия к имплантации зародыша, продолжают широко обсуждаться [Кетлинский С.А., 1995, Wada-Hiraike O., 2006; Van Vaerenbergh I., 2011 и др.].

В литературе рассматривается вторичная роль эндометрия при ановуляции. В то же время справедливо, что стимуляция овуляции далеко не всегда приводит к наступлению беременности, причем главной причиной ненаступления или невынашивания гестации в такой ситуации является, видимо, нарушение процессов созревания эндометрия [Барыкина А.Б., 2005; Boomsma С.М., Kavelaars A., Eijkemans M.J., 2009 и др.]. Особенностью нормального эндометрия является то, что имплантация в него происходит только тогда, когда он может обеспечить оптимальные условия (в том числе иммунологические) для развития плодного яйца [Кулаков В.И., Леонов Б.В., 2004; Ускова М.А., 2010 и др.].

В связи с изложенным вопросы подготовки эндометрия имеют решающее значение в успешности проведения процедуры ЭКО и определяют цель диссертационного исследования.

Цель исследования – оптимизация прегравидарной подготовки эндометрия для улучшения показателей ЭКО у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием.

Задачи исследования:

1. Проанализировать медико-социальный статус женщин с трубно-перитонеальным бесплодием, планирующих ЭКО, с подробной характеристикой их соматического и гинекологического здоровья.
2. Оценить репродуктивный потенциал женщин с трубно-перитонеальным бесплодием на основании качественных характеристик менструального цикла (уровня стероидных гормонов, наличия овуляции, полноценности лютеиновой фазы, морфологии эндометрия).
3. Сопоставить иммуногистохимические показатели эндометрия (CD56+, CD16+ и маркера активации HLA-DR(II)+) у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием с гистологическими показателями.
4. Обосновать целесообразность предложенного расширенного протокола подготовки женщин с трубно-перитонеальным бесплодием к ЭКО и оценить эффективность его применения на основании иммуногистохимических характеристик эндометрия.
5. Разработать схему комплексной подготовки эндометрия к ЭКО, основанную на применении препаратов, улучшающих состояние клеточного метаболизма, функции эндокринной и иммунной систем.

Научная новизна работы. На основании проведенных исследований установлено: у большинства женщин с трубно-перитонеальной формой бесплодия, несмотря на отсутствие гистологического подтверждения эндометрита, меняется иммуногистохимическая структура эндометрия, что проявляется в снижении экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в сочетании с изменениями содержания клеток, экспрессирующих CD56+, CD16+ и маркер активации HLA-DR(II). Это отражается на результативности проведения ЭКО.

Выявленные аутоиммунные изменения эндометрия у женщин с хроническим эндометритом существенно ухудшают прогноз наступления беременности и требуют дополнительной прегравидарной подготовки, включающей гормональные и метаболические воздействия.

Установлено, что иммуноцитохимические и морфологические показатели состояния эндометрия не идентичны. Введение в стандартный протокол подготовки к ЭКО комплекса противовоспалительных, гормональных и метаболических препаратов позволит увеличить количество положительных исходов в 3,5 раза.

Теоретическая и практическая значимость. Разработан и внедрен расширенный протокол подготовки женщин с трубно-перитонеальным бесплодием к ЭКО, включающий противовоспалительные, гормональные и метаболические воздействия на эндометрий до проведения стимуляции овуляции у таких пациенток. Включение расширенного протокола подготовки женщин с трубно-перитонеальным бесплодием к ЭКО позволяет существенно повысить результативность последнего.

Методология и методы исследования. Методология диссертационного исследования построена на изучении и обобщении литературных данных об оценке качественных характеристик (гистологических, рецепторных, иммуногистохимических) при трубно-перитонеальном бесплодии и особенностях их изменений при подготовке к экстракорпоральному оплодотворению. В соответствии с поставленной целью и задачами был разработан план выполнения всех этапов работы, выбраны объекты и подобран комплекс современных методов исследования.

Объектом исследования стали пациентки с трубно-перитонеальным бесплодием, проходящие подготовку к ЭКО. В процессе исследования использованы следующие методы: медико-социологические – для выделения сравниваемых групп женщин, общеклинические, гистероскопия, биопсия эндометрия, гистологическое исследование биоптата, методы определения гормонов (эстрадиола и прогестерона) в сыворотке крови, а также иммуногистохимическое определение CD56+, CD16+ и маркера активации HLA-DR(II)+ в эндометрии. Математическая обработка данных проводилась с использованием современных компьютерных технологий.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. У женщин с трубно-перитонеальным бесплодием при сохраненном менструальном цикле и нормальном соотношении уровней половых гормонов в крови имеются иммуногистохимические изменения эндометрия, препятствующие нормальному развитию гестации.

2. Изменения иммуногистохимических характеристик эндометрия у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием связаны с хроническим воспалительным процессом в органах репродуктивной системы и не зависят от уровня половых гормонов в крови и гистологических параметров эндометрия.

3. Введение в стандартный протокол подготовки противовоспалительных и гормональных средств и препаратов, улучшающих тканевый метаболизм, повышает результативность ЭКО у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием в 3,5 раза.

Внедрение результатов исследования. Материалы исследования и вытекающие из них рекомендации по вопросам подготовки женщин с трубно-перитонеальным бесплодием к ЭКО внедрены в лечебно-диагностическую работу лечебно-профилактических учреждений, занимающихся клеточными технологиями: гинекологического отделения ГБУЗ «Центр планирования семьи и репродукции»; гинекологического отделения ГБУЗ СО СГКБ № 9; родильного дома «Самарской городской клинической больницы № 2 им. Н.А. Семашко», куда женщины поступают на роды.

Разработан и апробирован расширенный протокол подготовки женщин с трубно-перитонеальным бесплодием к ЭКО, основанный на проведении противовоспалительной и ферментной терапии с последующей оценкой иммуногистохимических характеристик эндометрия. Ряд теоретических положений, сформулированных в диссертации, используется в учебном процессе на кафедре акушерства и гинекологии № 2 СамГМУ. Материалы исследований излагаются при проведении семинарских занятий с интернами, клиническими ординаторами, врачами базовых учреждений, аспирантами.

Личный вклад автора заключается в проведении обследования 182 женщин репродуктивного возраста. Из них 84 женщины с трубно-перитонеальной формой бесплодия, которым подготовка к ЭКО проводилась по стандартному протоколу, составили основную группу, а 98 женщин с трубно-перитонеальным бесплодием, которым в стандартный протокол была добавлена прегравидарная подготовка по предложенной нами схеме, составили группу сравнения. Методика клинического обследования женщин обеих групп предполагала сбор анамнеза и объективное обследование, включавшее общеклинические, гормональные, гистологические и иммуногистохимические исследования. У всех женщин были собраны медико-социологические данные по специально разработанной анкете.

Степень достоверности результатов проведенных исследований. Достоверность полученных в ходе исследования научных результатов определяется использованием достаточного количества современных методов исследований с применением критериев доказательной медицины. Комиссия по

проверке первичной документации пришла к выводу, что все материалы диссертационной работы достоверны и получены лично автором, который принимал непосредственное участие в проведении исследования на всех этапах. Текст диссертации также написан лично автором.

Связь исследования с проблемным планом по акушерству и гинекологии. Диссертационная работа выполнена в соответствии с инициативным планом НИР ФГБОУ ВО «СамГМУ» Минздрава России, комплексной темой кафедры акушерства и гинекологии №2: «Формирование репродуктивного здоровья женщин с позиции новых подходов к факторам риска вне беременности, периода гестации, внутриутробного состояния плода, а также гинекологического здоровья семьи в целом и их зависимость от экологической обстановки» (регистрационный номер 01201458499).

Диссертация соответствует паспорту специальности 14.01.01 – Акушерство и гинекология (медицинские науки). Результаты диссертации соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 2 (Исследование эпидемиологии, этиологии, патогенеза гинекологических заболеваний) и 3 (Разработка и усовершенствование методов диагностики и профилактики осложненного течения беременности и родов, гинекологических заболеваний. Оптимизация диспансеризации беременных и гинекологических больных) паспорта специальности.

Апробация результатов исследования. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на конференциях с международным участием «Молодые ученые XXI века – от идеи к практике», «Аспирантские чтения – 2015», «Аспирантские чтения – 2016», Поволжском региональном научном форуме по вопросам охраны здоровья семьи «Мы и наши дети» (12.04.16-15.04.16), на заседаниях и семинарах ГБУЗ «Центр планирования семьи и репродукции», комиссии родовспоможения Самарской области. Диссертационная работа апробирована на межкафедральном заседании кафедр акушерства и гинекологии № 1, 2, ИПО ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» 11.04.2016 г.

Публикации по теме диссертации. По материалам диссертации опубликовано 15 печатных работ в сборниках материалов всероссийских, областных и региональных научно-практических конференций, 4 работы в научном журнале из перечня ВАК РФ, 1 рационализаторское предложение.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы о материале и методах исследования, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспективы дальнейшей разработки, указателя литературы, списка сокращений, приложений.

Диссертация изложена на 141 страницах машинописного текста, иллюстрирована 24 таблицами, 12 рисунками. Библиографический указатель содержит 218 источников, из них 86 отечественных и 132 зарубежных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Представленные результаты были получены в процессе обследования 182 женщин, страдающих трубно-перитонеальным бесплодием и планирующих ЭКО, в период с сентября 2014 по декабрь 2015 г. Практически весь блок исследований проводился на базе ГБУЗ «Самарский областной центр планирования семьи и репродукции» и гинекологического отделения ГБУЗ СО «Самарская городская клиническая больница № 9».

Основную группу составили 84 женщины с трубно-перитонеальным бесплодием, которым проводилось ЭКО по стандартному протоколу, группу сравнения – 98 пациенток с установленным трубно-перитонеальным бесплодием, которым в стандартный протокол была добавлена прегравидарная подготовка по предложенной нами схеме. Критерием включения в группы являлось наличие подтвержденного трубно-перитонеального бесплодия при наличии овуляторного менструального цикла. Критериями исключения стали другие или сочетанные с трубно-перитонеальной формы бесплодия.

Возраст женщин в группах колебался от 25 до 35 лет, средний возраст пациенток основной группы составил $28,6 \pm 0,3$, а женщин группы сравнения – $27,9 \pm 0,5$ года ($p > 0,05$).

Клинико-социальное состояние женщин в группах оценивалось по ряду параметров: общие данные о пациентке (возраст, социальный статус, показатели физического развития, характер половой жизни, использовавшиеся ранее средства контрацепции), сведения о перенесенных и сопутствующих гинекологических и соматических заболеваниях, о перенесенных оперативных вмешательствах и о проведенных лабораторных исследованиях и эндоскопических вмешательствах.

Статистическая обработка полученного материала проводилась на ПК в операционной среде Windows Server 2008 - 6.0 с использованием стандартного программного пакета Statistica версии 6.0. Для всех показателей построенных вариационных рядов вычислялись значения средней арифметической (M -Mean), среднеквадратического отклонения (a =Std. Dev.) и стандартной ошибки (t =Std. Error). Достоверность различий между показателями оценивалась с помощью t -критерия Стьюдента при 5% уровне значимости.

Результаты исследований и их обсуждение

Женщины, включенные в группы, были сопоставимы по основным клинико-социальным параметрам, что позволило считать полученные в результате выполнения работы данные репрезентативными.

Для объективной оценки состояния здоровья женщин нами был проанализирован индекс массы тела. Выявлено, что ни у одной женщины нет выраженного ожирения с индексом массы тела более 40. Половина пациенток имела нормальный индекс массы тела. Повышенная масса тела, доходившая до умеренного ожирения, регистрировалась у 33 (38,7±5,3%) женщин в основной группе и у 38 (38,8±4,9%) в группе сравнения.

Анализ соматической патологии показал, что практически все женщины перенесли детские инфекции (100%), достаточно высока в обеих группах частота острых респираторных вирусных заболеваний. Часть женщин указала на перенесенные заболевания почек и мочевыделительной системы, на патологию системы пищеварения, патологию сердечно-сосудистой системы (речь идет в основном о варикозной болезни I степени).

На оперативные вмешательства на органах брюшной полости указали 39 (21,4%) женщин, из них 17 (20,2±4,4%) пациенток из основной группы и 22 (22,4±4,2%) из группы сравнения ($p>0,05$). Аппендэктомию перенесли 11 (13,1±3,7%) и 14 (14,3±3,6%) соответственно, у 6 (7,1±2,8%) и 8 (8,1±2,7%) женщин выделенных групп была проведена холецистэктомия.

Отметим, что на каждую женщину в основной группе приходилось по 2,6±0,3 экстрагенитальных заболевания в анамнезе, а в группе сравнения - 2,6±0,2 ($p>0,05$). Соматических заболеваний, которые бы препятствовали проведению ЭКО и в дальнейшем вынашиванию беременности, в обследованных группах не выявлено. Группы женщин также сопоставимы по сопутствующей соматической патологии.

Для установления причин развития бесплодия и оценки возможностей осуществления репродуктивной функции нами было проведено исследование специфических функций женщин обеих групп. Анализ менструальной функции свидетельствовал о том, что практически у всех женщин в обеих группах средний возраст менархе был близок к среднероссийским показателям и в основной группе составил $14,5 \pm 1,3$, а в группе сравнения – $14,7 \pm 1,1$ года. У всех женщин менструальный цикл установился в первые полгода после менархе, менструации были регулярными. В обеих группах у большинства пациенток ($70,2 \pm 5,0\%$ и $65,3 \pm 4,8\%$) менструальное кровотечение было умеренным и продолжалось 4-6 дней. В группах примерно одинакова численность женщин с длительными ($4,8 \pm 2,3\%$ и $7,1 \pm 2,6\%$) и обильными ($3,5 \pm 2,0\%$ и $2,0 \pm 1,4\%$) менструациями. Отметим, что у подавляющего большинства обследуемых женщин длительность менструального цикла была оптимальной, что уменьшало риски при реализации протокола ЭКО.

Наиболее часто встречающейся формой нарушения менструальной функции являлась альгодисменорея ($21,4 \pm 4,5\%$ в основной группе и $21,4 \pm 4,1\%$ в группе сравнения), наименее часто определялась гипоменорея ($8,3 \pm 3,0\%$ и $9,2 \pm 2,9\%$ соответственно).

У 49 ($58,3\%$) женщин в основной группе и у 51 ($52,0\%$) пациентки из группы сравнения бесплодие было вторичным. Репродуктивный анамнез женщин с вторичным бесплодием свидетельствовал о том, что на каждую пациентку основной группы приходилось в среднем $0,67 \pm 0,1$ беременности, а на женщину группы сравнения – $0,65 \pm 0,2$ ($p > 0,05$).

Исходы беременностей также не имели существенных различий в сравниваемых группах. Так, в основной группе было $42,9 \pm 7,1\%$ женщин с перенесенными медицинскими абортами против $47,1 \pm 7,1\%$ в группе сравнения ($p > 0,05$). На ранние самопроизвольные выкидыши указали $57,1 \pm 7,1\%$ и $58,8 \pm 6,9\%$ соответственно. $15,5 \pm 3,9\%$ и $16,3 \pm 3,7\%$ женщин выделенных групп, имевших в анамнезе беременности, указывали на осложненное течение прерывания беременности – кровотечение, требующее повторного хирургического вмешательства, и/или присоединение воспалительного процесса.

Пациентки, чья предыдущая беременность закончилась родами, часто сообщали о таком осложнении, как угроза прерывания беременности, по поводу которой каждая вторая женщина была госпитализирована.

Роды у всех женщин с вторичным бесплодием протекали через естественные родовые пути, однако в послеродовом периоде $2,3\pm 1,7\%$ пациенток в основной и $2,0\pm 1,4\%$ в группе сравнения перенесли раннее послеродовое кровотечение, а $3,6\pm 2,0\%$ и $4,0\pm 2,0\%$ соответственно – послеродовый эндометрит. Кроме того, 24 ($28,6\pm 4,9\%$) женщины в основной группе и 26 ($26,5\pm 4,5\%$) в группе сравнения указали на перенесенное хирургическое вмешательство на органах репродуктивной системы - одностороннюю тубэктомию по поводу внематочной беременности, тубэктомию с частичной резекцией яичника по поводу образовавшегося сактосальпинкса и др.

Анализ перенесенной гинекологической патологии, которая также могла послужить основой развития трубно-перитонеального бесплодия, свидетельствовал, что наиболее часто у женщин обеих групп отмечались воспалительные заболевания того или иного отдела половой системы, на втором месте находилась патология шейки матки. Значительно реже регистрировались опухолевые процессы яичников.

В процессе подготовки к ЭКО все женщины были обследованы методом ПЦР, – инфекций ни у одной пациентки не выявлено.

При проведении исследования мазков на степень чистоты влагалищного содержимого установлено, что у 40 ($47,6\pm 5,4\%$) пациенток основной и у 48 ($48,9\pm 5,1\%$) женщин группы сравнения достаточно высокое содержание лейкоцитов (более 30). Значительной вариабельности в показателях содержания лейкоцитов не выявлено. У большинства женщин обеих групп их число варьировало от 31 до 40 и присутствовала смешанная флора ($47,6\pm 5,4\%$ в основной группе и $48,9\pm 5,1\%$ в группе сравнения). Выраженная лейкорея, при числе лейкоцитов более 40, наблюдалась у каждой десятой женщины в обеих группах. У этих же женщин присутствовала преимущественно кокковая флора при отсутствии лактобацилл (рис. 1).

Бактериологическое исследование качественного и количественного состава содержимого цервикального канала и влагалища позволило выделить 928 штаммов микроорганизмов. Распределение их по группам было примерно одинаковым: 440 штаммов в основной группе и 488 в группе сравнения. 196 штаммов (21,1%) были представлены аэробами, 732 (78,8%) – анаэробами и анаэробно-аэробными ассоциациями. При этом соотношение анаэробов/аэробов составило в основной группе 1,4:1, в группе сравнения – 1,6:1.

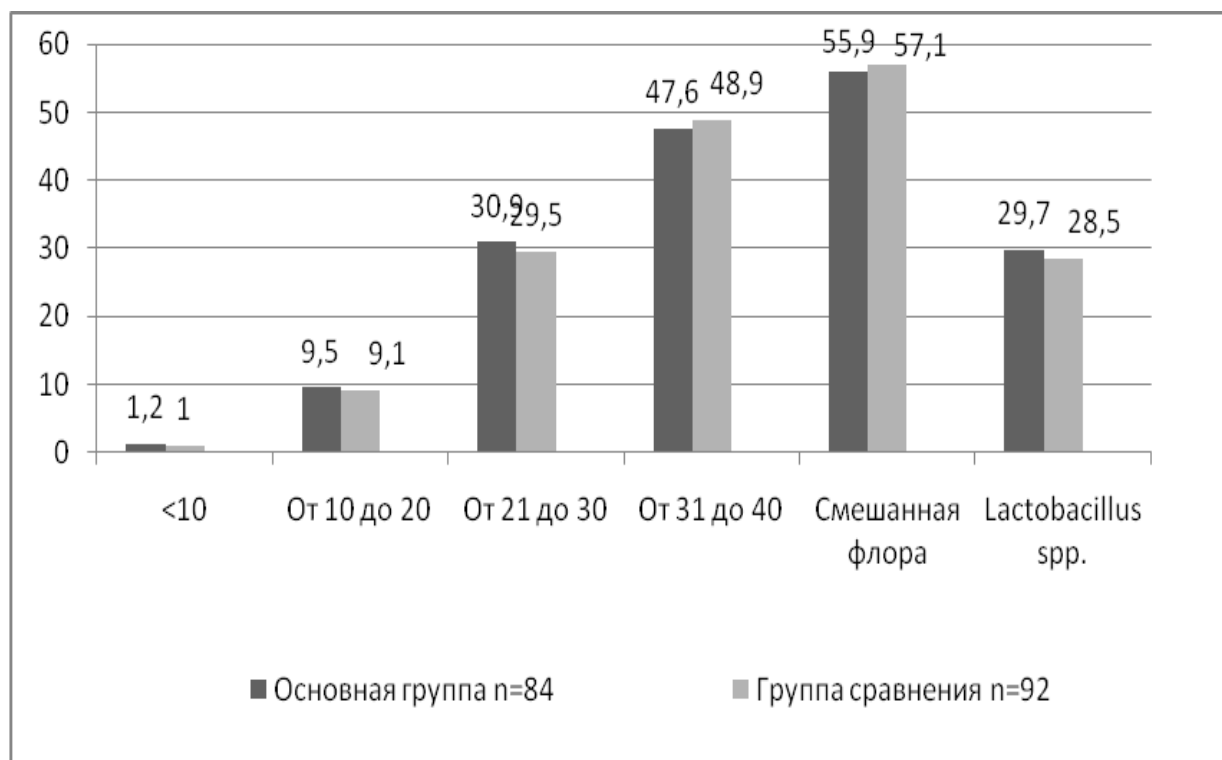


Рис. 1. Результаты микроскопического изучения мазков женщин обследуемых групп (% к общему числу женщин в группах)

В обеих группах женщин среди анаэробов доминировали бактероиды, которые высевались в 100% случаев, в среднем количестве $8,32 \pm 0,44$ lg КОЕ/мл в основной группе и в количестве $8,35 \pm 0,39$ lg КОЕ/мл в группе сравнения ($p > 0,05$). Среди аэробов наиболее часто выявляли коринебактерии: у $72,6 \pm 4,9\%$ женщин в количестве $2,36 \pm 0,43$ lg КОЕ/мл в основной группе и у $65,3 \pm 4,8\%$ в количестве $2,25 \pm 0,38$ lg КОЕ/мл в группе сравнения ($p < 0,05$).

Далее согласно поставленным задачам было определено содержание эстрадиола и прогестерона в крови женщин обеих групп, после чего мы провели сопоставление полученных результатов с гистологическими и иммуногистохимическими показателями в каждом конкретном случае.

У женщин основной группы концентрации эстрадиола не выходили за пределы представленных значений и в фолликулярную фазу составили $245,4 \pm 10,3$ пмоль/л, в 12-14 дни менструального цикла – $823,7 \pm 11,4$ пмоль/л, в лютеиновую фазу цикла – $389,5 \pm 12,1$ пмоль/л. В группе сравнения эти показатели были $253,8 \pm 11,4$ пмоль/л, $793,9 \pm 15,3$ пмоль/л и $369,4 \pm 15,2$ соответственно ($p > 0,05$). Исследования содержания прогестерона показали: признаков, указывающих на его недостаточность, нет ни у одной женщины в сравниваемых группах.

Для объективизации представления о характере менструального цикла у обследуемых женщин мы сопоставили также показатели базальной температуры, полученные в течение 3-х менструальных циклов. Полученные результаты указывали на наличие овуляторного менструального цикла с полноценной лютеиновой фазой, продолжительность которой составляла не менее 8 дней, что теоретически позволяло предположить полноценное созревание эндометрия.

Всем женщинам в обеих группах проводилась гистероскопия на 21-23 дни менструального цикла. Гистероскопическая картина в большинстве случаев была типичной и в основном отражала нормальное состояние слизистой матки в лютеиновую фазу менструального цикла. В те же дни цикла иммуноцитохимическими методами нами была определена экспрессия эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в тканях эндометрия, а также экспрессия маркеров CD56+, CD16+ и маркера активации HLA-DR(II)+. Исследования свидетельствовали о том, что по содержанию рецепторов в выделенных группах женщин имелись определенные различия. Так, у женщин основной группы, у которых гистологически были выявлены признаки воспаления (15 человек – 17,8%), средняя экспрессия эстрогеновых рецепторов (ЭР) составила в железах $7,5 \pm 1,7\%$, в строме $22,4 \pm 1,3\%$, у пациенток группы сравнения (17 человек – 17,3%) – $6,8 \pm 2,1\%$ и $20,1 \pm 1,5\%$ соответственно ($p > 0,05$). В то же время при нормальной гистологической картине среднее содержание ЭР у пациенток основной группы в железах составило $38,6 \pm 2,4\%$, в строме – $34,6 \pm 2,2\%$. В группе сравнения аналогичные показатели были $36,9 \pm 2,2\%$ и $35,2 \pm 2,4\%$ соответственно ($p > 0,05$). Что касается прогестероновых рецепторов (ПР), их число оказалось несколько больше. Так, в основной группе содержание ПР в железах – $45,4 \pm 2,5\%$, в строме – $70,1 \pm 1,3\%$, в группе сравнения – $42,7 \pm 2,2\%$ и $68,4 \pm 2,3\%$ соответственно.

Далее нами рассматривалось содержание CD56+, CD16+ и маркера активации HLA-DR(II)+ в эндометрии. На что было получено рационализаторское предложение «Способ диагностики хронического эндометрита у женщин с трубно-перитоненальным бесплодием, готовящихся к проведению процедуры ЭКО, на основании иммуногистохимических показателей эндометрия» №361 от 26.09.2016г. Для удобства анализа полученной информации мы разделили все результаты на 3 группы. Нормальным состоянием эндометрия мы считали содержание клеток, экспрессирующих CD56+, CD16+ и маркер активации HLA-DR(II)+, от 0 до 10. Согласно принятому нами за основу методу А.В. Кузнецовой (2001) при

повышении числа клеток, экспрессирующих CD56+, более 10 нами выставлялся диагноз аутоиммунного хронического эндометрита. При числе клеток, экспрессирующих CD16+, CD56+, выше 10, и при числе клеток, экспрессирующих HLA-DR(II)+, от 0 до 10 в поле зрения нами диагностировался «хронический эндометрит с аутоиммунным компонентом без активации процесса». И, наконец, при числе клеток, экспрессирующих CD16+ и HLA-DR(II)+, выше 10, и при числе клеток, экспрессирующих CD56+, от 0 до 10 в поле зрения выставлялся диагноз «хронический эндометрит с обострением». Было установлено, что большинство женщин с трубно-перитонеальным бесплодием страдали хроническим эндометритом в той или иной форме. При этом примерно половина женщин как в основной группе (43 – 51,1±5,4%), так и в группе сравнения (46 – 46,9±5,0%) имела аутоиммунный хронический эндометрит, который мог стать реальным препятствием в реализации репродуктивной функции.

Несколько реже встречался хронический эндометрит с аутоиммунным компонентом без активации процесса – у 18 (21,4±4,5%) женщин в основной группе и 24 (24,4±4,3%) в группе сравнения. Явный (хронический с обострением) эндометрит, который, помимо иммуноцитохимических методов, подтверждался и гистологическим исследованием биоптатов, зарегистрирован у 15 (17,9±4,2%) пациенток в основной группе и у 17 (17,3±3,8%) в группе сравнения ($p>0,05$).

Всем пациенткам с хроническим эндометритом в стадии обострения было проведено противовоспалительное лечение, включающее прием антибактериальных средств, с учетом чувствительности отделяемого из цервикального канала к антибиотикам. Нами использовались в основном макролиды последнего поколения, в частности джозамицин по 500 мг 3 раза в сутки, курс 10 дней; защищенные пенициллины с фторхинолонами II поколения – амоксициллин с клавулановой кислотой в дозе 1 грамм 2 раза в день и/или офлоксацин 400 мг 2 раза в сутки, моксифлоксацин по 400 мг 1 раз в сутки 14 дней; тетрациклины – доксициклин 100 мг 2 раза в сутки.

Наряду с антибактериальной терапией использовались нестероидные противовоспалительные и антипротозойные (в частности, метронидазол, флагил, трихопол) препараты, а также антимикотики (в основном полиены – нистатин по 500 тыс. ЕД 4 раза в сутки 10 дней; имидазолы – клотримазол в свечах и триазолы – флуконазол 150 мг однократно) и системная энзимотерапия (вобензим, флогэнзим, мультсал). На этапе реабилитации применялось физиолечение (лазеротерапия по

схемам лечения хронического эндометрита). После завершения лечения проведено повторное обследование на бактериальную флору, и, в случае получения отрицательного результата, женщины были включены в программу ЭКО.

Нами использовался так называемый «короткий протокол ЭКО с антагонистами ГнРГ – с цетротидом (цетрореликс в форме ацетата)», поскольку протокол при таком способе получения яйцеклеток более щадящий для организма и менее длительный. Указанный протокол проведения ЭКО предусматривал введение со 2-3 дня менструального цикла препаратов, содержащих фолликулостимулирующий гормон (пурегон в дозировке 100 МЕ). Продолжительность введения препарата составляла 9-14 дней и зависела от размеров растущих фолликулов, определявшихся по УЗИ. Затем с 5 или 6 дня стимуляции ежедневно подкожно вводили цетротид по 0,25 мг/сут на фоне продолжающейся стимуляции (на протяжении 5-7 дней). При достижении хотя бы тремя фолликулами размера 18 мм проводилось дополнительное однократное введение препаратов хорионического гонадотропина – прегнил в дозировке 10 000 МЕ, после чего через 35-36 часов осуществлялся забор яйцеклеток. Забор яйцеклетки проводили посредством трансвагинальной пункции фолликулов под контролем УЗИ. В лютеиновую фазу цикла интравагинально вводили микродозированный прогестерон (утрожестан) по 600 мг/сутки.

После идентификации полученных яйцеклеток проводили добавление сперматозоидов из очищенной и центрифугированной спермы – не менее 10 млн быстро и медленно движущихся сперматозоидов для оплодотворения методом ЭКО, далее проводили инкубацию эмбрионов до 3-5 суток до стадии восьми бластомеров или бластоцисты (8-клеточного деления), после чего переносили эмбрион в 0,5% культуральной жидкости через цервикальный канал в полость матки. После переноса эмбриона осуществляли гормональную поддержку беременности препаратами прогестерона (утрожестан по 200 мг 3 раза в сутки с постепенным снижением дозы до профилактических значений). Через 2 недели от времени переноса эмбриона проводили тест на беременность – забор крови на присутствие в ней хорионического гонадотропина. Через 1 неделю (при положительном результате теста) проводили ультразвуковую идентификацию беременности и начинали корректировать дозу препаратов прогестерона.

Анализ результатов проведенного протокола свидетельствовал о том, что у женщин основной группы беременность наступила в 17 случаях (20,2±4,4%).

Ориентируясь на совокупное содержание CD56+, CD16+ и маркера активации HLA-DR(II), определенное до проведения ЭКО, мы установили, что из всех женщин беременность наступила у 5 (62,5±18,3%) женщин с диагнозом «нормальный эндометрий», у 4 (9,3±4,5%) пациенток с диагнозом «аутоиммунный хронический эндометрит», у 3 (16,7±9,0%) женщин с диагнозом «хронический эндометрит с аутоиммунным компонентом без активации процесса» и у 5 (33,3±12,6) женщин после проведенного лечения обострения хронического эндометрита.

Параллельно нами была рассмотрена эффективность ЭКО после применения расширенного протокола, который предполагал определенную подготовку эндометрия, учитывающую иммуногистохимические изменения.

Перед проведением протокола ЭКО женщины группы сравнения проходили подготовку эндометрия в течение 3-х месяцев (рис. 2).

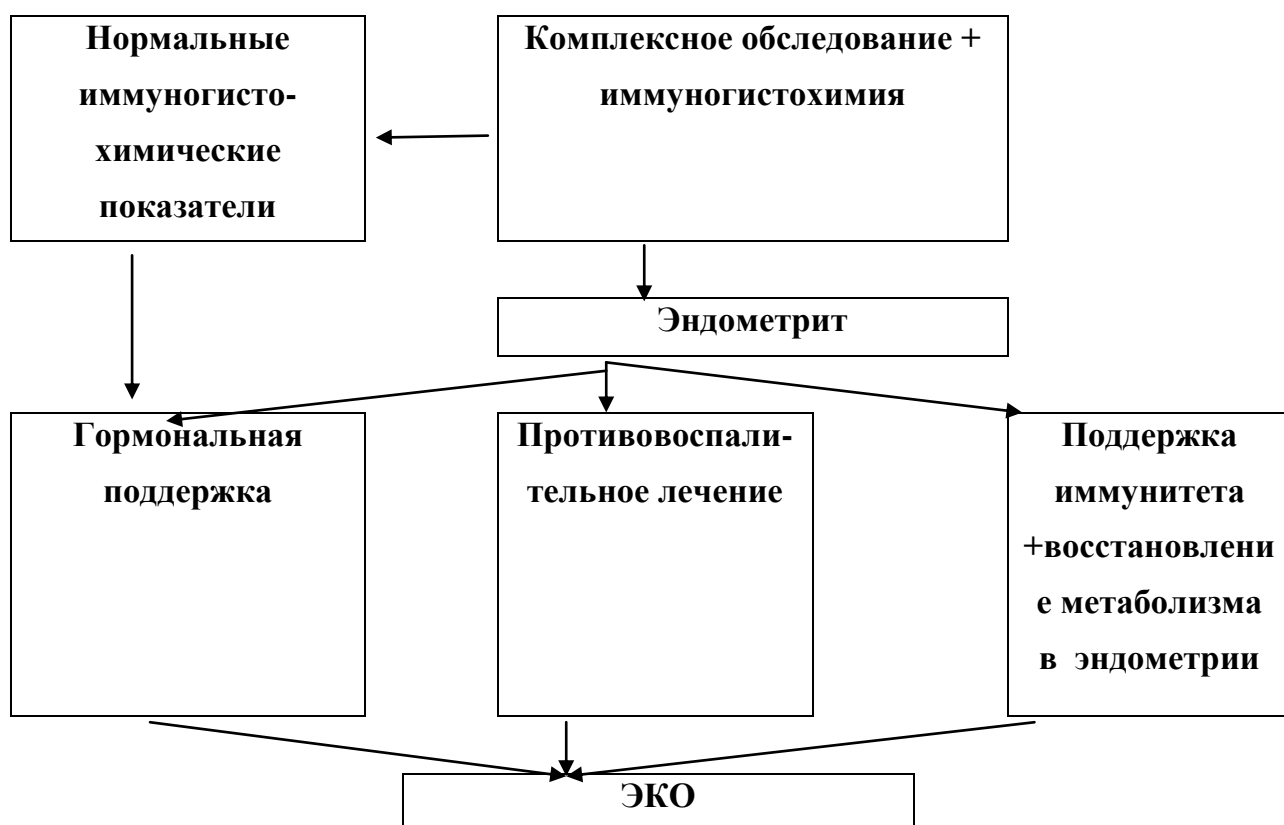


Рис. 2. Подготовка женщин с трубно-перитонеальным бесплодием к ЭКО

Подготовка включала в себя комплексную витаминотерапию (для улучшения процессов перекисного окисления липидов и клеточного метаболизма, функции эндокринной и иммунной систем), гормональную поддержку производными прогестерона во вторую фазу менструального цикла. Для поддержки иммунного ответа и локализации иммунного ответа в очаге

воспаления в курсе противовоспалительной терапии и подготовки к ЭКО нами использовался аллоферон (аллокин-альфа), а для улучшения тканевого метаболизма, газообмена и микроциркуляции на местном уровне – перфторан, который мы вводили в виде инсталляций внутриматочно. Курс аллоферона был рассчитан на 3 месяца, а инсталляции перфторана повторяли на протяжении трех циклов в фолликулярную фазу.

Пациенткам, у которых гистологически было выявлено обострение хронического эндометрита, проводилось противовоспалительное лечение по приведенной выше схеме (аналогично терапии, проводимой женщинам в основной группе). После указанной подготовки всем женщинам группы сравнения также проводился «короткий протокол ЭКО с антагонистами ГнРГ – с цетротидом (цетрореликс в форме ацетата)».

Эффективность ЭКО после использования предлагаемой нами подготовки эндометрия оказалась достаточно высокой (рис. 3).

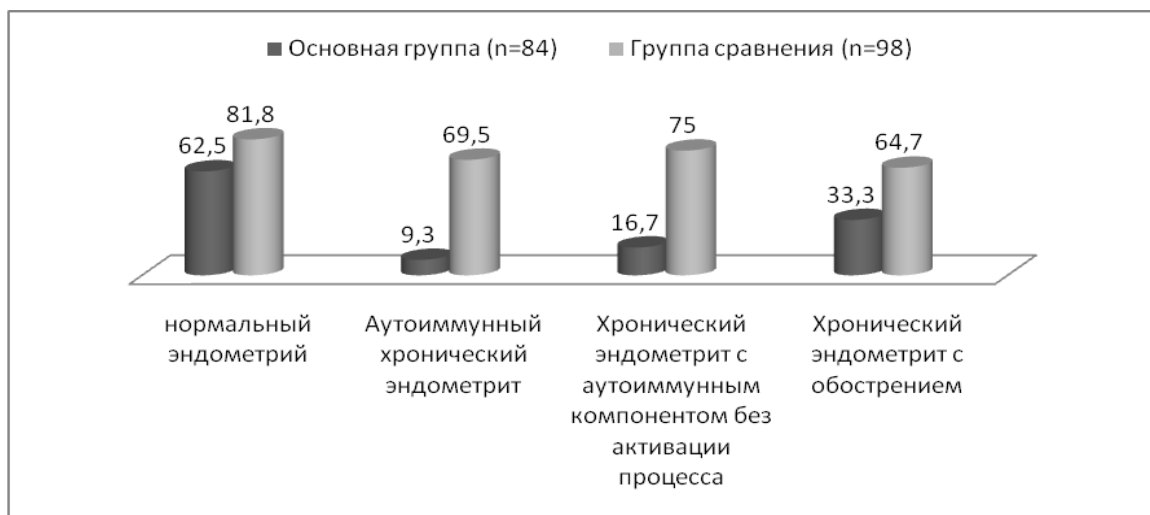


Рис. 3. Результаты ЭКО, проведенного в основной и сравниваемой группах женщин

Наибольший процент беременностей после расширенной подготовки был получен в подгруппе женщин с иммуногистохимическим «нормальным эндометрием» – $81,8 \pm 12,1\%$, несколько ниже были результаты у женщин с хроническим эндометритом с аутоиммунным компонентом без активации процесса – $75,0 \pm 9,0\%$. На третьем месте оказались женщины с аутоиммунным хроническим эндометритом – $69,5 \pm 6,8\%$, и, наконец, у женщин, перенесших обострение хронического эндометрита, показатель эффективности составил $64,7 \pm 11,9\%$.

Сравнивая эффективность проведенного ЭКО в целом у женщин выделенных групп, укажем, что в основной группе при использовании короткого протокола

беременность наступила у 17 ($20,2 \pm 4,4\%$) женщин, в то время как в группе сравнения при использовании расширенного протокола подготовки – у 70 ($71,4 \pm 4,5\%$) пациенток ($p < 0,001$). Таким образом, расширенная подготовка к ЭКО у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием, обусловленным хроническими воспалительными заболеваниями органов репродуктивной системы, включающая не только противовоспалительные, но и иммуномодулирующие, метаболические воздействия, а также гормональную поддержку эндометрия до начала проведения стандартного протокола ЭКО, позволяет повысить его эффективность почти в 3,5 раза.

Вместе с тем для адекватного назначения расширенного протокола и успеха ЭКО необходима не только обязательная оценка гистологического состояния эндометрия, которая предполагает проведение офисной или стационарной гистероскопии на этапе обследования, но и иммуногистохимические исследования. Дифференцировка структуры эндометрия по данным иммуногистохимии позволяет значительно расширить представления о его функциональных возможностях и состоянии локального иммунитета, обуславливающего, в свою очередь, успешность nidации и прогресс наступившей беременности.

ВЫВОДЫ

1. Наиболее значимыми факторами, способными оказать влияние на развитие трубно-перитонеального бесплодия, являлись операции на органах брюшной полости и малого таза и воспалительные заболевания органов репродуктивной системы.

2. В период подготовки к ЭКО все женщины с трубно-перитонеальным бесплодием имели овуляторные менструальные циклы, нормальное содержание половых гормонов по фазам менструального цикла. В то же время у 15 ($17,9 \pm 4,2\%$) женщин из основной и у 17 ($17,3 \pm 3,8\%$) из группы сравнения регистрировались гистологические признаки обострения хронического эндометрита. У остальных женщин в обеих группах гистологическое состояние эндометрия было оценено как нормальное.

3. Проведенное иммуногистохимическое исследование эндометрия свидетельствовало о том, что примерно половина женщин как в основной группе, так и в группе сравнения имела аутоиммунный хронический эндометрит, реже встречался хронический эндометрит с аутоиммунным компонентом без активации процесса. Явный (хронический с обострением) эндометрит, который, помимо

иммуногистохимических методов, подтверждался и гистологическим исследованием биоптатов, отмечался у 15 (17,9±4,2%) пациенток в основной группе и 17 (17,3±3,8%) в группе сравнения ($p>0,05$).

4. В процессе подготовки к ЭКО применение стандартного протокола у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием эффективно в 17 (20,2±4,4%) случаях, в то время как использование расширенного протокола позволяет повысить число наступивших беременностей до 70 (71,4±4,5%) ($p<0,001$).

5. В схему подготовки (в течение трех предшествующих ЭКО циклов) женщинам с трубно-перитонеальным бесплодием, обусловленным хроническими воспалительными заболеваниями органов репродуктивной системы, необходимо включать как противовоспалительные, так и иммуномодулирующие, метаболические воздействия, а также гормональную поддержку эндометрия до начала проведения стандартного протокола ЭКО.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В стандартный протокол ЭКО необходимо включить обязательное проведение гистероскопии с последующей биопсией эндометрия для оценки его состояния гистологическими и иммуногистохимическими методами.

2. При выявлении гистологических признаков воспалительного процесса в эндометрии целесообразно проведение антибактериальной терапии (с учетом чувствительности отделяемого из цервикального канала к антибиотикам) в комплексе с нестероидными противовоспалительными и антипротозойными препаратами, а также антимикотиками, после чего необходимы реабилитационные мероприятия с использованием физиолечения.

3. Подготовку к проведению протокола ЭКО необходимо начинать за 3 месяца с применения комплексной витаминотерапии для улучшения процессов перекисного окисления липидов и клеточного метаболизма, функции эндокринной и иммунной систем, а также гормональной поддержки прогестероном во вторую фазу менструального цикла.

4. При отсутствии гистологических признаков воспалительного процесса, но при наличии иммуногистохимических изменений в эндометрии необходимо применение препаратов, отвечающих за локальный иммунный ответ, и средств,

улучшающих тканевый метаболизм, газообмен и микроциркуляцию на местном уровне.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ

Проведенное исследование не исчерпывает всей глубины проблемы подготовки эндометрия к ЭКО и терапии хронического эндометрита, являющегося одной из причин бесплодия и нарушений nidации плодного яйца. В связи с изложенным возможно дальнейшее продолжение работы по выделению дополнительных критериев диагностики и терапии хронических эндометритов, а также разработка мер по профилактике их развития.

В перспективе возможно исследование новых подходов к тактике терапии женщин с трубно-перитонеальным бесплодием с учетом иммуногистохимических и иммуноцитологических характеристик эндометрия и использования различных схем подготовки к ЭКО на основе новых фармакологических возможностей.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Васюхина А.А. Особенности диагностирования внутриматочной патологии в рамках подготовки к ЭКО / А.А. Васюхина, О.А. Кравцова, И.В. Моисеева, М.А. Богданова, О.К. Югина // Высшее сестринское образование в системе российского здравоохранения: матер. VIII Российской научно-практ. конф. с международным участием. 22-24 декабря 2014 года. – Ульяновск, 2014. – С. 19-24.

2. Васюхина А.А. Клинические особенности женщин с хронической ановуляцией в зависимости от метаболических нарушений / А.А. Васюхина, О.А. Кравцова, О.К. Югина, Н.В. Сумина // Высшее сестринское образование в системе российского здравоохранения: матер. VIII Российской научно-практ. конф. с международным участием. 22-24 декабря 2014 года. – Ульяновск, 2014. – С. 24-27.

3. Васюхина А.А. Медико-социальные особенности женщин, прибегающих к ЭКО в Самарской области / А.А. Васюхина, О.А. Кравцова, И.В. Моисеева, О.В. Тюмина // Высшее сестринское образование в системе российского здравоохранения: матер. VIII Российской научно-практ. конф. с международным участием. 22-24 декабря 2014 года. – Ульяновск, 2014. – С. 28-31.

4. Васюхина А.А. Анамнез пациенток, готовящихся к ЭКО в Самарской области / А.А. Васюхина, О.А. Кравцова, И.В. Моисеева, М.А. Богданова // Высшее сестринское образование в системе российского здравоохранения: матер. VIII Российской научно-практ. конф. с международным участием. 22-24 декабря 2014 года. – Ульяновск, 2014. – С. 75-80.

5. Васюхина А.А. Варианты проведения протокола ЭКО и сравнение результатов у женщин с перитонеальным бесплодием / А.А. Васюхина, И.Е. Никулина, О.А. Кравцова // Известия Самарского научного центра РАН. - Том 17, №2(2). – Самара, 2015. – С. 279-282.

6. Васюхина А.А.. Оценка состояния здоровья женщин, страдающих трубно-перитонеальным бесплодием / А.А. Васюхина // Аспирантский вестник Поволжья. - №1-2. – Самара, 2015. – С. 16-21.

7. Васюхина А.А. Сравнительный анализ результатов ЭКО у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием, получавших комплексную подготовку эндометрия / А.А. Васюхина, И.В. Моисеева // Аспирантский вестник Поволжья. - №1-2. – Самара, 2015. – С. 22-28.

8. Васюхина А.А. Оценка менструальной функции и социального статуса женщин с трубно-перитонеальным бесплодием, готовящихся к ЭКО / А.А. Васюхина // Аспирантские чтения 2015: матер. конф. с международным участием «Молодые ученые XXI века – от идеи к практике». – Самара, 2015. – С. 109.

9. Васюхина А.А. Особенности генеративной функции у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием / А.А. Васюхина, О.А. Кравцова // Перинатальная медицина: от прегравидарной подготовки к здоровому материнству и крепкой семье: матер. научно-практ. конф., посвященной 30-летию Перинатального центра СОКБ им. В.Д. Середавина. – Самара, 2015. – С. 43-47.

10. Васюхина А.А. Гистологическая картина эндометрия у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием до начала проведения протокола ЭКО / А.А. Васюхина, Н.С. Калужная // Перинатальная медицина: от прегравидарной подготовки к здоровому материнству и крепкой семье: матер. научно-практ. конф., посвященной 30-летию Перинатального центра СОКБ им. В.Д. Середавина. – Самара, 2015. – С. 47-50.

11. Васюхина А.А. Состояние гормонального фона у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием / А.А. Васюхина, О.А. Кравцова // Перинатальная медицина: от прегравидарной подготовки к здоровому материнству и крепкой семье: матер. научно-практ. конф., посвященной 30-летию Перинатального центра СОКБ им. В.Д. Середавина. – Самара, 2015. – С. 50-53.

12. Васюхина А.А. Психологическая реабилитация женщин, страдающих бесплодием / А.А. Васюхина, Н.В. Дейнека, Л.С. Целкович, Т.В. Иванова // Перинатальная медицина: от прегравидарной подготовки к здоровому материнству и крепкой семье: матер. научно-практ. конф., посвященной 30-летию Перинатального центра СОКБ им. В.Д. Середавина. – Самара, 2015. – С. 80-83.

13. Васюхина А.А. Некоторые итоги реализации программ ЭКО в Самаре / А.А. Васюхина, О.А. Кравцова // Перинатальная медицина: от прегравидарной подготовки к здоровому материнству и крепкой семье: матер. научно-практ. конф., посвященной 30-летию Перинатального центра СОКБ им. В.Д. Середавина. – Самара, 2015. – С. 126-129.

14. Васюхина А.А. Иммуногистохимические особенности эндометрия у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием / А.А. Васюхина, Л.С. Целкович // Аспирантский вестник Поволжья №1-2. – Самара, 2016. – С.13-17.

15. Васюхина А.А. Состояние эндометрия у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием, готовящихся к ЭКО, по результатам иммуногистохимических исследований / А.А. Васюхина, О.А. Кравцова // Аспирантские чтения 2015: матер. конф. с международным участием. – Самара, 2016. – С. 131-133.

Рационализаторское предложение

1. Рационализаторское предложение «Способ диагностики хронического эндометрита у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием, готовящихся к проведению процедуры ЭКО, на основании иммуногистохимических показателей эндометрия». Выдано ФГБОУ ВО «СамГМУ» Минздрава РФ 26.09.2016г., № 361.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВРТ	– вспомогательные репродуктивные технологии
ЖКТ	– желудочно-кишечный тракт
МКБ-Х	– международная классификация болезней десятого пересмотра
НЭС	– нейроэндокринно-обменный синдром
П	– прогестерон
УЗИ	– ультразвуковое исследование
ФСГ	– фолликулостимулирующий гормон
Э-17β	– эстрадиол
ЭКО	– экстракорпоральное оплодотворение

Васюхина Анна Александровна

**Влияние качественных характеристик эндометрия
на эффективность проведения ЭКО у женщин
с трубно-перитонеальным бесплодием**

14.01.01 – Акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук