Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

ЛИХАЧЕВА ВИКТОРИЯ ВАСИЛЬЕВНА

ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЕ ОПЛОДОТВОРЕНИЕ: ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ БЕСПЛОДИЯ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ИСХОДЫ ЛЕЧЕНИЯ

14.01.01 – Акушерство и гинекология

диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук

Научный консультант:
член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук,
профессор Краснопольская Ксения Владиславовна

Новокузнецк – 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ …… 5

Глава 1. ПРЕДИКТОРЫ РЕЗУЛЬТАТИВНОСТИ ПРОГРАММ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ И ПОКАЗАНИЯ К КРИОКОНСЕРВАЦИИ ЭМБРИОНОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ) …..... 17

1.1. Бесплодие – проблема медицинская и социальная……. 17

1.2. Взаимосвязь заболеваний органов малого таза с инфертильностью……... 21

1.3. Иммунологический дисбаланс и нарушение фертильности у женщин…….. 27

1.4. Маркеры исходов программ экстракорпорального оплодотворения в числе иммунологических показателей …….. 30

1.5. Возможности программ экстракорпорального оплодотворения при переносе в полость матки свежего эмбриона или криоцикла в решении задач ВРТ ……. 39

ЗАКЛЮЧЕНИЕ…….. 40

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ……. 42

2.1. Характеристика групп проспективного исследования……... 45

2.2. Методы исследования…… 49

2.3. Методы получения образцов сыворотки крови и фолликулярной жидкости……... 51

2.4. Методы исследования содержания регуляторно-транспортных белков и цитокинов ……. 52

2.5. Методы статистического анализа……. 52

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОСПЕКТИВНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ. РЕГУЛЯТОРНО-ТРАНСПОРТНЫЕ БЕЛКИ И ЦИТОКИНЫ В ОЦЕНКЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ ЗДОРОВЫХ ФЕРТИЛЬНЫХ ЖЕНЩИН И ИНФЕРТИЛЬНЫХ ПАЦИЕНТОК С БЕСПЛОДИЕМ

МУЖСКОГО ГЕНЕЗА В ПРОГРАММАХ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ……. 54

Глава 4. РОЛЬ РЕГУЛЯТОРНО-ТРАНСПОРТНЫХ БЕЛКОВ И ЦИТОКИНОВ В ОЦЕНКЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ ПАЦИЕНТОК С ТРУБНО-ПЕРИТОНЕАЛЬНЫМ БЕСПЛОДИЕМ И ПРЕДИКЦИИ ИСХОДОВ ПРОГРАММ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ……..... 63

Глава 5. РЕГУЛЯТОРНО-ТРАНСПОРТНЫЕ БЕЛКИ И ЦИТОКИНЫ В ОЦЕНКЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ ПАЦИЕНТОК С ЭНДОКРИННЫМ БЕСПЛОДИЕМ НА ФОНЕ СИНДРОМА ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ И ПРЕДИКЦИИ ИСХОДОВ ПРОГРАММ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ…… 94

Глава 6. РОЛЬ РЕГУЛЯТОРНО-ТРАНСПОРТНЫХ БЕЛКОВ И ЦИТОКИНОВ В ОЦЕНКЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ ПАЦИЕНТОК ПРИ БЕСПЛОДИИ, АССОЦИИРОВАННОМ С НАРУЖНЫМ ГЕНИТАЛЬНЫМ ЭНДОМЕТРИОЗОМ 1-2 СТЕПЕНИ И ПРЕДИКЦИИ ИСХОДОВ ПРОГРАММ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ..... 124

Глава 7. СОСТАВЛЕНИЕ ПРОГНОСТИЧЕСКОГО АЛГОРИТМА РИСКА ОТРИЦАТЕЛЬНОГО ИСХОДА ПРОГРАММЫ ЭКСТРА-КОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ У ИНФЕРТИЛЬНЫХ ПАЦИЕНТОК ПРИ БЕСПЛОДИИ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КЛИНИЧЕСКИХ, ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПРЕДИКТОРОВ …… 142

7.1. Анализ клинических факторов риска с целью отбора возможных предикторов исхода программы……. 142

7.2. Построение математической модели расчета риска неудачного завершения программы экстракорпорального оплодотворения при переносе в полость матки «свежего» эмбриона на основе клинических и иммунологических предикторов…… 143

7.3. Адаптация разработанной математической модели к практическому применению: создание скрининговой шкалы, прогностического алгоритма и программного обеспечения……... 151

7.4 Сравнительная частота наступления беременности в лечебном цикле при переносе нативных эмбрионов и в криоциклах……. 156

Глава 8. ЗАКЛЮЧЕНИЕ……..... 158

ВЫВОДЫ……..... 172

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ …….. 174

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ …… 175

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ…….. 176

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Данные Всемирной Организации Здравоохранения демонстрируют высокую частоту бесплодия в репродуктивном возрасте, которая достигает 10-15% [25; 93]. В России около 8-21% супружеских пар бесплодны [49]. Низкое качество репродуктивного здоровья – это проблема не только медицинская, но и социальная. В ряде стран с высокой частотой бесплодия резко снижены демографические показатели, что придает данной проблеме и экономическое значение [51; 5; 41; 62; 137]. Проблема бесплодия влияет и на общее состояние здоровья нации, как в стране в целом, так и в регионах. Например, уровень бесплодия на территории Томской области достигал в 2002 году 17% и превышал критические цифры, определенные проблемной комиссией ВОЗ 15% для бесплодия, а потому расценивался как ведущий фактор, определяющий демографические показатели в регионе [77].

Разработка государственной программы финансирования репродуктивных технологий позволила вывести проблему бесплодия из тупика, что предоставило возможность большому числу бездетных супружеских пар стать родителями [83; 22; 33]. Согласно данных Регистра РАРЧ РФ за 2016 год по количеству проведенных циклов ВРТ Россия находится в числе лидеров среди стран Европы. Кроме того, в нашей стране за 2010-2016 годы отмечена устойчивая тенденция к снижению количества переносимых эмбрионов при сохранении показателя частоты наступления клинической беременности [80]. Однако, оцениваемый в общей массе терапевтический эффект ЭКО не всегда высок и, как правило, не превышает 37% при использовании собственных ооцитов. Все еще недостаточный терапевтический потенциал данного метода предопределяет актуальность продолжения дальнейших исследований, направленных на повышение его результативности [99, 53; 186].

Весомый вклад в дело увеличения результативности ВРТ должны вносить повышение диагностической точности обследования бесплодных пар, особенно учитывая вклад невыявленных и латентных инфекций, передаваемых половым путем. Вирусная нагрузка, в частности ВПГ и ВПЧ, часто сопровождает состояние инфертильности в браке [55]. Показано, что у женщин с первичным бесплодием наблюдается специфичный HHV-специ-фический отклик NK-клеток эндометрия с заметным увеличением этих клеточных эффекторов врожденного звена системы иммунитета. Анализ образцов маточных смывов у бесплодных женщин с герпес-вирусной инфекцией показал увеличение уровней ИЛ-10 и снижение содержания ИФН-γ. Утверждается, что инфекция HHV может быть важным фактором в основе женской инфертильности с возможной ролью в модификации иммунного профиля эндометрия и способности к вынашиванию плода.

В этой связи важно отметить большое число исследований, посвященных поиску иммунологических маркеров нозологических форм, лежащих в основе инфертильности, а также имеющих предикторное значение относительно результата ЭКО. Немаловажную роль в этом играет доказанный вклад воспалительных заболеваний ОМТ в развитие бесплодия. Показана роль иммунологических изменений эндометрия, таких как лимфоцитарная инфильтрация, увеличение уровня плазматических клеток и иммуноглобулинов, что может являться в ряде случаев основной причиной бесплодия и потери беременности [295]. Иммуногистохимический анализ клеток эндометрия у пациенток с хроническим эндометритом (ХЭ) наглядно демонстрирует снижение концентрации CD4-лимфоцитов и увеличение CD8-клеток. Кроме того, на фоне ХЭ отмечается повышение уровня IgG и IgM и снижается содержание IgA-плазмоцитов, а также повышается концентрация макрофагов и нейтрофильных гранулоцитов [28]. Поиск биологических маркеров прогнозирования результата ЭКО является одной из задач репродуктологии. В одном из определений биомаркерами обозначаются молекулы, специфично отражающие отклонение от нормы, что может быть использовано в клинической практике [1; 307]. Белковые молекулы регуляторных сигнальных путей – предмет пристального внимания ученых. Имеется информа-

ция о способности различных веществ белковой природы служить прогнозированию потенциала имплантации и благоприятного завершения беременности. В частности, для аполипопротеина А-1 созданы алгоритмы, позволяющие различать эмбрионов с высокой и низкой имплантационной компетенцией на стадии культуры клеток [312; 203; 248].

Кроме вопроса повышения эффективности методов ВРТ репродуктологов всего мира продолжает беспокоить вопрос их безопасности. Одно из самых опасных осложнений программы ЭКО – синдром гиперстимуляции яичников (СГЯ) – в настоящее время рассматривается как системная воспалительная реакция (systemic inflammatory response syndrome), пусковым фактором которой выступает введение овуляторной дозы хорионического гонадотропина человека (ХГЧ). Результатом этого является массивное повреждение эндотелия сосудов с последующей транссудацией жидкой части крови в третье пространство, развитием гиповолемии, гиперкоагуляции, полисерозитов, острой почечной и печеночной недостаточности, тромбоэмболических осложнений, РДСВ, вплоть до летальных исходов.

Степень разработанности темы исследования

Изучению роли различных биомаркёров в прогнозировании исходов программ ЭКО уделяется большое внимание [248; 295]. Однако, отсутствуют данные о динамике иммунологических параметров в процессе стимуляции суперовуляции у пациенток с различными формами бесплодия.

Также не проводилась оценка комплекса иммунологических параметров (α2-МГ, α1-АТ, АБГ, ЛФ, АЛБ, ФНО-α, ИЛ-6, ИЛ-8, ИФН-γ, VEGF) в сыворотке крови и фолликулярной жидкости с определением роли конкретных иммунологических маркёров в прогнозировании исхода программ ЭКО при различных формах бесплодия.

Учитывая вышеизложенное, актуальным представляется комплексное изучение иммунологических параметров инфертильных женщин с различными формами бесплодия с целью оценки их роли как в патогенезе заболеваний, лежащих в основе инфертильности, так и в предикции исходов программ ЭКО от-

носительно наступления беременности и развитии СГЯ на фоне имеющейся патологии воспалительной и невоспалительной природы в составе биологических сред организма (сыворотке крови, фолликулярной жидкости).

Цель исследования: определить роль иммунологических и биохимических параметров в прогнозировании исходов программ экстракорпорального оплодотворения у пациенток с различными формами бесплодия (мужской, трубно-перитонеальной, эндокринной на фоне СПЯ и эндометриоз-ассоциированной).

Задачи исследования:

1. Изучить сывороточное содержание регуляторно-транспортных белков и цитокинов у здоровых фертильных женщин, а также у пациенток с первичным и вторичным бесплодием мужского генеза.

2. Оценить динамику изучаемых иммунологических показателей сыворотки крови в ответ на индукцию суперовуляции и введение триггера финального созревания ооцитов, а также иммунологический состав фолликулярной жидкости у пациенток с мужским фактором бесплодия и взаимосвязь их с исходом программ ЭКО.

3. Уточнить особенности системных и локальных иммунологических изменений у пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием в зависимости от степени выраженности перенесённого воспаления в малом тазу, динамику их в программах ЭКО и влияние на результативность.

4. Определить особенности системного и локального иммунитета у больных с СПЯ и эндокринным бесплодием в зависимости от вида триггера финального созревания ооцитов, влияние их на исход программы ЭКО и риск развития синдрома гиперстимуляции яичников.

5. Изучить характер системных и местных иммунологических изменений у инфертильных пациенток с наружным генитальным эндометриозом 1-2 ст. и оценить их влияние его на исходы программ ЭКО.

6. Разработать систему прогнозирования исхода программ ЭКО при селективном переносе в полость матки нативного эмбриона с учетом особенностей иммунологического профиля женщины

7. Провести сравнительный анализ частоты наступления беременности в группах риска отрицательного исхода программ ЭКО при переносе в полость матки нативных эмбрионов и в криоциклах.

Научная новизна исследования

Проведено комплексное исследование иммунологического профиля инфертильных пациенток, принимающих участие в программах ЭКО. Изучение иммунологических параметров здоровых женщин и пациенток с бесплодием мужского генеза позволили определить референсные значения данных показателей для фертильных небеременных женщин в возрасте до 35 лет с сохраненным овариальным резервом.

Продемонстрирован ряд изменений в белковом и цитокиновом профиле венозной крови инфертильных пациенток с наиболее распространенными факторами бесплодия (трубно-перитонеальном, эндокринном на фоне СПКЯ, эндометриоз-ассоциированном при НГЭ 1-2 ст.), отличающих их от здоровых фертильных женщин и показана динамика данных иммунологических показателей в процессе индукции суперовуляции в программе ЭКО, присущая каждой из нозологических форм.

Определена взаимосвязь иммунологических сдвигов при стимуляции суперовуляции с исходом программ ЭКО у пациентов с различными формами бесплодия.

Определены критерии развития «поздней» формы синдрома гиперстимуляции яичников на основе изучения биохимических и иммунологических параметров сыворотки крови и фолликулярной жидкости.

Разработан алгоритм персонифицированного прогнозирования риска отрицательного исхода программы ЭКО у пациенток с трубно-перитонеальным, эндокринным на фоне СПЯ, эндометриоз-ассоциированым бесплодием при НГЭ 1-2 ст., основанный на математической модели уравнения логит-регрессии с учетом изменений уровней регуляторно-транспортных белков и цитокинов, позволяющий с достаточно высокой вероятностью прогнозировать исход лечения в программе ЭКО при селективном переносе в полость матки нативного эмбриона.

Теоретическая и практическая значимость работы

В результате проведенного исследования показана динамика ряда иммунорегуляторных белков и цитокинов при проведении индукции суперовуляции в программах ЭКО у здоровых женщин (с бесплодием мужского генеза), что позволило определить референсные значения данных параметров для программ ЭКО.

Полученные данные в сопоставлении с аналогичными значениями у пациенток с наиболее распространенными причинами бесплодия (трубно-перитонеальным, эндокринным на фоне СПЯ и эндометриоз-ассоциированным) позволили выявить особенности иммунологического профиля женщин при этих заболеваниях с оценкой влияния их на исход программ ЭКО, что легло в основу построения математической модели прогнозирования отрицательного результата данных программ.

Получение результатов, прогнозирующих высокий риск отсутствия имплантации нативного эмбриона в лечебном цикле, позволяет рекомендовать сегментацию цикла с отсроченным эмбриотрансфером после нивелирования иммунологического дисбаланса, вызванного проведением индукции суперовуляции.

Методология и методы исследования

Настоящая работа была выполнена на базе Клиники женского здоровья и репродукции человека «Медика» г. Новокузнецк, с 2016 года вошедшей в группу компаний «Мать и дитя», а также НИЛ иммунологии Новокузнецкого ГИУВа – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ в 2013 – 2018 гг. Для решения поставленных задач в работе ретроспективно обработаны 3969 циклов ЭКО для выявления клинических предикторов неудач имплантации, а также проспективно отслежены клинические исходы 317 лечебных циклов ЭКО у пациенток с углубленным иммунологическим обследованием при наиболее распространенных формах бесплодия: трубно-перитонеальной, эндокринной (на фоне СПЯ), эндометриоз-ассоциированной (при НГЭ 1-2 степени). Группу контроля составили пациентки с бесплодием мужского генеза.

Предметом исследования являлись изменения содержания регуляторно-транспортных белков и цитокинов в венозной крови и фолликулярной жидкости инфертильных пациенток при перечисленных факторах бесплодия.

При написании работы в методологическом плане использовалась совокупность общенаучных и специальных методов. Кроме того, применялся метод формализации, заключавшийся в разработке математического коэффициента с учетом значимых клинических и лабораторных показателей для объективизации оценки риска отрицательного исхода программ ЭКО.

Из экспериментальных методов исследования использовались: метод наблюдения (анализ анамнеза и данных клинико-лабораторного обследования инфертильных пациенток, а также ретроспективное изучение распространенности среди причин бесплодия конкретных нозологических форм и влияние их на результативность программ ЭКО), метод эксперимента (изучение содержания регуляторно-транспортных белков и цитокинов в образцах сыворотки венозной крови и фолликулярной жидкости), метод сравнения (анализ лабораторных данных в зависимости от причины бесплодия, динамики их в ходе индукции суперовуляции в программе ЭКО, а также влияния на ее исход и развитие синдрома гиперстимуляции яичников, коррелятивный анализ результатов исследования). Из эмпирическо-теоретических методов использовались методы аналогии, индукции и дедукции (сравнение полученных результатов с опубликованными данными других авторов, позволяющее выдвинуть ряд предположений по различиям в патогенезе бесплодия при разных заболеваниях органов малого таза, динамики их в ответ на индукцию суперовуляции и исходов программ ЭКО, а также по наличию общих тенденций и изменений, позволяющих сформировать обобщенные рекомендации по прогнозу исхода программ ЭКО и развития СГЯ и тактике ведения пациенток группы риска).

У всех пациентов, включенных в исследование, получено информированное согласие.

Положения, выносимые на защиту:

1. Иммунологический профиль инфертильных пациенток с мужским фактором бесплодия и здоровых фертильных небеременных женщин в возрасте до 35 лет с сохранным овариальным резервом сопоставим. Динамика изучаемых иммунологических показателей в программе ЭКО в данной группе выражается в снижении сывороточных значений АЛБ, ИЛ-8 и повышении VEGF. Отсутствие зависимости частоты наступления беременности от иммунологического состава сыворотки крови и фолликулярной жидкости в группе пациенток с мужским генезом бесплодия позволяет расценивать выявленные изменения как нормальную иммунную реакцию в программе ЭКО, а полученные значения иммунологических показателей использовать в качестве референсных.

2. Иммунологический профиль и частота наступления беременности в программах ЭКО у пациенток с ТПБ зависят от выраженности и сохраняющейся субклинической активности перенесённого воспаления, проявлением чего являются повышенные сывороточные значения ФНО-α и α1-АТ. При минимальном поражении маточных труб и отсутствии лабораторных признаков воспаления (подгруппа 1) динамика иммунологических показателей и частота наступления беременности (38,3%) аналогична группе контроля (38,0%). При наличии лабораторных признаков субклинического воспаления (подгруппа 2) частота наступления беременности значительно ниже (24,4%), чем в группе контроля (38%), а отрицательный исход программ ЭКО ассоциируется с повышением концентрации ФНО-α в сыворотке крови $\geq$ 3 пкг/мл (с чувствительностью 100%) и снижением уровня ОБ в фолликулярной жидкости $\leq$ 57 г/л (с чувствительностью 80%).

3. Особенностями изучаемых показателей инфертильных пациенток с СПЯ являются повышенные концентрации общего белка и альбумина в сыворотке крови. Динамика иммунологических показателей в сыворотке крови и состав ФЖ зависит от вида триггера финального созревания ооцитов. Предикторами отрицательного исхода программ ЭКО при СПЯ с применением ХГЧ-триггера являются снижение уровня ИЛ-8 $\leq$ 130 пкг/мл **(**чувствительность 90%) и альбумина $\leq$38 г/л **(**чувствительность 80%) в фолликулярной жидкости. В раз-

витии «поздней» формы синдрома гиперстимуляции яичников предикторная роль принадлежит повышению α1-АТ, ассоциированного с беременностью а2-гликопротеина, сосудисто-эндотелиального фактора роста VEGF в сыворотке крови и ИФН-γ в ФЖ при достоверном снижении уровней АЛБ, ФНО-α и ИЛ-8 в обеих биологических жидкостях.

4. Иммунологический профиль инфертильных женщин с НГЭ 1-2 ст. характеризуется повышением сывороточных значений α2-МГ, α1-АТ, ИФН-γ, АЛБ, ОБ и снижением концентрации ИЛ-6 в сыворотке крови, а также снижением концентрации ЛФ, ИЛ-8 и повышением уровня ОБ и ИФН-γ в фолликулярной жидкости. ЧНБ в данной группе (37,5%) не отличается от группы контроля (38%). Предиктором отрицательного исхода программы ЭКО является повышенный уровень сывороточного АЛБ в день ТВП $\geq$47,5 г/л (с чувствительностью 80%).

5. Выявленные изменения изученных показателей и коррелятивных взаимосвязей подтверждают активное участие регуляторно-транспортных белков и цитокинов в патогенезе имплантации человеческого эмбриона, что позволяет усовершенствовать прогнозирование исхода программы ЭКО путем создания высокоэффективной компьютерной программы расчета риска отрицательного их исхода в стимулированном цикле и рекомендовать сегментацию цикла с «отсроченным» переносом эмбрионов для повышения эффективности данных программ.

Внедрение результатов исследования

Результаты данного исследования используются в работе Клиники женского здоровья и репродукции человека «Медика» ГК «Мать и дитя» г. Новокузнецк, отделений ВРТ Новокузнецкого и Кемеровского перинатальных центров, в образовательных программах кафедры акушерства и гинекологии Новокузнецкого государственного института усовершенствования врачей – филиала Российской медицинской академии непрерывного последипломного образования.

Личный вклад автора в проведенное исследование

Личный вклад автора заключается в постановке основных задач исследования, разработке методологии и комплекса процедур для их решения; в отборе женщин в группы, непосредственном проведении исследования на всех его этапах; в построении алгоритма выработки рекомендаций по управлению состоянием пациенток с выраженными функциональными нарушениями, построении прогнозирующей модели риска отрицательного исхода программы ЭКО, оценке качества алгоритма и модели; разработке программных реализаций построенных моделей и алгоритма.

Автор выражает глубокую благодарность члену-корреспонденту РАН, профессору К.В. Краснопольской за помощь в разработке дизайна данного исследования, систематизации и интерпретации полученных данных, оформлении диссертации и подготовке ее к официальной защите; профессору Л.Г. Баженовой за помощь в организации данного проекта, а также его реализации на всех этапах, написании научных статей; НИЛ иммунологии НГИУВ – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России в лице д.б.н. проф. Н.А. Зорина, д.б.н. проф. Р.М. Зориной, д.б.н. В.Н. Зориной за помощь в составлении и реализации проекта исследования, проведение всех этапов иммунологических исследований, интерпретацию полученных иммунологических данных, помощь в подготовке и оформлении научных статей и патентов на изобретение; кафедре медицинской кибернетики и информатики под руководством д.м.н. проф. Г.И. Чеченина в лице А.Е. Власенко за помощь в статистической обработке материала и разработке программного обеспечения данного исследования; коллектив Клиники «Медика» ГК «Мать и дитя Новокузнецк» под руководством к.м.н. А.Г. Маркдорфа за помощь в наборе материала для исследований, а также директору НГИУВ филиала РМАНПО д.м.н. профессору А.В. Колбаско за предоставленную возможность реализации данного исследования в стенах НГИУВа.

Апробация работы

Основные результаты работы доложены на Межрегиональной конференции в г. Барнаул 27.05.16 года доклад: «Иммунологические аспекты прогнозирования исходов программ ЭКО у пациенток с хроническим эндометритом»; в рамках IX Общероссийского семинара «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» 10-13 сентября 2016 года, г. Сочи «Возможности прогнозирования результативности программ ЭКО у пациенток с хроническим эндометритом»; в рамках Международной научно-практической конференция «Перинатология в Сибири: достижения и проблемы» посвященный 25-летнему юбилею КРОО «Ассоциация акушеров-гинекологов», г. Кемерово, 19-22 апреля 2017 г.; «Новые технологии в акушерстве и гинекологии, перинатологии и репродуктивной медицине» г. Новосибирск, 26-29 апреля 2017 года; в рамках XXII Международной научно-практической конференция «Доказанное и сомнительное в акушерстве и гинекологии» г. Кемерово, 18-21.04.2018 г.

Диссертационная работа обсуждена на заседаниях апробационных комиссий Новокузнецкого государственного института усовершенствования врачей – филиала федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации 27 ноября 2018 года (протокол №9) и государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии» 23.04.2019 г. (протокол №5).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 24 научные работы, из них 10 научных статей в изданиях, рекомендованных ВАК (в том числе 4 - в изданиях SCOPUS), а также получены 7 патентов на изобретение.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 208 страницах машинописного текста, иллюстрирована 41 таблицей и 48 рисунками и содержит введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, 8 глав, отражающих собственные результаты, обсуждение полученных результатов и выводы. Список использованной литературы содержит 322 наименования, из них: 123 отечественных и 199 иностранных источников.

Глава 1.

ПРЕДИКТОРЫ РЕЗУЛЬТАТИВНОСТИ ПРОГРАММ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ И ПОКАЗАНИЯ К КРИОКОНСЕРВАЦИИ ЭМБРИОНОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Бесплодие – проблема медицинская и социальная

Бесплодие – одна из наиболее важных проблем современного человечества. Всемирная Организация Здравоохранения определяет бесплодие как болезнь репродуктивной системы, приводящую к неспособности достичь клинической беременности в течение года и более лет при регулярном незащищённом половом акте. Прогрессирующее ухудшение репродуктивного здоровья является проблемой медицинской, социальной, а в ряде стран, где высока частота бесплодия и резко снижены демографические показатели, проблеме придают экономическое значение [5; 41; 62; 137].

Современные исследования показывают, что около 48,5 млн пар во всем мире бесплодны, из них 19,2 млн не могут родить первого ребенка, а 29,3 – второго [137]. Интересен тот факт, что при таком глобальном росте бесплодия этот показатель в развитых странах не меняется на протяжении последних лет. В основном увеличение количества пар, не способных зачать ребенка, наблюдается в странах Южной Азии и Африки. Согласно данным наших эпидемиологических исследований в различных регионах России, около 17% браков являются бесплодными, т.е. каждая шестая супружеская пара имеет проблемы с зачатием в тот или иной период своего репродуктивного возраста [157].

Существует ряд медицинских аспектов, осложняющих деторождение – это состояние соматического и гинекологического здоровья женщин, затрудняющее возможность вынашивания беременности и рождения здорового ребенка [70]. Огромное значение в современном обществе приобретает так называемое психологическое бесплодие, когда причиной нарушения репродуктив-

ной функции становятся эмоциональная нестабильность и психические расстройства на почве дисгармонии социальной роли женщины и материнства [208]. Таким образом, для обследования бесплодной супружеской пары необходимы совместные усилия специалистов разного профиля. В каждой конкретной ситуации должны оцениваться соматический статус пациентов, психофизиологические факторы бесплодия, выявляться различные формы экстрагенитальной патологии [62].

За последнее десятилетие мировое сообщество достигло больших успехов в улучшении здоровья матерей и детей. Фундаментальные исследования в области репродукции человека привели к тому, что 30 лет назад была открыта новая эпоха в лечении бесплодия – эпоха вспомогательных репродуктивных технологий – медицинские методы терапии бесплодия, в результате применения которых наступает беременность пациенток, причем отдельные или все этапы зачатия осуществляются вне организма будущей матери. Программа репродуктивных технологий вывела проблему лечения бесплодия из тупика и позволила добиться успеха большому числу супружеских пар, обреченных на бездетность [83; 21; 33].

Первый метод этой программы, экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) – это процедура оплодотворения яйцеклеток вне организма женщины с последующим переносом эмбрионов в полость матки (ПЭ) [83]. Разработка и внедрение в клиническую практику метода ЭКО явились наиболее значимым достижениями репродуктологии, обеспечившими «прорыв» в решении проблемы бесплодия в последние два десятилетия. Впервые метод ЭКО был апробирован в конце 70-х гг. XX века в Великобритании Патриком Стептоу и Робертом Эдвардсом. В результате этих исследований родилась Луиза Браун – первый ребенок, зачатый «в пробирке». После этого продолжилась активная работа над усовершенствованием методики. В настоящее время ЭКО достаточно широко используется во всем мире, однако эффективность этой программы составляет от 20 до 40 % [186].

Метод ЭКО, прежде всего, предоставляет уникальную возможность реализовывать функцию деторождения при различных формах трубного бесплодия, вплоть до полного отсутствия маточных труб или при глубоких анатомических изменениях. Модифицированная программа ЭКО, предусматривающая применение донорских ооцитов, сделала возможным достижение беременности у женщин с отсутствием или функциональной недостаточностью яичников, а дополнение ЭКО процедурой ИКСИ (инъекция сперматозоида в цитоплазму ооцита) позволило фактически полностью решить проблему тяжелого мужского бесплодия [114; 99]. Кроме этого, метод ЭКО показан и при неэффективности лечения эндокринной и иммунологической форм бесплодия консервативным путем, а также при бесплодии неясного генеза [17; 252].

В настоящее время для оценки эффективности ЭКО и ПЭ все чаще используется показатель рождения живых детей, выписанных из родильного дома после лечения бесплодия. К сожалению, этот показатель обычно не превышает 6-19 % из расчета на перенос эмбриона и 56-78 % – на число клинических беременностей. Согласно данным литературы, у женщин после экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбриона в матку отмечается высокий процент перинатальных потерь. В частности, было установлено, что частота невынашивания беременности в этой группе женщин доходит до 60%, перинатальная патология среди доношенных детей достигает 34 % и 65 % – среди недоношенных. Известно, что после ЭКО и ПЭ достаточно высокая частота перинатального поражения центральной нервной системы, морфофункциональной незрелости. Ведущее место в перинатальной патологии как доношенных, так и недоношенных детей занимает внутриутробная инфекция. Кроме того, в группе новорожденных детей после применения ЭКО частота гипотрофии более высока. Возможно, что это связанно с хронической плацентарной недостаточностью и большим числом многоплодных беременностей.

При применении программ вспомогательных репродуктивных технологий необходимо проведение исследований каждого супруга, состоящего в бесплодном браке, независимо от характера его репродуктивной функции в прошлом.

Правильно собранный анамнез, проведенное урогенитальное обследование и анализ эякулята предоставляют достаточно полную информацию об основных причинах мужского бесплодия. Наиболее информативным критерием оценки фертильности у мужчин являются показатели спермограммы [228]. На сегодня инъекция сперматозоида в цитоплазму ооцита (Intra cytoplasmic Sperm Injection – ICSI, ИКСИ) составляет более 50 % всех лечебных циклов репродуктивных технологий, а частота наступления беременности такая же, как в классическом ЭКО [114; 142; 80].

В первую очередь, метод ИКСИ нашел широкое применение и показал высокую эффективность в случаях мужского бесплодия, связанного с олигоастенотератозооспермией – нарушение, когда снижена концентрация, подвижность и количество морфологически правильных форм сперматозоидов в эякуляте. В литературе встречаются данные о применении данного метода терапии бесплодия у пациентов с различной степенью нарушения сперматогенеза [239; 257].

Таким образом, метод интрацитоплазматической инъекции сперматозоидов в ооцит дает надежду на генетическое отцовство даже в тех случаях бесплодия, когда оно признавалось ранее абсолютным, а стандартное ЭКО было неэффективным [142]. Однако, применение данного метода вызывает большие опасения в связи с высокой степенью риска передачи отцовских генетических аномалий потомству, возникающих при нарушении в генетическом аппарате мужчин, что может являться одной из причин бесплодия. Этот факт может привести к формированию патологических эмбрионов с несбалансированными хромосомными наборами [50; 143]. Следовательно, становится актуальным проведение цитогенетических исследований перед использованием спермы инфертильного мужчины для оплодотворения ооцитов женщины в программе ЭКО, ИКСИ.

Применение современных вспомогательных репродуктивных технологий предоставляет, несомненно, огромный шанс для миллионов безнадежно бездетных супружеских пар стать родителями. Огромен и неоценим вклад ученых и врачей, внедривших в практику эти методы лечения бесплодия. Однако, недостаточно высокая эффективность, а также риск ятрогенных осложнений, таких как синдром гиперстимуляции яичников, заставляют общество искать пути оптимизации данного вида лечения.

1.2. Взаимосвязь заболеваний органов малого таза с инфертильностью

Одним из важных направлений в решении проблемы сохранения и улучшения репродуктивного здоровья женщин является диагностика и лечение хронических воспалительных заболеваний органов малого таза, которые занимают ведущее место в структуре гинекологических заболеваний [58, 59, 306]. К воспалительным заболеваниям органов малого таза относятся воспаления эндометрия, маточных труб, яичников и тазовой брюшины. Изолированное воспаление этих отделов полового тракта в клинической практике встречается редко, так как все они связаны в единое функциональное целое [218]. При инфицировании эндометрия в основном поражается базальный слой. Выделяют острый и хронический эндометрит.

Острый эндометрит чаще всего возникает после абортов, родов или диагностических выскабливаний матки. Наличие крови, остатков децидуальной ткани, плодного яйца способствует росту микробной микрофлоры. Воспалительный процесс может захватывать прилегающую к эндометрию мышечную оболочку матки. Воспалительная реакция характеризуется нарушением микроциркуляции в пораженных тканях (расширение сосудов, замедление тока кррови, тромбы), выраженной экссудацией (серозно-гнойный, гнойный экссудат). Наблюдается отечность и нейтрофильная инфильтрация эндометрия. Острая стадия эндометрита продолжается 8-10 дней, при правильном лечении процесс заканчивается, реже переходит в подострую и хроническую форму [94; 210].

Хронический эндометрит – одно из часто встречающихся заболеваний органов малого таза, удельный вес которого колеблется в пределах 0,2-66,3%, составляя в среднем 14 % всех хронических воспалительных заболеваний [69; 36; 37; 119; 120]. Такой разброс частоты заболевания обусловлен низкой специфичностью и малой чувствительностью клинических диагностических приемов, отсутствием четко выработанной концепции построения морфологического диагноза, что сопровождается часто встречающимися ложноположительными и ложноотрицательными результатами [111; 158]. В настоящее время наблюдается тенденция к увеличению частоты хронического эндометрита [35; 88]. Эндометрит может стать начальным локализованным проявлением динамически развивающегося септического процесса [61]. В 80-90 % случаев заболевание встречается у женщин репродуктивного возраста, характеризуется длительным и малосимптомным течением [90; 101]. Особую роль это заболевание играет при дисфункции репродуктивной системы, вызывая нарушения менструального цикла и функции деторождения, неудачные попытки ЭКО, невынашивание беременности, осложнения течения беременности и родов. Известно, что 82,9 % женщин репродуктивного возраста с хроническим эндометритом бесплодны и не способны выносить ребенка. Кроме того, среди таких пациенток первичное бесплодие диагностируется в 24,8%, вторичное – 35,8%, с неудачными попытками ЭКО и переноса эмбриона – 59,9 % [36].

Тенденция к увеличению частоты хронического эндометрита в последнее десятилетие связана с высокой частотой абортов, применением «агрессивных» методов в гинекологии (различных внутриматочных манипуляций, активных хирургических методик лечения патологии шейки матки), бессимптомным течение некоторых инфекций передающихся половым путем [8; 48; 54; 176; 220].

Хронический эндометрит является клинически значимой нозологической формой с позиции репродуктологии и требует обязательной диагностики и лечения у женщин при использовании программ вспомогательных репродуктивных технологий [119; 88].

Эндометрий – многокомпонентная система, клеточные элементы которой находятся в сложной взаимосвязи. Это одна из самых динамичных тканей организма, для которой характерна постоянная и быстрая смена процессов пролиферации, дифференцировки и гибели клеток. Вероятно, основу многих проблем репродуктивного здоровья составляет нарушение регуляции процесса ангиогенеза в эндометрии и рецепторного ответа [306].

В настоящее время патогенез хронического эндометрита до конца не раскрыт. Существенная роль в развитии хронического эндометрита принадлежит нарушениям местного и общего иммунитета, манифестирующим воспалительным осложнениям после родов и абортов, инфекционным поражениям шейки матки и влагалища [120; 105].

Немаловажная роль принадлежит микроорганизмам, вызывающим хронический эндометрит. Как правило, это смешанная флора. Этиология эндометрита разнообразна: микооплазмы, кишечная палочка, энтерококки, протей, бактероиды, кандиды, трихомонады, генитальный герпес, цитомегаловирусы и другие [120]. Преобладание во влагалищном биотопе ассоциаций облигатно-анаэробных микроорганизмов, вирусов обусловливает малосимптомное течение воспалительного процесса в эндометрии, затрудняет своевременную диагностику и способствует хронизации заболевания. Хроническая активация клеточных и гуморальных провоспалительных реакций сопровождается повышенной выработкой цитокинов и других биологически активных веществ, обусловливающих в свою очередь нарушение микроциркуляции, экссудацию и отложения фибрина в строме эндометрия [243].

Невоспалительные заболевания органов малого таза также представляют собой факторы, объединяющую когорту женщин с нарушением репродуктивной функции. В отдельную группу выделено бесплодие эндокринного генеза.

Наиболее частой причиной эндокринного бесплодия, доля которого составляет около 20% в структуре всех его причин, является синдром поликистозных яичников (СПЯ) – наиболее распространенное эндокринное расстрой-

ство, выявляемое у 5-10% женщин репродуктивного возраста [235; 154; 45]. В России распространенность СПЯ составляет около 6% женщин. Данное заболевание следует диагностировать при наличии двух из трех критериев (олиго/ановуляция, гиперандрогения и поликистозная морфология яичников на УЗИ) после исключения других эндокринных нарушений, как это определено в 2003 году в Роттердаме в рамках согласительного совещания [267]. СПЯ – это многофакторное, распространенное эндокринное расстройство среди женщин репродуктивного возраста, связанное с неконтролируемым стероидогенезом [116; 154; 271]. Вместе с тем, есть мнение, что СПЯ ассоциирован с наличием хронического воспалительного процесса низкой степени выраженности. В пользу этого свидетельствует повышение у женщин с СПЯ ряда маркеров воспаления, таких как С-реактивный белок, интерлейкин-18, моноцитарный хемоаттрактантный белок-1 [175]. В большинстве случаев эта патология тесно связана с ожирением, инсулинорезистентностью, сахарным диабетом и сердечно-сосудистыми заболеваниями, что делает этот синдром проблемой общественного здравоохранения.

Аденомиоз является актуальной проблемой не только в репродуктологии, но и вносит свой «вклад» и в общественное здоровье, включая его экономический аспект. Симптомокомплекс аденомиоза включает меноррагии, боли в области малого таза, дисменорею, значительно снижая качество жизни женщины. Зачастую аденомиоз сочетается с лейомиомой матки, что иногда создает проблему дифференциальной диагностики [4; 287; 118].

В недавнем прошлом диагноз аденомиоза мог быть выставлен исключительно на основе результатов гистологического исследования послеоперационного материла после гистерэктомии. На сегодняшний день основным методом диагностики данного заболевания является УЗИ. Этот факт лежит в основе широкого диапазона частоты данной патологии в рамках популяций: от 5 до 70% [192], при этом средняя частота аденомиоза при гистерэктомии составляет примерно от 20 до 30%. По мнению некоторых авторов, существуют различия в распространенности аденомиоза в зависимости от расовых особенностей,

принадлежностью к этнической группе и отдельным регионам [304]. В последние годы многочисленные исследования посвящены роли иммунной системы в развитии аденомиоза [3; 150]. D. Hill и D. Anderson (1989) полагали, что возникновение эндометриоза (в том числе аденомиоза) возможно только у женщин с нарушениями локального и системного иммунитета. Однако имеющиеся в литературе сведения немногочисленны и довольно противоречивы.

Российскими учеными отмечается, что аденомиоз наиболее часто диагностируется у женщин позднего репродуктивного возраста и в пременопаузе, несколько реже – в постменопаузе [3].

Особое внимание к аденомиозу в настоящее время обращено в силу возможного снижения результативности программ ЭКО на фоне этого заболевания. Исследование влияния аденомиоза на частоту успеха ЭКО является спорным. Benaglia L. и соавторы [146] для определения того, нарушается ли имплантация эмбрионов у женщин с аденомиозом, провели проспективную оценку наличия аденомиоза и оказало ли это состояние влияние на имплантацию эмбрионов. Авторы сделали заключение, что частота имплантации не нарушается у женщин с бессимптомным аденомиозом, диагностированным при трансвагинальной сонографии.

Иного мнения придерживается Yazbeck C. (2015) с соавторами. Они утверждают, что отрицательное влияние на исход программы ЭКО уже наблюдалось, но объяснялось главным образом увеличением ранних спонтанных выкидышей. Авторы указывают на необходимость особого консультирования женщин с аденомиозом в ходе программы ЭКО. В работе Khan K.N. (2010) было показано, что, заметно уменьшая воспалительную реакцию и ангиогенез в ходе терапевтических мероприятий у женщин с аденомиозом, они добились регрессии этого заболевания.

Крупные метаанализы показывают достоверное ухудшение фертильности женщин на фоне аденомиоза. Было изучено число выкидышей на клиническую беременность, зарегистрированных в 7 исследованиях. Выкидыш наблюдался у

77/241 женщины с аденомиозом (31,9%) и у 97/687 у женщин без аденомиоза (14,1%). Относительный риск невынашивания варьировал от 0,57 (95% ДИ 0,15-2,17) до 18,00 (95% ДИ 4,08-79,47). Объединение результатов исследований дало общий показательно относительного риска невынашивания на фоне аденомиоза: ОР=2,12 (95% ДИ 1,20-3,75) [304].

Аденомиоз в литературе описывается как доброкачественная инвазия эндометрия в миометрий с эндометриальными железами и стромой, окруженной гипертрофическим и гиперпластическим миометрием. Заболевание может поражать до 20% женского населения и наиболее широко распространено среди неоднократно рожавших женщин перименопаузального возраста [277; 317].

Не утихают споры вокруг вопроса, влияет ли аденомиоз на имплантацию и результаты рождаемости. Авторы отмечают, что отрицательное влияние этой патологии на исход ЭКО связано с увеличением числа невыношенных беременностей и потерей плода на ранних сроках гестации [146]. Отмечается, что у женщин с аденомиозом снижена вероятность клинической беременности и имплантации и говорится о важности проведения скрининговых мер по выявлению аденомиоза перед началом программы ЭКО [304].

От 20 до 48% женщин с диагнозом бесплодие страдают от наружного генитального эндометриоза [46]. При этом нельзя назвать полностью вскрытыми причинно-следственные связи между НГЭ и бесплодием, поскольку среди ученых нет единого мнения о том, что первично в этой сопряженности [52; 173]. Причины, которыми объясняют наличие бесплодия при эндометриозе, практически с той же частотой встречаются и в популяции инфертильных женщин без эндометриоза.

Эндометриоз – широко распространенное гинекологическое заболевание, может привести к бесплодию в умеренных и тяжелых случаях. До сих пор неясно, связаны ли минимальные степени выраженности заболевания с бесплодием. В литературе обсуждалось несколько причин, объясняющих влияние легкого эндометриоза на фертильность, среди них овуляторная дисфункция, нарушение фол-

ликулогенеза, дефектная имплантация, снижение качества эмбриона, аномальная иммунологическая перитонеальная среда и проблемы с лютеиновой фазой. Несмотря на противоречие, связанное с этой темой, крупнейшее рандомизированное контролируемое исследование, опубликованное Marcoux et al. в 1997 году обнаружило статистически различную частоту беременности после резекции поверхностных повреждений брюшины эндометриоидными гетеротопиями. Ранние стадии эндометриоза играют немаловажное значение в генезе бесплодия и, скорее всего, отрицательно влияют на течение беременности. Дальнейшие исследования эндометриоза стадии I, особенно рандомизированных контролируемых исследований, все в стадии проведения. Использование репродуктивных технологий решило проблему эндометриоза и нарушений репродуктивной функции при нём лишь частично [277]. Изучаются различные аспекты НГЭ, в том числе воспалительный. Показано, что уровень маркеров воспаления у женщин с овариальным эндометриозом выше на стороне, пораженной заболеванием [247]. Есть мнение, что эндометриоз связан с субклиническим воспалением в брюшной полости. Предполагается, что на поздних стадиях заболевания провоспалительная активность достаточно сильна, чтобы индуцировать увеличение концентрации белков острой фазы воспаления [258].

1.3. Иммунологический дисбаланс и нарушение фертильности у женщин

К вопросу сопряженности иммунологического дисбаланса и нарушения фертильности ученые обращались еще в 90-х годах XX века. В одном из исследований, посвященных связи аутоантител и неудачного исхода программы ЭКО, указывалось, что антикардиолипин, волчаночный антикоагулянт, антидезоксирибонуклеиновая кислота и антиядерный иммуноглобулин, а также ревматоидный фактор и антитиреоидные антитела являются маркерами негативного исхода программы. Частота названных аутоантител в исследуемой группе составила 22,0% по сравнению с 2,5% в группе с успешным ЭКО и 7,5% в группе небере-

менных здоровых женщин. Ученые отметили, что наличие аутоантител – это одна из возможных причин неудачи в трех или более попыток ЭКО и переноса эмбрионов [195]. В конце 90-х были проведены исследования, демонстрирующие сопряженность иммунологического дисбаланса у пациенток с эндометриозом и первичным или вторичным бесплодием. В одном из них было показано, что отрицательные титры антиядерных ауто-IgG-антител были идентифицированы у 34% пациенток с первичным бесплодием и у 34% женщин с вторичным бесплодием и с историей потерей беременностей. Положительные титры антиядерных антител были обнаружены у 27% группы пациенток с эндометриозом; из них 30% имели первичное бесплодие и 24% – вторичное. Средние показатели тира аутоантител были значительно выше контрольных [232].

В дальнейшем устойчивым стал термин «иммунологического бесплодия». В частности, обнаружение иммобилизующих сперму антител у женщин признано значимым для диагностики иммунологического бесплодия. Бесплодные женщины, у которых были обнаружены антитела к сперматозоидам, оказывались невосприимчивы к таким методам лечения бесплодия как временное половое сношение или внутриматочная инсеминация, поскольку антитела, секретируемые в женском репродуктивном тракте, нарушали прохождение спермы, ингибировали оплодотворение и предотвращали нормальные процессы после оплодотворения [282].

По мере изучения патогенеза заболеваний, вносящих значительный вклад в нарушение фертильности, связь иммунологического дисбаланса и бесплодия становилась более отчетливой. Например, аденомиоз, состояние, обычно связанное с множественной беременностью, не всегда рассматривалось как причина бесплодия. Однако в ряде исследований сообщалось о снижении частоты имплантации при ЭКО и связи с выкидышем, что указывает на вероятность нарушения имплантации на фоне аденомиоза. Авторы, заинтересовавшись этой гипотезой, ретроспективно рассмотрели клинические данные и результаты лабораторных исследований, включавшие иммуногистохимическое исследование

биопсии эндометрия поздней лютеиновой фазы у 64 женщин с имплантационной недостаточностью и скринированных ранее на наличие аденомиоза с помощью тазовой МРТ. Наличие диффузного либо узлового типа аденомиоза ассоциировалось с выраженным увеличением плотности макрофагов и естественных киллерных клеток в строме эндометрия по сравнению с женщинами с легким фокальным аденомиозом или без заболевания. Эти результаты указывают на иммунологический механизм, лежащий в основе снижения частоты успешной имплантации при аденомиозе. Резонным будет предположить, что среди продуктов действия клеток врожденного иммунитета могут быть найдены предикторы отрицательного исхода программы ЭКО [296].

В пользу роли клеточного звена системы врожденного иммунитета говорит исследование Templer S. и Sacks G. A. [288] о роли естественных киллеров (NK) в формировании репродуктивной недостаточности. Авторы утверждают, что значительное число женщин с репродуктивной недостаточностью имеют аномальные параметры NK-клеток, отражающие высокую иммунологическую активность. Последствия чрезмерной активности NK-клеток и попытки ее подавить еще не изучены. В литературе показано, что, хотя повышенная активность NK-клеток не может способствовать размножению, она может быть полезной для реализации ответа организма на такие заболевания, как рак и инфекция. Авторы также резюмируют, что вопрос о том, являются ли повышенные уровни NK-клеток причиной бесплодия и потери беременности, и являются ли они потенциальной целью терапии для улучшения репродуктивных результатов, пока не имеет окончательного ответа и является темой для изучения репродуктологами [288].

Иммунологические маркеры связывают в единую патогенетическую картину воспаление, оксидативный стресс и снижение частоты беременности. Было проведено исследование четырех иммунологических биомаркеров, так называемая IMMUNOX-панель, состоящая из ФНО-α, гликоделина (GLY), общего окислительного статуса (TOS) и токсического фактора активности комплемента

(CATF) с точки зрения сопоставления общей заболеваемости популяции бесплодных женщин и общей частотой беременностей. В этом исследовании рассматривали женщину IMMUNOX-позитивной, если хотя бы один из 4 маркеров показывал значения, выходящие за рамки физиологического диапазона. В результате было выявлено, что 19,8%, 18,6%, 25,6% и 47,7% были IMMUNOX-позитивными для GLY, TNF-α, TOS и CATF соответственно. Общая заболеваемость пациентов с IMMUNOX-положительным состоянием, по крайней мере с одним положительным показателем биомаркера, составила 70,9%. Впоследствии было проанализировано соотношение между позитивностью панели IMMUNOX и уровнем беременности. Частота беременности для IMMUNOX-положительных пациенток составила 2,9%, тогда как этот показатель оказался равным 36,6% в подгруппе IMMUNOX-отрицательных женщин. Авторы предполагают, что такой диагностический подход может быть полезен для прогнозирования и выявления женщин с более высоким риском неудачного цикла ЭКО [237].

1.4. Маркеры исхода программ экстракорпорального оплодотворения в числе иммунологических показателей

В течение длительного времени значительное внимание ученых и практических специалистов различных медицинских направлений привлекают биохимические и иммунологические маркеры (биомаркеры) в наблюдениях за динамикой того или иного заболевания [311]. Выявление биомаркеров, пригодных для ранней диагностики, мониторинга и прогнозирования результата ВРТ, является одной из насущных задач репродуктологии. В одном из определений биомаркерами обозначаются молекулы, специфично отражающие отклонение от нормы, что может быть использовано в клинической практике [307]. Исторически сложилось представление о белковых биомаркерах как о молекулярных предикторах отрицательного исхода ЭКО [312; 203; 248].

Однако, до сих пор неясно, будут ли биомаркеры полезны для идентификации индивидуальных факторов риска, в частности, при наличии диагностированных патологических процессов, сопряженных с нарушением репродуктивной функции у женщин. Известно, что воспалительные заболевания ОМТ сопряжены нарушением фертильности, а также невоспалительные заболевания имеют в своем патогенезе связь с сигнальными путями воспаления, поэтому представляется актуальным выявление сопряженности изменений молекулярных маркеров воспаления на фоне реализации программ ВРТ. Настоящие биомаркеры включают маркеры воздействия факторов внешней среды, маркеры предрасположенности к развитию заболевания (дефицит α1-протеиназного ингибитора), а также маркеры патофизиологических изменений, связанных с данным заболеванием. Имеются сведения о том, что микроорганизмы поддерживают хроническое воспаление не столько непосредственно, сколько опосредованно через активацию основных клеток-эффекторов: нейтрофилов, макрофагов, лимфоцитов, продуцирующих целый спектр биологически активных веществ: ФНО-α, интерлейкин-8, α2-макроглобулин и др. [207; 294]. Общий подход к пониманию роли указанных биомаркеров в заболеваниях, коррелирующих с нарушением репродуктивной функции, показан в ряде работ, предполагающих определение в менструальной крови уровни ФНО-α и ИЛ-6 для скрининговой диагностики хронического эндометрита [295].

В настоящее время имеется единичная информация о способности различных биомаркеров белковой природы служить идентификатором потенциала имплантации и благоприятного завершения беременности. В частности, для аполипопротеина А-1 созданы алгоритмы, позволяющие различать эмбрионов с высокой и низкой имплантационной компетенцией на стадии культуры клеток [248].

Однако, не в меньшей степени актуален поиск биомаркеров в биологических средах, играющих ключевые роли на этапах имплантации эмбриона. Есть мнение, что исход имплантации и в целом успех ЭКО может определять ка-

чественный состав внутриматочной жидкости, которая включает собственно эндометриальные, а также сывороточного происхождения белки, иммуноглобулины, цитокины, растворимые рецепторы, факторы роста и т.д. [226; 273; 274]. Изучение состава внутриматочной жидкости представляет интерес, как для диагностики патологии эндометрия, так и в оценке готовности эндометрия к имплантации эмбриона.

Рассматривая совокупность биомаркеров в контексте ответа на инфекционный процесс, нужно учитывать, что длительная стимуляция иммунокомпетентных клеток эндометрия антигенами приводит к декомпенсации регуляторных механизмов локального гомеостаза, что поддерживает персистенцию инфекционного процесса [189; 174].

Наиважнейшими клетками, участвующими в данном процессе, являются: полиморфоядерные лейкоциты, макрофаги, мезотелиальные клетки и фибрин. После механического повреждения макрофаги проявляют повышенную фагоцитарную, «дыхательную» и секреторную активность и через некоторое время становятся основными клеточными компонентами популяции лейкоцитов. Макрофаги также способствуют миграции новых мезотелиальных клеток к поврежденной поверхности. Именно эти новые клетки формируют сначала небольшие «островки» на поврежденной поверхности, а затем и тонкие пласты из мезотелиальных клеток [89; 165].

Экспериментально доказано влияние процесса формирования сосудов (ангиогенез) при формировании спаек. Изучено несколько механизмов, объясняющих влияние сосудисто-эндотелиального фактора (VEGF) на активацию ангиогенеза путем взаимодействия с его рецептором [161; 165].

В настоящее время большую роль в воспалительном процессе, происходящем в эндометрии, ученые отводят рецепторам иммунокомпетентных клеток, цитокинам, факторам роста и компонентам экстрацеллюлярного матрикса [28; 36; 12; 115; 39]. Среди наиболее важных и изученных для диагностики хронического эндометрита иммуногистохимических маркеров выделяют: маркер проли-

феративной активности Ki-67; маркер апотоза – сурвивин, Bcl-2; факторы роста – фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), трансформирующий фактор роста b1 (ТФР-b1); компоненты внеклеточного матрикса – лизилоксидазу (LOX), фибронектин и другие [28; 115].

Известно, что гиперплазия эндометрия без атипии характеризуется снижением экспрессии маркера пролиферации Ki-67, VEGF. При этом синтез компонентов внеклеточного матрикса равномерный, уровень продукции и накопления белка ингибитора апоптоза снижается, а ТФР-b1 – повышается [64; 107; 115]. При сочетании простой гиперплазии эндометрия с хроническим эндометритом и при атипической гиперплазии эндометрия отмечается высокая экспрессия Ki-67, VEGF, ТФР-b1, LOX, фибринектина, а также гиперпродукция сурвивина и Bcl-2 [13; 100; 113; 115].

Иммунологические изменения в эндометрии, такие как лимфоцитарная инфильтрация, повышение содержания плазматических клеток и иммуноглобулинов являются в ряде случаев самостоятельной причиной бесплодия и невынашивания беременности [295].

Иммуногистохимический анализ лимфоидных клеток пациенток с хроническим эндометритом показал снижение количества CD4-клеток и увеличение CD8-лимфоцитов. Кроме того, в этой группе наблюдалась гиперпродукция IgG и в меньшей степени IgM. Снижалось количество IgA-плазмоцитов, повышался уровень макрофагов и нейтрофильных гранулоцитов [28; 39].

Макрофаги – наиболее многочисленный тип клеток в перитонеальной жидкости. В норме их содержание достигает 85 % от общего содержания лейкоцитов. Известно, что концентрация макрофагов варьирует в зависимости от стадии менструального цикла и наиболее высока во время менструаций. При воспалительных процессах эндометрия количество макрофагов в перитонеальной полости матки еще больше возрастает [16].

Благодаря действию хемоаттрактантов (моноцитарных хемотактических протеинов MCP-1, MCP-3), гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF), молекул, экспрессируемых и секретируемых нормальными Т-клетками, регулирующими их активность (regulatedonactivation, normal T expressedandsecreted (RANTES), макрофагальных воспалительных протеинов MIP-1α и MIP-1β, макрофаги привлекаются в очаги воспаления и активируются там, высвобождая в перитонеальную жидкость целый ряд цитокинов [16; 44]. С функционированием макрофагального звена связан целый ряд цитокинов: TNFα, семейство IL-1, IL-6, IL-8, семейство IL-10, семейство IL-12, IL-15, TGFβ, IFNγ, IL-1Ra, FGF-2, MCP-1, MIP-1β и др. [262; 263].

Известно, что IL-1 и TNF-α продуцируются макрофагами и являются важнейшими регуляторами воспалительных процессов. Совокупность этих цитокинов обеспечивает неспецифическую антибактериальную, противовирусную и противоопухолевую защиту организма [16]. В работе Ахметовой Е.С. и др. [12] показано увеличение TNF-α в аспиратах из полости матки в 2,9 раз у пациенток с простыми и сложными гиперплазиями эндометрия, в 5 раз – при атипичной гиперплазии эндометрия и 87,8 раза при раке эндометрия по сравнению со здоровыми женщинами. Кроме того, в эндометрии повышается уровень ИЛ-2 в 30 раз и ИЛ-1β в 4,5 раза.

Christoffersen M. et al. [167] показали, что развитие бактериального эндометрита приводит к экспрессии IL-1, β IL-6. Также, уровень провоспалительных цитокинов увеличивается в менструальных выделениях у женщин с хроническим эндометритом [295].

Кроме того, результаты некоторых исследований показывают, что цитокины ИЛ-6, ИЛ-1β, ФНО-α, сопровождающие любое воспаление, в частности воспалительные процессы женских половых органов, принимают участие и в развитии неопластических изменений, таких как рак эндометрия. При этом преобладает местная продукция цитокинов в ткани. Можно предположить, что воздействие цитокинов на эндометрий является механизмом, способствующим тому, что воспалительные заболевания органов малого таза являются фактором риска в развитии рака тела матки [32].

Предполагается, что изменение цитокинового профиля является одним из важнейших факторов развития и прогрессии эндометрита. В частности, это может объяснять тот факт, что, несмотря на увеличение количества и активацию макрофагов в перитонеальной полости, их цитотоксическая активность значительно ослабевает. Такая закономерность была отмечена как для перитонеальных макрофагов пациентов по отношению к аутологичным эутопическим клеткам эндометрия (по сравнению с моноцитами крови), так и для моноцитов крови по отношению к эктопическим клеткам эндометрия. Причем последние были полностью резистентны к перитонеальным макрофагам [44].

Известно, что воспаление эндометрия сопровождается развитием фиброза [315], что сопровождается повышением цитокинов TGB-β и CTGF, осуществляющих провоспалительную функцию: стимуляцию миграции фибробластов, синтез матриксных белков, апоптоз эпителиальных клеток, ингибирование разрушения протеаз [249; 263; 264].

Как отмечает Kitaya K. [220], в эндометрии женщин с ХЭ преобладают стромальные клетки с повышенной плотностью иммуноглобулинов, определяемых иммуногистохимически. При этом указывается, что плотность стромальных клеток IgG^+ была значительно выше, чем любых других клеток, позитивных в отношении иммуноглобулинов других подклассов. В единичных работах показано, что содержание цитокинов в яичниках, эндометрии может быть информативным предиктором эффективности экстракорпорального оплодотворения [152] и его осложнений [133].

Обоснованность взгляда на прогнозирование результата программы ЭКО с использованием иммунологических параметров отвечает современным взглядам на патогенез и невоспалительных заболеваний, ассоциированных с нарушением репродуктивной функции. Если рассматривать СПЯ как одну из причин эндокринного бесплодия, необходимо учитывать, что эндокринная система играет роль в контроле иммунологической реактивности организма. С другой стороны, приводятся многочисленные аргументы в пользу нисходящего влияния системы

иммунитета в целом и отдельных ее эффекторов на эндокринные функции [116; 166]. Данные исследований доказывают важную роль цитокинов в регуляции ряда физиологических процессов (сон, овуляция и других) [126; 231]. Показана вероятность наличия андроген-продуцирующего фактора (АПФ), имеющего иммунный генез и участвующего в поддержании нормального уровня овариального резерва у женщин. Существование АПФ свидетельствует о наличии еще неизвестной функциональной надпочечниковой аутоиммунной системы [271]. В литературе встречаются данные, что развитие СПЯ сопровождается повышением синтеза провоспалительных цитокинов, в частности, фактора некроза опухоли альфа (ФНО-α) и интерлейкина-6 (ИЛ-6). Гиперсекреция паракринных факторов приводит к дефициту фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и гиперсекреции лютеинизирующего гормона (ЛГ), что в свою очередь, приводит к прекращению развития фолликулов на антральной стадии и формированию типичных увеличенных яичников с множеством мелких фолликулов [267; 116]. Кроме того, повышенный уровень названных цитокинов описан при исследовании факторов привычного невынашивания беременности [235; 137].

Патогенез СПЯ по-прежнему остается неясным. Существуют общепринятые теории: 1) нарушение стероидогенеза в яичниках со снижением ароматазной активности и гиперандрогенией; 2) диссоциация дофаминергических и опиоидергических механизмов; 3) повреждение гипоталамо-гипофизарной системы; 4) первичная инсулинорезистентность; 5) врожденные факторы и даже влияние окружающей среды, существуют и другие гипотезы [116]. Ряд авторов полагают, что в патогенезе заболевания играют роль провоспалительные цитокины, так как в крови тучных подростков с СПЯ [255], а также пациенток с СПЯ [126; 224] выявлены повышенные концентрации ФНО-α, ИЛ-6 и сосудисто-эндотелиального фактора роста – VEGF [166; 231; 321]. По мнению других, уровень ФНО-α и ИЛ-6 не связан с ожирением и СПЯ, в то время как содержание С-реактивного белка повышено, что свидетельствует об усилении воспалительной активности и ее возможном влиянии на фолликулогенез [272]. Повышение уров-

ней некоторых маркеров воспаления (интерлейкин-18, моноцитарный хемоаттрактантный белок-1 и СРБ) у женщин с СПЯ выявлено и другими авторами [175; 179]. Кроме того, ряд исследователей полагают, что повышенные уровни белковых маркеров, ассоциированных с хроническим воспалением, являются предикторами отрицательного исхода ЭКО [312; 203; 248; 159].

Результаты ряда исследований показывают, что ткань яичников при СПЯ оказывает влияние на уровни цитокинов путем изменения экспрессии генов, детерминирующих синтез этих молекул. В частности, при СПЯ в состоянии повышенной экспрессии пребывают гены фактора роста DUSP-1 и фактора коагуляции TFPI2, которые ассоциированы с воспалением и вовлечены в патофизиологию развития СПЯ [321]. Также отмечено, что СПЯ изменяет экспрессию толл-подобных рецепторов 4 и 9 типов в гранулезных клетках, клетках теки и кучевых клетках ооцитов, что, вероятно, также может быть причиной изменения уровней цитокинов, в том числе, ассоциированных с неблагоприятным исходом развития беременности [175].

Наружный генитальный эндометриоз (НГЭ) также относят к заболеваниям, ассоциированным с бесплодием. Поскольку актуальность поиска подходов к лечению бесплодия неизменно высока на протяжении последних десятилетий и не имеет тенденции к снижению, обращается внимание на процессы, позволяющие повысить эффективность вспомогательных репродуктивных технологий у женщин с НГЭ [59; 78; 52; 244; 190]. Доказано существование единичных полиморфизмов в гене, детерминирующем выработку антимюллерова гормона, сопровождающих инфертильность при эндометриозе [171]. Кроме того, считается, что НГЭ сопряжен с изменением продукции цитокинов и ростовых факторов [4; 215]. Пристально изучается цитокиновый профиль для прогнозирования качества ооцитов при эндометриозе. Уровни IL-12, IL-8 и адреномедуллина могут служить маркерами качества эмбрионов и ооцитов у пациенток с эндометриозом, подвергающихся ЭКО. Есть данные об ассоциации снижения фертильности, НГЭ и ФНО, а также ИЛ-8 и ИЛ-6 [318].

С целью увеличения управляемости НГЭ и повышения качества прогнозирования результативности его лечения изучены различные звенья регуляторных систем организма, в частности, охарактеризованы связанные с эндометриозом иммунные клеточные инфильтраты, включающие различные субпопуляции иммунных клеток, наблюдаемых при всех формах эндометриоза, что предполагает наличие острых иммунологических реакций в микроокружении фокусов поражения при эндометриозе [275].

Показано, что инфильтраты включают макрофаги, способные продуцировать провоспалительные цитокины, такие как ФНО-α и ИЛ-1 [127]. Тремелен К. и др. сообщали о женщинах с тяжелым аденомиозом, которые после неудачной имплантации имеют значительно большую плотность стромальных макрофагов, чем контрольная группа женщин без диагноза аденомиоз [296]. При аденомиозе показано увеличение экспрессии м-РНК IL-6 в соматогенных клетках эндометриальных макрофагов [316]. Wang F. и соавторы в иммуногистохимическом исследовании показали [309], что интенсивность окрашивания на IL-10 у женщин с аденомиозом выше в эпителиальных клетках как эутопического, так и эктопического эндометрия, чем в контрольной группе женщин без аденомиоза, что указывает на наличие аномального воспалительного ответа, снижающего фертильность [127; 316; 309; 296].

Таким образом, анализ литературы демонстрирует, что изменения уровня продукции вышеописанных биомаркеров могут служить дополнительным критерием диагностики заболеваний инфертильных пациенток, прибегающих к решению проблемы деторождения путем применения методов ЭКО. Однако, необходимо продолжать разработку вопросов патогенеза, а также методов диагностики и терапевтических подходов при воспалительных и невоспалительных заболеваниях органов малого таза, что диктуется медицинской и социальной значимостью.

1.5. Возможности программ экстракорпорального оплодотворения при переносе в полость матки свежего эмбриона или криоциклов в решении задач ВРТ

В настоящее время одной из важнейших задач ВРТ является повышение их результативности. По данным Официального регистра РАРЧ за 2016 год, беременностью при ЭКО с собственными ооцитами завершилось не более 38,7 % протоколов, родами – не более 26,1%. Эти данные получены при анализе наступивших в результате применения методов ЭКО беременностей по отношению к общему числу перенесенных свежих эмбрионов (с использованием собственных ооцитов). При переносе размороженных эмбрионов наблюдалась тенденция к увеличению результативности программы ЭКО: процент наступления беременности равнялся 40%.

В мире актуальной для обсуждения темой является повышение эффективности ЭКО с использованием криопротоколов. Причем уже в 90-х годах прошлого века появлялись сообщения о перспективах использования криоконсервированных эмбрионов. В когортном исследовании 398 пар было показано, что криоконсервация эмбрионов повышает результативность программы ЭКО в 1-3 циклах до 50% против использования эмбрионов в свежем цикле [148].

При этом в литературе не найдено критериев отбора пациенток для «свежих» циклов и криоконсерваций эмбрионов, хотя подчеркивается, что криоконсервация бластоцист является жизнеспособным вариантом для пациенток всех возрастов и дополняет культуру и перенос нативных бластоцист. В некоторых исследованиях отмечается, что бластоцисты хорошего качества при замораживании на 5-е и 6-е сутки культивирования дают сопоставимые с использованием «свежих циклов» результаты программы ЭКО [144].

В резюме кумулятивного мета-анализа 26 исследований с применением криоциклов также подчеркивается, что замораживание эмбрионов должно производиться выборочно, в идеале с формулированием показаний для каждого конкретного случая, и поиск адекватных критериев выбора ведения протокола ЭКО в пользу криоцикла является одной из важных задач для репродуктолога [233].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, часто ведущими причинами бесплодия являются перенесенные воспалительные или невоспалительные заболевания репродуктивных органов, как правило длящиеся несколько лет и перешедшие в хроническую форму. Ведущую роль в развитии воспалительного процесса ученые отводят рецепторам иммунокомпетентных клеток и антителам, цитокинам, факторам роста, компонентам экстрацеллюлярного матрикса и острофазовым белкам [28; 36; 12; 115]. Заболевания невоспалительной природы также сопряжены с вовлечением регуляторных молекул сигнальных путей: транспортных белков, цитокинов, гормонов [273; 248; 159].

Цитокины секретируются различными клетками и участвуют в регуляции роста, дифференцировки и функционирования большинства клеточных типов [123; 214]. Общепризнанным считается, что повышение продукции цитокинов сопровождается параллельной активацией нейровегетативной системы. Участие цитокинов в нейровегетативной регуляции обнаружено на фоне ряда состояний (бактериальная и вирусная инфекция, тканевой стресс, острый физический, психологический стресс).

Изменения в иммунном статусе женщины при хронических заболеваниях органов репродуктивной системы диктуют необходимость назначения иммуномодуляторов, иммуностимуляторов, адаптогенов [61; 73]. Наиболее перспективным направлением является разработка и дальнейшее включение в схему лечения воспалительных заболеваний новых лекарственных препаратов на основе цитокинов и иных молекул, имеющих выявленную биомишень в реализации фармакологичского эффекта. Известно, что использование таких фармацевтических препаратов приводит к снижению продолжительности лечения и частоты рецидивов [117].

В настоящее время ни один из существующих методов лечения и профилактики бесплодия не является достаточно эффективным. Вместе с тем, стандартизация процедуры и выбор типа ВРТ может иметь значение для повышения ре-

зультативности метода. Улучшение диагностических и терапевтических мероприятий лежит в области проведения дальнейших исследований патофизиологии заболеваний органов малого таза. В том числе на уровне иммунологических маркеров развития заболевания. На основе новых полученных данных возможно создание технологии комплексной коррекции репродуктивных нарушений, особенно с целью повышения эффективности и результативности вспомогательных репродуктивных технологий. В основу такой технологии должна лечь научно-обоснованная программа, предполагающая использование знаний о молекулярных эффекторах иммунитета, о взаимосвязи их уровней и исхода программы ЭКО, обоснование и разработку которой предполагает настоящее исследование.

Глава 2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящая работа является результатом исследования, проводившегося на протяжении 2013-2018 гг. и предусматривающего выявление патогенетических иммунорегуляторных механизмов, лежащих в основе инфертильности женщин при бесплодии различного генеза, а также выявление иммунологических и биохимических предикторов неудачного исхода программ ЭКО и развития «поздней» формы синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ) при переносе в полость матки «нативного» эмбриона. С этой целью, учитывая основные причины инфертильности, были сформированы группы исследования: бесплодие, связанное с мужским фактором, а также трубно-перитонеальное; эндокринное на фоне СПЯ и эндометриоз-ассоциированное бесплодие при НГЭ 1-2 ст. У всех женщин в этих группах определялись острофазовые белки (альфа2-макроглобулин – α2-МГ; альфа1-антитрипсин – α1-АТ; ассоциированный с беременностью α2-гликопротеин – АБГ; лактоферрин – ЛФ;), цитокины (фактор некроза опухолей-альфа – ФНО-α; интерлейкин-6 – ИЛ-6; интерлейкин-8 – ИЛ-8; интерферон- γ – ИФН-γ, фактор роста эндотелия сосудов – VEGF), общий белок – ОБ и альбумин – АЛБ в составе сыворотки крови перед вступлением в программу ЭКО и в динамике в день трансвагинальной пункции фолликулов (ТВП). Кроме того, в день ТВП производился забор и исследование фолликулярной жидкости. Пациенткам всех групп проводился сравнительный анализ исследованных показателей с группой здоровых женщин с мужским фактором бесплодия (группа контроля) с целью определения возможных иммунологических маркеров изучаемых заболеваний; а также динамики изучаемых сывороточных показателей в каждой из нозологических групп до вступления в программу ЭКО и в день ТВП с целью выявления иммунологических сдвигов в ответ на индукцию суперовуляции и введение

триггера овуляции в программе ЭКО, а также исследование данных показателей в составе фолликулярной жидкости в день ТВП для оценки их влияния на исход программы ЭКО при селективном переносе в полость матки нативного эмбриона.

Кроме того, нами проведен анализ 3969 циклов ЭКО за 2010-2015 гг., на основе которого выявлены клинические предикторы неудачных попыток.

На основе выявленных клинических и иммунологических предикторов отрицательного исхода программы ЭКО с помощью логистической регрессии была построена математическая модель результативности программы ЭКО, позволяющая предсказать вероятность отрицательного исхода данной программы при переносе в полость матки «нативного» эмбриона с вероятностью 80-100%. Кроме того, в группе пациенток с эндокринным бесплодием определены иммунологические предикторы риска развития «поздней» формы СГЯ. Выявление данных предикторов служит показанием к криоконсервации эмбрионов и отсроченного их переноса в полость матки в более благоприятных условиях после нивелирования иммунного дисбаланса в организме женщины, вызванного индукцией суперовуляции и введением овуляторной дозы хорионического гонадотропина человека. Также, у всех пациенток групп риска с неудавшейся имплантацией в лечебном цикле через 2-3 месяца выполнен криоперенос ранее витрифицированных эмбрионов и проведен сравнительный анализ частоты наступления беременности, демонстрирующий более высокую частоту наступления беременности в криоцикле, после нивелирования иммунологических сдвигов, вызванных стимуляцией суперовуляции.

Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

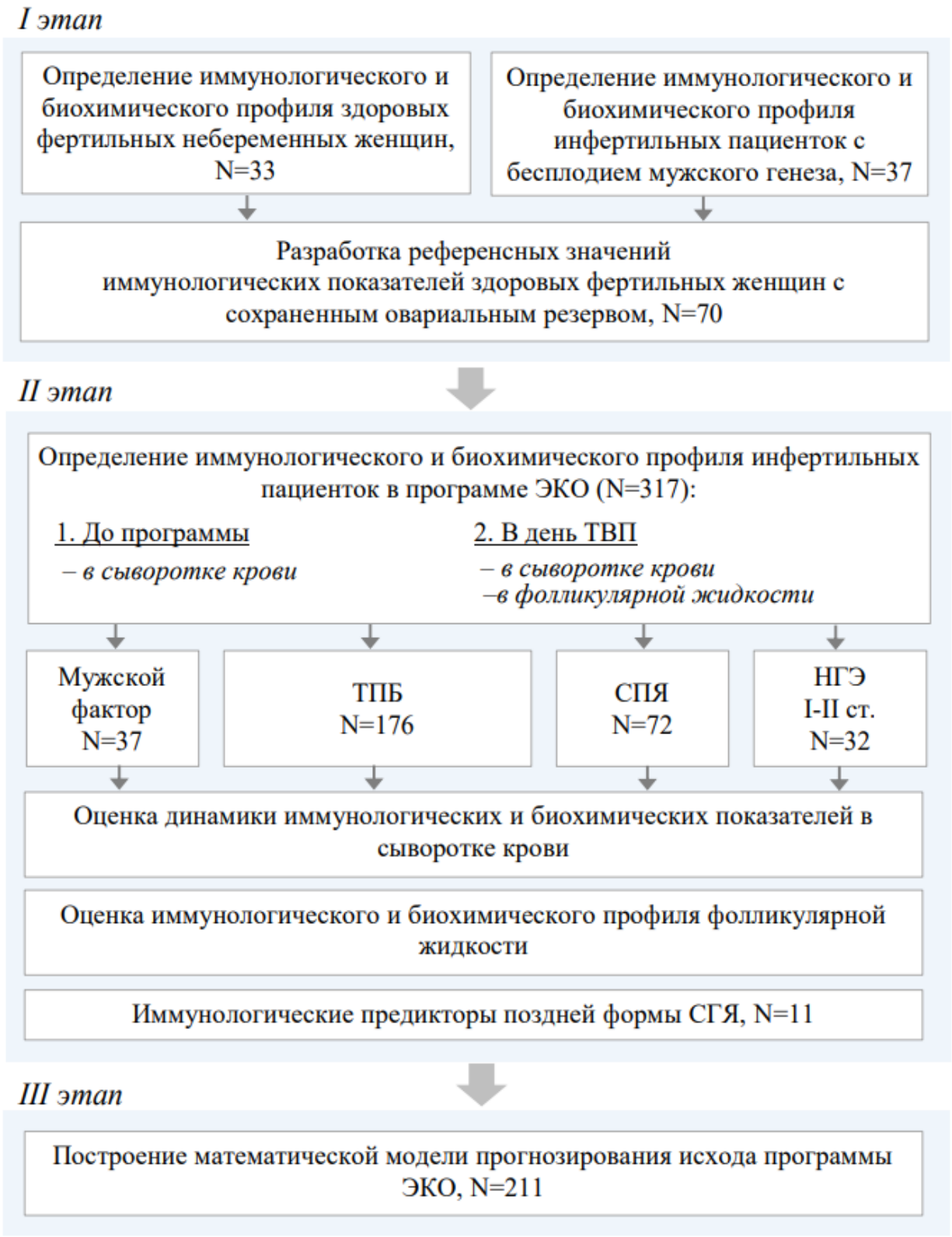


Рисунок 1 – Дизайн исследования

2.1. Характеристика групп проспективного исследования

Для решения поставленных задач в период с 2013 по 2018 гг. были обследованы и пролечены в программе ЭКО 317 инфертильных пациентки с разными причинами бесплодия. Группы исследования были сформированы с учетом основных причин женского бесплодия с соблюдением сопоставимости по клиническим факторам, оказывающих влияние на результативность программ ЭКО, полученных в ходе ретроспективного исследования. В исследование вошли пациентки, страдающие бесплодием более одного года, в возрасте до 35 лет, с одной определенной причиной бесплодия для исключения искажающего влияния сочетания факторов. Индукция суперовуляции проводилась по короткому протоколу с антагонистами ГнРГ, назначаемыми при диаметре лидирующего фолликула 14 мм. Стартовую дозу ФСГ (от 75 до 225 МЕ/сут) определяли с учетом рисков гипер- или гипоэргического ответа яичников. Контроль индуцированного фолликулогенеза осуществляли посредством УЗИ с интервалом 5-2 дня [71]. Выбор триггера финального созревания ооцитов при достижении лидирующими фолликулами диаметра 18-20 мм осуществляли в зависимости от количества растущих фолликулов (до 19 включительно – человеческим хорионическим гонадотропином (хГЧ) в дозе 5-10 тыс. МЕ; 20 и более – агонистом гонадотропин-рилизинг-гормона (а-ГнРГ): трипторелином 0,2 мг подкожно (Диферелин, IPSEN). Трансвагинальную пункцию всех фолликулов выполняли через 35-36 часов после введения триггера финального созревания ооцитов. Полученные ооциты в основных группах оплодотворялись методом ЭКО, в контрольной группе (при мужском факторе бесплодия) – ИКСИ. Культивирование эмбрионов проводилось в среде «Cook», селективный перенос не более 2 бластоцист 3-5 класса качества – на 5-е сутки культивирования, поддержку лютеиновой фазы цикла осуществляли в соответствии со стандартными рекомендациями [53]. Положительным результатом считали факт клинической маточной беременности по результатам УЗИ через 21-28 дней после эмбриотрасфера.

Необходимый объем выборки рассчитывался на основе пилотного исследования женщин с трубно-перитонеальным бесплодием (ТПБ), которым измерялся уровень лактоферрина в сыворотке крови. Вся группа ТПБ была разделена на 2 подгруппы в зависимости от степени выраженности перенесенного воспаления и наличия лабораторных признаков сохраняющейся активности субклинического воспаления: 1 подгруппу составили 94 пациентки, иммунологические и биохимические параметры которых были сопоставимы с показателями группы контроля, во 2-ю подгруппу вошли 84 пациентки с повышенными значениями ФНО-α и α1-АТ, отражающими наличие активности субклинического воспаления. Среднее значение уровня лактоферрина в сыворотке крови у женщин 1-ой подгруппы составило 0,85, во 2-ой – 1,2. Стандартная ошибка выборки 0,41. Необходимый минимальный объем выборки определялся по формуле [Charan, Jaykaran, and Tamoghna Biswas. "How to Calculate Sample Size for Different Study Designs in Medical Research?" *Indian Journal of Psychological Medicine* 35.2 (2013): 121–126. *PMC*. Web. 25 May 2017].

$$N = \frac{2SD^2\left(Z_{\frac{\alpha}{2}} + Z_{\beta}\right)^2}{d^2} \qquad (1)$$

SD – стандартное отклонение

$Z_{\alpha/2}$ – для ошибки I-го рода 5% составляет 1,96

Z_{β} – для мощности исследования 80% составляет 0,842

d – размер эффекта, определяется как разница между средними в группах.

Рассчитанный по этой формуле минимально необходимый размер выборки для каждой группы равен 23. Остальные группы исследования подбирались таким образом, чтобы их размер был не меньше 23.

Первую группу составили 37 здоровых женщин с первичным и вторичным бесплодием мужского генеза в возрасте от 22 до 34 лет. Средний возраст пациенток этой группы равнялся 32,6±4,23 г. [95% ДИ 32,0-33,8].

Вторая группа представлена 176 пациентками с трубно-перитонеальным бесплодием (ТПБ), которые в зависимости от выраженности воспалительно-деструктивных изменений в органах малого таза и наличия лабораторных при-

знаков субклинического воспаления были разделены на 2 подгруппы. Подгруппу 1 (с минимальными изменениями маточных труб после операций по поводу трубных беременностей, аппендэктомии и отсутствием лабораторных признаков субклинического воспаления) составили 94 пациентки в возрасте от 23 до 35 лет, средний возраст равнялся 32,1±4,61г. [95% ДИ – 31,1-33,1]. Подгруппу 2 составили 82 женщины в возрасте 24-35 лет, средний возраст 33,4±4,60 г. [95% ДИ 32,3-34,6]. Анамнез пациенток данной подгруппы был отягощен более выраженным перенесенным воспалением органов малого таза с исходом в адгезивный пельвиоперитонит, гидро- или сактосальпинкс, хронический эндометрит, а лабораторные показатели свидетельствовали о наличии остаточных явлений субклинического воспаления, проявляющегося повышенными значениями ФНО-α и α1-АТ в сыворотке крови. Трубное бесплодие диагностировалось на основании данных контрастной эхосальпингоскопии, метросальпингографии и/или эндоскопической хромосальпингоскопии. Верификация диагноза ХЭ проводилась на основании данных УЗИ, допплерографии, гистероскопии, а также морфологического исследования биоптатов эндометрия.

Третья группа исследования включала в себя женщин в возрасте от 24 до 35 лет с подтвержденным диагнозом синдрома поликистозных яичников (СПЯ). Средний возраст в группе составил 31,9±4,46 лет [95% ДИ – 30,3-33,6]. Для постановки диагноза служили критерии, утвержденные Роттердамским консенсусом в 2003 г. Численность группы составляла 72 человека. В ходе индукции суперовуляции, исходя из количественных показателей фолликулогенеза, пациентки данной группы разделились на две подгруппы: при росте до 19 фолликулов включительно в качестве триггера финального созревании использовался хорионический гонадотропин человека 6500 ЕД и лечебный цикл заканчивался переносом «нативного» эмбриона в полость матки. При росте 20 и более фолликулов проводилась замена триггера на агонист-Гн-РГ (трипторелин 0,2 мг подкожно – Диферелин, IPSEN) и криоконсервация всех полученных эмбрионов на 5-6 сутки культивирования с целью профилактики синдрома гиперстимуляции

яичников (СГЯ). Кроме того, отдельную подгруппу составили 11 забеременевших в программе ЭКО пациенток с СПЯ с развившейся впоследствии «поздней» формой синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ).

Четвертая группа включала в себя 32 инфертильные пациентки в возрасте 24-35 лет с подтвержденным диагнозом наружного генитального эндометриоза 1-2 степени. Средний возраст в данной группе составил 32,7±4,25 г. [95% ДИ 31,0-34,3]. Верификация диагноза проводилась на основании данных лапароскопии. Также во время проведения лапароскопии производилась коагуляция очагов эндометриоза.

Таблица 1 – Распределение женщин по кратности попытки ЭКО

Группы исследования	Попытка ЭКО			
	первая		повторная	
	абс.	% [95ДИ]	абс.	% [95ДИ]
ТПБ – 1 подгруппа	46	48,9 [38,5-59,5]	48	51,1 [40,5-61,5]
ТПБ – 2 подгруппа	33	40,2 [29,6-51,7]	49	59,8 [48,3-70,4]
СПЯ	43	59,7 [47,5-71,1]	29	40,3 [28,9-52,5]
НГЭ 1-2 ст.	13	40,6 [23,7-59,4]	19	59,4 [40,6-76,3]
Мужской фактор	18	48,6 [31,9-65,6]	19	51,4 [34,4-68,1]

Статистически значимых различий не выявлено χ^2=4,83, p=0,305, группы сопоставимы по количеству первых и повторных попыток ЭКО.

- Критерии включения в исследование: диагностирование в качестве причины бесплодия одной из основных нозологических единиц: мужской фактор, трубно-перитонеальный фактор, СПЯ, наружный генитальный эндометриоз 1-2 ст., возраст пациентки до 35 лет включительно; отсутствие противопоказаний для процедуры ЭКО, наличие эмбриона приемлемого качества (3-5 класса).
- Критерии исключения: снижение овариального резерва; аномалии развития матки, аденомиоз, субмукозная миома матки, гипоплазия эндометрия менее 7 мм; возраст старше 35 лет; индекс массы тела пациенток 34,9 и более кг/м^2; инфекционные (положительный результат на вирус иммунодефицита че-

ловека, а также на активный инфекционный процесс: сифилис, гонорея, трихомониаз, хламидиоз) и аутоиммунные заболевания пациентки; злокачественные новообразования любой локализации, в том числе в анамнезе.

2.2 Методы исследования

Клиническое обследование проводили согласно приказа Министерства здравоохранения РФ от 30 августа 2012 г. № 107н "О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению" для пациенток с бесплодием, включающее сбор анамнеза, первичный осмотр, гинекологическое обследование, УЗИ органов малого таза, а также заключение терапевта о состоянии соматического здоровья пациентки и отсутствии противопоказаний к беременности и родам. У женщин, проходивших в прошлом лечение по поводу гинекологических заболеваний и/или бесплодия, уточняли характер оказанной помощи.

Обследование мужчины предусматривало 2-кратный (с интервалом в 2 недели) анализ спермы с оценкой ее фертильности согласно критериев ВОЗ [53].

При **первичном осмотре** оценивали особенности телосложения и возможное присутствие признаков эндокринно-обменных расстройств. Обращали внимание на наличие/отсутствие ожирения, выраженность которого уточняли по показателю индекса массы тела, а также на наличие гирсутизма, степень которого оценивали по шкале Ферримана-Голлвея [58]. Для оценки состояния молочных желез использовали визуальный осмотр и пальпацию, при выполнении которых уточняли наличие в них объемных образований и выделений из сосков, пациенткам моложе 35 лет проводилось УЗИ молочных желез, а пациенткам старше 35 лет проводилась маммография.

Гинекологическое обследование включало в себя бимануальное исследование и осмотр шейки в зеркалах. Всем пациенткам проводили простую или расширенную (по показаниям) кольпоскопию.

Стандартные лабораторные методы исследования включали:

– общий и биохимический анализ крови, определение уровня глюкозы натощак;

– тестирование протромбинового индекса, времени свертывания и длительности кровотечения;

– анализ крови на ВИЧ, австралийский антиген, вирус гепатита «С», RW;

– определение в крови антител к инфекции, входящей в TORCH-комплекс (токсоплазмоз, краснуха, цитомегаловирус, герпес);

– общий анализ мочи.

Лабораторный инфекционный скрининг включал микроскопию влагалищных мазков и цервикального отделяемого для выявления инфекций, передаваемых половым путем. При отсутствии патологических изменений в мазках и цервикальном материале дальнейшего обследования не проводили. При увеличении в исследуемом образце лейкоцитов и наличии в нем патологической микрофлоры уточняли причины дисбиотических проявлений, назначая дополнительные исследования для подтверждения/исключения хламидиоза, микоплазмоза, уреаплазмоза, трихомониаза.

Ультразвуковое исследование матки и яичников выполняли с помощью аппарата фирмы “Mindrey DC-7”. Для исследования матки и яичников применяли трансвагинальный датчик с частотой 7,5 МГц, при этом определяли толщину и эхоструктуру эндометрия, состояние фолликулярного аппарата, а также оценку индуцированного фолликулогенеза.

Обязательные неинвазивные инструментальные методы включали рентгенологическое исследование грудной клетки и электрокардиографию. По показаниям назначали маммографию и компьютерную томографию области турецкого седла.

Эндоскопические методы обследования. Лапароскопию и гистероскопию производили с применением аппаратуры фирмы KARL STORZ (Германия) по общепринятым методикам [59]. Всем пациенткам на этапе обследования и подготовки к программе ЭКО была проведена гистероскопия или офисная гистероскопия с целью исключения внутриматочной патологии, а также морфологическое исследование биоптатов эндометрия.

Гормональные исследования

Гормональное обследование проводилось в рамках подготовки к проведению процедуры ЭКО и включало определение базального уровня ФСГ, ЛГ, Е2 и АМГ, а также уровень П на 19-23 день менструального цикла. У женщин с нарушениями менструальной и овуляторной функций в дополнение к вышеперечисленным гормонам исследовали в крови уровень общего тестостерона (общ. Т), дегидроэпиандростерона-сульфата (ДЭА-С), пролактина, ингибина В. Всем пациенткам проводилось обследование для исключения тиреоидной патологии: тестирование уровней тиреотропного гормона (ТТГ) и свободных фракций трийодтиронина (Т3) и тироксина (Т4).

Определение уровня эстрадиола крови использовали также для гормонального мониторинга процесса проводимой десенситизации гипофиза, а также (наряду с данными ультразвукового мониторинга) для контроля эффективности используемых стимуляторов овуляции и расчета момента введения триггерной овуляторной дозы чХГ. Уровень прогестерона определяли в день введения разрешающей дозы чХГ и в пострансферном периоде (совместно с определениями Е2) для контроля эффективности мероприятий, связанных с поддержкой функции желтого тела.

Наступление беременности после проведенного лечения диагностировали путем определения концентрации β-субъединицы ХГ на 14 день после ПЭ (подтверждение «биохимической» беременности), а также посредством УЗИ матки на 21-28 день после ПЭ (подтверждение «клинической» беременности).

2.3. Методы получения образцов сыворотки и фолликулярной жидкости

От всех принимавших в исследовании женщин было получено добровольное информированное согласие.

Для проведения лабораторных исследований получены образцы венозной крови из локтевой вены в объеме 5,0 мл, которые затем центрифугировались при 1500 об/мин. Отделенная таким образом сыворотка крови использовалась для

проведения анализов. Для увеличения сопоставимости результатов анализы проводились одномоментно – сначала образцы замораживали и хранили при 20ºС, а затем размораживали и проводили исследования.

Забор фолликулярной жидкости осуществлялся во время проведения трансвагинальной пункции преовуляторных фолликулов. При попадании проводной крови в аспирируемую фолликулярную жидкость исследование данного материала не проводилось. Биологический материал замораживали при температуре -20 ºС и хранили до дальнейших иммунологических исследований.

2.4. Методы исследования содержания регуляторно-транспортных белков и цитокинов

Иммунологические исследования проводились на базе НИЛ иммунологии (заведующий лабораторией – профессор, д.б.н. Зорин Н.А.) НГИУВ – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (директор – профессор, д.м.н. Колбаско А.В.). Содержание α2-МГ, α1-АТ и АБГ определяли методом количественного ракетного иммуноэлектрофореза. Концентрацию ЛФ, цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО-α, ИФН-γ, VEGF) в сыворотке крови и фолликулярной жидкости - методом ИФА с использованием соответствующих коммерческих тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск, Россия). Концентрации АЛБ и ОБ сыворотки крови и фолликулярной жидкости изучали биохимическими методами (с бромкрезоловым зеленым и биуретовым методами соответственно).

2.5. Методы статистического анализа

Нормальность распределения проверялась с помощью критерия Колмогорова-Смирнова (D_{KS}). Для сравнения признаков, распределение которых отлично от нормального, применялись критерии Манна-Уитни (две группы) и Краскела-Уоллиса (три группы) для несвязанных выборок и критерий Вилкоксона для связанных выборок.

Взаимосвязь между показателями определялась с помощью коэффициента корреляции Спирмена. Сравнение качественных признаков проводилось с помощью критерия Хи-квадрат.

Для определения критического значения отдельно для каждого иммунологического показателя, независимо от влияния других показателей, применялся метод однофакторной логистической регрессии. На основе построенной модели проводился поиск порога отсечения (критического уровня показателя) при заранее заданном уровне чувствительности. За приемлемый уровень чувствительности была принята величина 80%.

Для выявления критических значений каждого показателя с учетом их взаимосвязи и характера совместного влияния на результат программы применялся метод деревьев решений (CHAID) с итерационным делением всего диапазона на отдельные интервалы.

В качестве метода моделирования при большом числе качественных и количественных показателей выбрана логистическая регрессия с регуляризацией (метод LASSO).

Общая оценка согласия модели и реальных данных оценивалась с использованием теста Хосмера-Лемешова. В качестве критерия, определяющего возможность классификации с помощью построенной модели, использовался критерий Колмогорова-Смирнова для двух выборок. Качество модели оценивалось с помощью ROC-кривой (показатель AUC). Пороговая точка отсечения определалась с помощью индекса J-Юдена.

Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимали равным 0,05. Все расчеты проводились в свободно распространяемой программной среде статистической обработки данных R v.3.4.0. (аналог S.A.S.).

Глава 3.

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОСПЕКТИВНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ. РЕГУЛЯТОРНО-ТРАНСПОРТНЫЕ БЕЛКИ И ЦИТОКИНЫ В ОЦЕНКЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ ЗДОРОВЫХ ФЕРТИЛЬНЫХ ЖЕНЩИН И ИНФЕРТИЛЬНЫХ ПАЦИЕНТОК С БЕСПЛОДИЕМ МУЖСКОГО ГЕНЕЗА В ПРОГРАММАХ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ

Одним из наиболее часто встречающихся причин бесплодия является мужской фактор. С учетом критериев включения и исключения в проводимое исследование в группу пациентов с бесплодием мужского генеза включены 37 здоровых пациенток, у 20 из которых было диагностировано первичное бесплодие и у 17 – вторичное (в анамнезе у них были беременности и роды от других половых партнеров). Для выявления наличия или отсутствия отличий иммунологического статуса пациенток данной группы от здоровых фертильных женщин проведен сравнительный анализ иммунологических показателей пациенток данной группы и 33 здоровых фертильных небеременных женщин. Полученные значения представлены в таблице 2.

Анализ полученных данных продемонстрировал, что изучаемые иммунологические показатели в группах пациенток с первичным и вторичным бесплодием, связанным с мужским фактором и здоровыми фертильными небеременными женщинами не имеют достоверных отличий. С учетом этого пациентки с первичным и вторичным бесплодием, связанным с мужским фактором, объединены в одну группу, использованную в последующих исследованиях в качестве группы контроля (N=37).

Таблица 2 – Регуляторно-транспортные белки и цитокины сыворотки крови в группе здоровых фертильных небеременных женщин и пациенток с первичным и вторичным бесплодием мужского генеза (до вступления в программу ЭКО)

Показатели	Группа здоровых (N =33)	Мужской фактор вторичное бесплодие (N=17)	Мужской фактор первичное бесплодие (N=20)	Сравнение групп H(p)
α2-МГ г/л	2,66±0,12	2,63±0,14	2,50±0,10	*0,86(0,648)*
АБГ г/л	0,008±0,001	0,011±0,002	0,007±0,002	*4,6(0,100)*
α1-АТ г/л	3,2±0,09	3,1±0,20	2,9±0,17	*0,89(0,639)*
ЛФ мг/л	1,09±0,07	1,06±0,06	1,19±0,09	*2,09(0,350)*
Альбумин г/л	46,05±0,912	44,51±1,15	46,75±0,69	*1,86(0,394)*
ОБ г/л	75,88±0,729	73,19±2,02	77,5±1,37	*2,67(0,263)*
ФНО-α пкг/мл	0,95±0,12	1,26±0,1	1,18±0,09	*3,84(0,147)*
ИЛ-6 пкг/мл	1,33±0,08	1,26±0,1	1,41±0,08	*2,28(0,319)*
ИЛ-8 пкг/мл	6,73±0,92	5,75±0,64	6,72±0,43	*2,28(0,32)*
ИФН-γ пкг/мл	3,94±0,22	4,93±0,34	4,12±0,35	*3,95(0,139)*
VEGF пкг/мл	75,54±8,92	90,6±13,65	84,7±9,42	*1,03(0,597)*

Примечание: H (p) – статистическая значимость различий между группами, применялся критерий Краскела-Уоллиса

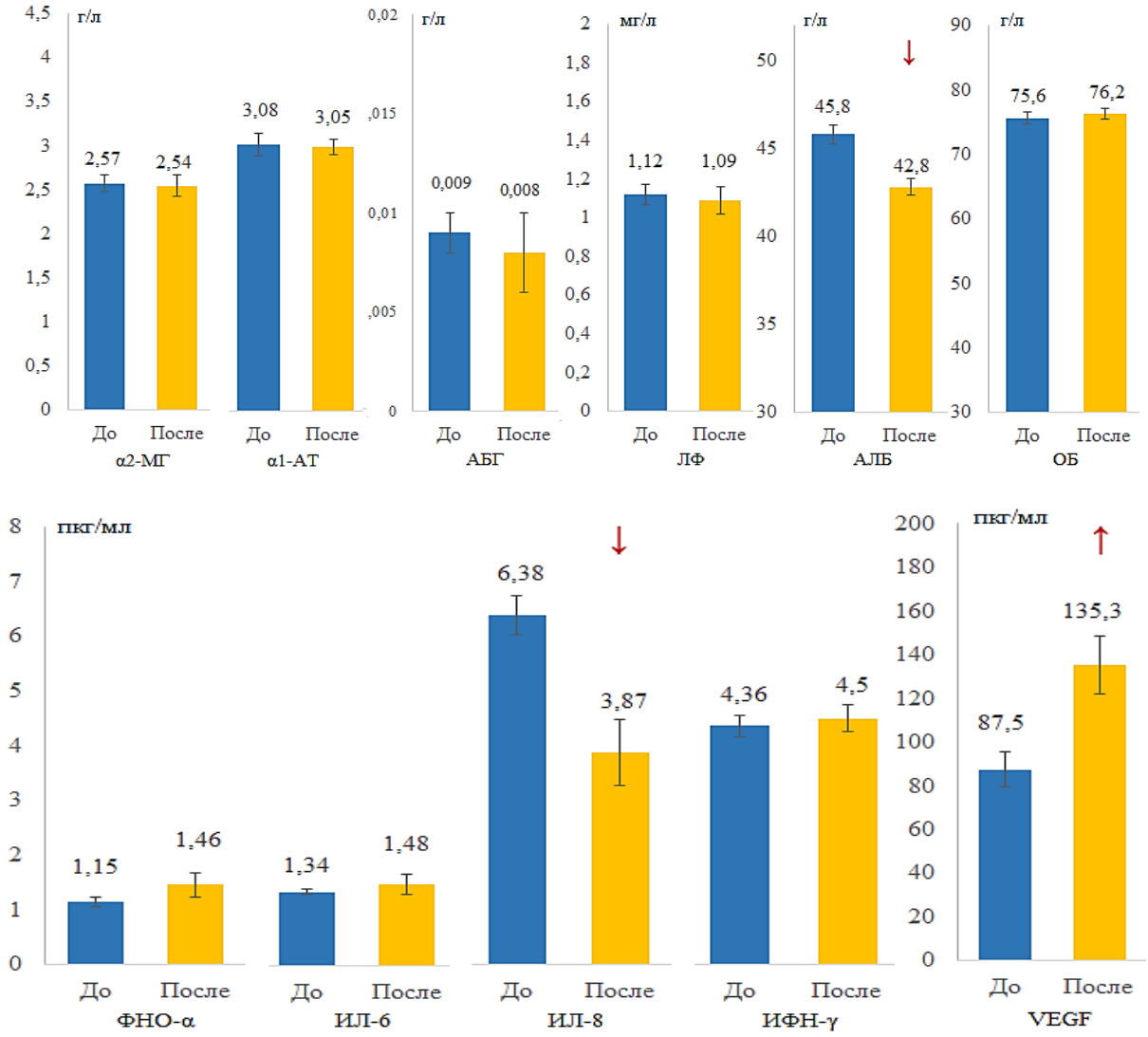
Полученные данные легли в основу определения нормативов иммунологических показателей, соответствующих здоровым небеременным женщинам в возрасте до 35 лет с сохранным овариальным резервом. Нормативы рассчитывались как 90% изменения диапазона показателей, а именно 5-й и 95-й процентили [221; 290]. Для выявления наличия или отсутствия закономерностей динамики изучаемых показателей в программе ЭКО нами выполнено исследование иммунологических параметров сыворотки крови как до, так и после (в день ТВП) проведенной индукции суперовуляции с применением фолликулостимулирующего гормона, а также хорионического гонадотропина человека в качестве триггера финального созревания ооцитов. Полученные значения представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Иммунологические показатели в сыворотке крови женщин группы контроля до индукции суперовуляции и в день ТВП

Показатели	До программы (N=37)		В день ТВП (N=37)		W(p)
	среднее ± ошибка среднего	нормативный диапазон до программы	среднее ± ошибка среднего	нормативный диапазон в день TVP	
α2-МГ г/л	2,57 ±0,09	2,07-3,04 г/л	2,54 ±0,12	1,8-3,34 г/л	*0,36 (0,718)*
АБГ г/л	0,009 ±0,001	0,001-0,016 г/л	0,008 ±0,002	0,001-0,016 г/л	*0,06 (0,991)*
α1-АТ г/л	3,08 ±0,13	2,5-3,70 г/л	3,05 ±0,09	2,30-3,60г/л	*0,80 (0,421)*
ЛФ мг/л	1,12 ±0,05	0,76-1,44 мг/л	1,09 ±0,07	0,68-1,56 мг/л	*0,32 (0,749)*
АЛБ г/л	45,79 ±0,55	41,5-50,3 г/л	42,85 ±0,46	40,2-45,5 г/л	***3,56 (<0,001)***
ОБ г/л	75,6 ±0,95	69,8-82,7 г/л	76,23 ±0,83	72,8-81,9 г/л	*0,60 (0,550)*
ФНО-α пкг/мл	1,15 ±0,06	0,7-1,7 пкг/мл	1,46 ±0,23	0,3-2,7 пкг/мл	*0,49 (0,623)*
ИЛ-6 пкг/мл	1,34 ±0,05	1,0-1,9 пкг/мл	1,48 ±0,19	0,3-2,6 пкг/мл	*0,79 (0,432)*
ИЛ-8 пкг/мл	6,38 ±0,36	3,5-9,5 пкг/мл	3,87 ±0,6	1,1-6,7 пкг/мл	***4,09 (<0,001)***
ИФН-γ пкг/мл	4,36 ±0,2	2,6-5,9 пкг/мл	4,5 ±0,25	3,2-5,9 пкг/мл	*0,64 (0,525)*
VEGF пкг/мл	87,48 ±8,05	41,0-140,5 пкг/мл	135,33 ±12,64	43,2-190,1 пкг/мл	***2,89 (0,004)***

Примечание: W(p) – статистическая значимость различий изучаемых иммунологических параметров до и после индукции суперовуляции в программе ЭКО, применялся критерий Вилкоксона

Проведенный анализ иммунологических показателей пациенток группы контроля выявил наличие статистически значимого сдвига средних, а также диапазона вычисленных нормативных значений в ответ на индукцию суперовуляции в программе ЭКО в отношении уровня АЛБ, ИЛ-8 (в сторону снижения концентраций) и VEGF (в сторону увеличения содержания) в составе сыворотки крови. Данные утверждения иллюстрированы рисунком 2.



↑↓ – изменения значений показателей в процессе индукции суперовуляции статистически значимы на уровне $p \leq 0,05$

Рисунок 2 – Динамика концентрации изучаемых показателей сыворотки крови женщин группы контроля в ответ на индукцию суперовуляции в программе ЭКО

Результативность исходов программ ЭКО рассчитывалась по критерию частоты наступления клинической беременности (ЧНБ) и составила в группе пациенток с мужским фактором бесплодия 38% (14/37). Для выявления взаимосвязи уровня иммунологических показателей в сыворотке крови и их динамики в процессе индукции суперовуляции с результативностью программ ЭКО был проведен сравнительный анализ изучаемых параметров в подгруппах с положительным и отрицательным исходом. Полученные значения представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Сывороточные концентрации иммунологических показателей женщин группы контроля в зависимости от исхода программы ЭКО

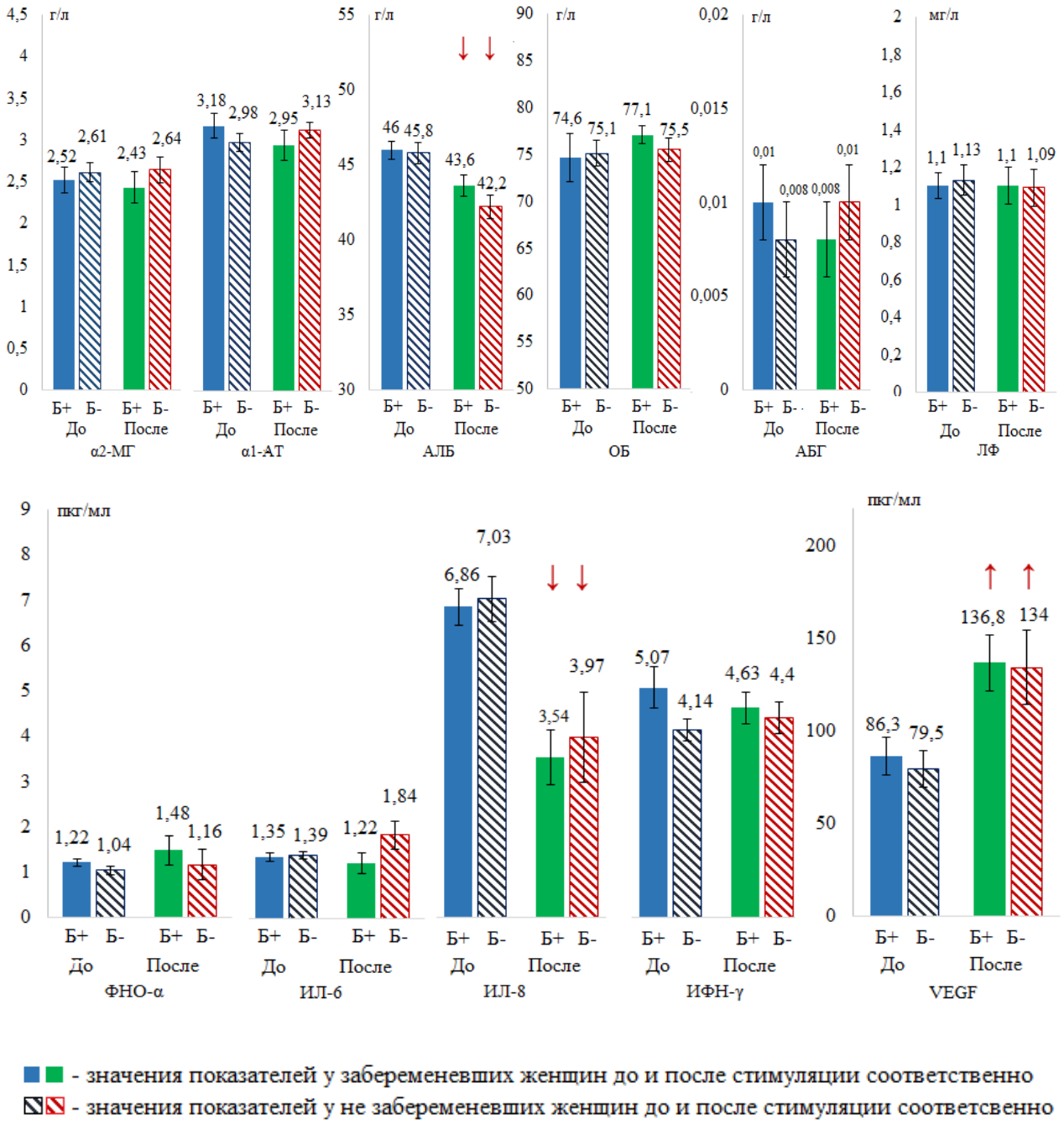
Показатели	До стимуляции			После стимуляции (день ТВП)			Анализ динамики
	Б+	Б-	U(p)	Б+	Б-	U(p)	
α2-МГ г/л	2,52 ±0,15	2,61 ±0,11	1,00 (0,32)	2,43 ±0,19	2,64 ±0,15	0,99 (0,323)	$W^{к(+)}$=0,31, p=0,754 $W^{к(-)}$=0,40, p=0,683
АБГ г/л	0,01 ±0,002	0,008 ±0,002	0,35 (0,73)	0,008 ±0,002	0,010 ±0,002	0,88 (0,382)	$W^{к(+)}$=0,40, p=0,688 $W^{к(-)}$=0,04, p=0,964
α1-АТ г/л	3,18 ±0,15	2,98 ±0,11	0,85 (0,395)	2,95 ±0,18	3,13 ±0,09	0,44 (0,659)	$W^{к(+)}$=1,12, p=0,260 $W^{к(-)}$=1,13, p=0,255
ЛФ мг/л	1,1 ±0,07	1,13 ±0,08	0,19 (0,846)	1,1 ±0,10	1,09 ±0,10	0,001 (1,000)	$W^{к(+)}$=0,11, p=0,906 $W^{к(-)}$=0,23, p=0,814
Альбумин г/л	45,98 ±0,62	45,83 ±0,77	0,54 (0,589)	43,57 ±0,45	42,23 ±0,76	1,31 (0,19)	**$W^{к(+)}$=2,07, p=0,038** **$W^{к(-)}$=2,76, p=0,006**
ОБ г/л	74,61 ±2,57	75,1 ±1,37	0,29 (0,771)	77,06 ±0,89	75,51 ±1,34	0,58 (0,565)	$W^{к(+)}$=0,31, p=0,753 $W^{к(-)}$=0,36, p=0,712
ФНО-α пкг/мл	1,22 ±0,08	1,04 ±0,09	1,28 (0,2)	1,58 ±0,33	1,36 ±0,33	0,62 (0,533)	$W^{к(+)}$=1,10, p=0,271 $W^{к(-)}$=0,34, p=0,733
ИЛ-6 пкг/мл	1,35 ±0,1	1,39 ±0,08	0,21 (0,834)	1,22 ±0,22	1,84 ±0,3	1,67 (0,095)	$W^{к(+)}$=0,26, p=0,789 $W^{к(-)}$=1,08, p=0,278
ИЛ-8 пкг/мл	6,36 ±0,43	7,03 ±0,56	0,77 (0,442)	3,74 ±0,57	3,97 ±0,99	0,49 (0,625)	**$W^{к(+)}$=2,66, p=0,008** **$W^{к(-)}$=2,10, p=0,036**
ИФН-γ пкг/мл	5,07 ±0,46	4,14 ±0,25	1,46 (0,145)	4,63 ±0,35	4,4 ±0,35	0,46 (0,643)	$W^{к(+)}$=0,78, p=0,433 $W^{к(-)}$=0,05, p=0,955
VEGF пкг/мл	86,34 ±9,97	79,54 ±9,58	0,44 (0,662)	136,84 ±15,06	134,02 ±20,16	0,58 (0,561)	**$W^{к(+)}$=2,34, p=0,019** **$W^{к(-)}$=2,10, p=0,035**

Примечание: U(p) – статистическая значимость различий между подгруппами забеременевших и не забеременевших женщин, применялся критерий Манна-Уитни

$W^{к(+)}$,$W^{к(-)}$ – статистическая значимость изменений значений показателей в процессе индукции суперовуляции в подгруппе пациенток группы контроля с положительным и отрицательным исходом программы ЭКО соответственно, применялся критерий для связанных выборок Вилкоксона.

Полученные в результате проведенного исследования данные свидетельствуют о динамическом снижении концентрации АЛБ и ИЛ-8, а также повышении уровня сосудисто-эндотелиального фактора роста VEGF в составе сыворотки крови в ответ на проводимую в программе ЭКО индукцию суперовуляции с

применением хорионического гонадотропина в качестве триггера финального созревания ооцитов у пациенток группы контроля без влияния на результативность программы ЭКО. Данные утверждения иллюстрированы рисунком 3.



■■ - значения показателей у забеременевших женщин до и после стимуляции соответственно

▨▨ - значения показателей у не забеременевших женщин до и после стимуляции соответсвенно

↑↓ - изменений значений показателей в процессе индукции суперовуляции статистически значимы на уровне $p \leq 0,05$

Рисунок 3 – Динамика иммунологических показателей сыворотки крови у женщин группы контроля в ответ на индукцию суперовуляции в программе ЭКО в зависимости от исхода программы

Помимо сыворотки крови до проведения индукции суперовуляции и в день ТВП также проводилось исследование фолликулярной жидкости пациенток.

Сравнительный анализ концентрации изучаемых иммунологических показателей в составе фолликулярной жидкости в день ТВП в группе женщин с первичным и вторичным бесплодием, связанным с мужским фактором, представлен в таблице 5.

Таблица 5 – Иммунологические и биохимические показатели (средние значения) в фолликулярной жидкости при первичном и вторичном бесплодии, связанным с мужским фактором

Показатели	Мужской фактор вторичное бесплодие (N=17)	Мужской фактор первичное бесплодие (N=20)	Сравнение групп U(p)
α2-МГ г/л	0,15±0,02	0,15±0,02	0,01(0,998)
α1-АТ г/л	0,24±0,03	0,25±0,03	0,15(0,878)
ЛФ мг/л	0,21±0,03	0,15±0,01	1,63(0,103)
Альбумин г/л	42,32±0,52	41,52±0,86	0,49(0,626)
ОБ г/л	60,95±0,73	62,55±0,85	1,58(0,115)
ФНО-α пкг/мл	1,5±0,27	1,61±0,44	0,27(0,785)
ИЛ-6 пкг/мл	13,25±1,75	13,27±2,24	0,44(0,663)
ИЛ-8 пкг/мл	258,73±21,66	243,29±14,62	0,82(0,415)
ИФН-γ пкг/мл	4,7±0,5	5,13±0,5	0,38(0,703)

Примечание: U(p) – статистическая значимость различий между подгруппами, применялся критерий Манна-Уитни

Проведенное исследование продемонстрировало отсутствие существенных отличий уровней иммунологических показателей в составе фолликулярной жидкости в день ТВП у пациенток с первичным и вторичным бесплодием, связанным с мужским фактором, поэтому для дальнейших исследований пациентки

данных подгрупп объединены в одну группу – с бесплодием мужского генеза, иммунологические значения которой также использованы в качестве контрольных. Средние концентрации полученных иммунологических показателей в составе фолликулярной жидкости в день ТВП в данной группе, а также их нормативные диапазоны приведены в таблице 6.

Таблица 6 – Иммунологические показатели в составе фолликулярной жидкости в день ТВП пациенток группы контроля (N-37)

Показатели	Среднее	Нормативный диапазон
α2-МГ г/л	0,15±0,01	0,07-0,27
α1-АТ г/л	0,24±0,02	0,14-0,40
ЛФ мг/л	0,18±0,02	0,11-0,26
Альбумин г/л	41,92±0,5	39,1-44,85
ОБ г/л	61,78±0,57	58,44-65,74
ФНО-α пкг/мл	1,56±0,26	0,10-2,36
ИЛ-6 пкг/мл	13,26±1,41	4,86-22,62
ИЛ-8 пкг/мл	250,7±12,7	169,24-334,46
ИФН-γ пкг/мл	4,92±0,35	3,00-7,38

Для выявления взаимосвязи уровня изучаемых иммунологических показателей в составе фолликулярной жидкости с исходом программы ЭКО был проведен сравнительный анализ изучаемых параметров в подгруппах с положительным и отрицательным результатом программы. Полученные данные представлены в таблице 7.

Проведенный анализ уровней иммунологических показателей в составе фолликулярной жидкости в день ТВП не выявил взаимосвязи их с исходом программы ЭКО.

Таблица 7 – Иммунологические и биохимические показатели в составе фолликулярной жидкости в подгруппах пациенток группы контроля с положительным и отрицательным исходом программы ЭКО

Показатели	Б+ (N=14)	Б- (N=23)	Сравнение по исходу U(p)
α2-МГ г/л	0,14±0,02	0,17±0,02	1,52(0,128)
α1-АТ г/л	0,23±0,03	0,26±0,03	0,57(0,571)
ЛФ мг/л	0,19±0,02	0,18±0,03	0,93(0,351)
Альбумин г/л	41,93±0,71	41,91±0,72	0,31(0,758)
ОБ г/л	61,91±1,06	61,69±0,64	0,27(0,784)
ФНО-α пкг/мл	1,85±0,54	1,33±0,18	0,22(0,826)
ИЛ-6 пкг/мл	12,55±2,6	13,82±1,54	0,99(0,324)
ИЛ-8 пкг/мл	248,53±18,29	252,41±18,14	0,16(0,87)
ИФН-γ пкг/мл	4,76±0,59	5,05±0,44	0,08(0,935)

Примечание: U(p) – статистическая значимость различий между подгруппами забеременевших и не забеременевших женщин, применялся критерий Манна-Уитни

Таким образом, данные настоящего исследования продемонстрировали идентичность иммунологических показателей сыворотки крови здоровых фертильных небеременных женщин и пациенток с первичным и вторичным бесплодием, связанным с мужским фактором, что позволило использовать полученные значения в качестве контрольных. В ходе индукции суперовуляции, проводимой в программе ЭКО, выявлено достоверное снижение сывороточных концентраций АЛБ и ИЛ-8, а также повышение уровня VEGF без влияния на результативность программ ЭКО.

Исследуемые иммунологические показатели в составе фолликулярной жидкости в подгруппах с первичным и вторичным бесплодием мужского генеза были идентичны и не отличались у пациенток с положительным и отрицательным исходом программы ЭКО. Данные показатели также были использованы как контрольные значения для последующих исследований.

Глава 4.

РЕГУЛЯТОРНО-ТРАНСПОРТНЫЕ БЕЛКИ И ЦИТОКИНЫ В ОЦЕНКЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ ПАЦИЕНТОК С ТРУБНО-ПЕРИТОНЕАЛЬНЫМ БЕСПЛОДИЕМ И ПРЕДИКЦИИ ИСХОДОВ ПРОГРАММ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ

Для выявления особенностей иммунологического профиля, динамических характеристик его в процессе индукции суперовуляции и влияния на исход программ ЭКО нами обследовано 176 пациенток с трубно-перитонеальным генезом бесплодия (ТПБ).

Полученные данные сравнивались с аналогичными показателями пациенток группы контроля (мужской фактор) (таблица 8).

Таблица 8 – Регуляторно-транспортные белки и цитокины сыворотки крови пациенток с ТПБ и мужским фактором бесплодия (группа контроля) до вступления в программу ЭКО

Показатели	Группа контроля (N=37)		ТПБ (N=176)		U(p)
	среднее ±ошибка среднего	нормативный диапазон до программы	среднее ± ошибка среднего	диапазон изменения до программы	
α2-МГ г/л	2,57±0,09	2,07-3,04 г/л	2,53±0,06	1,98-3,05 г/л	0,35(0,73)
АБГ г/л	0,009±0,001	0,001-0,016 г/л	0,011±0,001	0,001-0,019 г/л	1,32(0,188)
α1-АТ г/л	**3,08±0,13**	**2,5-3,70 г/л**	**3,48±0,09**	**2,90-4,15 г/л**	**2,55(0,011)**
ЛФ мг/л	1,12±0,05	0,76-1,44 мг/л	1,05±0,06	0,40-1,65 мг/л	0,93(0,351)
Альбумин г/л	45,79±0,55	41,5-50,3 г/л	46,6±0,31	44,39-49,57 г/л	0,82(0,410)
ОБ г/л	75,6±0,95	69,8-82,7 г/л	76,87±0,68	71,46-81,98 г/л	1,15(0,249)
ФНО-α пкг/мл	**1,15±0,06**	**0,7-1,7 пкг/мл**	**1,91±0,09**	**0,98-2,82 пкг/мл**	**5,32(<0,001)**
ИЛ-6 пкг/мл	1,34±0,05	1,0-1,9 пкг/мл	1,41±0,07	0,80-1,85 пкг/мл	0,28(0,776)
ИЛ-8 пкг/мл	6,38±0,36	3,5-9,5 пкг/мл	6,97±0,34	3,24-8,83 пкг/мл	0,38(0,702)
ИФН-γ пкг/мл	**4,36±0,2**	**2,6-5,9 пкг/мл**	**5,71±0,16**	**4,15-7,20 пкг/мл**	**3,61(<0,001)**
VEGF пкг/мл	87,48±8,05	41,0-140,5пкг/мл	89,87±4,15	54,2-143,1пкг/мл	1,81(0,071)

Примечание: U(p) – статистическая значимость различий между ТПБ и группой контроля, применялся критерий Манна-Уитни

Данные проведенного исследования продемонстрировали достоверно более высокие сывороточные значения α1-АТ, ФНО-α, ИФН-γ в группе инфертильных пациенток с ТПБ по сравнению с группой контроля.

При детальном изучении иммунологических показателей пациенток с ТПБ оказалось, что повышенные значения α1-АТ и ФНО-α, отражающие наличие остаточных явлений субклинического воспаления, выявлялись далеко не у всех пациенток данной группы (таблица 9).

Таблица 9 – Концентрации регуляторно-транспортных белков и цитокинов сыворотки крови при ТПБ в 1-ой и 2-ой подгруппах до индукции суперовуляции и в день ТВП

Показатели	До индукции суперовуляции				В день ТВП		
	общая группа	подгруппа		U(p)	подгруппа		U(p)
		1-ая (n-94)	2-ая (n-82)		1-ая (n-94)	2-ая (n-82)	
α2-МГ г/л	2,53 ±0,06	2,64 ±0,1	2,43 ±0,08	1,45 (0,146)	2,46 ±0,08	2,51 ±0,06	0,85 (0,395)
АБГ г/л	0,011 ±0,001	0,012 ±0,002	0,01 ±0,001	0,49 (0,627)	0,011 ±0,001	0,012 ±0,001	0,40 (0,686)
α1-АТ г/л	3,48 ±0,09	**3,02 ±0,12**	**3,99 ±0,09**	**5,01 (<0,001)**	3,03 ±0,09	3,18 ±0,08	0,93 (0,355)
ЛФ мг/л	1,05 ±0,06	1,13 ±0,09	0,96 ±0,07	1,06 (0,287)	0,98 ±0,07	1,12 ±0,06	1,68 (0,094)
Альбумин г/л	46,6 ±0,31	46,89 ±0,53	46,43 ±0,37	0,57 (0,569)	**42,73 ±0,22**	**44,48 ±0,15**	**2,19 (0,029)**
ОБ г/л	76,87 ±0,68	77,05 ±1,14	76,73 ±0,83	0,18 (0,858)	77,75 ±0,82	77,03 ±0,66	1,05 (0,296)
ФНО-α пкг/мл	1,97 ±0,09	**1,31 ±0,12**	**2,39 ±0,12**	**4,7 (<0,001)**	**1,44 ±0,2**	**1,95 ±0,23**	**2,17 (0,030)**
ИЛ-6 пкг/мл	1,41 ±0,07	1,53 ±0,09	1,25 ±0,12	1,34 (0,180)	1,67 ±0,16	1,46 ±0,22	1,60 (0,110)
ИЛ-8 пкг/мл	6,97 ±0,34	7,07 ±0,48	6,89 ±0,48	0,21 (0,831)	4,06 ±0,54	3,91 ±0,61	0,48 (0,631)
ИФН-γ пкг/мл	5,71 ±0,16	5,8 ±0,24	5,63 ±0,21	0,30 (0,768)	6,43 ±0,3	6,04 ±0,3	0,91 (0,362)
VEGF пкг/мл	89,87 ±4,15	81,07 ±6,55	92,32 ±4,68	1,01 (0,314)	148,87 ±10,48	166,51 ±16,63	1,41 (0,158)

Примечание: U(p) – статистическая значимость различий между 1 и 2 подгруппами ТПБ, применялся критерий Манна-Уитни

У 94 женщин с ТПБ (выделенных в погруппу 1) данные показатели не отличались от группы контроля, а ЧНБ составила 38,3 % (36/94), то есть также была сопоставима с таковой в группе контроля (χ^2=0,01, p=0,907). Тогда как у остальных 82 пациенток с ТПБ (подгруппа 2) значения α1-АТ и ФНО-α были повышенными относительно группы контроля и обусловливали собой повышение средних значений данных показателей в общей группе ТПБ. ЧНБ во 2 подгруппе равнялась 24,4 % (20/82), что было значительно ниже, чем в 1ой подгруппе ТПБ и группе контроля (χ^2=3,92, p=0,048). Уровень ИФН-γ был умеренно повышен в обеих подгруппах. В связи наличием значимых отличий в ЧНБ и иммунологическом статусе пациентки данных подгрупп в дальнейшем рассматривались по-отдельности.

Проведенный анализ изучаемых иммунологических показателей сыворотки крови пациенток 1-ой подгруппы ТПБ продемонстрировал их идентичность группе контроля относительно как исходных значений до начала стимуляции яичников, так и динамики их в ответ на проводимую индукцию суперовуляции и триджерринг с применением ХГЧ в виде достоверного снижения концентраций АЛБ, ИЛ-8 и повышения VEGF (таблица 10). Особенностью, отличающей иммунологический статус пациенток данной подгруппы от контрольной, являлись исходно повышенные значения ИФН-γ, сохраняющиеся в процессе индукции суперовуляции.

Данные проведенного нами исследования во 2-ой подгруппе ТПБ, отражающие иммунологические характеристики данной подгруппы до и после (в день ТВП) проведенной индукции суперовуляции представлены в таблице 11.

Таблица 10 – Содержание регуляторно-транспортных белков и цитокинов в составе сыворотки крови инфертильных женщин 1 подгруппы ТПБ и группы контроля

Показ.	Контроль (n=37)		W(p)	ТПБ-1 (n=94)		Wp)	Между группами	
	до	после		до	после		$U(p)^{до}$	$U(p)^{после}$
α2-МГ г/л	2,57 ±0,09	2,54 ±0,12	0,36 (0,718)	2,64 ±0,1	2,46 ±0,08	1,71 (0,087)	0,28 (0,777)	0,6 (0,546)
	2,07-3,04	1,8-3,34		1,98-3,05	1,78-3,34			
АБГ г/л	0,009 ±0,001	0,008 ±0,002	0,06 (0,991)	0,012 ±0,002	0,011 ±0,001	0,42 (0,673)	1,3 (0,193)	0,66 (0,512)
	0,001-0,016	0,001-0,016		0,001-0,019	0,001-0,020			
α1-АТ г/л	3,08 ±0,13	3,05 ±0,09	0,80 (0,421)	3,02 ±0,12	3,03 ±0,09	0,48 (0,631)	0,63 (0,528)	0,01 (0,989)
	2,5-3,70	2,30-3,60		2,05-4,01	2,1-4,00			
ЛФ мг/л	1,12 ±0,05	1,09 ±0,07	0,32 (0,749)	1,13 ±0,09	0,98 ±0,07	1,54 (0,124)	0,35 (0,724)	1,7 (0,089)
	0,76-1,44	0,68-1,56		0,40-1,65	0,41-1,50			
Альб. г/л	45,79 ±0,55	42,85 ±0,46	**3,56 (<0,001)**	46,89 ±0,53	42,73 ±0,22	**5,04 (<0,001)**	1,00 (0,319)	0,88 (0,379)
	41,5-50,3	40,2-45,5		44,39-49,57	40,66-47,42			
ОБ г/л	75,6 ±0,95	76,23 ±0,83	0,60 (0,550)	77,05 ±1,14	77,75 ±0,82	0,74 (0,462)	1,13 (0,257)	1,31 (0,189)
	69,8-82,7	72,8-81,9		71,46-81,98	73,02-82,78			
ФНО-α пкг/мл	1,15 ±0,06	1,46 ±0,23	0,49 (0,623)	1,31 ±0,12	1,44 ±0,2	1,23 (0,219)	1,41 (0,158)	0,11 (0,91)
	0,7-1,7	0,3-2,7		0,87-1,91	0,25-2,6			
ИЛ-6 пкг/мл	1,34 ±0,05	1,48 ±0,19	0,79 (0,432)	1,53 ±0,09	1,67 ±0,16	1,74 (0,083)	1,26 (0,206)	0,65 (0,515)
	1,0-1,9	0,3-2,6		0,80-1,85	0,3-2,7			
ИЛ-8 пкг/мл	6,38 ±0,36	3,87 ±0,6	**4,09 (<0,001)**	7,07 ±0,48	4,06 ±0,54	**4,74 (<0,001)**	0,06 (0,949)	0,09 (0,932)
	3,5-9,5	1,1-6,7		3,24-9,23	1,1-7,7			
ИФН-γ пкг/мл	4,36 ±0,20	4,5 ±0,25	0,64 (0,525)	5,8 ±0,24	6,43 ±0,3	1,37 (0,170)	**3,21 (0,001)**	**4,08 (<0,001)**
	2,6-5,9	3,2-5,9		3,41-6,70	3,3-8,80			
VEGF пкг/мл	87,48 ±8,05	135,33 ±12,64	**2,89 (0,004)**	81,07 ±6,55	148,87 ±10,48	**3,53 (<0,001)**	0,68 (0,497)	0,74 (0,459)
	41,0-140,5	43,2-190,1		54,2-173,1	44,7-196,6			

Примечание: W(p) – статистическая значимость изменений значений показателей в процессе индукции суперовуляции, применялся критерий для связанных выборок Вилкоксона.

$U(p)^{до}$, $U(p)^{после}$ – статистическая значимость различий между группой контроля и ТПБ-1 до и после стимуляции соответственно, применялся критерий Манна-Уитни.

Таблица 11 – Содержание регуляторно-транспортных белков и цитокинов в составе сыворотки крови пациенток 2-ой подгруппы ТПБ и группы контроля до вступления в программу ЭКО и в день ТВП

Показ.	Контроль (n- 37)		U(p)	ТПБ-2 (n=82)		U(p)	Между группами	
	до	после		до	после		$U(p)^{до}$	$U(p)^{после}$
α2-МГ г/л	2,57 ±0,09	2,54 ±0,12	0,36 (0,718)	2,43 ±0,08	2,51 ±0,06	0,81 (0,42)	0,86 (0,388)	0,18 (0,857)
	2,07-3,04	1,8-3,34		1,98-3,05	1,96-3,18			
АБГ г/л	0,009 ±0,001	0,008 ±0,002	0,06 (0,991)	0,01 ±0,001	0,012 ±0,001	0,15 (0,878)	1,08 (0,28)	1,17 (0,242)
	0,001-0,016	0,001-0,016		0,001-0,019	0,001-0,02			
α1-АТ г/л	3,08 ±0,13	3,05 ±0,09	0,80 (0,421)	3,99 ±0,09	3,18 ±0,08	**5,59 (<0,001)**	**5,52 (<0,001)**	0,64 (0,52)
	2,5-3,70	2,30-3,60		3,34-4,54	2,34-4,00			
ЛФ мг/л	1,12 ±0,05	1,09 ±0,07	0,32 (0,749)	0,96 ±0,07	1,12 ±0,06	1,41 (0,160)	1,41 (0,158)	0,6 (0,549)
	0,76-1,44	0,68-1,56		0,40-1,65	0,53-1,96			
Альб. г/л	45,79 ±0,55	42,85 ±0,46	**3,56 (<0,001)**	46,43 ±0,37	44,48 ±0,15	**4,11 (<0,001)**	0,56 (0,578)	**2,53 (0,011)**
	41,5-50,3	40,2-45,5		44,39-49,57	40,88-49,0			
ОБ г/л	75,6 ±0,95	76,23 ±0,83	0,60 (0,550)	76,73 ±0,83	77,03 ±0,66	0,68 (0,499)	0,96 (0,335)	0,43 (0,669)
	69,8-82,7	72,8-81,9		71,46-81,98	72,3-82			
ФНО-α пкг/мл	1,15 ±0,06	1,46 ±0,23	0,49 (0,623)	2,39 ±0,12	1,95 ±0,23	1,66 (0,096)	**5,61 (<0,001)**	**1,96 (0,050)**
	0,7-1,7	0,3-2,7		0,79-3,24	0,50-3,30			
ИЛ-6 пкг/мл	1,34 ±0,05	1,48 ±0,19	0,79 (0,432)	1,25 ±0,12	1,46 ±0,22	0,64 (0,525)	1,05 (0,293)	0,83 (0,406)
	1,0-1,9	0,3-2,6		0,80-1,85	0,81-2,11			
ИЛ-8 пкг/мл	6,38 ±0,36	3,87 ±0,6	**4,09 (<0,001)**	6,89 ±0,48	3,91 ±0,61	**4,88 (<0,001)**	0,57 (0,569)	0,36 (0,716)
	3,5-9,5	1,1-6,7		3,24-8,83	0,7-7			
ИФН-γ пкг/мл	4,36 ±0,20	4,5 ±0,25	0,64 (0,525)	5,63 ±0,21	6,04 ±0,3	0,36 (0,717)	**3,27 (0,001)**	**3,1 (0,002)**
	2,6-5,9	3,2-5,9		3,41-6,70	3,3-8,9			
VEGF пкг/мл	87,48 ±8,05	135,33 ±12,64	**2,89 (0,004)**	92,32 ±4,68	166,51 ±16,63	**3,46 (0,001)**	0,69 (0,488)	1,84 (0,065)
	41,0-140,5	43,2-190,1		54,2-173,1	66,8-250,2			

Примечание: W(p) – статистическая значимость изменений значений показателей в процессе индукции суперовуляции, применялся критерий для связанных выборок Вилкоксона.

$U(p)^{до}$, $U(p)^{после}$ – статистическая значимость различий между группой контроля и ТПБ-2 до и после стимуляции соответственно, применялся критерий Манна-Уитни.

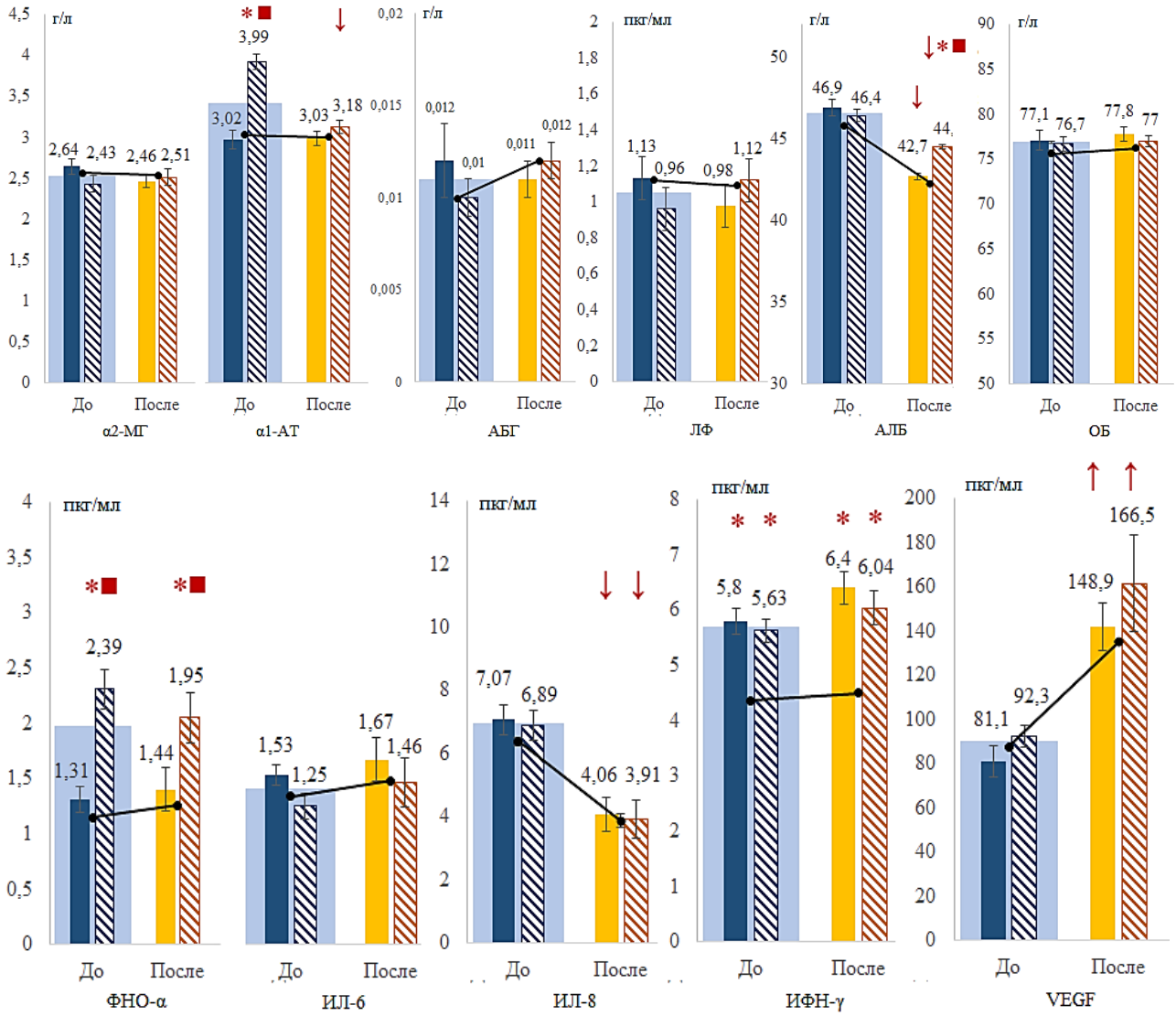
Анализируя результаты проведенного нами исследования можно утверждать, что во 2-ой подгруппе ТПБ, где исходно были повышены сывороточные значения α1-АТ, ФНО-α и ИФН-γ, в ответ на индукцию суперовуляции отмечалась динамика изучаемых показателей как аналогичная группе контроля (снижение сывороточной концентрации АЛБ, ИЛ-8 и повышение – VEGF), так и отличающаяся от группы контроля. Данные отличия выражались в снижении практически до контрольных цифр уровня сывороточного α1-АТ; менее интенсивном снижении концентрации АЛБ и отсутствии динамики исходно повышенных значений ФНО-α и ИФН-γ. В результате в день ТВП имели место повышенные концентрации АЛБ, ФНО-α и ИФН-γ во 2-ой подгруппе ТПБ по сравнению с группой контроля.

Выявленные закономерности наглядно отражены на рисунке 5.

Таким образом, в обеих подгруппах ТПБ по сравнению группой контроля отмечалась повышенная концентрация ИНФ-γ до начала индукции суперовуляции в программе ЭКО, которая сохранялась и в день ТВП.

Отличительными признаками 2-ой подгруппы ТПБ по сравнению с 1-ой подгруппой ТПБ и группой контроля являлись исходно повышенные значения α1-АТ и ФНО-α до начала индукции суперовуляции.

Общими тенденциями динамики изучаемых иммунологических показателей в обеих подгруппах пациенток с ТПБ, равно как и в группе контроля, были снижение сывороточных концентраций АЛБ, ИЛ-8 и повышение VEGF. Однако, во 2-ой подгруппе ТПБ уровень АЛБ снижался менее интенсивно, чем в группе контроля. Характерной особенностью пациенток 2-ой подгруппы было динамическое снижение сывороточных значений исходно повышенного α1-АТ и стабильно высокой концентрации исходно повышенного уровня ФНО-α ко дню ТВП. Таким образом, в день ТВП во 1-ой подгруппе ТПБ по сравнению с группой контроля, отмечался повышенный уровень сывороточного ИНФ-γ, а во 2-ой подгруппе дополнительно к этому присоединялись еще и повышенные концентрации АЛБ и ФНО-α.



- значения показателей общей группы ТБ до стимуляции
- значения показателей 1-й подгруппы ТПБ до и после стимуляции соответственно
- значения показателей 2-й подгруппы ТПБ до и после стимуляции соответственно
- значения показателей группы контроля

↑↓ - изменений значений показателей в процессе индукции суперовуляции статистически значимы на уровне $p \leq 0,05$

* – различия по сравнения с группой контроля статистически значимы на уровне $p \leq 0,05$

■ – различия между 1-ой и 2-ой подгруппами ТПБ статистически значимы на уровне $p \leq 0,05$

Рисунок 4 – Динамика иммунологических показателей в процессе индукции суперовуляции в 1-ой и 2-ой подгруппах ТПБ в сравнении с группой контроля

Для выявления иммунологических показателей, оказывающих влияние на результативность программ ЭКО при ТПБ, в дальнейшем пациентки 1-ой (n - 94) и 2-ой подгрупп (n – 82) были также разделены в зависимости от положительного и отрицательного результата программы ЭКО. Полученные сывороточные значения иммунологических показателей пациенток 1 подгруппы представлены в таблице 12.

Таблица 12 – Регуляторно-транспортные белки и цитокины сыворотки крови в 1-ой подгруппе ТПБ и контрольной группе в зависимости от исхода программы ЭКО

Показатели	Группа	До стимуляции			В день ТВП			Анализ динамики
		Б+	Б-	U(p)	Б+	Б-	U(p)	
α2-МГ г/л	Конт. n–37 (Б+n-14; Б- n-23)	2,52 ±0,15	2,61 ±0,11	1,00 (0,32)	2,43 ±0,19	2,64 ±0,15	0,99 (0,323)	$W^{к(+)}$=0,31, p=0,754 $W^{к(-)=}$0,40, p=0,683
	ТПБ-1 n -94 (Б+n-36; Б- n-58)	2,49 ±0,15	2,75 ±0,13	1,26 (0,209)	2,45 ±0,13	2,47 ±0,11	0,17 (0,862)	$W^{гр(+)}$=0,30, p=0,761 $W^{гр(-)}$=1,81, p=0,071
	$U^{к/гр}$(p)	0,41 (0,679)	0,9 (0,37)	-	0,1 (0,924)	0,87 (0,382)	-	-
АБГ г/л	Конт.	0,01 ±0,002	0,008 ±0,002	0,35 (0,73)	0,008 ±0,002	0,010 ±0,002	0,88 (0,382)	$W^{к(+)}$=0,40, p=0,688 $W^{к(-)}$=0,04, p=0,964
	ТПБ-1	0,012 ±0,004	0,012 ±0,002	1,74 (0,082)	0,008 ±0,002	0,011 ±0,002	1,87 (0,061)	$W^{гр(+)}$=1,37, p=0,172 $W^{гр(-)}$=0,80, p=0,421
	$U^{к/гр}$(p)	0,16 (0,872)	1,93 (0,054)	-	0,00 (1,00)	0,82 (0,41)	-	-
α1-АТ г/л	Конт.	3,18 ±0,15	2,98 ±0,11	0,85 (0,395)	2,95 ±0,18	3,13 ±0,09	0,44 (0,659)	$W^{к(+)}$=1,12, p=0,260 $W^{к(-)}$=1,13, p=0,255
	ТПБ-1	2,98 ±0,16	3,05 ±0,19	0,06 (0,956)	2,86 ±0,16	3,15 ±0,12	1,43 (0,153)	$W^{гр(+)}$=0,54, p=0,590 $W^{гр(-)}$=0,11, p=0,914
	$U^{к/гр}$(p)	0,81 (0,419)	0,25 (0,804)	-	0,27 (0,788)	0,16 (0,87)	-	-
ЛФ мг/л	Конт.	1,1 ±0,07	1,13 ±0,08	0,19 (0,846)	1,1 ±0,10	1,09 ±0,10	0,001 (1,000)	$W^{к(+)}$=0,11, p=0,906 $W^{к(-)}$=0,23, p=0,814
	ТПБ-1	1,09 ±0,13	1,16 ±0,12	0,2 (0,838)	1,01 ±0,11	1,03 ±0,12	1,04 (0,296)	$W^{гр(+)}$=1,21, p=0,225 $W^{гр(-)}$=1,00, p=0,318
	$U^{к/гр}$(p)	0,42 (0,677)	0,18 (0,861)	-	1,39 (0,166)	1,14 (0,254)	-	-
Альбумин г/л	Конт.	45,98 ±0,62	45,83 ±0,77	0,54 (0,589)	43,57 ±0,45	42,23 ±0,76	1,31 (0,19)	**$W^{к(+)}$=2,07, p=0,038** **$W^{к(-)}$=2,76, p=0,006**
	ТПБ-1	46,84 ±0,58	46,94 ±0,91	0,21 (0,836)	43,48 ±0,46	43,70 ±0,91	0,33 (0,745)	**$W^{гр(+)}$=3,57, p=0<0,001** **$W^{гр(-)}$=3,58, p=0<0,001**
	$U^{к/гр}$(p)	0,67 (0,5)	0,65 (0,517)	-	0,18 (0,855)	1,23 (0,22)	-	-
ОБ г/л	Конт.	74,61 ±2,57	75,1 ±1,37	0,29 (0,771)	77,06 ±0,89	75,51 ±1,34	0,58 (0,565)	$W^{к(+)}$=0,31, p=0,753 $W^{к(-)}$=0,36, p=0,712
	ТПБ-1	76,33 ±1,93	77,41 ±1,44	0,51 (0,612)	78,63 ±1,08	77,01 ±1,19	0,52 (0,604)	$W^{гр(+)}$=0,45, p=0,65 $W^{гр(+)}$=0,70, p=0,485

Продолжение таблицы 12

	$U^{к/гр}$(p)	0,61 (0,541)	0,91 (0,361)	-	0,88 (0,379)	0,98 (0,325)	-	-
ФНО-α пкг/мл	Конт.	1,22 ±0,08	1,04 ±0,09	1,28 (0,2)	1,58 ±0,33	1,36 ±0,33	0,62 (0,533)	$W^{к(+)}$=1,10, p=0,271 $W^{к(-)}$=0,34, p=0,733
	ТПБ-1	1,44 ±0,2	1,56 ±0,15	0,99 (0,322)	1,46 ±0,28	1,36 ±0,29	1,25 (0,21)	$W^{гр(+)}$=0,47, p=0,638 $W^{гр(-)}$=1,16, p=0,244
	$U^{к/гр}$(p)	0,13 (0,893)	2,09 (0,037)	-	0,15 (0,883)	0,42 (0,676)	-	-
ИЛ-6 пкг/мл	Конт.	1,35 ±0,1	1,39 ±0,08	0,21 (0,834)	1,22 ±0,22	1,84 ±0,3	1,67 (0,095)	$W^{к(+)}$=0,26, p=0,789 $W^{к(-)}$=1,08, p=0,278
	ТПБ-1	1,43 ±0,13	1,61 ±0,12	0,76 (0,449)	1,5 ±0,19	1,8 ±0,24	1,33 (0,182)	$W^{гр(+)}$=0,66, p=0,509 $W^{гр(-)}$=1,73, p=0,084
	$U^{к/гр}$(p)	0,31 (0,755)	1,36 (0,173)	-	0,98 (0,328)	0,02 (0,984)	-	-
ИЛ-8 пкг/мл	Конт.	6,36 ±0,43	7,03 ±0,56	0,77 (0,442)	3,74 ±0,57	3,97 ±0,99	0,49 (0,625)	**$W^{к(+)}$=2,66, p=0,008** **$W^{к(-)}$=2,10, p=0,036**
	ТПБ-1	6,25 ±0,5	7,71 ±0,74	0,95 (0,342)	3,59 ±0,46	4,42 ±0,89	0,02 (0,987)	**$W^{гр(+)}$=3,11, p=0,002** **$W^{гр(-)}$=3,57, p<0,001**
	$U^{к/гр}$(p)	0,46 (0,646)	0,14 (0,89)	-	0,24 (0,807)	0,27 (0,789)	-	-
ИФН-γ пкг/мл	Конт.	5,07 ±0,46	4,14 ±0,25	1,46 (0,145)	4,63 ±0,35	4,4 ±0,35	0,46 (0,643)	$W^{к(+)}$=0,78, p=0,433 $W^{к(-)}$=0,05, p=0,955
	ТПБ-1	6,38 ±0,36	5,41 ±0,29	1,75 (0,08)	6,16 ±0,44	6,63 ±0,42	0,62 (0,537)	$W^{гр(+)}$=0,28, p=0,779 $W^{гр(-)}$=1,89, p=0,059
	$U^{к/гр}$(p)	**2,22 (0,026)**	**2,72 (0,006)**	-	**2,23 (0,026)**	**3,38 (0,001)**	-	-
VEGF пкг/мл	Конт.	86,34 ±9,97	79,54 ±9,58	0,44 (0,662)	136,84 ±15,06	134,02 ±20,16	0,58 (0,561)	**$W^{к(+)}$=2,34, p=0,019** **$W^{к(-)}$=2,10, p=0,035**
	ТПБ-1	90,42 ±8,44	74,39 ±9,31	1,14 (0,253)	158,1 ±17,98	142,27 ±12,86	1,7 (0,089)	**$W^{гр(+)}$=2,29, p=0,022** **$W^{гр(-)}$=2,73, p=0,006**
	$U^{к/гр}$(p)	1,24 (0,215)	0,05 (0,97)	-	1,02 (0,305)	0,25 (0,803)	-	-

Примечание: U(p) – статистическая значимость различий между подгруппами забеременевших и не забеременевших женщин, применялся критерий Манна-Уитни

$U^{к/гр}$(p) – статистическая значимость различий между ТПБ-1 и группой контроля, применялся критерий Манна-Уитни

$W^{к(+)}$, $W^{к(-)}$ – статистическая значимость изменений значений показателей в процессе индукции суперовуляции в подгруппе пациенток группы контроля с положительным и отрицательным исходом программы ЭКО соответственно, применялся критерий для связанных выборок Вилкоксона.

$W^{гр(+)}$, $W^{гр(-)}$ – статистическая значимость изменений значений показателей в процессе индукции суперовуляции в ТПБ-1 с положительным и отрицательным исходом программы ЭКО соответственно, применялся критерий для связанных выборок Вилкоксона.

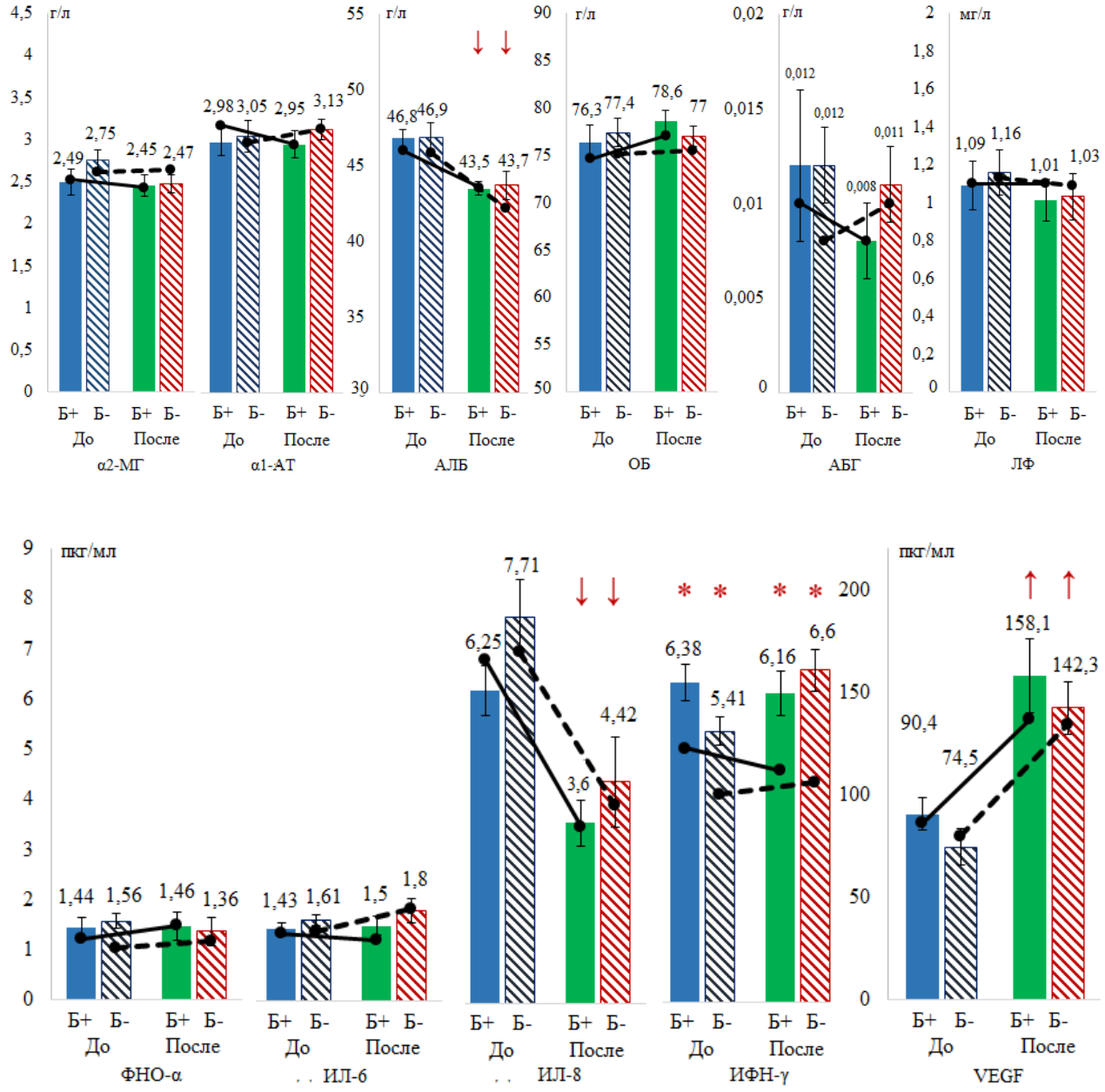
ЧНБ в 1-ой подгруппе ТПБ составила 38,3% и была сопоставима с аналогичным показателем группы контроля (38%).Уровень изучаемых иммунологических показателей в подгруппе 1 пациенток с ТПБ продемонстрировал идентичность исходных значений большинства изучаемых иммунологических показателей, а также их динамики в ответ на индукцию суперовуляции и триджерринга в виде снижения сывороточных концентраций АЛБ, ИЛ-8 и повышения – VEGF в сравнении с группой контроля. Исключением являлся сывороточный уровень ИФН-γ, который был повышен как исходно, так и в день ТВП у пациенток 1-ой подгруппы ТПБ. На основе полученных данных иммунологических предикторов, позволяющих прогнозировать положительный или отрицательный исход программы ЭКО у пациенток 1-ой подгруппы ТПБ не выявлено.

Проведенный анализ изучаемых иммунологических параметров показал, что до начала индукции суперовуляции и в день ТВП в 1-ой подгруппе пациенток с ТПБ уровни α1-АТ и ФНО-α были сопоставимы с показателями пациенток группы контроля как при положительном, так и при отрицательном исходе программы ЭКО.

Повышенный уровень ИФН-γ не имел каких-либо существенных сдвигов в ответ на проводимую индукцию суперовуляции в 1-ой подгруппе ТПБ, оставаясь повышенным в день ТВП как для положительного, так и для отрицательного исхода программы ЭКО, что позволяет расценивать данную ситуацию как компенсаторную реакцию организма.

Выявленные закономерности наглядно представлены на рисунке 5.

Таким образом, особенностями иммунологического профиля по изучаемым показателям в сыворотке крови у пациенток 1-ой подгруппы ТПБ, в отличие от группы контроля, было исходное повышение уровня ИНФ-γ, который также оставался повышенным после проведенной индукции суперовуляции и введения триггера финального созревания ооцитов (ХГЧ) ко дню ТВП. Динамика изучаемых иммунно-регуляторных белков и цитокинов в сыворотке крови в процессе индукции суперовуляции в данной подгруппе была аналогичной группе контроля и выражалась в снижении уровня АЛБ, ИЛ-8 и повышении VEGF. Иммунологических предикторов результативности программ ЭКО в сыворотке крови в 1-ой подгруппе ТПБ нами не выявлено.



- значения показателей у забеременевших женщин до и после стимуляции соответственно;
- значения показателей у незабеременевших женщин до и после стимуляции соответственно;
- значения показателей забеременевших женщин группы контроля
- значения показателей незабеременевших женщин группы контроля

↑↓ - изменений значений показателей в процессе индукции суперовуляции статистически значимы на уровне $p \leq 0,05$

* – различия по сравнению с группой контроля статистически значимы на уровне $p \leq 0,05$

Рисунок 5 – Динамика регуляторно-транспортных белков и цитокинов сыворотки крови в 1-ой подгруппе ТПБ и контрольной группе в зависимости от исхода программы ЭКО

Для выявления возможной взаимосвязи иммунологических параметров с результативностью программ ЭКО пациенток 2-ой подгруппы ТПБ нами был проведен анализ исследуемых показателей сыворотки крови у пациенток с положительным и отрицательным исходом проводимого лечения, полученные значения представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Концентрации регуляторно-транспортных белков и цитокинов сыворотки крови инфертильных пациенток 2-ой подгруппы ТПБ и группы контроля в зависимости от исхода программы ЭКО

Показатели	Группа	До стимуляции			После стимуляции (день ТВП)			Анализ динамики
		Б+	Б-	U(p)	Б+	Б-	U(p)	
α2-МГ г/л	Конт.n-37 (Б+ n-14 Б- n-23)	2,52 ±0,15	2,61 ±0,11	1,00 (0,32)	2,43 ±0,19	2,64 ±0,15	0,99 (0,323)	$W^{к(+)}$=0,31, p=0,754 $W^{к(-)=}$0,40, p=0,683
	ТПБ-2;n-82 (Б+ n-20 Б- n-62)	2,47 ±0,12	2,40 ±0,11	0,55 (0,58)	2,58 ±0,07	2,45 ±0,09	0,86 (0,389)	$W^{гр(+)}$=0,67, p=0,497 $W^{гр(-)}$=0,49, p=0,620
	$U^{к/гр}$(p)	0,03 (0,979)	1,18 (0,24)	-	1,23 (0,219)	0,7 (0,484)	-	-
АБГ г/л	Конт.	0,01 ±0,002	0,008 ±0,002	0,35 (0,73)	0,008 ±0,002	0,010 ±0,002	0,88 (0,382)	$W^{к(+)}$=0,40, p=0,688 $W^{к(-)}$=0,04, p=0,964
	ТПБ-2	0,012 ±0,001	0,009 ±0,001	1,54 (0,123)	0,011 ±0,002	0,012 ±0,002	0,23 (0,822)	$W^{гр(+)}$=0,78, p=0,434 $W^{гр(-)}$=0,54, p=0,586
	$U^{к/гр}$(p)	1,23 (0,218)	0,46 (0,649)	-	1,43 (0,154)	0,41 (0,684)	-	-
α1-АТ г/л	Конт.	3,18 ±0,15	2,98 ±0,11	0,85 (0,395)	2,95 ±0,18	3,13 ±0,09	0,44 (0,659)	$W^{к(+)}$=1,12, p=0,260 $W^{к(-)}$=1,13, p=0,255
	ТПБ-2	4,03 ±0,12	3,96 ±0,13	0,48 (0,632)	3,2 ±0,12	3,16 ±0,12	0,29 (0,772)	**$W^{гр(+)}$=4,11, p<0,001** **$W^{гр(-)}$=3,74, p<0,001**
	$U^{к/гр}$(p)	**3,38 (0,001)**	**4,48 (<0,001)**	-	1,23 (0,22)	0,07 (0,941)	-	-
ЛФ мг/л	Конт.	1,1 ±0,07	1,13 ±0,08	0,19 (0,846)	1,1 ±0,1	1,09 ±0,1	0,001 (1,000)	$W^{к(+)}$=0,11, p=0,906 $W^{к(-)}$=0,23, p=0,814
	ТПБ-2	0,94 ±0,1	0,98 ±0,1	0,07 (0,947)	1,11 ±0,09	1,21 ±0,09	0,67 (0,504)	$W^{гр(+)}$=1,36, p=0,173 $W^{гр(-)}$=1,75, p=0,080
	$U^{к/гр}$(p)	0,61 (0,545)	1,12 (0,261)	-	0,03 (0,978)	0,8 (0,425)	-	-
Альбумин г/л	Конт.	45,98 ±0,62	45,83 ±0,77	0,54 (0,589)	43,57 ±0,45	42,23 ±0,76	1,31 (0,19)	**$W^{к(+)}$=2,07, p=0,038** **$W^{к(-)}$=2,76, p=0,006**
	ТПБ-2	45,85 ±0,54	46,91 ±0,5	1,45 (0,148)	45,42 ±0,43	43,75 ±0,5	**2,04 (0,041)**	$W^{гр(+)}$=0,79, p=0,427 **$W^{гр(-)}$=4,58, p<0,001**
	$U^{к/гр}$(p)	0,42 (0,671)	1,07 (0,283)	-	2,31 (0,021)	1,56 (0,118)	-	-
ОБ г/л	Конт.	74,61 ±2,57	75,1 ±1,37	0,29 (0,771)	77,06 ±0,89	75,51 ±1,34	0,58 (0,565)	$W^{к(+)}$=0,31, p=0,753 $W^{к(-)}$=0,36, p=0,712

Продолжение таблицы 13

ОБ г/л	ТПБ-2	76,15 ±1,33	77,21 ±1,06	0,56 (0,579)	77,2 ±1,05	76,86 ±0,8	0,05 (0,958)	$W^{гр(+)}$=0,33, p=0,744 $W^{гр(-)}$=0,62, p=0,535
	$U^{к/гр}$(p)	0,23 (0,821)	1,14 (0,255)	-	0,02 (0,986)	0,67 (0,505)	-	-
ФНО-α пкг/мл	Конт.	1,22 ±0,08	1,04 ±0,09	1,28 (0,2)	1,58 ±0,33	1,36 ±0,33	0,62 (0,533)	$W^{к(+)}$=1,10, p=0,271 $W^{к(-)}$=0,34, p=0,733
	ТПБ-2	2,55 ±0,19	2,23 ±0,15	1,73 (0,084)	1,33 ±0,25	2,34 ±0,32	**1,97 (0,049)**	**$W^{гр(+)}$=3,06, p=0,002** $W^{гр(-)}$=0,43, p=0,670
	$U^{к/гр}$(p)	**3,66 (<0,001)**	**4,23 (<0,001)**	-	0,49 (0,624)	**2,1 (0,036)**	-	-
ИЛ-6 пкг/мл	Конт.	1,35 ±0,1	1,39 ±0,08	0,21 (0,834)	1,22 ±0,22	1,84 ±0,3	1,67 (0,095)	$W^{к(+)}$=0,26, p=0,789 $W^{к(-)}$=1,08, p=0,278
	ТПБ-2	1,19 ±0,17	1,36 ±0,16	0,99 (0,324)	1,79 ±0,38	1,41 ±0,29	1,16 (0,245)	$W^{гр(+)}$=1,82, p=0,068 $W^{гр(+)}$=1,60, p=0,109
	$U^{к/гр}$(p)	1,17 (0,243)	0,17 (0,864)	-	0,64 (0,523)	1,88 (0,060)	-	-
ИЛ-8 пкг/мл	Конт.	6,36 ±0,43	7,03 ±0,56	0,77 (0,442)	3,74 ±0,57	3,97 ±0,99	0,49 (0,625)	**$W^{к(+)}$=2,66, p=0,008** **$W^{к(-)}$=2,10, p=0,036**
	ТПБ-2	6,77 ±0,38	7,04 ±0,96	0,93 (0,353)	3,19 ±0,44	4,67 ±1,15	0,68 (0,497)	**$W^{гр(+)}$=3,98, p=<0,001** **$W^{гр(-)}$=2,94, p=0,003**
	$U^{к/гр}$(p)	0,49 (0,625)	0,97 (0,334)	-	0,81 (0,421)	0,23 (0,815)	-	-
ИФН-γ пкг/мл	Конт.	5,07 ±0,46	4,14 ±0,25	1,46 (0,145)	4,63 ±0,35	4,4 ±0,35	0,46 (0,643)	$W^{к(+)}$=0,78, p=0,433 $W^{к(-)}$=0,05, p=0,955
	ТПБ-2	6,05 ±0,24	5,38 ±0,3	1,21 (0,227)	5,8 ±0,35	6,31 ±0,5	0,73 (0,465)	$W^{гр(+)}$=1,79, p=0,073 $W^{гр(-)}$=1,68, p=0,093
	$U^{к/гр}$(p)	**2,04 (0,041)**	**2,64 (0,008)**	-	**1,97 (0,049)**	**2,17 (0,030)**	-	-
VEGF пкг/мл	Конт.	86,34 ±9,97	79,54 ±9,58	0,44 (0,662)	136,84 ±15,06	134,02 ±20,16	0,58 (0,561)	**$W^{к(+)}$=2,34, p=0,019** **$W^{к(-)}$=2,10, p=0,035**
	ТПБ-2	100,33 ±6,65	95,3 ±6,39	0,44 (0,657)	176,64 ±23,81	146,33 ±18,79	1,14 (0,255)	**$W^{гр(+)}$=2,84, p=0,005** **$W^{гр(-)}$=1,98, p=0,047**
	$U^{к/гр}$(p)	1,73 (0,084)	1,52 (0,128)	-	1,64 (0,101)	0,87 (0,384)	-	-

Примечание: U(p) – статистическая значимость различий между подгруппами забеременевших и не забеременевших женщин, применялся критерий Манна-Уитни

$U^{к/гр}$(p) – статистическая значимость различий между 2-ой подгруппой ТПБ и группой контроля, применялся критерий Манна-Уитни

$W^{к(+)}$,$W^{к(-)}$ – статистическая значимость изменений значений показателей в процессе индукции суперовуляции в подгруппе пациенток группы контроля с положительным и отрицательным исходом программы ЭКО соответственно, применялся критерий для связанных выборок Вилкоксона.

$W^{гр(+)}$,$W^{гр(-)}$ – статистическая значимость изменений значений показателей в процессе индукции суперовуляции во 2-ой подгруппе пациенток ТПБ с положительным и отрицательным исходом программы ЭКО соответственно, применялся критерий для связанных выборок Вилкоксона.

Проведенный нами анализ ЧНБ во 2-ой подгруппе ТПБ показал её достоверно более низкий уровень (24,4%) по сравнению с группой контроля (38%) и 1-ой подгруппой ТПБ (38,3%).

Особенностями иммунного статуса по изучаемым параметрам пациенток 2-ой подгруппы ТПБ по сравнению с группой контроля были исходно повышенные сывороточные значения α1-АТ, ФНО-α и ИФН-γ. Динамика изучаемых сывороточных показателей в ответ на проводимую индукцию суперовуляции и введение ХГЧ в качестве триггера финального созревания ооцитов имела как общие тенденции с группой контроля (в виде снижения концентрации АЛБ и ИЛ-8 и повышения – VEGF), так и отличные от неё (снижение до контрольных цифр исходно повышенного уровня α1-АТ). Повышенные до начала стимуляции яичников уровни ФНО-α и ИФН-γ не имели существенной динамики в процессе индукции суперовуляции, оставаясь повышенными, по сравнению с контролем, в день ТВП.

Сопоставив динамику данных показателей с результатами проведенных программ ЭКО мы не выявили какого-либо влияния на её результативность изменений концентраций ИЛ-8, VEGF и α1-АТ. Повышенный до начала стимуляции яичников уровень ИФН-γ также оставался таковым ко дню ТВП как у забеременевших пациенток, так и при отрицательном исходе программы ЭКО.

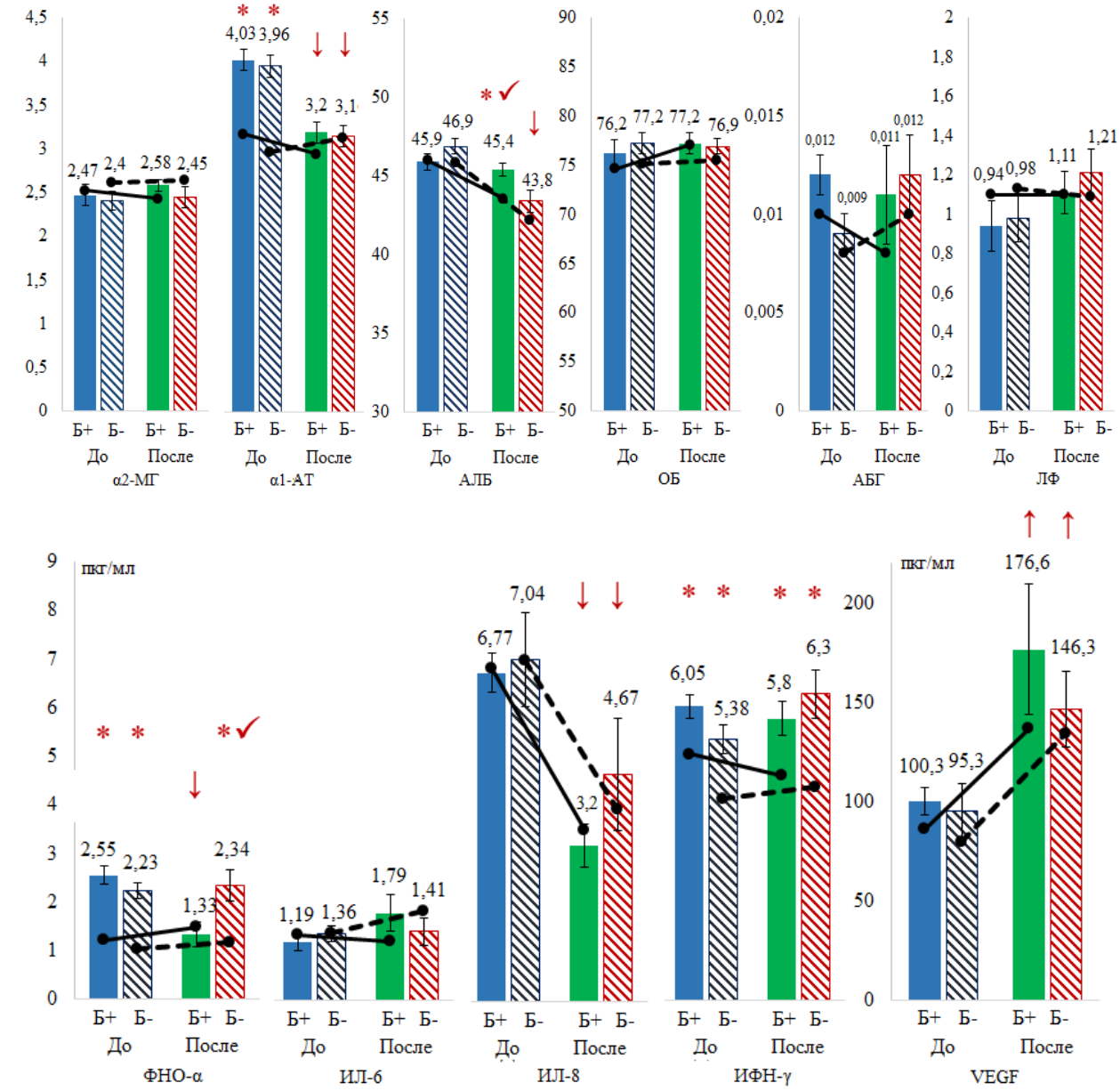
Интересная закономерность выявлена нами при анализе сывороточных значений АЛБ у пациенток 2-ой подгруппы ТПБ. Тенденция в общей группе в ответ на проводимую индукцию суперовуляции была аналогичной группе контроля и проявлялась достоверным снижением средних значений данного показателя. Однако, при детальном рассмотрении его значений в подгруппах с положительным и отрицательным исходом программы ЭКО оказалось, что достоверное снижение уровня сывороточного АЛБ отмечалось только при отрицательном исходе лечения, а у забеременевших впоследствии пациенток данный показатель оставался на прежнем уровне.

Проведенное исследование продемонстрировало также, что одной из иммунологических особенностей, присущих пациенткам 2-ой подгруппы ТПБ, являются повышенные сывороточные значения ФНО-α до начала индукции суперовуляции. Сопоставив динамические изменения сывороточной концентрации данного показателя с исходом лечения в программе ЭКО мы выявили, что при положительном результате изначально повышенный уровень ФНО-α статистически значимо снижался, и в день ТВП был сопоставим с контрольными значениями. А при отрицательном исходе лечения концентрация ФНО-α в сыворотке крови в день ТВП оставалась повышенной, значительно превышая соответствующие показатели женщин группы контроля и пациенток 2-ой подгруппы ТПБ с положительным исходом программы ЭКО.

Наглядно выявленные закономерности представлены на рисунке 6.

Таким образом, особенностями иммунологического статуса пациенток 2-ой подгруппы ТПБ по изучаемым параметрам было исходное повышение сывороточных значений α1-АТ, ФНО-α и ИФН-γ. В процессе индукции суперовуляции и после введения хГЧ в качестве триггера финального созревания ооцитов отмечена динамика, как аналогичная группе контроля (снижение сывороточных концентраций АЛБ, менее интенсивное при ТПБ-2, а также снижение ИЛ-8 и повышение VEGF), так и отличная от контроля в виде снижения исходно повышенных значений α1-АТ. Исходно повышенный уровень ИФН-γ оставался таковым и ко дню ТВП, не оказывая влияния на ЧНБ у пациенток данной подгруппы. В качестве иммунологических предикторов отрицательного исхода программы ЭКО во 2-ой подгруппе ТПБ можно рассматривать достоверное снижение уровня АЛБ и стабильно повышенные концентрации ФНО-α в день ТВП относительно исходных значений данных показателей до начала индукции суперовуляции.

Для выявления возможных особенностей локального интрафолликулярного иммунологического профиля у пациенток с ТПБ, а также возможного влияния его на исход программ ЭКО у пациенток данной группы (как в общей группе, так и в 1 и 2 подгруппах) нами проведено исследование состава фолликулярной жидкости, аспирированной в день ТВП. Полученные данные представлены в таблицах 14-16.



- значения показателей у забеременевших женщин до и после стимуляции соответственно;
- значения показателей у незабеременевших женщин до и после стимуляции соответственно;
- значения показателей забеременевших женщин группы контроля
- значения показателей незабеременевших женщин группы контроля

↑↓ – изменений значений показателей в процессе индукции суперовуляции статистически значимы на уровне $p \leq 0,05$

* – различия по сравнения с группой контроля статистически значимы на уровне $p \leq 0,05$

✓ – различия между забеременевшими и не забеременевшими женщинами статистически значимы на уровне $p \leq 0,05$

Рисунок 6 – Динамика регуляторно-транспортных белков и цитокинов сыворотки крови в подгруппе ТПБ-2 и контрольной группе в зависимости от исхода программы ЭКО

Таблица 14 – Регуляторно-транспортные белки и цитокины в составе ФЖ пациенток общей группы ТПБ в сравнении с группой контроля

Показатели в фол-ой жидкости	Группа контроля (N=37)		ТПБ (N=169)		Сравнение между группами U(p)
	среднее ± ошибка среднего	нормативный диапазон до программы	среднее ± ошибка среднего	диапазон изменения до программы	
α2-МГ г/л	0,15±0,01	0,07-0,27	0,15±0,01	0,05-0,28	0,11(0,915)
α1-АТ г/л	0,24±0,02	0,14-0,40	0,24±0,01	0,10-0,37	0,29(0,768)
ЛФ мг/л	0,18±0,02	0,11-0,26	0,19±0,01	0,12-0,27	0,4(0,689)
Альбумин г/л	41,92±0,5	39,1-44,85	40,53±0,49	36,25-44,5	1,35(0,177)
ОБ г/л	61,78±0,57	58,44-65,74	59,13±0,85	52,22-65,54	1,49(0,135)
ФНО-α пкг/мл	1,56±0,26	0,10-2,36	1,75±0,23	0,10-3,06	0,05(0,960)
ИЛ-6 пкг/мл	13,26±1,41	4,86-22,62	14,60±1,77	4,76-25,5	0,78(0,437)
ИЛ-8 пкг/мл	250,7±12,7	169,24-334,46	252,77±9,38	131,4-340,3	0,47(0,641)
ИФН-γ пкг/мл	4,92±0,35	3,00-7,38	5,14±0,23	2,46-7,54	0,48(0,629)

Примечание: U(p) – статистическая значимость различий между группой ТПБ и группой контроля, применялся критерий Манна-Уитни

Проведенный анализ изучаемых иммунологических показателей в составе ФЖ в общей группе трубно-перитонеального бесплодия в сравнении с аналогичными показателями пациенток группы контроля достоверных различий не выявил.

В последующем анализ иммунологического состава ФЖ в группе пациенток с ТПБ проведен в соответствии с разбивкой на 1 и 2 подгруппы. Полученные данные представлены в таблицах 15, 16.

Проведенный нами анализ состава ФЖ у пациенток 1-ой подгруппы ТПБ также не выявил существенных отличий от группы контроля.

Исследование состава ФЖ пациенток 2-ой подгруппы ТПБ позволило нам выявить отличительные особенности её от контрольной группы в виде достоверно сниженных значений ОБ и АЛБ (таблица 16, рисунок 7).

Таблица 15 – Регуляторно-транспортные белки и цитокины в ФЖ пациенток 1-ой подгруппы ТПБ в сравнении с группой контроля

Показатели в фол-ой жидкости	Группа контроля (N=37)		ТПБ-1 (N=94)		сравнение между группами U(p)
	среднее ± ошибка среднего	нормативный диапазон до программы	среднее ± ошибка среднего	диапазон изменения до программы	
α2-МГ г/л	0,15±0,01	0,07-0,27	0,17±0,01	0,09-0,28	1,11(0,268)
α1-АТ г/л	0,24±0,02	0,14-0,40	0,24±0,01	0,14-0,37	0,25(0,801)
ЛФ мг/л	0,18±0,02	0,11-0,26	0,17±0,01	0,10-0,25	0,21(0,832)
Альбумин г/л	41,92±0,5	39,1-44,85	42,09±0,36	39,36-44,65	0,18(0,854)
ОБ г/л	61,78±0,57	58,44-65,74	62,15±0,46	58,48-65,66	0,45(0,650)
ФНО-α пкг/мл	1,56±0,26	0,10-2,36	1,76±0,22	0,10-3,04	0,44(0,659)
ИЛ-6 пкг/мл	13,26±1,41	4,86-22,62	14,24±1,19	5,75-26,05	0,58(0,562)
ИЛ-8 пкг/мл	250,7±12,7	169,24-334,46	255,19±11,94	180,0-346,4	0,50(0,620)
ИФН-γ пкг/мл	4,92±0,35	3,00-7,38	4,99±0,28	3,24-7,52	0,12(0,907)

Примечание: U(p) – статистическая значимость различий между группой ТПБ-1 и группой контроля, применялся критерий Манна-Уитни

Таблица 16– Регуляторно-транспортные белки и цитокины в ФЖ пациенток 2-ой подгруппы ТПБ в сравнении с группой контроля

Показатели в фол-ой жидкости	Группа контроля (N=37)		ТПБ-2 (N=82)		Сравнение между группами U(p)
	среднее ± ошибка среднего	нормативный диапазон до программы	среднее ± ошибка среднего	диапазон изменения до программы	
α2-МГ г/л	0,15±0,01	0,07-0,27	0,14±0,01	0,04-0,25	0,96(0,337)
α1-АТ г/л	0,24±0,02	0,14-0,40	0,23±0,02	0,10-0,36	0,81(0,415)
ЛФ мг/л	0,18±0,02	0,11-0,26	0,21±0,02	0,13-0,31	0,97(0,333)
Альбумин г/л	**41,92±0,5**	**39,1-44,85**	**39,20±0,82**	**34,90-43,80**	**2,46(0,014)**
ОБ г/л	**61,78±0,57**	**58,44-65,74**	**56,03±1,52**	**48,00-64,30**	**3,16(0,002)**
ФНО-α пкг/мл	1,56±0,26	0,10-2,36	1,73±0,42	0,00-2,46	0,93(0,351)
ИЛ-6 пкг/мл	13,26±1,41	4,86-22,62	13,2±1,52	5,31-24,45	0,41(0,679)
ИЛ-8 пкг/мл	250,7±12,7	169,24-334,46	250,28±14,69	120,37-335,84	0,34(0,736)
ИФН-γ пкг/мл	4,92±0,35	3,00-7,38	5,28±0,37	2,20-7,58	0,75(0,452)

Примечание: U(p) – статистическая значимость различий между 2-ой подгруппой ТПБ и группой контроля, применялся критерий Манна-Уитни

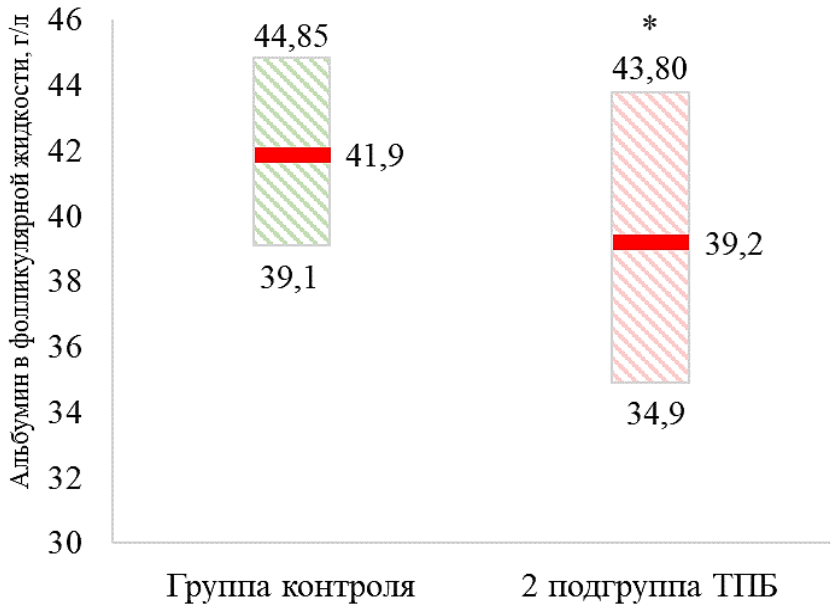


Рисунок 7 – Содержание АЛБ в ФЖ в день ТВП у пациенток 2-ой подгруппы ТПБ по сравнению с группой контроля

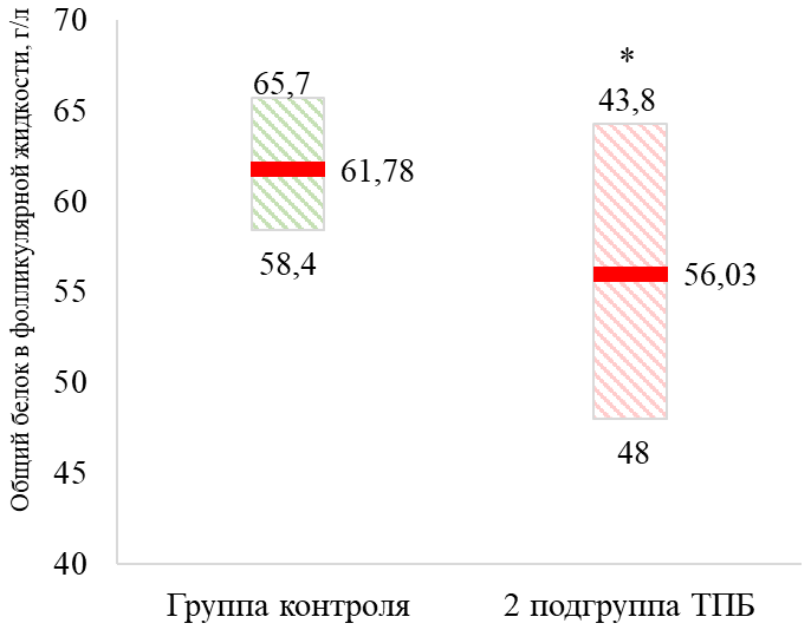


Рисунок 8 – Содержание ОБ в ФЖ жидкости у пациенток с ТПБ-2 по сравнению с группой контроля

С целью выявления возможных иммунологических предикторов результативности программ ЭКО в составе ФЖ нами проведен анализ изучаемых иммунологических показателей в зависимости от исхода программы ЭКО в 1 и 2 подгруппах ТПБ, полученные данные представлены в таблицах 17-18.

Таблица 17 – Регуляторно-транспортные белки и цитокины в составе ФЖ пациенток 1-ой подгруппы ТПБ в зависимости от исхода программы ЭКО (контроль N – 37, беременных – 14 (38%), небеременных – 23 (62%); ТПБ-1 N – 94, беременных – 36 (38,3%); небеременных – 58 (61,7%)

Показатели		Б +	Б -	U(p)
α2-МГ г/л	Контроль	0,14±0,02	0,17±0,02	*1,52(0,128)*
	ТПБ-1	0,15±0,02	0,18±0,01	*1,77(0,077)*
	$U(p)^{к}$	*1,01(0,311)*	*0,76(0,448)*	-
α1-АТ г/л	Контроль	0,23±0,03	0,26±0,03	*0,57(0,571)*
	ТПБ-1	0,24±0,02	0,25±0,02	*0,04(0,965)*
	$U(p)^{к}$	*0,45(0,65)*	*0,1(0,92)*	-
ЛФ мг/л	Контроль	0,19±0,02	0,18±0,03	*0,93(0,351)*
	ТПБ-1	0,17±0,01	0,17±0,01	*0,59(0,558)*
	$U(p)^{к}$	*0,52(0,6)*	*0,23(0,819)*	-
Альбумин г/л	Контроль	41,93±0,71	41,91±0,72	*0,31(0,758)*
	ТПБ-1	42,07±0,52	42,11±0,50	*0,16(0,871)*
	$U(p)^{к}$	*0,08(0,935)*	*0,24(0,813)*	-
ОБ г/л	Контроль	61,91±1,06	61,69±0,64	*0,27(0,784)*
	ТПБ-1	62,49±0,83	61,85±0,50	*0,56(0,573)*
	$U(p)^{к}$	*0,41(0,685)*	*0,29(0,774)*	-
ФНО-α пкг/мл	Контроль	1,85±0,54	1,33±0,18	*0,22(0,826)*
	ТПБ-1	2,05±0,40	1,51±0,23	*0,72(0,472)*
	$U(p)^{к}$	*0,41(0,684)*	*0,19(0,852)*	-
ИЛ-6 пкг/мл	Контроль	12,55±2,60	13,82±1,54	*0,99(0,324)*
	ТПБ-1	13,18±2,07	15,09±1,39	*1,40(0,161)*
	$U(p)^{к}$	*0,37(0,711)*	*0,46(0,649)*	-
ИЛ-8 пкг/мл	Контроль	248,53±18,29	252,41±18,14	*0,16(0,87)*
	ТПБ-1	257,57±14,27	253,15±18,83	*0,25(0,80)*
	$U(p)^{к}$	*0,43(0,669)*	*0,30(0,762)*	-
ИФН-γ пкг/мл	Контроль	4,76±0,59	5,05±0,44	*0,08(0,935)*
	ТПБ-1	4,96±0,48	5,03±0,33	*0,03(0,978)*
	$U(p)^{к}$	*0,20(0,839)*	*0,13(0,893)*	-

Примечание: $U^{к}(p)$ – статистическая значимость различий между ТПБ-1 и группой контроля, применялся критерий Манна-Уитни

U(p) – статистическая значимость различий между подгруппами забеременевших и не забеременевших женщин, применялся критерий Манна-Уитни

Проведенный анализ иммунологического состава ФЖ пациенток 1-ой подгруппы ТПБ достоверных различий при положительном и отрицательном исходах программ ЭКО не выявил – рисунок 9.

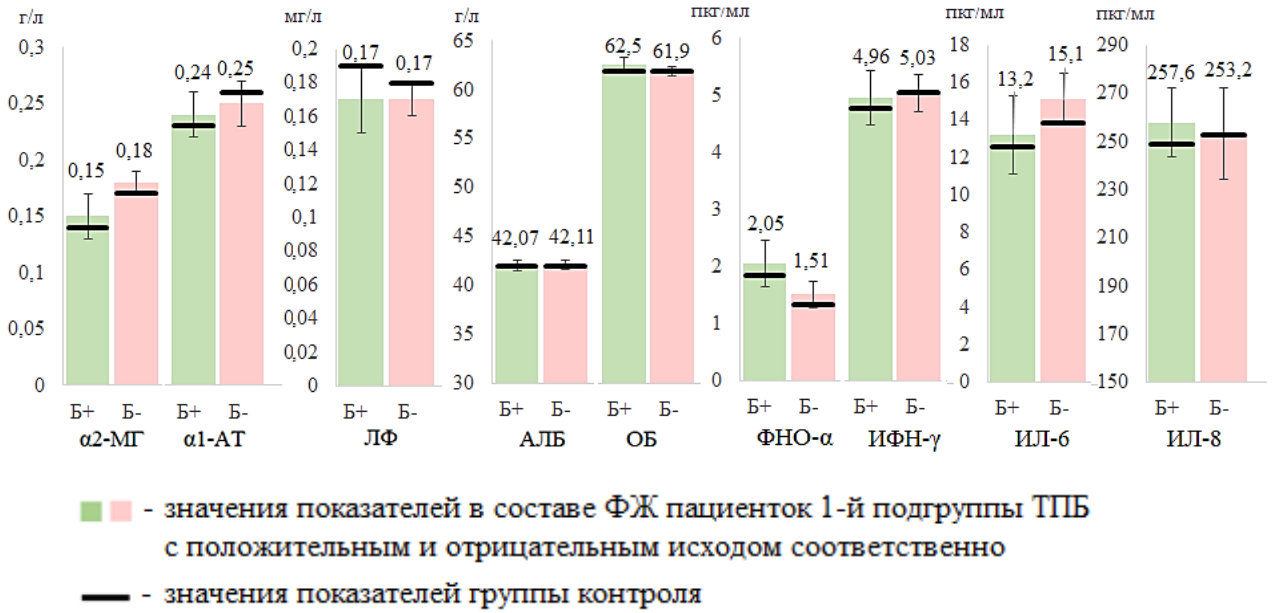


Рисунок 9 – Регуляторно-транспортные белки и цитокины в ФЖ пациенток с ТПБ-1 в зависимости от исхода программы ЭКО

Результаты исследуемых иммунологических показателей в составе ФЖ у пациенток 2-ой подгруппы ТПБ в зависимости от исхода программы ЭКО представлены в таблице 19.

Анализ полученных иммунологических данных продемонстрировал достоверно более низкие концентрации АЛБ в составе фолликулярной жидкости пациенток 2-ой подгруппы ТПБ при отрицательном исходе программы ЭКО по сравнению с положительным исходом, а также с аналогичными показателями пациенток группы контроля.

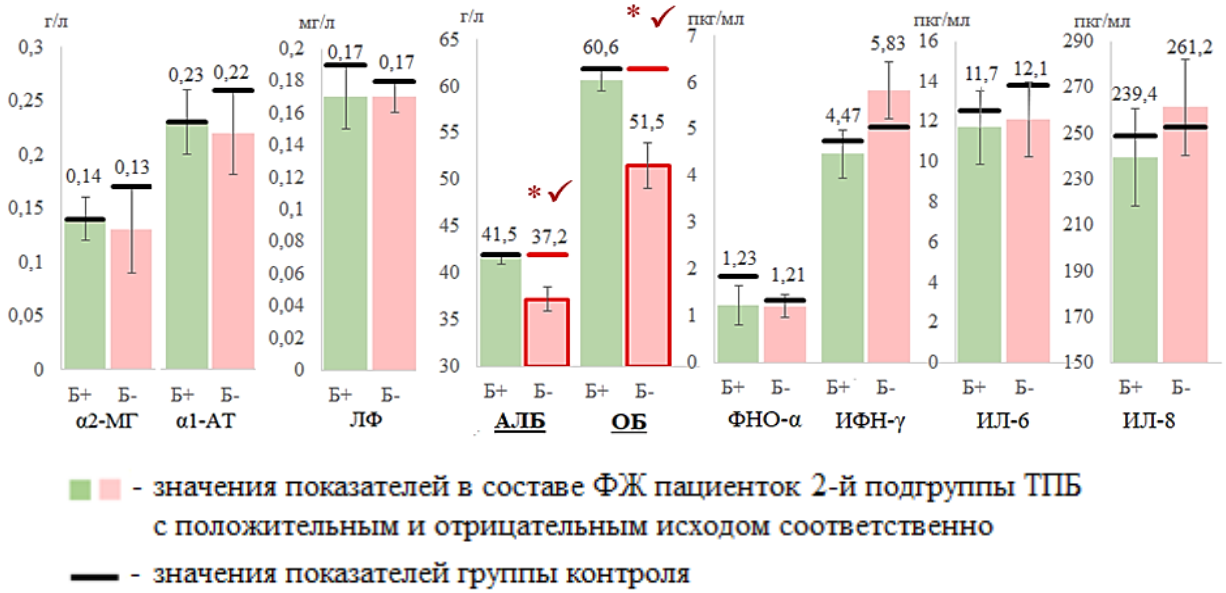
Подобная же закономерность выявлена нами при анализе иммунологических показателей в составе ФЖ пациенток 2-ой подгруппы ТПБ и относительно ОБ: достоверно более низкие значения в подгруппе с отрицательным исходом программы ЭКО по сравнению с положительным исходом и показателями группы контроля (рисунок 10).

Таблица 19 – Уровень регуляторно-транспортных белков и цитокинов ФЖ у пациенток 2-ой подгруппы ТПБ в зависимости от исхода программы ЭКО (контроль N – 37, беременных – 14 (38%), небеременных – 23 (62%); ТПБ-2 N – 82, беременных – 20 (24,4%); небеременных – 62 (75,6%)

Показатели		Б+	Б-	U(p)
α2-МГ г/л	Конт.	0,14±0,02	0,17±0,02	*1,52(0,128)*
	ТПБ-2	0,14±0,02	0,13±0,02	*0,15(0,879)*
	$U(p)^{к}$	*0,02(0,986)*	*1,35(0,177)*	-
α1-АТ г/л	Конт.	0,23±0,03	0,26±0,03	*0,57(0,571)*
	ТПБ-2	0,23±0,03	0,22±0,02	*0,27(0,789)*
	$U(p)^{к}$	*0,09(0,928)*	*1,03(0,305)*	-
ЛФ мг/л	Конт.	0,19±0,02	0,18±0,03	*0,93(0,351)*
	ТПБ-2	0,19±0,02	0,22±0,03	*0,13(0,894)*
	$U(p)^{к}$	*0,13(0,899)*	*1,17(0,242)*	-
Альбумин г/л	Конт.	41,93±0,71	41,91±0,72	*0,31(0,758)*
	ТПБ-2	41,54±0,62	37,19±1,3	***2,79(0,005)***
	$U(p)^{к}$	*0,67(0,500)*	***2,83(0,005)***	-
ОБ г/л	Конт.	61,91±1,06	61,69±0,64	*0,27(0,784)*
	ТПБ-2	60,57±1,12	51,47±2,42	***3,59(<0,001)***
	$U(p)^{к}$	*0,6(0,547)*	***4,15(<0,001)***	-
ФНО-α пкг/мл	Конт.	1,85±0,54	1,33±0,18	*0,22(0,826)*
	ТПБ-2	1,23±0,42	1,21±0,24	*0,81(0,416)*
	$U(p)^{к}$	*1,37(0,172)*	*0,06(0,952)*	-
ИЛ-6 пкг/мл	Конт.	12,55±2,60	13,82±1,54	*0,99(0,324)*
	ТПБ-2	11,76±1,85	12,08±1,88	*0,55(0,582)*
	$U(p)^{к}$	*0,02(0,981)*	*0,87(0,383)*	-
ИЛ-8 пкг/мл	Конт.	248,53±18,29	252,41±18,14	*0,16(0,87)*
	ТПБ-2	239,42±21,05	261,15±20,76	*0,72(0,474)*
	$U(p)^{к}$	*0,28(0,78)*	*0,77(0,444)*	-
ИФН-γ пкг/мл	Конт.	4,76±0,59	5,05±0,44	*0,08(0,935)*
	ТПБ-2	4,74±0,51	5,83±0,51	*1,52(0,129)*
	$U(p)^{к}$	*0,15(0,88)*	*0,98(0,325)*	-

Примечание: $U^{к}(p)$ – статистическая значимость различий между ТПБ-2 и группой контроля, применялся критерий Манна-Уитни

U(p) – статистическая значимость различий между подгруппами забеременевших и незабеременевших женщин, применялся критерий Манна-Уитни



* – различия по сравнению с группой контроля статистически значимы на уровне $p \leq 0,05$

✓ – различия между забеременевшими и не забеременевшими женщинами статистически значимы на уровне $p \leq 0,05$

Рисунок 10 – Уровень регуляторно-траспортных белков и цитокинов в составе ФЖ у пациенток с ТПБ-2 в зависимости от исхода программы ЭКО

Таким образом, проведенный анализ показал, что группа ТПБ отличается от группы контроля повышенным уровнем α1-АТ, ФНО-α и ИФН-γ в сыворотке крови и пониженным ОБ и АЛБ в фолликулярной жидкости. Причем повышенные сывороточные уровни α1-АТ и ФНО-α и пониженные ОБ и АЛБ в фолликулярной жидкости отмечаются только у пациенток 2-ой подгруппы ТПБ. Что касается концентрации ИФН-γ в сыворотке крови, то она повышена в обеих подгруппах ТПБ.

Подавляющее большинство исходных иммунологических параметров, равно как и реакция на стимуляцию суперовуляции (снижение концентрации АЛБ, ИЛ-8 и повышение – VEGF), в 1-ой подгруппе ТПБ были аналогичными показателям группы контроля и не оказывали влияния на результативность лечения. Отличительной особенностью иммунологического статуса пациенток 1-ой подгруппы ТПБ было повышение ИФН-γ, уровень которого значительно превышал исходные аналогичные показатели группы контроля и не подвергался

изменениям в процессе индукции суперовуляции, и также не оказывал влияния на исход программы ЭКО. Таким образом, иммунологических предикторов эффективности лечения в программе ЭКО у пациенток 1-ой подгруппы ТПБ не выявлено.

Особенностями иммунного статуса инфертильных пациенток 2-ой подгруппы ТПБ по сравнению с группой контроля являлись повышенные сывороточные значения α1-АТ, ФНО-α и ИФН-γ. В процессе индукции суперовуляции сохранялась тенденция аналогичная группе контроля в виде снижения уровня АЛБ, ИЛ-8 и повышения VEGF. Однако, в отличие от группы контроля, снижение уровня сывороточного АЛБ было менее выраженным. Предикторное значение в отрицательном исходе программы ЭКО во 2-ой подгруппе ТПБ имело достоверное снижение сывороточного уровня АЛБ ниже контрольных значений, а также отсутствие нормализации исходно повышенного сывороточного уровня ФНО-α ко дню ТВП.

Состав ФЖ пациенток 1-ой подгруппы ТПБ достоверно не отличался от группы контроля. Во 2-ой подгруппе ТПБ отмечалась достоверно более низкие, по сравнению с группой контроля и 1-й подгруппы ТПБ, значения ОБ и АЛБ, имеющие предикторное значение в отрицательном исходе программы ЭКО.

Для выявления критических значений каждого показателя, определённого как возможный предиктор отрицательного исхода программы ЭКО, а также совместного влияния этих показателей на исход данной программы в дальнейшем нами проводилась поэтапная статистическая обработка полученных данных с помощью метода логистической регрессии.

На первом этапе осуществлялся поиск критического значения отдельно для каждого иммунологического показателя, независимо от влияния других показателей. Для этого с помощью метода логистической регрессии была построена модель влияния концентрации каждого показателя на отрицательный исход программы, в качестве предиктора оценивался только один конкретный показатель. На основе построенной модели проводился поиск порога отсечения (критического уровня показателя) при заранее заданном уровне чувствительности. За

приемлемый уровень чувствительности была принята величина 80%. Это значит, что если у конкретной женщины значение рассматриваемого иммунологического показателя в день ТВП выше либо равно критическому значению, то с вероятностью 80% у неё будет отрицательный исход. Если значение ниже критического порога, то ситуация неопределённая, требуется анализ совместного влияния нескольких показателей (второй этап исследования).

Первый рассматриваемый показатель – это АЛБ в сыворотке крови у пациенток 2-ой подгруппы ТПБ. Поиск порога отсечения для приемлемого уровня чувствительности показал, что с вероятностью не менее 80% отрицательный исход программы ЭКО у пациенток данной подгруппы прогнозируется при сывороточном уровне альбумина ниже 40,7 г/л в день ТВП (рисунок 11).

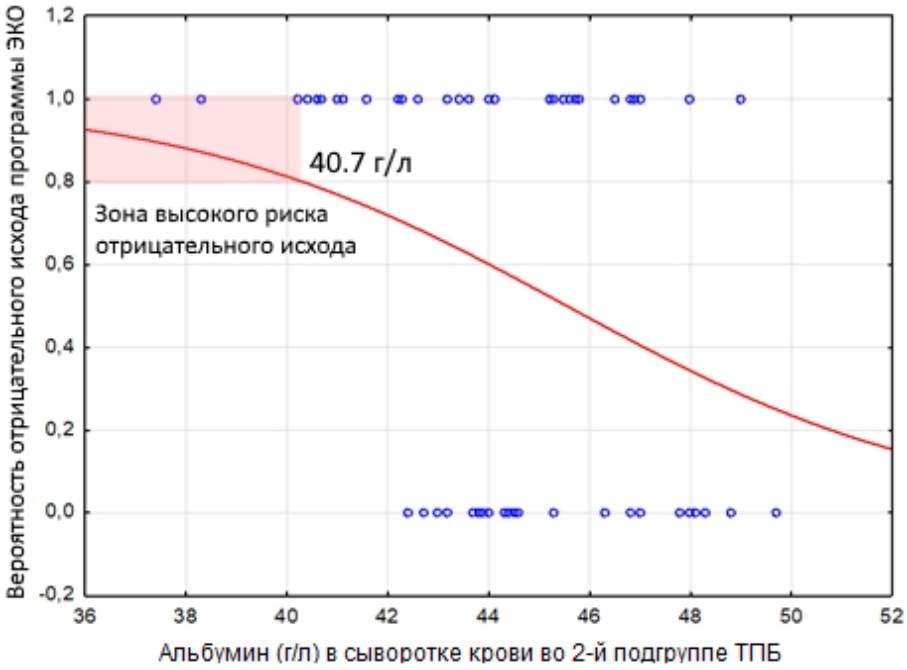


Рисунок 11 – Ассоциация уровня сывороточного АЛБ с исходом программы ЭКО у пациенток 2-ой подгруппы ТПБ

Следующим рассматриваемым показателем у пациенток 2-ой подгруппы ТПБ был сывороточный уровень ФНО-α. Проведенный анализ чувствительности показал, что с вероятностью не менее 80% отрицательный исход программы ЭКО у пациенток данной подгруппы прогнозируется при сывороточном уровне ФНО-α выше 3,0 пкг/мл в день ТВП (рисунок 12).

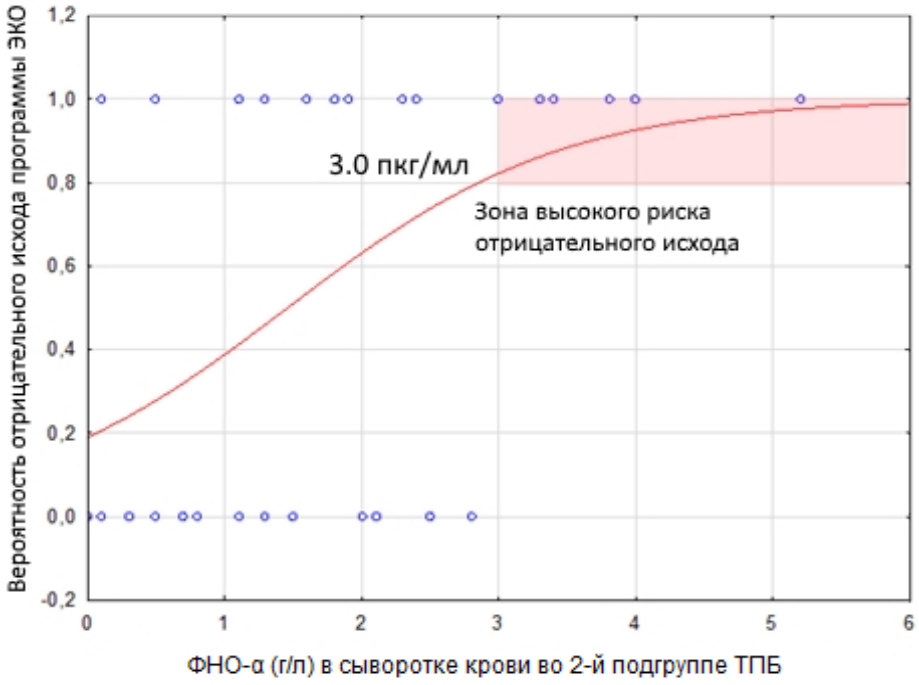


Рисунок 12 – Ассоциация сывороточного ФНО-α с исходом программы ЭКО у инфертильных пациенток 2-ой подгруппы ТПБ

В последующем нами рассматривались иммунологические показатели состава ФЖ. Иммунологических предикторов результативности программ ЭКО в ФЖ пациенток 1-ой подгруппы ТПБ не выявлено, тогда как во 2-ой подгруппе ТПБ предикторная роль принадлежала сниженным концентрациям ОБ и АЛБ в составе ФЖ в день ТВП по сравнению с группой контроля. Проведенный нами анализ чувствительности показал, что с вероятностью не менее 80% отрицательный исход программы ЭКО у женщин 2-ой подгруппы ТПБ может быть сопряжен с уровнем АЛБ ниже 35,5 г/л и уровнем ОБ ниже 51,8 г/л в составе ФЖ в день ТВП (рисунок 13, 14).

Таким образом, если в день ТВП у женщин с ТПБ уровень АЛБ сыворотки крови ниже 40,7 г/л или ФНО-α выше 3,0 пкг/мл, либо в ФЖ уровень АЛБ ниже 35,5 г/л или ОБ ниже 51,8 г/л, то с вероятностью 80% прогнозируется отрицательный исход программы ЭКО.

Следующим этапом статистической обработки полученных данных нами проводился анализ совместного влияния всех показателей, определённых как возможные предикторы, на отрицательный исход программы ЭКО.

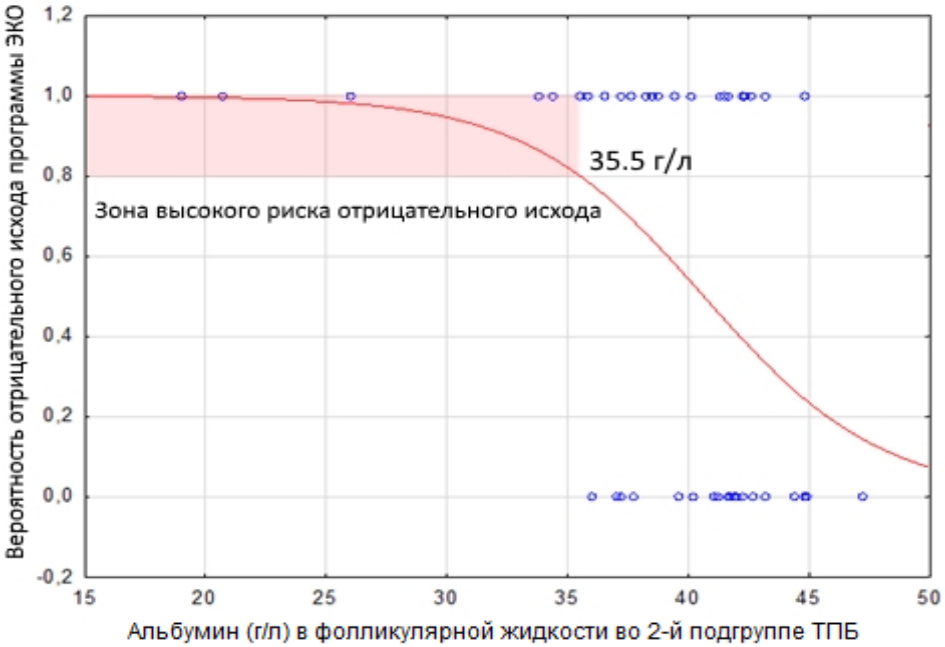


Рисунок 13 – Ассоциация уровня АЛБ ФЖ с исходом программы ЭКО у пациенток 2-ой подгруппы ТПБ

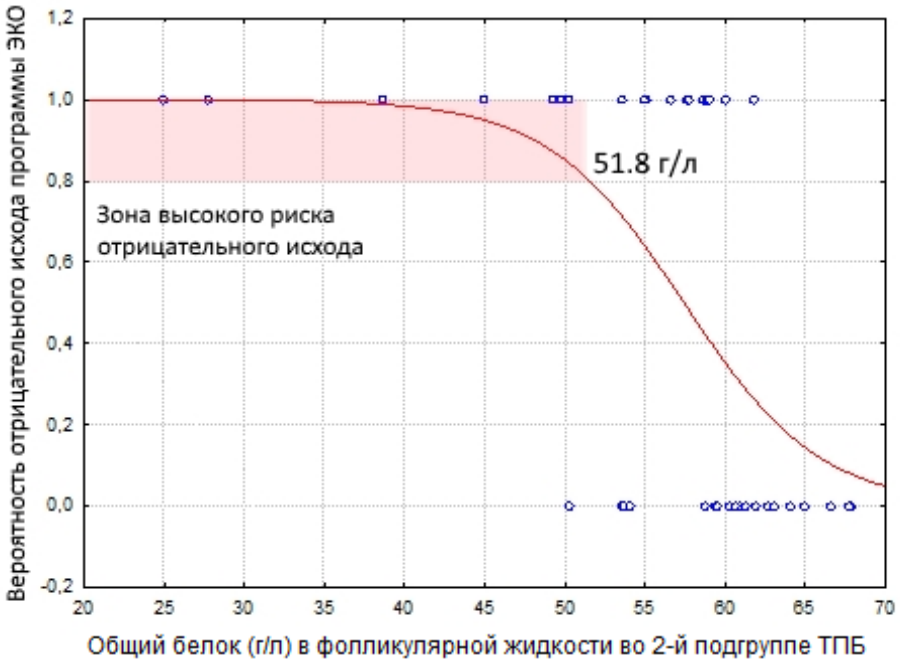


Рисунок 14 – Ассоциация уровня ОБ ФЖ с исходом программы ЭКО у пациенток с 2-ой подгруппы ТПБ

В результате выяснилось, что все эти параметры, в той или иной мере, связаны между собой – таблицы 20, 21. В частности, ОБ и АЛБ в ФЖ тесно коррелируют между собой. В свою очередь уровень АЛБ в ФЖ взаимосвязан с концентрацией ФНО-α и АЛБ в сыворотке крови, а уровень сывороточного ФНО-α

коррелирует с ОБ в ФЖ. Это свидетельствует о том, что влияние некоторых показателей на результат программы ЭКО может быть не прямым, а опосредованным, за счет связи с другими показателями.

Таблица 20 – Корреляция между иммунологическими показателями, определёнными как возможные предикторы исхода программы ЭКО при ТПБ-2

Показатели		ФНО-α в сыворотке крови	АЛБ в Ф.Ж.	ОБ в Ф.Ж.
АЛБ в сыв.	Коэффициент корреляции (r_s)	0,127	**0,364**	0,221
	Значимость (p)	0,428	**0,015**	0,189
ФНО-α в сыв.	Коэффициент корреляции (r_s)	-	**-0,436**	**-0,529**
	Значимость (p)		**0,007**	**0,002**
АЛБ в ф.ж.	Коэффициент корреляции (r_s)	-	-	**0,823**
	Значимость (p)			**<0,001**

Чтобы выявить конкретные показатели, имеющие наибольшую предсказательную ценность, с помощью логистической регрессии была построена модель, включающая все 4 анализируемые показателя. В результате процедуры пошагового отбора были выявлены показатели, непосредственно, статистически значимо, влияющие на результат, и показатели с низкой предсказательной ценностью, влияющие на результат опосредованно (статистически не значимо) – таблица 21.

Таблица 21 – Оценка статистической значимости влияния показателей на результат ЭКО в подгруппе с ТПБ-2 с учетом их взаимосвязей и совместного влияния

Показатели	Вальд	Значения
Высокая прогностическая ценность		
ФНО-α в сыворотке крови	3,56	0,047
ОБ в фолликулярной жидкости	4,28	0,038
Низкая прогностическая ценность		
АЛБ в сыворотке крови	0,30	0,579
АЛБ в фолликулярной жидкости	0,01	0,904

Таким образом, нами установлено непосредственное влияние на риск отрицательного исхода программы ЭКО при ТПБ концентрации сывороточного ФНО-α и уровня ОБ в составе ФЖ.

Для выявления критических значений каждого показателя с учетом их взаимосвязи и характера совместного влияния на результат программы применялся метод деревьев решений (CHAID) с итерационным делением всего диапазона на отдельные интервалы. В результате было получено следующее дерево решения – рисунок 15.

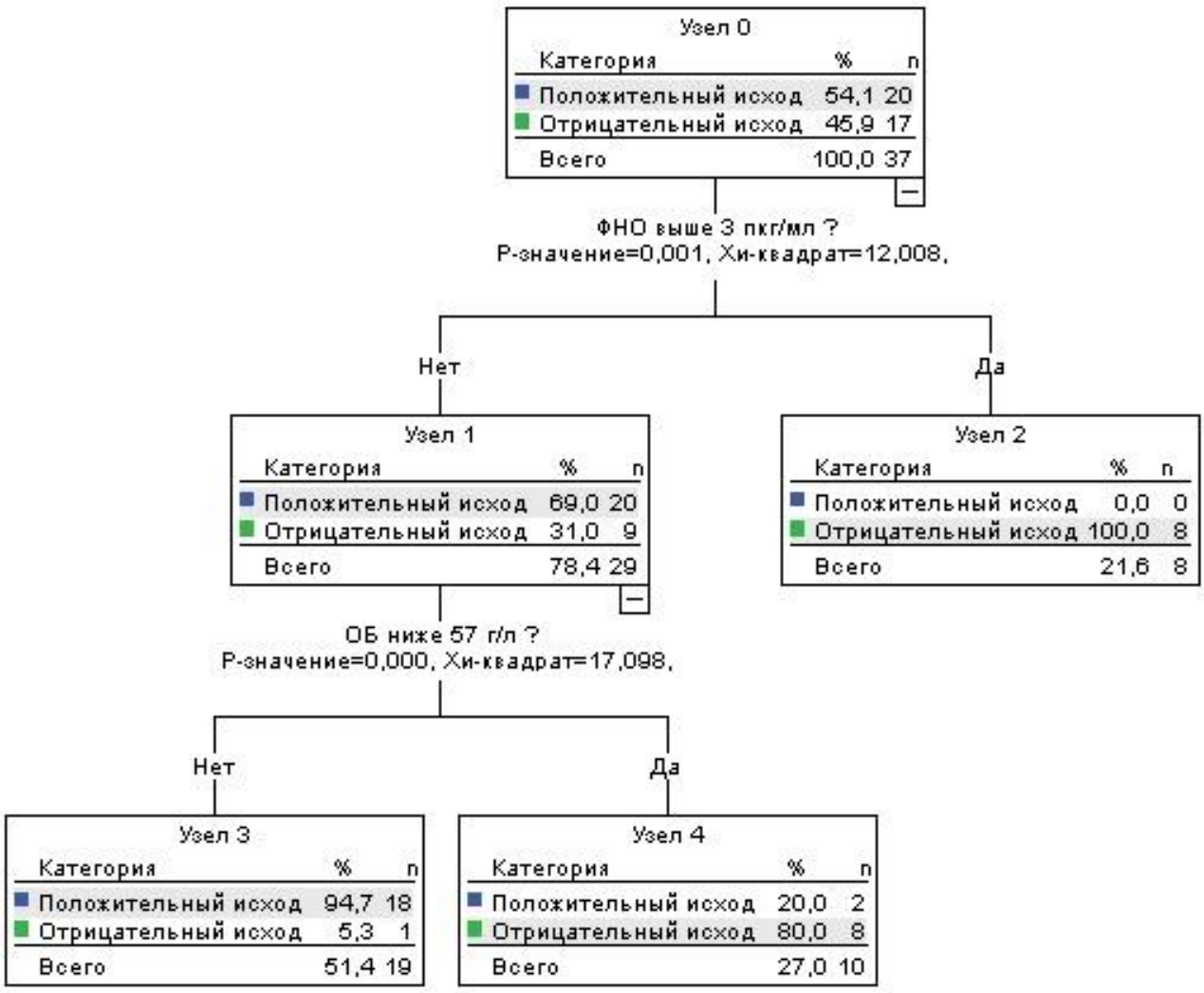


Рисунок 15 – Дерево решений прогноза отрицательного исхода программы ЭКО у женщин 2-ой подгруппы ТПБ

Критическим значением для ФНО-α в сыворотке крови пациенток 2-ой подгруппы ТПБ определено значение 3 пкг/мл, а для ОБ в ФЖ - 57 г/л – рисунок 16.

Из рисунка видно, что концентрация ФНО-α в сыворотке крови и ОБ в составе ФЖ взаимосвязаны между собой (r_s=-0,529. p=0,002): с ростом ФНО-α в сыворотке крови одновременно снижается ОБ в ФЖ.

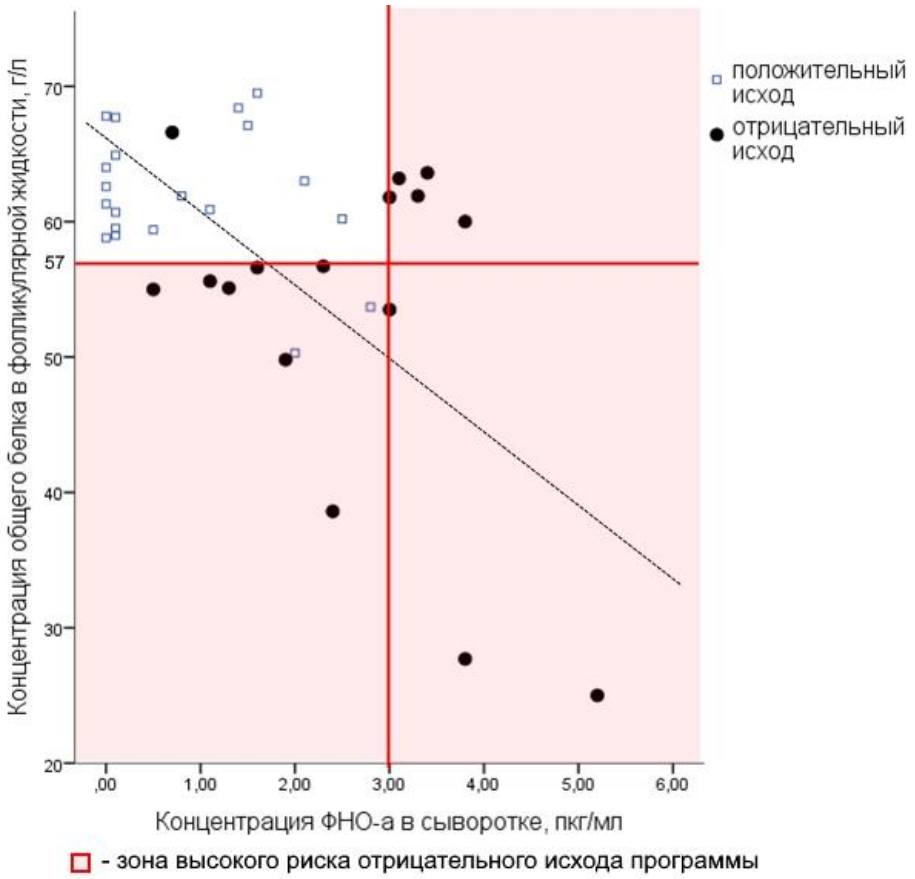


Рисунок 16 – Критическое значение ОБ в ФЖ во 2-ой подгруппе пациенток ТПБ

На основе проведенного статистического анализа был разработан следующий алгоритм прогноза отрицательного исхода программы у женщин с ТПБ:

1) Определение уровня ФНО-α в сыворотке крови, если он выше, либо равен 3 пкг/мл, то с вероятностью 100% (8/8) у женщины будет отрицательный исход.

2) Если уровень ФНО-α в сыворотке крови ниже 3,0 пкг/мл, следует определить уровень ОБ в ФЖ.

3) Если уровень ОБ в ФЖ ниже 57 г/л, то с вероятностью 80% (8/10) у женщины беременность не наступит.

Точность работы данного алгоритма – 92% (34/36), чувствительность (способность выявлять отрицательный результат) – 94% (16/17), специфичность (способность выявлять положительный результат) – 90% (18/20).

Таким образом, данные проведенного исследования продемонстрировали достоверно более высокие сывороточные значения α1-АТ, ФНО-α, ИФН-γ в группе инфертильных пациенток с ТПБ по сравнению с группой контроля. И, если повышенные значения ИФН-γ характеризовали иммунный статус женщин обеих подгрупп ТПБ, то повышенные концентрации α1-АТ и ФНО-α выявлялись только у пациенток 2-ой подгруппы ТПБ, обусловливая повышение средних значений этих показателей в общей группе.

ЧНБ в программах ЭКО у пациенток 1-ой подгруппы ТПБ (38,3%) была сопоставима с таковой в группе контроля (38%). Иммунологических предикторов в составе сыворотки крови и ФЖ у пациенток 1-ой подгруппы ТПБ, позволяющих прогнозировать положительный или отрицательный результат в программе ЭКО, нами не выявлено.

Во 2-ой подгруппе ТПБ ЧНБ (24,4%) была значительно ниже, чем в группе контроля (38%) и 1-ой подгруппе ТПБ (38,3%). Иммунологическими предикторами неудачного исхода программ ЭКО в данной подгруппе являлись повышенные уровни сывороточного ФНО-а более 3,0 пкг/мл (с чувствительность 100%) и ОБ менее 57 г/л в составе ФЖ (с чувствительностью 80%).

Глава 5.

РОЛЬ РЕГУЛЯТОРНО-ТРАНСПОРТНЫХ БЕЛКОВ И ЦИТОКИНОВ В ОЦЕНКЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ ПАЦИЕНТОК С ЭНДОКРИННЫМ БЕСПЛОДИЕМ НА ФОНЕ СИНДРОМА ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ И ПРЕДИКЦИИ ИСХОДОВ ПРОГРАММ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ

Данную группу составили пациентки с бесплодием эндокринного генеза на фоне СПЯ и неэффективностью ранее проводимой консервативной терапии в виде индукции овуляции. Для выявления особенностей иммунного статуса пациенток с СПЯ исследуемые показатели сравнивали с аналогичными показателями инфертильных пациенток с бесплодием мужского генеза (группа контроля). Проведенный анализ изучаемых иммунологических показателей позволяет утверждать, что иммунологический статус инфертильных пациенток с СПЯ имеет достоверные отличия от здоровых женщин группы контроля на системном уровне. Данные отличия представлены достоверно более высокими концентрациями ОБ и АЛБ сыворотки крови у пациенток с СПЯ (таблица 22) и иллюстрированы рисунками 17, 18.

В ходе проведения индукции суперовуляции в программе ЭКО пациентки данной группы разделились на 2 подгруппы в зависимости от количественных параметров фолликулогенеза и вида триггера финального созревания: при росте до 19 фолликулов включительно (n-46) использовался триджерринг хорионическим гонадотропином альфа в дозе 6.500 МЕ подкожно (Овитрель, Merck Serono), а при росте 20 фолликулов и более (n-26) с целью профилактики синдрома гиперстимуляции яичников проводили замену триггера на агонист-гонадотропин-рилизинг-гормон трипторелин в дозе 0,2 мг подкожно (Диферелин, IPSEN) и все эмбрионы криоконсервировали – таблица 23.

Таблица 22 – Содержание регуляторно-транспортных белков и цитокинов в сыворотке крови пациенток с эндокринным бесплодием на фоне СПЯ и группы контроля до вступления в программу ЭКО

Показатели	Группа контроля (n=37)		СПЯ (n=72)		Сравнение между группами U(p)
	среднее ± ошибка среднего	нормативный диапазон до программы	среднее ± ошибка среднего	диапазон изменения до программы	
α2-МГ г/л	2,57±0,09	2,07-3,04	2,44±0,07	2-2,81	1,08 (0,281)
АБГ г/л	0,009±0,001	0,001-0,016	0,009±0,02	0,001-0,020	0,41 (0,683)
α1-АТ г/л	3,07±0,09	2,5-3,70	2,97±0,09	2,4-3,65	0,83 (0,409)
ЛФ мг/л	1,12±0,05	0,76-1,44	1,00±0,03	0,77-1,42	0,42 (0,675)
Альбумин г/л	**45,79±0,55**	**41,5-50,3**	49,57±0,43	**46,7-54,1**	**3,33 (0,001)**
ОБ г/л	**75,6±0,95**	**69,8-82,7**	81,0±0,54	**77,0-86,1**	**2,78 (0,005)**
ФНО-α пкг/мл	1,15±0,06	0,7-1,7	1,01±0,04	0,5-1,70	1,6 (0,103)
ИЛ-6 пкг/мл	1,34±0,05	1,0-1,9	1,38±0,02	1,2-1,5	0,7 (0,484)
ИЛ-8 пкг/мл	6,38±0,36	3,5-9,5	5,56±0,30	2,1-9	1,14 (0,255)
ИФН-γ пкг/мл	4,36±0,2	2,6-5,9	4,46±0,15	3,4-5,3	0,19 (0,853)
VEGF пкг/мл	87,48±8,05	41,0-140,5	76,47±5,81	29,4-130,04	0,81 (0,416)

Примечание: U(p) – статистическая значимость различий между группой СПЯ и группой контроля, применялся критерий Манна-Уитни

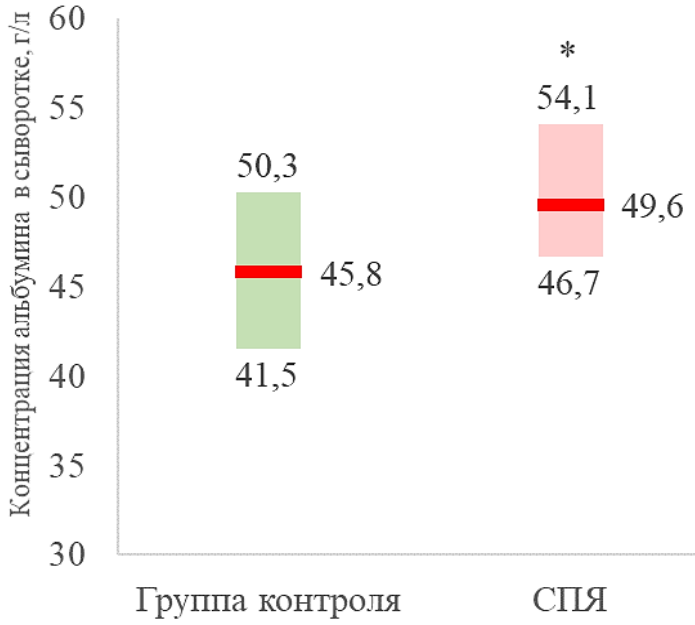


Рисунок 17 – Содержание сывороточного АЛБ у инфертильных пациенток с СПЯ и группы контроля

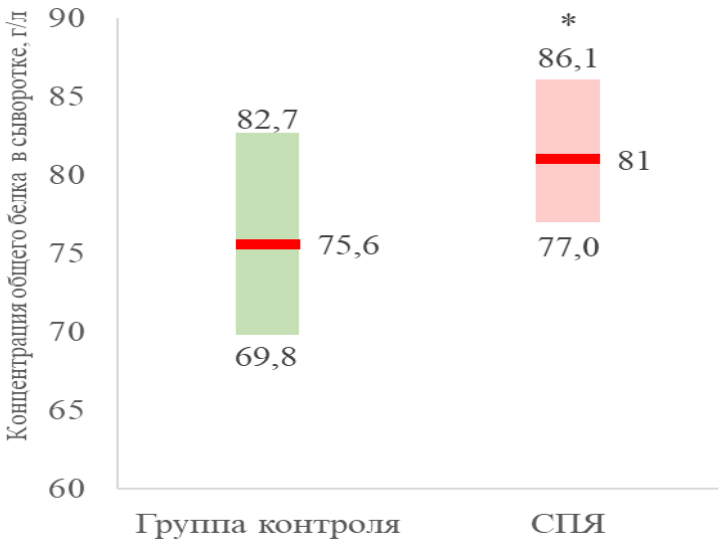


Рисунок 18 – Уровень ОБ сыворотки крови у инфертильных пациенток с СПЯ и группы контроля

Таблица 23 – Регуляторно-транспортные белки и цитокины сыворотки крови инфетильных пациенток с СПЯ до вступления в программу ЭКО и в день ТВП

Показатели	До индукции суперовуляции				В день ТВП		
	общая группа n -72	триггер		U(p)	триггер		U(p)
		хГЧ n -46	а-ГнРГ n - 26		хГЧ n -46	а-ГнРГ n - 26	
α2-МГ г/л	2,44 ±0,07	2,42 ±0,10	2,47 ±0,10	0,37 (0,715)	**3,09 ±0,11**	**2,56 ±0,10**	**3,02 (0,002)**
АБГ г/л	0,009 ±0,02	0,008 ±0,003	0,01 ±0,005	0,47 (0,64)	0,008 ±0,002	0,011 ±0,002	0,72 (0,469)
α1-АТ г/л	2,97 ±0,09	3,03 ±0,12	2,89 ±0,15	0,81 (0,416)	**3,81 ±0,2**	**3,08 ±0,13**	**2,7 (0,007)**
ЛФ мг/л	1,00 ±0,03	1,00 ±0,04	1,01 ±0,04	0,21 (0,831)	**0,94 ±0,09**	**1,69 ±0,15**	**3,76 (<0,001)**
Альбумин г/л	49,57 ±0,43	49,51 ±0,66	49,66 ±0,48	0,07 (0,948)	**43,62 ±0,79**	**46,21 ±0,49**	**2,68 (0,007)**
ОБ г/л	81,0 ±0,54	81,05 ±0,71	81 ±0,84	0,04 (0,97)	**84,81 ±0,83**	**80,26 ±0,63**	**3,88 (<0,001)**
ФНО-α пкг/мл	1,01 ±0,04	0,97 ±0,06	1,07 ±0,10	1,38 (0,169)	**0,47 ±0,12**	**1,41 ±0,19**	**4,51 (<0,001)**
ИЛ-6 пкг/мл	1,38 ±0,02	1,35 ±0,03	1,42 ±0,03	1,85 (0,065)	1,43 ±0,35	1,53 ±0,05	0,96 (0,335)
ИЛ-8 пкг/мл	5,56 ±0,30	5,41 ±0,42	5,74 ±0,44	0,64 (0,519)	**2,88 ±0,50**	**10,19 ±1,81**	**5,13 (<0,001)**
ИФН-γ пкг/мл	4,46 ±0,15	4,51 ±0,19	4,39 ±0,24	0,23 (0,818)	7,3 ±0,18	6,98 ±0,46	0,77 (0,441)
VEGF пкг/мл	76,47 ±5,81	81,36 ±9,16	71,6 ±7,23	0,83 (0,409)	**153,52 ±18,37**	**91,45 ±9,97**	**2,86 (0,004)**

Примечание: U(p) – статистическая значимость различий между подгруппами с различными триггерами, применялся критерий Манна-Уитни

На этапе до начала индукции суперовуляции отличий между исследуемыми подгруппами не выявлено. Тогда как в день ТВП в подгруппе с заменой триггера на а-ГнРГ отмечается пониженный, по сравнению с подгруппой хГЧ-триггера, уровень α2-МГ, α1-АТ, ОБ, и VEGF и повышенный – ЛФ, АЛБ, ФНО и ИЛ-8.

Анализ динамики регуляторно-транспортных белков и цитокинов сыворотки крови пролеченных пациенток с СПЯ (хГЧ-триггер) в сравнении с данными группы контроля представлены в таблице 24.

Таблица 24 – Уровень регуляторно-транспортных белков и цитокинов в составе сыворотки крови инфертильных пациенток с СПЯ (триггер хГЧ) и группы контроля (мужской фактор) до начала индукции суперовуляции и в день ТВП

Показ.	Контроль (n=37)			СПЯ - хГЧ (n=46)			Между группами	
	до	после	W(p)	до	после	W(p)	$U(p)^{до}$	$U(p)^{после}$
α2-МГ г/л	2,57±0,09 2,07-3,04	2,54±0,12 1,8-3,34	*0,04 (0,970)*	2,42±0,10 2,00-2,81	3,09±0,11 1,83-4,06	**4,36 (<0,001)**	1,08 (0,281)	**2,02 (0,043)**
АБГ г/л	0,009±0,001 0,001-0,016	0,008±0,002 0,001-0,016	*0,27 (0,782)*	0,008±0,03 0,001-0,020	0,008±0,02 0,001-0,030	1,59 (0,111)	0,41 (0,683)	1,27 (0,203)
α1-АТ г/л	3,08±0,13 2,5-3,70	3,05±0,09 2,30-3,60	*0,07 (0,945)*	3,03±0,12 2,4-3,65	3,81±0,20 2,05-5,4	**3,67 (<0,001)**	0,83 (0,409)	**2,15 (0,032)**
ЛФ мг/л	1,12±0,05 0,76-1,44	1,09±0,07 0,68-1,56	*0,31 (0,753)*	1,00±0,04 0,77-1,42	0,94±0,09 0,3-1,61	0,48 (0,629)	0,42 (0,675	1,52 (0,128)
АЛБ г/л	45,79±0,55 41,5-50,3	42,85±0,46 40,2-45,5	***3,56 (<0,001)***	49,5±0,66 46,7-54,1	43,62±0,79 39,22-47,6	**4,46 (<*0,001*)**	**3,33 (0,001)**	0,48 (0,631)
ОБ г/л	75,6±0,95 69,8-82,7	76,23±0,83 72,8-81,9	*0,47 (0,632)*	81,0±0,71 77,0-86,1	84,81±0,83 77,36-89,5	**3,63 (<0,001)**	**2,78 (0,005)**	**5,78 (<0,001)**
ФНО-α пкг/мл	1,15±0,06 0,7-1,7	1,46±0,23 0,3-2,7	*0,91 (0,361)*	0,97±0,06 0,5-1,70	0,47±0,12 0-1,51	**3,52 (<0,001)**	1,6 (0,103)	**3,00 (0,003)**
ИЛ-6 пкг/мл	1,34±0,05 1,0-1,9	1,48±0,19 0,3-2,6	*0,68 (0,493)*	1,35±0,03 1,2-1,5	1,43±0,35 0,1-2,2	1,38 (0,166)	0,7 (0,484)	1,4 (0,160)
ИЛ-8 пкг/мл	6,38±0,36 3,5-9,5	3,87±0,6 1,1-6,7	***3,29 (0,001)***	5,41±0,42 2,1-9,0	2,88±0,5 0,13-5,5	**3,66 (<0,001)**	1,14 (0,255)	1,62 (0,105)
ИФН-γ пкг/мл	4,36±0,20 2,6-5,9	4,5±0,25 3,2-5,9	*0,45 (0,648)*	4,51±0,19 3,4-5,3	7,3±0,18 4,96-8,8	**4,63 (<0,001)**	0,19 (0,853)	**5,88 (<0,001)**
VEGF пкг/мл	87,48±8,05 41,0-140,5	135,33±12,64 43,2-19,1	***3,12 (0,002)***	81,4±9,16 29,4-130,04	153,52±18,37 47,51-323,38	**2,87 (0,004)**	0,81 (0,416)	0,01 (0,993)

Примечание: W(p) – статистическая значимость изменений значений показателей в процессе индукции суперовуляции, применялся критерий для связанных выборок Вилкоксона.

$U(p)^{до}$, $U(p)^{после}$ – статистическая значимость различий между группой контроля и группой СПЯ (триггер хГЧ) до и после стимуляции соответственно, применялся критерий Манна-Уитни

Исходя из данных, полученных в результате проведенного исследования, можно констатировать, что в процессе индукции суперовуляции в программе ЭКО в подгруппе пациенток с СПЯ и хГЧ-триггером имеются динамические изменения иммунологических показателей сыворотки крови, аналогичные группе контроля в виде снижения концентрации АЛБ и ИЛ-8, а также повышении уровня VEGF.

Кроме отмеченной общей с группой контроля закономерности динамических изменений изучаемых иммунологических показателей в процессе индукции суперовуляции у инфертильных пациенток с СПЯ (хГЧ-триггер) нами выявлены и отличия в группах обследованных женщин. Данные отличия выражались в достоверном повышении сывороточных уровней α2-МГ, α1-АТ, ИФН-γ, а также и исходно повышенного ОБ. Наряду с указанными изменениями также отмечалось снижение концентрации ФНО-α.

Подгруппу инфертильных пациенток с СПЯ и заменой триггера на а-ГнРГ 0,2 мг представляли 26 женщин, у которых в процессе проводимой в программе ЭКО индукции суперовуляции отмечался рост 20 и более фолликулов. Замена триггера у данной категории пациенток, а также криоконсервация полученных эмбрионов, проводились с целью профилактики синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ). Содержание регуляторно-транспортных белков и цитокинов сыворотки крови данной подгруппы пациенток представлены в таблице 25.

Проведенный анализ полученных данных показал, что при СПЯ с заменой триггера овуляции на а-ГнРГ аналогично группе контроля в сыворотке крови изменяется только уровень АЛБ в сторону снижения (при исходно повышенных его значениях по сравнению с контрольной группой), тогда как концентрация ИЛ-8 имеет обратную динамику в виде повышения содержания, а уровень VEGF остается неизменным по сравнению с исходными значениями до начала стимуляции яичников.

Кроме того, отличительными особенностями динамики иммунологических показателей в сыворотке крови при СПЯ с заменой триггера овуляции являются повышение уровня ЛФ и ИФН-γ в день ТВП.

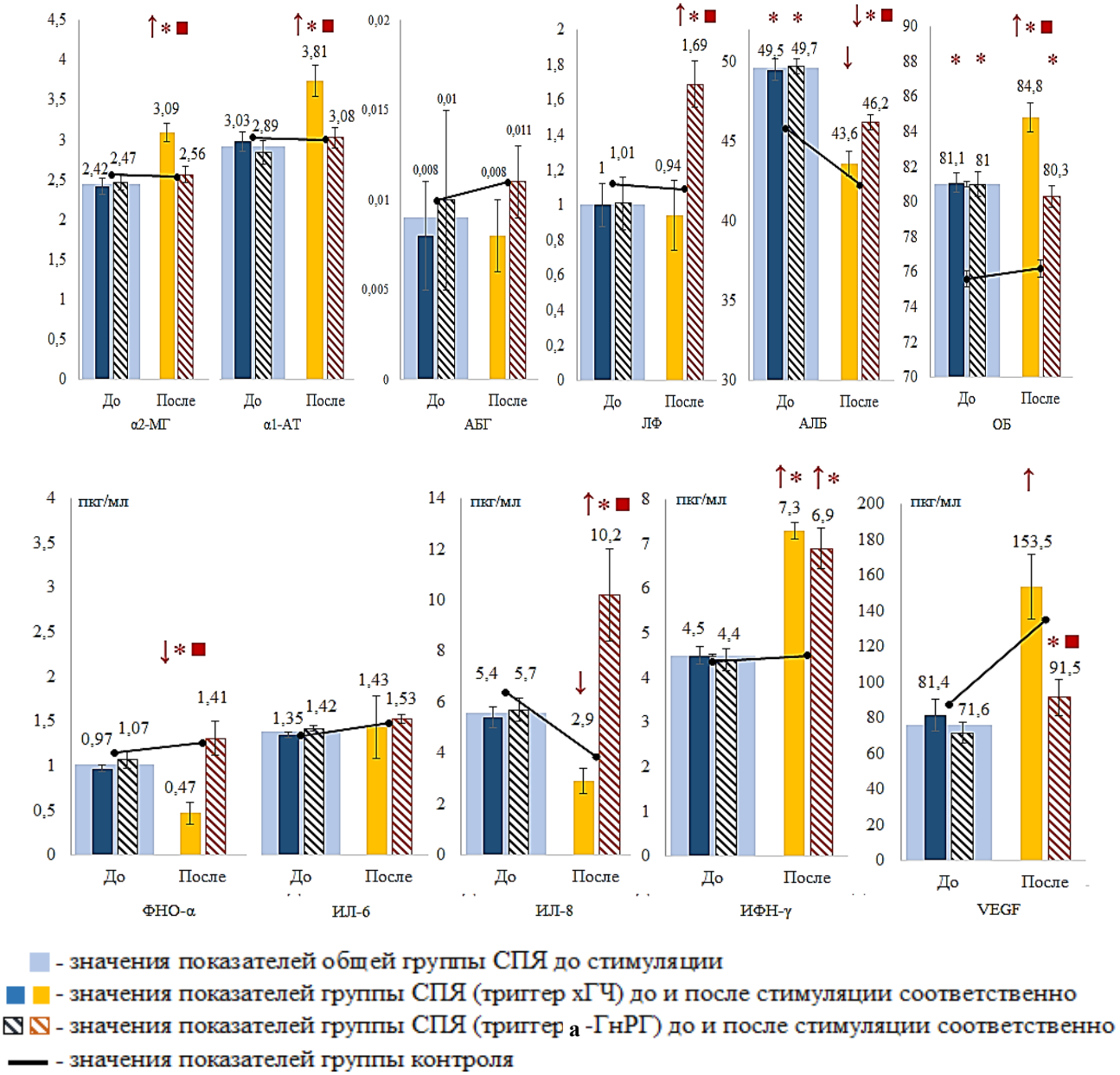
Таблица 25 – Сывороточные значения регуляторно-транспортных белков и цитокинов в подгруппе инфертильных пациенток с СПЯ (триггер а-ГнРГ) и группы контроля (мужской фактор) до начала индукции суперовуляции и в день ТВП

Показатели	Контроль, n - 37			Триггер а-ГнРГ, n - 26			Между группами	
	до	после	W(p)	до	после	W(p)	$U(p)^{до}$	$U(p)^{после}$
α2-МГ г/л	2,57±0,09	2,54±0,12	*0,36*	2,47±0,10	2,56±0,1	1,23	1,08	0,48
	2,07-3,04	1,8-3,34	*(0,718)*	2,10-2,94	1,43-3,28	(0,219)	(0,281)	(0,631)
АБГ г/л	0,009±0,001	0,008±0,002	*0,06*	0,010±0,005	0,011±0,001	0,35	0,41	0,34
	0,001-0,016	0,001-0,016	*(0,991)*	0,001-0,020	0-0,020	(0,724)	(0,683)	(0,726)
α1-АТ г/л	3,08±0,13	3,05±0,09	*0,80*	2,89±0,15	3,08±0,13	0,57	0,83	0,47
	2,5-3,70	2,30-3,60	*(0,421)*	2,3-3,41	2,1-4,1	(0,571)	(0,409)	(0,637)
ЛФ мг/л	1,12±0,05	1,09±0,07	*0,32*	1,01±0,04	1,69±0,15	**2,12**	0,42	**2,14**
	0,76-1,44	0,68-1,56	*(0,749)*	0,64-1,38	0,88-2,34	**(0,034)**	(0,675	**(0,033)**
АЛБ г/л	45,79±0,55	42,85±0,46	***3,56***	49,66±0,48	46,21±0,49	**3,19**	**3,33**	**4,13**
	41,5-50,3	40,2-45,5	***(<0,001)***	45,4-55,7	42,53-49,35	**(0,001)**	**(0,001)**	**(<0,001)**
ОБ г/л	75,6±0,95	76,23±0,83	*0,60*	81,0±0,84	80,26±0,63	0,47	**2,78**	**3,49**
	69,8-82,7	72,8-81,9	*(0,550)*	77,4-85,9	75,3-84,4	(0,641)	**(0,005)**	**(<0,001)**
ФНО-α пкг/мл	1,15±0,06	1,46±0,23	*0,49*	1,07±0,10	1,41±0,19	1,8	1,6	0,59
	0,7-1,7	0,3-2,7	*(0,623)*	0,6-1,87	0,59-2,18	(0,065)	(0,103)	(0,556)
ИЛ-6 пкг/мл	1,34±0,05	1,48±0,19	*0,79*	1,42±0,03	1,53±0,05	1,89	0,7	0,54
	1,0-1,9	0,3-2,6	*(0,432)*	1,4-1,8	0,73-1,99	(0,060)	(0,484)	(0,587)
ИЛ-8 пкг/мл	6,38±0,36	3,87±0,6	***4,09***	5,74±0,44	10,19±1,81	**2,01**	1,14	**4,27**
	3,5-9,5	1,1-6,7	***(<0,001)***	2,3-8,7	3,68-16,9	**(0,047)**	(0,255)	**(<0,001)**
ИФН-γ пкг/мл	4,36±0,20	4,5±0,25	*0,64*	4,39±0,24	6,98±0,46	**3,62**	0,19	**4,28**
	2,6-5,9	3,2-5,9	*(0,525)*	3,1-5,8	3,78-8,95	**(<0,001)**	(0,853)	**(<0,001)**
VEGF пкг/мл	87,48±8,05	135,33±12,64	***2,89***	71,6±7,23	91,45±9,97	0,94	0,81	**2,04**
	41,0-140,5	43,2-190,1	***(0,004)***	45,8-103,1	20,96-170,98	(0,346)	(0,416)	**(0,045)**

Примечание: W(p) – статистическая значимость изменений значений показателей в процессе индукции суперовуляции, применялся критерий для связанных выборок Вилкоксона.

$U(p)^{до}$, $U(p)^{после}$ – статистическая значимость различий между группой контроля и группой СПЯ (триггер а-ГнРГ) до и после стимуляции соответственно, применялся критерий Манна-Уитни

Таким образом, обобщенные данные о содержании регуляторно-транспортных белков и цитокинов в сыворотке крови инфертильных пациенток с СПЯ до индукции суперовуляции и в день ТВП представлены на рисунке 19.



↑↓ – изменений значений показателей в процессе индукции суперовуляции статистически значимы на уровне $p \leq 0,05$

* – различия по сравнения с группой контроля статистически значимы на уровне $p \leq 0,05$

■ – различия между триггерами статистически значимы на уровне $p \leq 0,05$

Рисунок 19 – Регуляторно-транспортные белки и цитокины сыворотки крови инфертильных пациенток с СПЯ до начала индукции суперовуляции и в день ТВП в сравнении с группой контроля.

Проведенный анализ изучаемых иммунологических параметров позволяет утверждать, что отличительными особенностями иммунного статуса инфертильных пациенток с СПЯ (независимо от вида триггера овуляции) по сравнению с группой контроля в день ТВП являются повышенные сывороточные концентрации ОБ (максимальные значения в подгруппе хГЧ-триггером) и ИФН-γ.

Кроме того, выявлены отличия иммунологического статуса инфертильных пациенток с СПЯ при использовании разных видов триггера финального созревании ооцитов. Так, при применении хГЧ-триггера у пациенток с СПЯ, в отличие от группы контроля и женщин с заменой триггера, отмечаются повышенные сывороточные концентрации α2-МГ, α1-АТ и сниженные значения ФНО-α. В подгруппе с заменой триггера на а-ГнРГ также выявлены изменения некоторых иммунологических параметров, отличающие пациенток данной подгруппы от группы контроля и СПЯ с хГЧ-триггером. К данным изменениям относятся повышенные уровни ИЛ-8, ЛФ, АЛБ и сниженные концентрации VEGF в составе сыворотки крови.

У пациенток с СПЯ в программах ЭКО перенос эмбрионов в свежем цикле осуществлялся только в подгруппе с ростом до 19 фолликулов и хГЧ-триггером. ЧНБ в данной подгруппе составила 44% (20/46), что превышало данный показатель группы контроля – 38% (14/37), однако данные отличия были статистически незначимы (χ^2=0,27, p=0,603).

Для выявления возможной предикторной роли изучаемых иммунологических параметров в прогнозе результативности программ ЭКО у инфертильных пациенток с СПЯ и хГЧ-триггером нами проведен анализ полученных данных в зависимости от исхода лечения (наличие или отсутствие клинической беременности). По результату проведенной программы ЭКО инфертильные пациентки с СПЯ и хГЧ-триггером разделились на 2 подгруппы: с положительным (n-20) и отрицательным (n-26) исходом. Изучаемые иммунологические параметры пациенток данных подгрупп сравнивались с аналогичными показателями группы контроля (положительный – n-14; отрицательный – n-23). Полученные данные представлены в таблице 26.

Таблица 26 – Регуляторно-транспортные белки и цитокины сыворотки крови инфертильных женщин с СПЯ (хГЧ-триггер) и группы контроля в зависимости от исхода программы ЭКО

Показатели	Группа	До стимуляции			В день ТВП			Анализ динамики
		Б+	Б-	$U^{до}$(p)	Б+	Б-	U^{TVP}(p)	
α2-МГ г/л	Контроль n – 37 (Б+n-14 Б- n-23)	2,52 ±0,15	2,61 ±0,11	1,00 (0,32)	2,43 ±0,19	2,64 ±0,15	0,99 (0,323)	$W^{к(+)}$=0,31, p=0,754 $W^{к(-)=}$0,40, p=0,683
	СПЯ-хГЧ n-46 (Б+n-20 Б- n-26)	**2,54 ±0,15**	2,28 ±0,19	1,00 (0,317)	3,11 ±0,18	3,07 ±0,14	0,11 (0,914)	**$W^{гр(+)}$=3,00, p=0,003** **$W^{гр(-)}$=3,23, p=0,001**
	$U^{к/гр}$(p)	0,14 (0,889)	1,81 (0,070)	-	**2,43 (0,015)**	**2,11 (0,035)**	-	-
АБГ г/л	Контроль	0,01 ±0,002	0,008 ±0,002	0,35 (0,73)	0,008 ±0,002	0,010 ±0,002	0,88 (0,382)	$W^{к(+)}$=0,40, p=0,688 $W^{к(-)}$=0,04, p=0,964
	СПЯ	0,011 ±0,005	0,007 ±0,002	0,94 (0,346)	0,008 ±0,002	0,008 ±0,002	0,3 (0,765)	$W^{гр(+)}$=1,4, p=0,160 $W^{гр(-)}$=0,776, p=0,438
	$U^{к/гр}$(p)	0,81 (0,419)	1,41 (0,158)	-	0,25 (0,802)	0,94 (0,347)	-	-
α1-АТ г/л	Контроль	3,18 ±0,15	2,98 ±0,11	0,85 (0,395)	2,95 ±0,18	3,13 ±0,09	0,44 (0,659)	$W^{к(+)}$=1,12, p=0,26 $W^{к(-)}$=1,13, p=0,255
	СПЯ	2,98 ±0,18	3,09 ±0,16	0,72 (0,469)	3,94 ±0,36	3,68 ±0,18	0,27 (0,787)	**$W^{гр(+)}$=2,35, p=0,019** **$W^{гр(-)}$=2,89, p=0,004**
	$U^{к/гр}$(p)	1,21 (0,225)	0,5 (0,618)	-	**1,97 (0,049)**	**2,18 (0,029)**	-	-
ЛФ мг/л	Контроль	1,1 ±0,07	1,13 ±0,08	0,19 (0,846)	1,1 ±0,1	1,09 ±0,1	0,001 (1,000)	$W^{к(+)}$=0,11, p=0,906 Wк(-)=0,23, p=0,814
	СПЯ	1,04 ±0,06	0,96 ±0,11	1 (0,316)	0,86 ±0,15	1,01 ±0,13	0,85 (0,397)	$W^{гр(+)}$=1,25, p=0,209 $W^{гр(-)}$=0,56, p=0,569
	$U^{к/гр}$(p)	0,74 (0,459)	1,77 (0,077)	-	1,74 (0,082)	0,44 (0,662)	-	-
Альбумин г/л	Контроль	45,98 ±0,62	45,83 ±0,77	0,54 (0,589)	43,57 ±0,45	42,23 ±0,76	1,31 (0,19)	**$W^{к(+)}$=2,07, p=0,038** **$W^{к(-)}$=2,76, p=0,006**
	СПЯ	50,02 ±0,81	48,97 ±1,06	0,56 (0,575)	43,43 ±1,05	43,82 ±1,2	0,3 (0,766)	**$W^{гр(+)}$=3,20, p=0,001** **$W^{гр(-)}$=2,98, p=0,003**
	$U^{к/гр}$(p)	**3,16 (0,002)**	**2,27 (0,023)**	-	0,7 (0,482)	1,21 (0,227)	-	-
ОБ г/л	Контроль	74,61 ±2,57	75,1 ±1,37	0,29 (0,771)	77,06 ±0,89	75,51 ±1,34	0,58 (0,565)	$W^{к(+)}$=0,31, p=0,753 $W^{к(-)}$=0,36, p=0,712
	СПЯ	81,19 ±1,11	80,87 ±0,85	0,02 (0,986)	86,14 ±1,12	83,38 ±1,16	1,27 (0,206)	**$W^{гр(+)}$=3,12, p=0,002** **$W^{гр(-)}$=1,96, p=0,050**
	$U^{к/гр}$(p)	**2,43 (0,015)**	**3,54 (<0,001)**	-	**4,43 (<0,001)**	**3,73 (<0,001)**	-	-
ФНО-α пкг/мл	Контроль	1,22 ±0,08	1,04 ±0,09	1,28 (0,2)	1,58 ±0,33	1,36 ±0,33	0,62 (0,533)	$W^{к(+)}$=1,10, p=0,271 $W^{к(-)}$=0,34, p=0,733

Продолжение таблицы 26

	СПЯ	0,97 ±0,09	0,98 ±0,07	0,62 (0,534)	0,46 ±0,16	0,47 ±0,18	0,18 (0,856)	**$W^{гр(+)}$=2,61, p=0,009** **$W^{гр(-)}$=2,27, p=0,023**
	$U^{к/гр}$(p)	1,91 (0,056)	0,62 (0,538)	-	**2,54 (0,011)**	**2,5 (0,012)**	-	-
ИЛ-6 пкг/мл	Контроль	1,35 ±0,1	1,39 ±0,08	0,21 (0,834)	1,22 ±0,22	1,84 ±0,3	1,67 (0,095)	$W^{к(+)}$=0,26, p=0,789 $W^{к(-)}$=1,08, p=0,278
	СПЯ	1,35 ±0,03	1,35 ±0,04	0,37 (0,711)	1,66 ±0,59	1,16 ±0,34	0,77 (0,441)	$W^{гр(+)}$=0,74, p=0,459 $W^{гр(-)}$=1,28, p=0,198
	$U^{к/гр}$(p)	0,02 (0,985)	0,22 (0,824)	-	0,02 (0,982)	1,77 (0,076)	-	-
ИЛ-8 пкг/мл	Контроль	6,36 ±0,43	7,03 ±0,56	0,77 (0,442)	3,74 ±0,57	3,97 ±0,99	0,49 (0,625)	**$W^{к(+)}$=2,66, p=0,008** **$W^{к(-)}$=2,10, p=0,036**
	СПЯ	5,43 ±0,63	6,38 ±0,55	0,15 (0,883)	2,87 ±0,83	3,19 ±0,57	0,61 (0,54)	**$W^{гр(+)}$=2,38, p=0,017** **$W^{гр(-)}$=2,83, p=0,005**
	$U^{к/гр}$(p)	1,15 (0,249)	1,78 (0,070)	-	1,91 (0,057)	0,64 (0,520)	-	-
ИФН-γ пкг/мл	Контроль	5,07 ±0,46	4,14 ±0,25	1,46 (0,145)	4,63 ±0,35	4,4 ±0,35	0,46 (0,643)	$W^{к(+)}$=0,78, p=0,433 $W^{к(-)}$=0,05, p=0,955
	СПЯ	4,27 ±0,28	4,79 ±0,26	1,31 (0,19)	7,31 ±0,23	7,29 ±0,30	0,26 (0,797)	**$W^{гр(+)}$=3,41, p=0,001** **$W^{гр(-)}$=3,18, p=0,001**
	$U^{к/гр}$(p)	1,17 (0,244)	1,91 (0,056)	-	**4,05 (<0,001)**	**4,24 (<0,001)**	-	-
VEGF пкг/мл	Контроль	86,34 ±9,97	79,54 ±9,58	0,44 (0,662)	136,84 ±15,06	134,02 ±20,16	0,58 (0,561)	**$W^{к(+)}$=2,34, p=0,019** **$W^{к(-)}$=2,10, p=0,035**
	СПЯ	71,82 ±16,57	89,15 ±9,82	0,95 (0,342)	180,57 ±31,61	121,55 ±9,39	0,49 (0,622)	**$W^{гр(+)}$=2,07, p=0,038** **$W^{гр(-)}$=2,22, p=0,026**
	$U^{к/гр}$(p)	0,63 (0,526)	0,66 (0,511)	-	0,34 (0,734)	0,35 (0,730)	-	-

Примечание: U(p) – статистическая значимость различий между подгруппами забеременевших и не забеременевших женщин, применялся критерий Манна-Уитни.

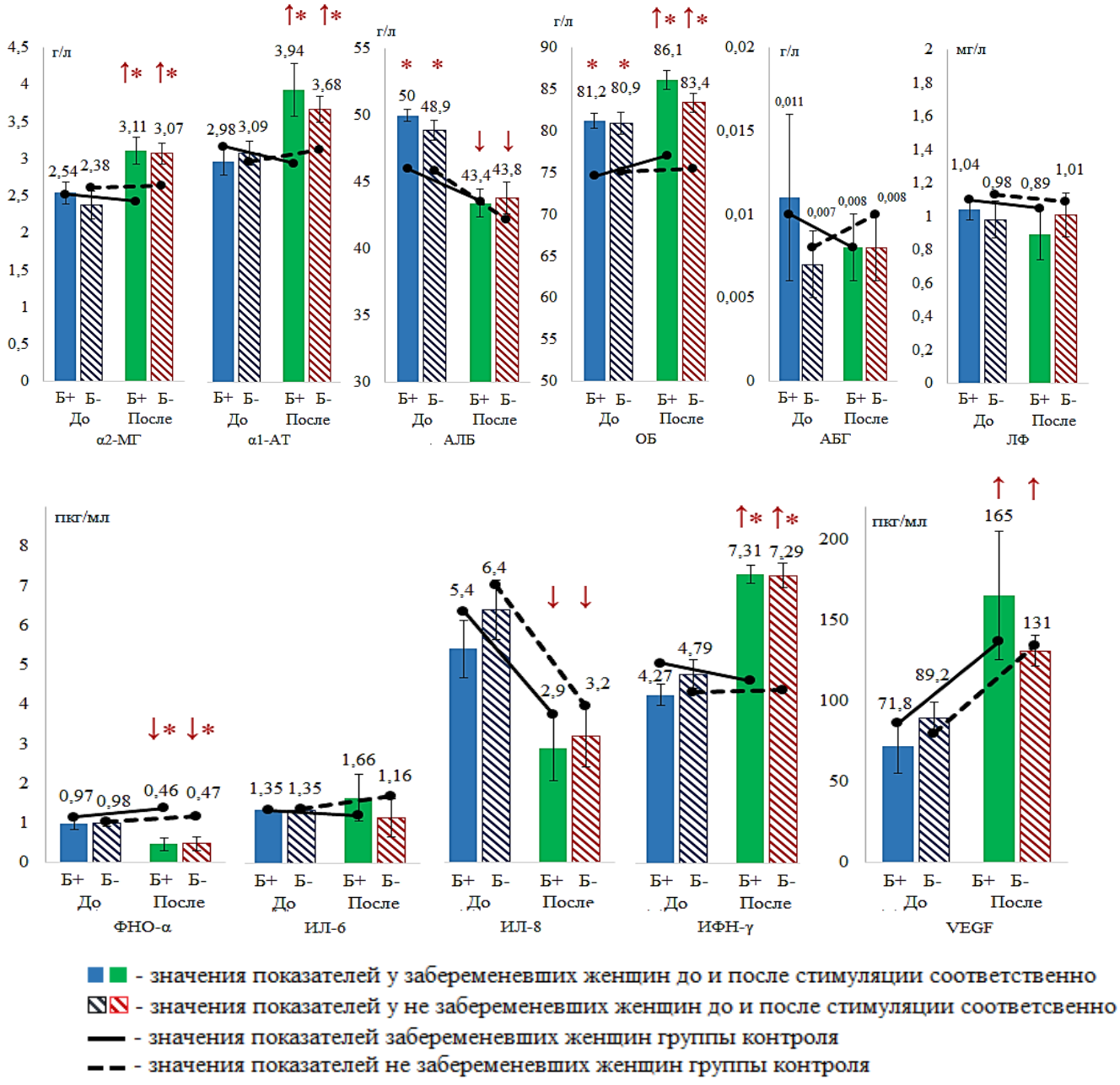
$U^{к/гр}$(p) – статистическая значимость различий между группой СПЯ и группой контроля, применялся критерий Манна-Уитни.

$W^{к(+)}$, $W^{к(-)}$ – статистическая значимость изменений значений показателей в процессе индукции суперовуляции в подгруппе пациенток группы контроля с положительным и отрицательным исходом программы ЭКО соответственно, применялся критерий для связанных выборок Вилкоксона.

$W^{гр(+)}$, $W^{гр(-)}$ – статистическая значимость изменений значений показателей в процессе индукции суперовуляции в подгруппе пациенток с СПЯ с положительным и отрицательным исходом программы ЭКО соответственно, применялся критерий для связанных выборок Вилкоксона.

Проведенный нами анализ изучаемых иммунологических показателей демонстрирует лишь отмеченную ранее динамику их в ответ на индукцию суперовуляции, характерную для СПЯ с хГЧ триггером, выражавшуюся в повы-

шении сывороточных значений α2-МГ, α1-АТ, ИФН-γ, VEGF и ОБ, а также снижении уровней АЛБ, ИЛ-8 и ФНО-α, не оказывающих влияния на результативность программ ЭКО (рисунок 20).



↑↓ – изменения значений показателей в процессе индукции суперовуляции статистически значимы на уровне $p \leq 0,05$

* – различия по сравнению с группой контроля статистически значимы на уровне $p \leq 0,05$

Рисунок 20 – Регуляторно-транспортные белки и цитокины сыворотки крови инфертильных женщин с СПЯ (хГЧ-триггер) до вступления в программу ЭКО и в день ТВП в зависимости от исхода программы ЭКО в сравнении с группой контроля

Таким образом, иммунологических предикторов результативности программ ЭКО в сыворотке крови инфертильных пациенток с СПЯ и хГЧ-триггером при переносе в полость матки свежего эмбриона не выявлено

Для выявления особенностей локального иммунологического статуса инфертильных пациенток с СПЯ нами исследованы образцы фолликулярной жидкости пациенток подгрупп с хГЧ-триггером и заменой триггера на а-ГнРГ в день ТВП. Полученные данные в сравнении с данными группы контроля представлены в таблице 27.

Таблица 27 – Регуляторно-транспортные белки и цитокины в ФЖ инфертильных пациенток с СПЯ (подгруппы с хГЧ-триггером и а-ГнРГ-триггером) и группы контроля

Показатели		Концентрация в группах (M±m) и диапазон (Dz)			Сравнение между группами U(p)		
		Контроль n - 37	хГЧ n - 46	а-ГнРГ n - 26	хГЧ-контроль	а-ГнРГ – контроль	хГЧ-а-ГнРГ
α2-МГ г/л	M±m	0,15±0,01	0,18±0,02	0,15±0,01	*0,58 (0,563)*	*0,08 (0,934)*	*0,46 (0,647)*
	Dz	0,07-0,27	0,07-0,3	0,1-0,2			
α1-АТ г/л	M±m	0,24±0,02	0,22±0,01	0,22±0,01	*0,41 (0,682)*	*0,80 (0,425)*	*0,29 (0,775)*
	Dz	0,14-0,40	0,14-0,32	0,15-0,29			
ЛФ мг/л	M±m	0,18±0,02	0,17±0,01	0,15±0,01	*0,16 (0,872)*	*1,67 (0,088)*	*1,58 (0,108)*
	Dz	0,11-0,26	0,12-0,25	0,1-0,2			
АЛБ г/л	M±m	41,92±0,5	38,54±0,91	44,34±0,52	***3,17 (0,002)***	***2,91 (0,004)***	***4,77 (<0,001)***
	Dz	39,1-44,85	31,76-43,8	41,6-47,6			
ОБ г/л	M±m	61,78±0,57	63,03±0,71	70,84±0,63	*1,47 (0,141)*	***5,97 (<0,001)***	***5,26 (<0,001)***
	Dz	58,40-65,74	60,24-67,37	67,2-75,2			
ФНО-α пкг/мл	M±m	1,56±0,26	1,51±0,38	1,96±0,38	*0,35 (0,726)*	*1,04 (0,301)*	*1,25 (0,204)*
	Dz	0,10-2,36	0,10-2,35	0,20-3,02			
ИЛ-6 пкг/мл	M±m	13,26±1,41	14,61±2,3	34,27±10,88	*0,3 (0,764)*	*1,02 (0,309)*	*1,46 (0,145)*
	Dz	4,86-22,62	4,93-34,22	8,3-98,55			
ИЛ-8 пкг/мл	M±m	250,7±12,7	164,58±16,84	235,45±21,05	***3,68 (<0,001)***	*0,64 (0,522)*	***2,35 (0,019)***
	Dz	169,24-334,46	85,25-297,67	104,35-394,1			
ИФН-γ пкг/мл	M±m	4,92±0,35	6,98±0,24	4,48±0,23	***4,02 (<0,001)***	*1,3 (0,193)*	***5,25 (<0,001)***
	Dz	3,00-7,38	5,7-8,2	3,4-5,75			

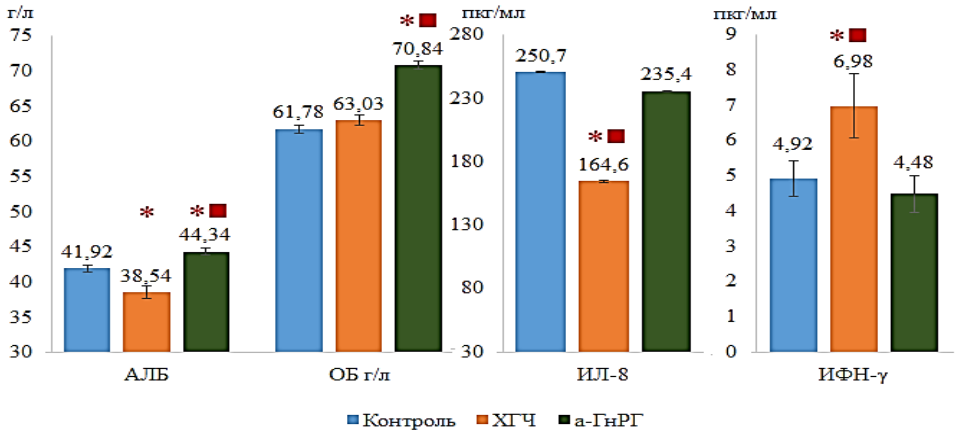
Примечание: U(p) – статистическая значимость различий между сравниваемыми группами

Проведенный анализ иммунологического состава фолликулярной жидкости инфертильных пациенток с СПЯ при использовании различного вида триггера овуляции в программах ЭКО показал существенные различия в изучаемых подгруппах и группе контроля в отношении АЛБ, ОБ, ИЛ-8 и ИФН-γ.

Уровень АЛБ фолликулярной жидкости пациенток с СПЯ хГЧ-триггером был значительно ниже, а в подгруппе с заменой тригера на а-ГнРГ – выше, чем в группе контроля. Концентрация ОБ в ФЖ инфертильных пациенток с СПЯ и хГЧ-триггером была сопоставима с аналогичными значениями группы контроля, тогда как у пациенток с заменой триггера на а-ГнРГ существенно превышала контрольные значения.

Показатели ИЛ-8 в составе ФЖ пациенток с СПЯ и хГЧ-триггером были достоверно ниже, чем в группе контроля, тогда как в подгруппе с заменой триггера овуляции значения данного показателя не имели существенных отличий.

Значения ИФН-γ ФЖ в подгруппе СПЯ с хГЧ-триггером были значимо выше по сравнению с контрольной группой, тогда как уровень данного показателя в подгруппе пациенток с заменой триггера овуляции практически не отличался от контрольных значений (рисунок 21).



* – различия по сравнению с группой контроля статистически значимы на уровне p≤0,05

■ – различия между подгруппами с разными триггерами статистически значимы на уровне p≤0,05.

Рисунок 21 – Имуннологические показатели в ФЖ инфертильных пациенток с СПЯ в подгруппах с различным триггером овуляции по сравнению с группой контроля

Для выявления возможных иммунологических предикторов результативности программы ЭКО в составе ФЖ в день ТВП у инфертильных пациенток с СПЯ хГЧ-триггером с переносом в полость матки свежего эмбриона нами проведен анализ полученных значений в зависимости от исхода программы ЭКО. Из 46 пациенток данной подгруппы беременность в результате программы ЭКО наступила у 20 пациенток, не наступила у 26, ЧНБ составила 44%. Полученные иммунологические значения сравнивали с аналогичными показателями женщин группы контроля, из которых забеременели 14 пациенток и отрицательный результат программы отмечен у 23 женщин, ЧНБ составила 38%. Полученные данные представлены в таблице 28.

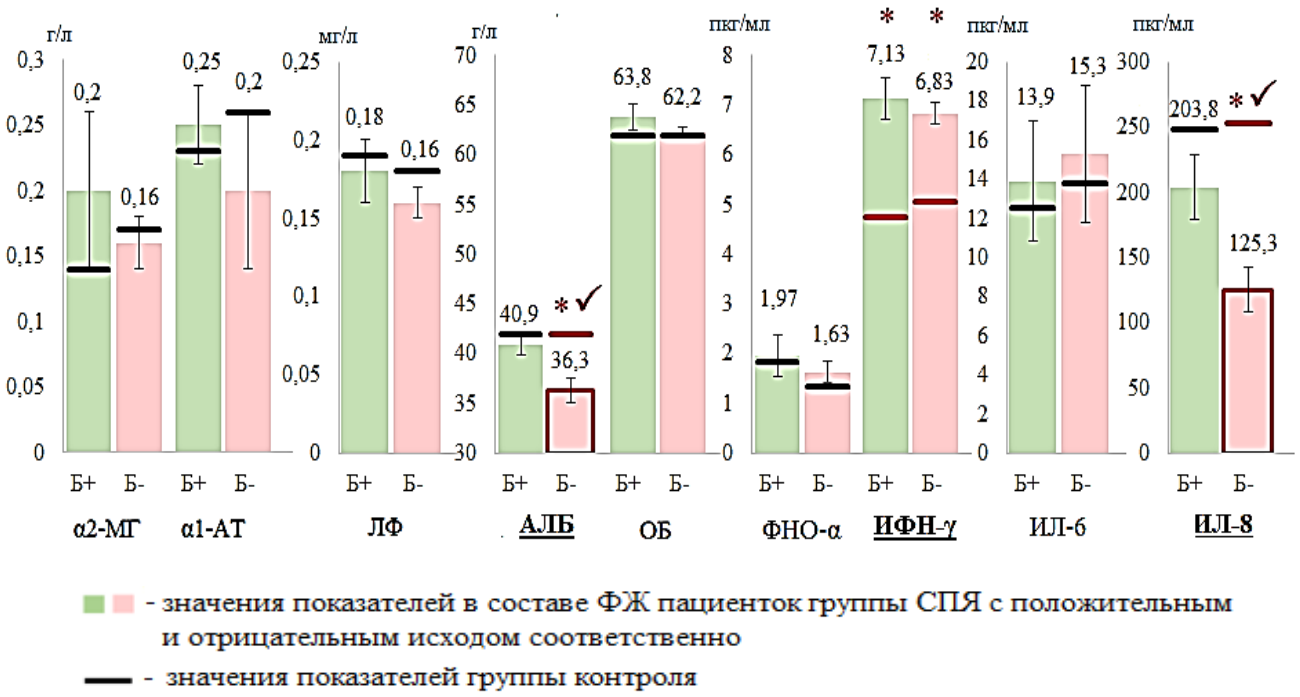
Таблица 28 – Регуляторно-транспортные белки и цитокины в ФЖ инфертильных женщин группы СПЯ (хГЧ триггер) и группы контроля в зависимости от исхода программы ЭКО

Показатели		В день ТВП		
		Б+ СПЯ(хГЧ) n – 20 контроль n - 13	Б- СПЯ(хГЧ) n – 26 контроль n - 23	U(p)
α2-МГ г/л	Контроль n - 37	0,14±0,02	0,17±0,02	*1,52(0,128)*
	СПЯ(хГЧ) n - 46	0,2±0,04	0,16±0,02	*0,15(0,884)*
	U(p)^{к}	*1,25(0,21)*	*0,44(0,662)*	-
α1-АТ г/л	Контроль	0,23±0,03	0,26±0,03	*0,57(0,571)*
	СПЯ(хГЧ)	0,25±0,02	0,2±0,02	*1,76(0,078)*
	U(p)^{к}	*0,63(0,53)*	*1,24(0,214)*	-
ЛФ мг/л	Контроль	0,19±0,02	0,18±0,03	*0,93(0,351)*
	СПЯ(хГЧ)	0,18±0,02	0,16±0,01	*0,02(0,970)*
	U(p)^{к}	*0,41(0,682)*	*0,37(0,712)*	-
Альбумин г/л	Контроль	41,93±0,71	41,91±0,72	*0,31(0,758)*
	СПЯ(хГЧ)	40,96±0,95	36,3±1,28	***2,69(0,007)***
	U(p)^{к}	*1,14(0,253)*	***3,08(0,002)***	-
ОБ г/л	Контроль	61,91±1,06	61,69±0,64	*0,27(0,784)*
	СПЯ(хГЧ)	63,81±1,29	62,24±0,57	*0,03(0,977)*
	U(p)^{к}	*0,99(0,325)*	*1,16(0,247)*	-
ФНО-α пкг/мл	Контроль	1,85±0,54	1,33±0,18	*0,22(0,826)*
	СПЯ(хГЧ)	1,97±0,42	0,63±0,12	*1,97(0,155)*
	U(p)^{к}	*0,4(0,688)*	*2,86(0,004)*	-
ИЛ-6 пкг/мл	Контроль	12,55±2,60	13,82±1,54	*0,99(0,324)*
	СПЯ(хГЧ)	13,88±3,08	15,33±3,53	*0,38(0,707)*
	U(p)^{к}	*0,15(0,878)*	*0,49(0,625)*	-
ИЛ-8 пкг/мл	Контроль	248,53±18,29	252,41±18,14	*0,16(0,87)*
	СПЯ(хГЧ)	203,83±24,85	125,33±16,99	***2,45(0,014)***
	U(p)^{к}	*1,42(0,157)*	***3,65(<0,001)***	-
ИФН-γ пкг/мл	Контроль	4,76±0,59	5,05±0,44	*0,08(0,935)*
	СПЯ(хГЧ)	7,13±0,43	6,83±0,22	*0,75(0,452)*
	U(p)^{к}	***2,84(0,005)***	***2,57(0,01)***	-

Примечание: $U^{к}(p)$ – статистическая значимость различий между группой СПЯ и группой контроля, применялся критерий Манна-Уитни.

U(p) – статистическая значимость различий между подгруппами забеременевших и не забеременевших женщин, применялся критерий Манна-Уитни.

Проведенный анализ исследуемых иммунологических показателей ФЖ пациенток с СПЯ и хГЧ триггером продемонстрировал предикторную роль концентрации АЛБ и ИЛ-8 в исходе программы ЭКО. Уровень данных параметров, сопоставимый с контрольными, является позитивным предиктором исхода программы ЭКО, тогда как достоверно сниженные концентрации этих показателей в составе ФЖ по сравнению с группой контроля являются прогностически неблагоприятными маркерами ее исхода (рисунок 22).



* – различия по сравнению с группой контроля статистически значимы на уровне $p \leq 0,05$

✓ – различия между забеременевшими и незабеременевшими женщинами статистически значимы на уровне $p \leq 0,05$

Рисунок 22 – Регуляторно-транспортные белки и цитокины в ФЖ инфертильных женщин группы СПЯ (хГЧ триггер) и группы контроля в зависимости от исхода программы ЭКО

Таким образом, результаты проведенного исследования позволяют заключить, что пациентки с эндокринным бесплодием на фоне СПЯ имеют существенные отличия в иммунологическом профиле от здоровых женщин группы контроля как на местном, так и на системном уровне. На системном уровне отличительными особенностями данной группы пациенток являются достоверно более высокие концентрации ОБ и АЛБ сыворотки крови.

Отмечаемые в процессе индукции суперовуляции изменения сывороточных значений изучаемых показателей зависели от количества растущих фолликулов и применяемого триггера финального созревания ооцитов. При росте до 19 фолликулов и использовании хГЧ-триггера у пациенток с СПЯ имела место динамика показателей, как характерная для группы контроля (снижение концентраций АЛБ, ИЛ-8 и повышение VEGF), так и отличная от группы контроля в виде повышения α2-МГ, α1-АТ, ОБ, ИФН-γ и снижения ФНО-α. При росте от 20 и более фолликулов с заменой триггера на а-ГнРГ аналогично группе контроля изменялся только уровень сывороточного АЛБ в сторону снижения. Что касается изменений содержания ИЛ-8 и VEGF в данной подгруппе, то нужно отметить противоположную динамику в процессе индукции суперовуляции этих параметров по сравнению с группами, где применяли хГЧ триггер (то есть контрольная группа и подгруппе СПЯ-хГЧ): отмечалось повышение ИЛ-8 и снижение VEGF. Кроме того, у пациенток с заменой триггера овуляции, в отличие от группы контроля и СПЯ-хГЧ, отмечалась динамика содержания сывороточного ЛФ в сторону увеличения. Характерным признаком, отличающим инфертильных пациенток с СПЯ от группы контроля, независимо от вида использованного триггера финального созревания ооцитов, было динамическое повышение уровня ИФН-γ в процессе индукции суперовуляции.

Обобщив полученные данные относительно сывороточных концентраций изучаемых иммунологических показателей пациенток с СПЯ, можно сделать вывод, что отличительной особенностью системного иммунного статуса в день ТВП у пациенток с СПЯ-хГЧ-триггером, в отличие от группы контроля и СПЯ с заменой триггера, являются повышенные концентрации α2-МГ, α1-АТ и сниженные уровни ФНО-α. В подгруппе с заменой триггера на а-Гн-РГ, в отличие

от групп с использованием хГЧ-триггера (контроль и СПЯ-хГЧ) характерным является повышенные сывороточные значения ИЛ-8, ЛФ, АЛБ и сниженные уровни VEGF. Кроме того, при СПЯ в день ТВП, в отличие от группы контроля, отмечается достоверно более концентрация ОБ (максимальная в подгруппе с хГЧ-триггером) и ИФН-γ (независимо от вида триггера).

Несмотря на наличие столь многообразных особенностей системного иммунологического статуса инфертильных пациенток с СПЯ, отличающих их от группы контроля, не удалось выявить достоверно значимого влияния этих факторов на результативность программ ЭКО.

Анализ локального иммунологического профиля инфертильных пациенток с СПЯ, проведенный посредством изучения состава ФЖ в день ТВП, также продемонстрировал существенные отличия по сравнению с группой контроля.

Концентрации изучаемых иммунологических показателей в ФЖ также зависели от количества растущих фолликулов и применявшегося вида триггера овуляции. Выявленные отличия в группах обследованных женщин касались концентраций АЛБ, ОБ, ИЛ-8 и ИФН-γ. Так, уровень АЛБ в ФЖ пациенток подгруппы СПЯ-хГЧ был достоверно ниже, а в подгруппе с заменой триггера овуляции – значительно выше, чем в контроле. Концентрация ОБ ФЖ в подгруппе с заменой триггера на а-ГнРГ была значительно выше, чем в группах с использованием только хГЧ-триджерринга (контроле и СПЯ-хГЧ). Содержание ИЛ-8 в составе ФЖ пациенток с СПЯ-хГЧ было существенно ниже, а ИФН-γ – достоверно выше, чем в контроле и СПЯ-а-ГнРГ.

Изучив зависимость результативности программ ЭКО у пациенток с СПЯ-хГЧ-триггером от иммунологического состава ФЖ нами была выявлена предикторная роль сниженных концентраций АЛБ и ИЛ-8 в отрицательном исходе программ ЭКО.

Для выявления критических значений АЛБ и ИЛ-8 в составе ФЖ пациенток с СПЯ (хГЧ-триггером) как возможных предикторов отрицательного исхода программы ЭКО, а также совместного влияния этих показателей на исход данной программы применяли методы логистической регрессии и множественной логистической регрессии.

На первом этапе с помощью логистической регрессии осуществляли поиск критического значения отдельно для каждого иммунологического показателя, независимо от влияния другого. Если у конкретной женщины значение рассматриваемого иммунологического показателя выше либо равно критическому значению, то с вероятностью 80% у неё можно прогнозировать отрицательный исход программы ЭКО. Значение показателя ниже критического порога свидетельствовало о неопределенности ситуации и требовало проведения анализа совместного влияния этих показателей (второй этап исследования).

На втором этапе исследования определяли критическое значение концентрации АЛБ и ИЛ-8 в фолликулярной жидкости. Относительно АЛБ поиск порога отсечения для уровня чувствительности 80% показал, что с вероятностью не менее 80% отрицательный исход программы ЭКО у пациенток с СПЯ прогнозируется при уровне альбумина в фолликулярной жидкости ниже 35 г/л (рисунок 23).

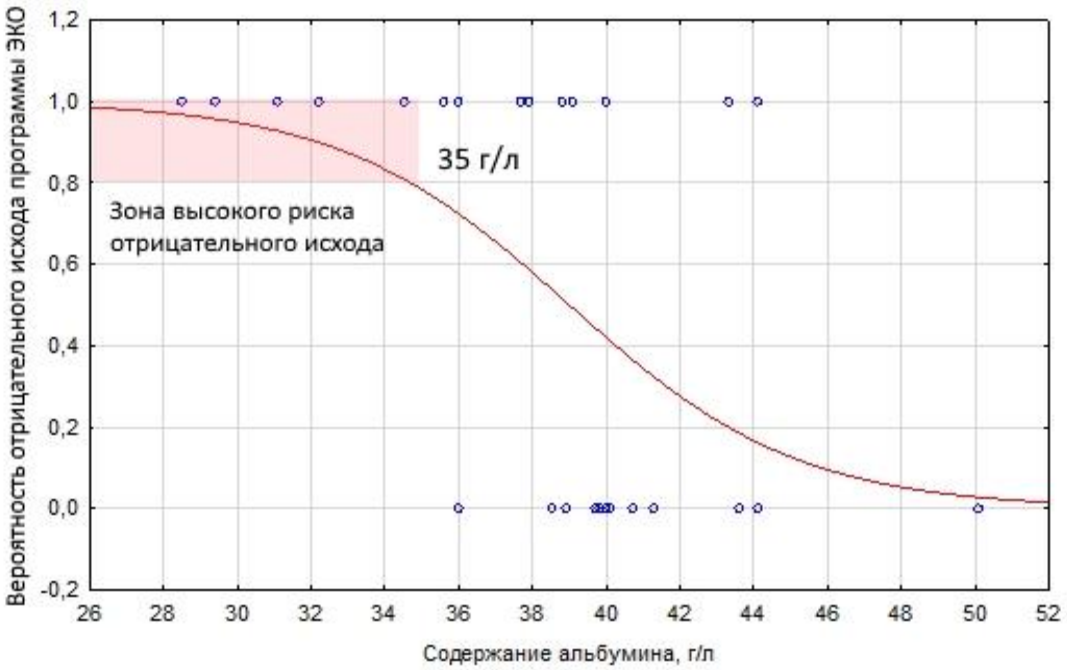


Рисунок 23 – Ассоциация уровня АЛБ в ФЖ инфертильных пациенток с СПЯ (хГЧ-триггер) с исходом программы ЭКО

Содержание второго рассматриваемого показателя – ИЛ-8 в составе ФЖ у женщин с отрицательным исходом программы ЭКО при СПЯ (хГЧ-триггер) также было статистически значимо более низким, чем у женщин с положитель-

ным исходом программы ЭКО. Проведенный анализ чувствительности показал, что с вероятностью не менее 80% отрицательный исход программы ЭКО для женщин с СПЯ (хГЧ-триггер) может быть сопряжен с уровнем ИЛ-8 в ФЖ ниже 110 пкг/мл (рисунок 24).

В дальнейшем проводился анализ совместного влияния АЛБ и ИЛ-8 на отрицательный исход программы ЭКО. Анализ взаимосвязей показал, что между АЛБ и ИЛ-8 в фолликулярной жидкости нет статистически значимой корреляции (r_s=-0,04, p=0,851).

Для оценки прогностической значимости иммунологических показателей с учетом их совместного влияния на исход программы применялась процедура множественной логистической регрессии. В результате было выявлено, что оба показатели обладают высокой прогностической ценностью (статистически значимы) – таблица 29. R^2 Нейлджеркерка для модели совместного влияния составляет 0,69, площадь под ROC кривой – 0,92.

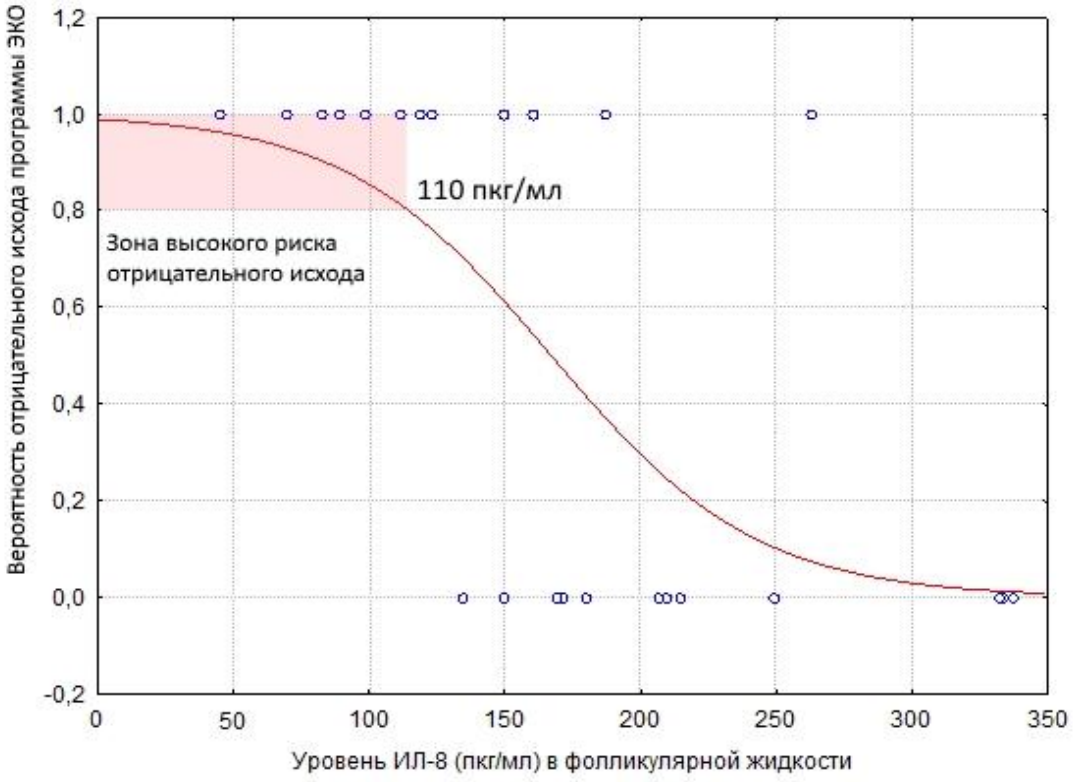


Рисунок 24 – Ассоциация уровня ИЛ-8 в ФЖ инфертильных женщин с СПЯ (хГЧ-триггер) с исходом программы ЭКО

Таблица 29 – Оценка статистической значимости влияния показателей на результат ЭКО с учетом их взаимосвязей и совместного влияния у женщин с СПЯ

Показатели	Вальд	Знч.
Высокая прогностическая ценность		
АЛБ в фолликулярной жидкости	3,66	0,047
ИЛ-8 в фолликулярной жидкости	4,11	0,043

Для выявления критических значений каждого показателя с учетом их взаимосвязи и характера совместного влияния на результат программы ЭКОприменялся метод деревьев решений (CHAID) с итерационным делением всего диапазона на отдельные интервалы. В результате было получено следующее дерево решения – рисунок 25.

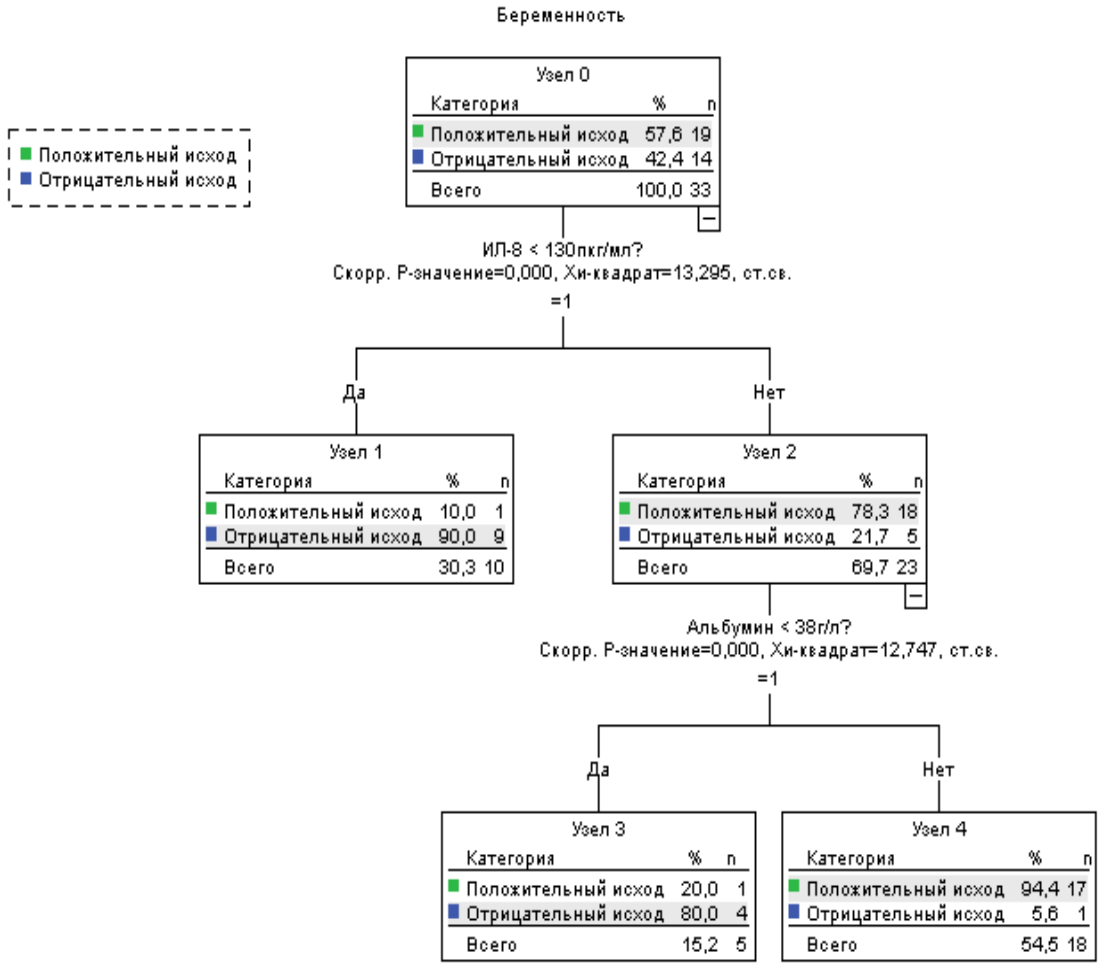


Рисунок 25 – «Дерево» решений прогноза отрицательного исхода программы ЭКО у женщин с СПЯ (хГЧ-триггер)

Критическим значением для АЛБ в фолликулярной жидкости определено значение 38 г/л, для ИЛ-8 в ФЖ 130 г/л – рисунок 26.

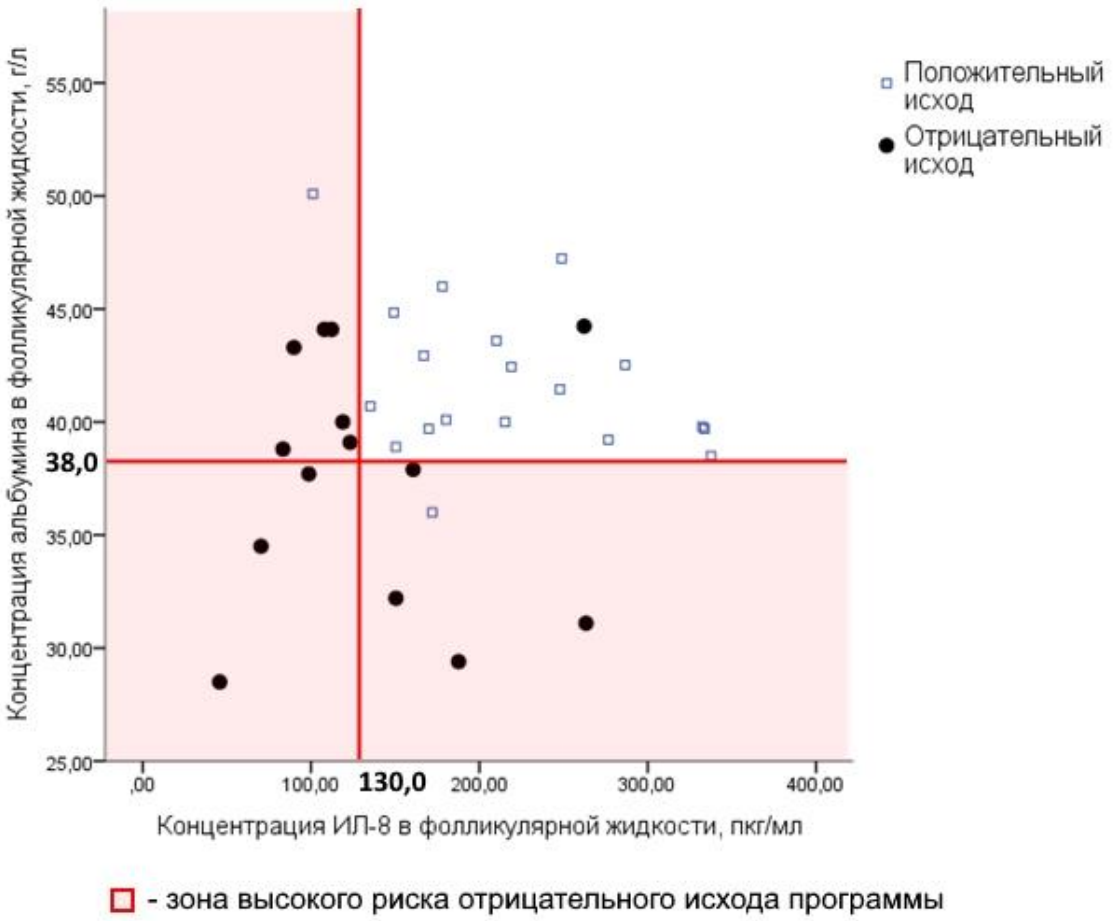


Рисунок 26 – Взаимосвязь уровня ИЛ-8 и АЛБ в ФЖ с отрицательным исходом программы ЭКО у пациенток с СПЯ

На основе проведенного анализа был разработан следующий алгоритм прогноза отрицательного исхода программы у женщин с СПЯ:

1) Определяется уровень ИЛ-8 в фолликулярной жидкости, если он существенно ниже нормативных значений (169,2-344,5 пкг/мл), а именно ниже, либо равен 130 пкг/мл, то с вероятностью 90% исход программы будет отрицательный.

2) Если уровень ИЛ-8 в фолликулярной жидкости соответствует нормативам, то необходимо определить уровень АЛБ в фолликулярной жидкости.

3) Если АЛБ соответствует нормативам (39,1-44,8 г/л), то вероятность положительного исхода 94% (отрицательного 6%).

4) Если АЛБ ниже определенных нормативов, в частности ниже либо равен 38 г/л, то с вероятностью 80% можно прогнозировать отрицательный исход.

Точность работы алгоритма – 91% (30/33), чувствительность (способность выявлять отрицательный результат) – 93% (13/14), специфичность (способность выявлять положительный результат) – 90% (17/19).

В результате проведения программы ЭКО с применением хорионического гонадотропина человека в качестве триггера финального созревания ооцитов у 11 забеременевших пациенток с СПЯ развилась «поздняя» форма синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ) до средней степени тяжести. Количество растущих фолликулов и полученных в результате их пункции ооцитов в данной группе пациенток было в пределах 13-19. Клиническими проявлениями СГЯ у данных пациенток были боли в животе «распирающего» характера, увеличение размеров яичников до 15 см³, асцит до 1-3 литров, гипотония, тахикардия, одышка; по лабораторным данным: повышение вязкости крови. Данным пациенткам проводилась в/в инфузионная и антикоагулянтная терапия с положительным эффектом – СГЯ разрешился в течение 2-5-х недель, у всех пациенток данной подгруппы отмечалась прогрессирующая беременность.

С целью выявления иммунологических предикторов «поздней» формы СГЯ при СПЯ нами проведен анализ содержания регуляторно-транспортных белков и цитокинов в сыворотке крови в день ТВП и фолликулярной жидкости забеременевших в программе ЭКО пациенток с развившимся и неразвившимся СГЯ. Полученные данные представлены в таблице 30.

Таблица 30 – Концентрации регуляторно-транспортных белков, цитокинов сыворотке крови и фолликулярной жидкости, а также стероидных гормонов в сыворотке крови в день ТВП забеременевших в программе ЭКО женщин с СПЯ в зависимости от наличия и отсутствия «поздней» формы СГЯ

	СГЯ		Без СГЯ		Сравнение групп U(p)
Сыворотка крови	(n=11)	Диапазон	(n=9)	Диапазон	
α-2МГ	2,94±0,210	0,42-6,18	2,60±0,107	0,74-4,43	1,48 (p=0,137)
ИФН-γ	6,82±0,227	3,01-10,95	5,91±0,233	2,96-9,08	1,91 (p=0,060)
a1-АТ	4,94±0,30	2,12-9,67	2,56±0,10	1,2-4,1	**4,08 (p<0,001)**
АБГ	0,019±0,003	0,011-0,047	0,008±0,001	0,002-0,014	**2,64 (p=0,008)**
ФНО-α	0,75±0,151	0,00-2,37	1,63±0,151	0.38-3.62	**3,97 (p<0,001)**
АЛБ	41,07±0,394	36,64-45,62	45,53±0,351	40,32-49,90	**5,03 (p<0,001)**
ИЛ-8	2,01±0,320	0,00-5,94	3,52±0,360	0,02-7,41	**2,21 (p=0,027)**
VEGF	244,7±12,8	181,7-315,9	127,2±7,94	70,9-186,7	**5,21 (p<0,001)**
Фолликулярная жидкость	(N=11)	Диапазон	(N=9)	Диапазон	
ИФН-γ	7,92±0,345	2,96-13,75	5,36±0,222	2,17-8,57	**4,88 (p<0,001)**
ФНО-α	0,85±0,130	0,00-1,64	1,97±0,290	0,39-3,88	**4,06 (p<0,001)**
АЛБ	40,60±0,810	35,42-43,83	42,33±0,334	36,85-46,43	**2,16 (p =0,031)**
ИЛ-8	117,80±6,601	88,8-158,23	245,73±9,630	109,8-374,2	**5,00 (p<0,001)**
ГОРМОНЫ	(n=11)	Диапазон	(n=9)	Диапазон	
Эстрадиол, пмоль/л	8107,63±124,15	4468-11545	7892,37±264,35	4018-11467	0,69 (p=0,502)
Прогестерон, нг/мл	0,71±0,118	0,20-1,58	0,97±0,247	0,21-1,73	0,86 (p=0,399)

Примечание: U(p) – статистическая значимость различий между подгруппами женщин с СГЯ и без СГЯ, применялся критерий Манна-Уитни

Проведенный анализ полученных данных демонстрирует существенные различия исследуемых иммунологических показателей в сыворотке крови у обследованных женщин при сопоставимых значениях стероидных гормонов (эстрадиола и прогестерона) среди забеременевших в программе ЭКО женщин с СПЯ в зависимости от развития «поздней» формы СГЯ в виде достоверного повышения значений α1-АТ (от 4,6 г/л и выше), АБГ (от 0,020 г/л и выше), VEGF (от 220 пкг/мл и выше) при сниженных концентрациях ФНО-α (от 0,4пкг/мл и ниже), АЛБ (от 41 г/л и ниже) и ИЛ-8 (от 1,4 пкг/мл и ниже) в сыворотке крови (рис. 27 а-е) и повышении ИФН-γ (от 8,5 пкг/мл и выше) при сниженных значениях ФНО- α (от 0,5 пкг/мл и ниже), АЛБ (от 38 г/л и ниже) и ИЛ-8 (от 120 пкг/мл и ниже) в составе фолликулярной жидкости в день ТВП (рис. 27 а-е).

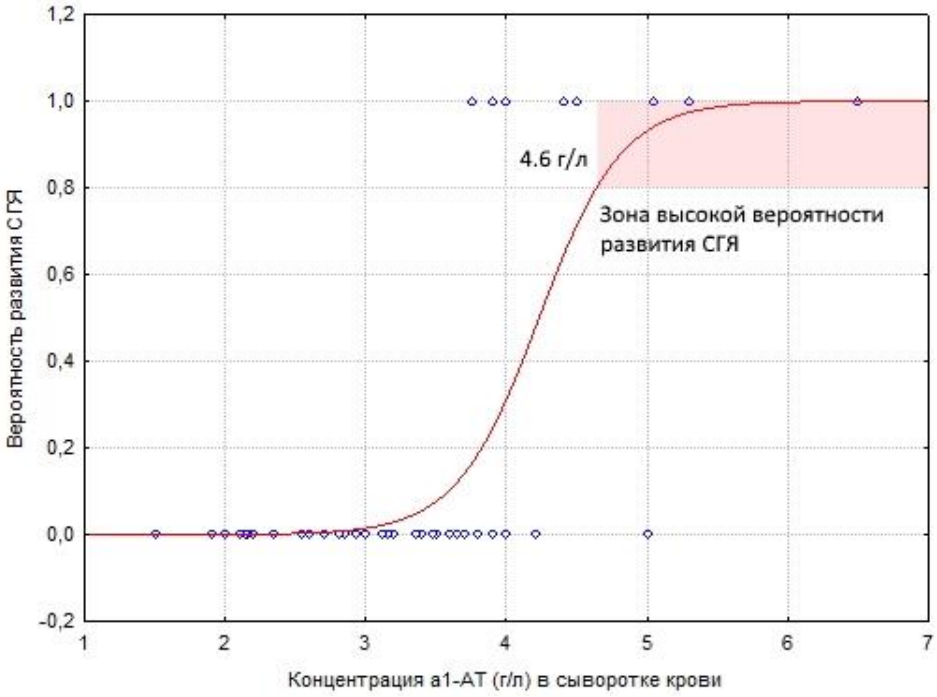


Рисунок 27 а – Ассоциация уровня сывороточного α1-АТ с развитием «поздней» формы СГЯ у инфертильных пациенток с СПЯ в программе ЭКО

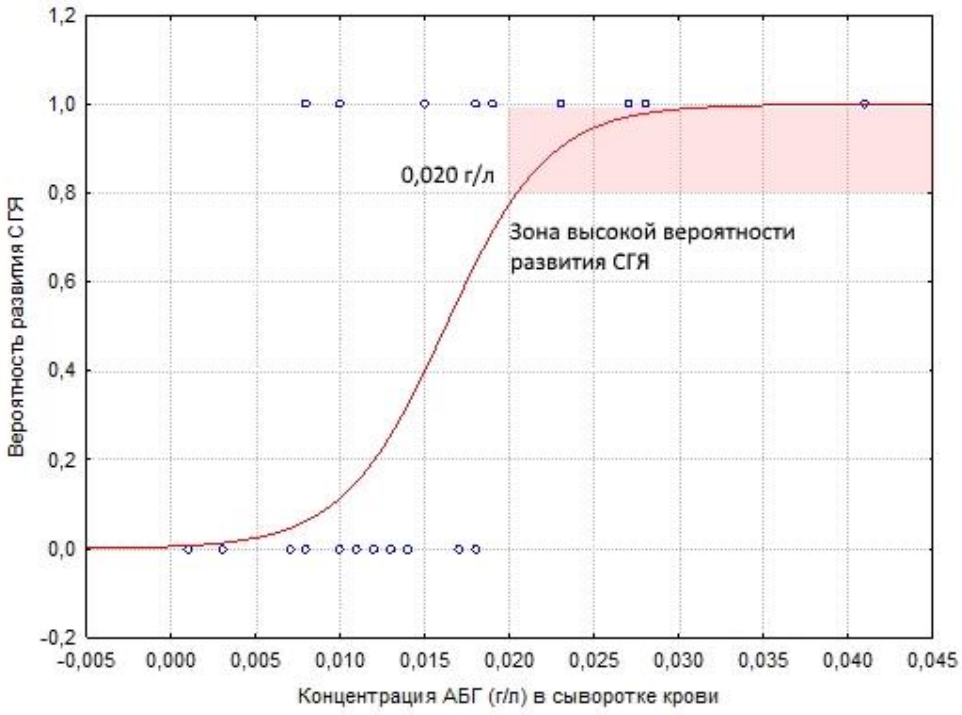


Рисунок 27 б – Ассоциация уровня сывороточного АБГ с развитием «поздней» формы СГЯ у инфертильных пациенток с СПЯ в программе ЭКО

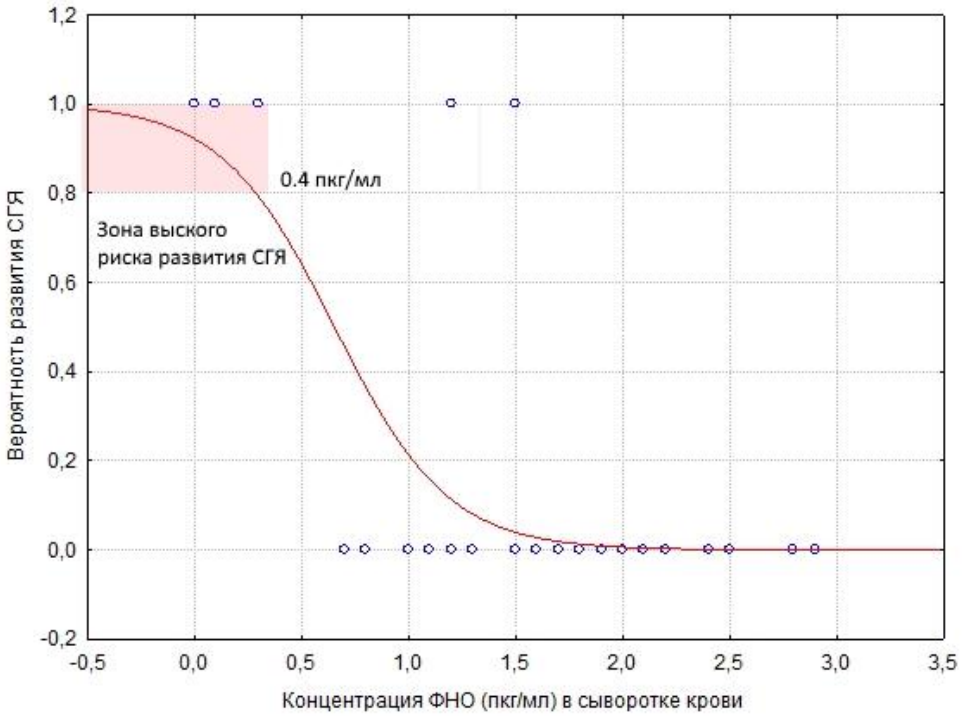


Рисунок 27 в – Ассоциация уровня сывороточного ФНО-α с развитием «поздней» формы СГЯ у инфертильных пациенток с СПЯ в программе ЭКО

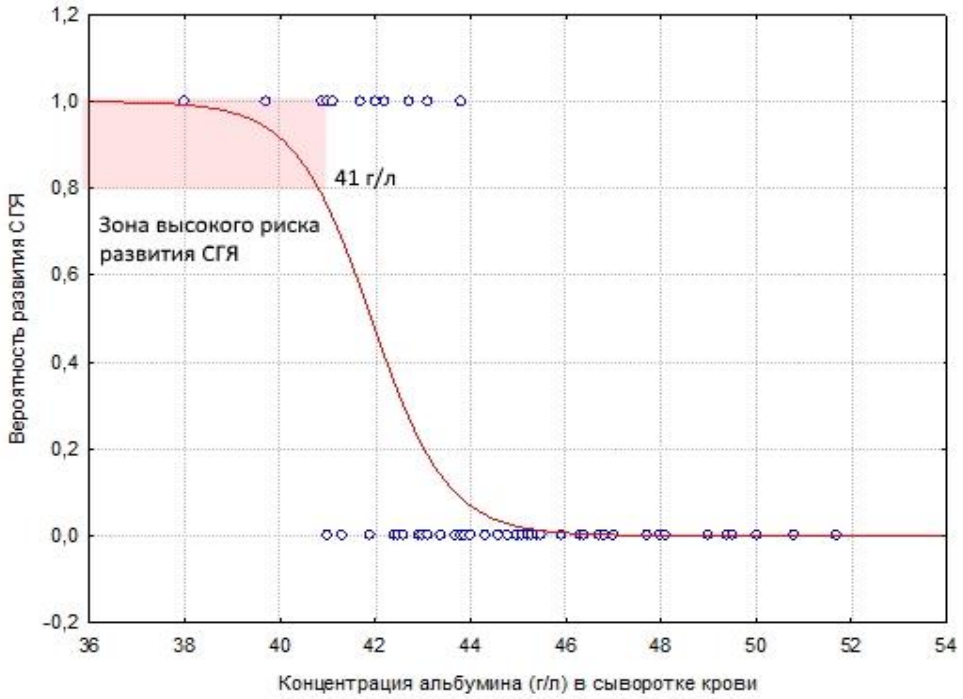


Рисунок 27 г – Ассоциация уровня сывороточного АЛБ с развитием «поздней» формы СГЯ у инфертильных пациенток с СПЯ в программе ЭКО

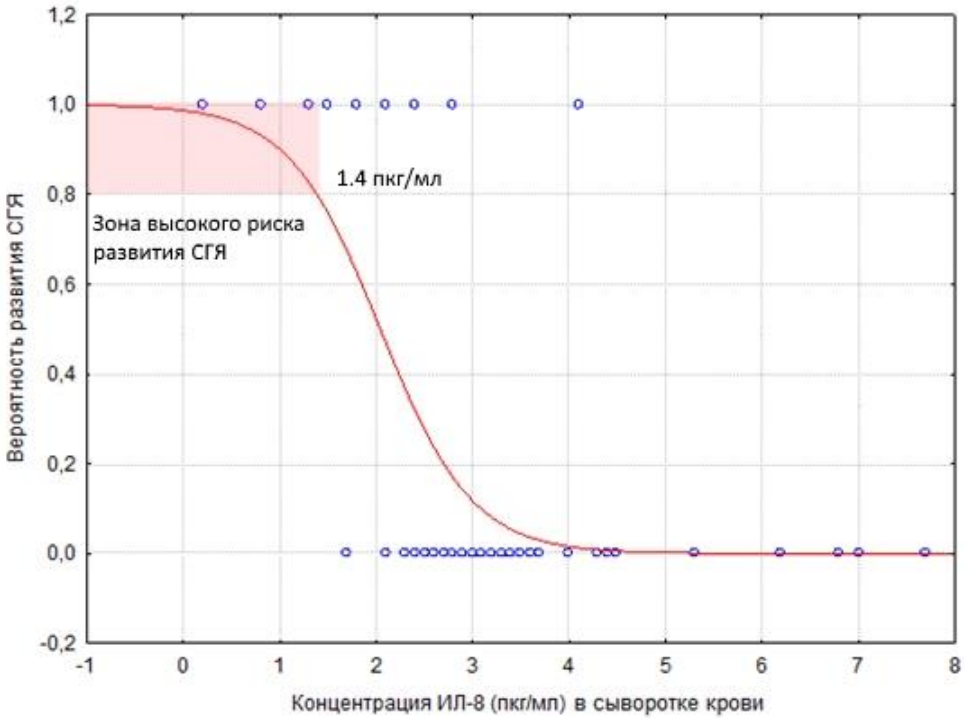


Рисунок 27 д – Ассоциация уровня сывороточного ИЛ-8 с развитием «поздней» формы СГЯ у инфертильных пациенток с СПЯ в программе ЭКО

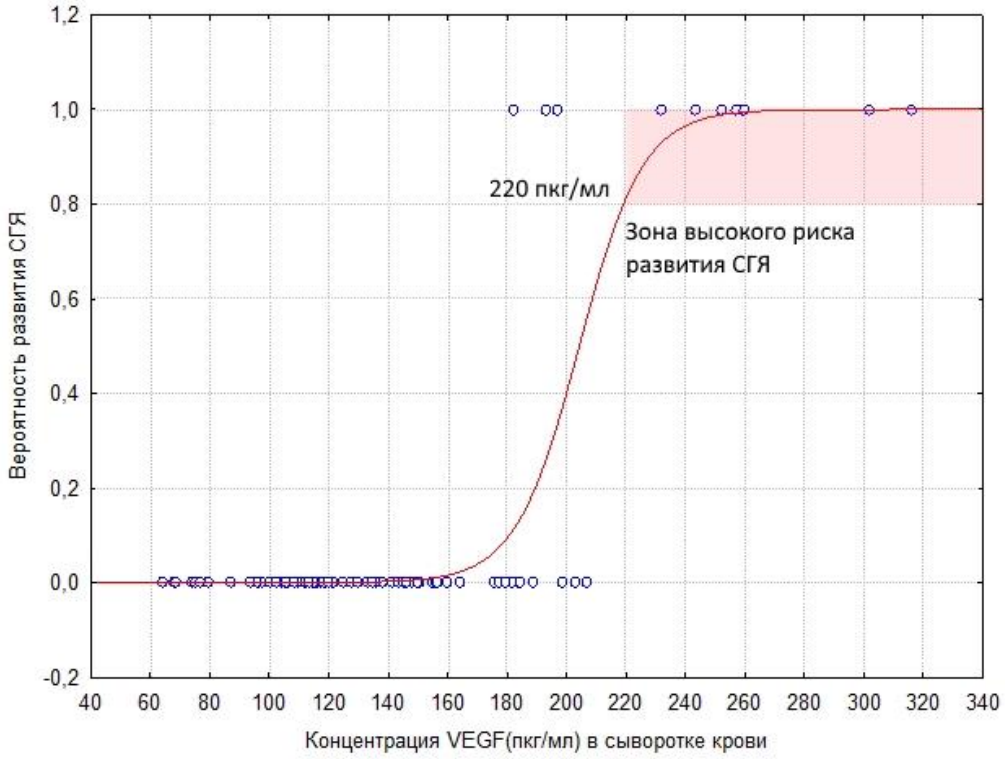


Рисунок 27 е – Ассоциация уровня сывороточного VEGF с развитием «поздней» формы СГЯ у инфертильных пациенток с СПЯ в программе ЭКО

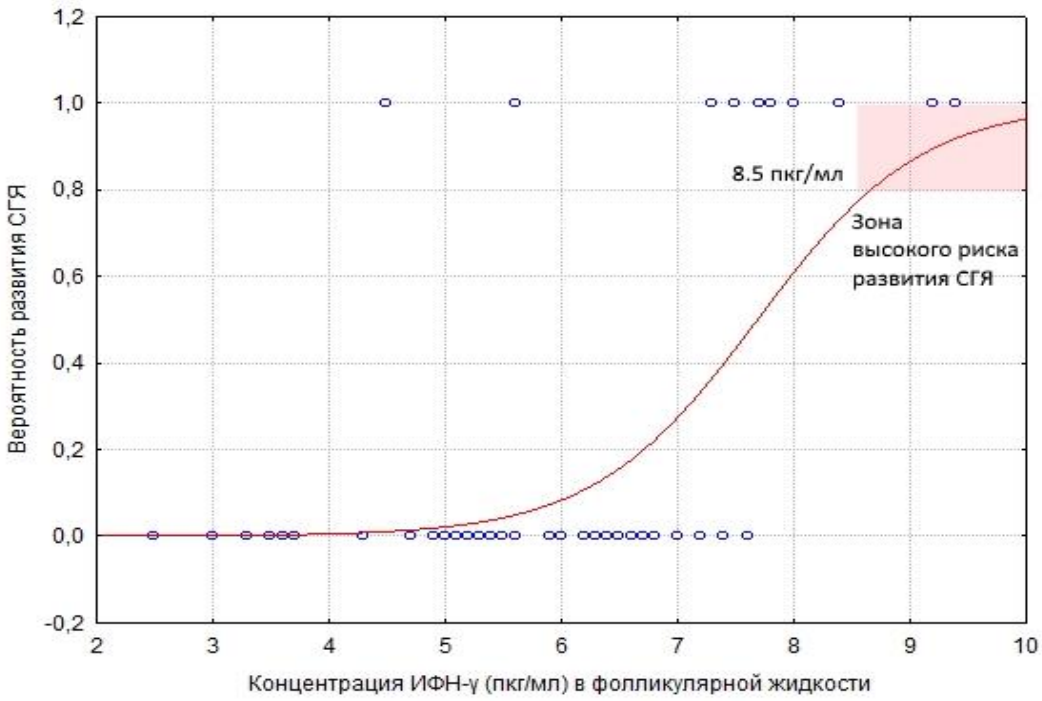


Рисунок 28 а – Ассоциация уровня ИФН-γ в ФЖ с развитием «поздней» формы СГЯ у пациенток с СПЯ в программах ЭКО

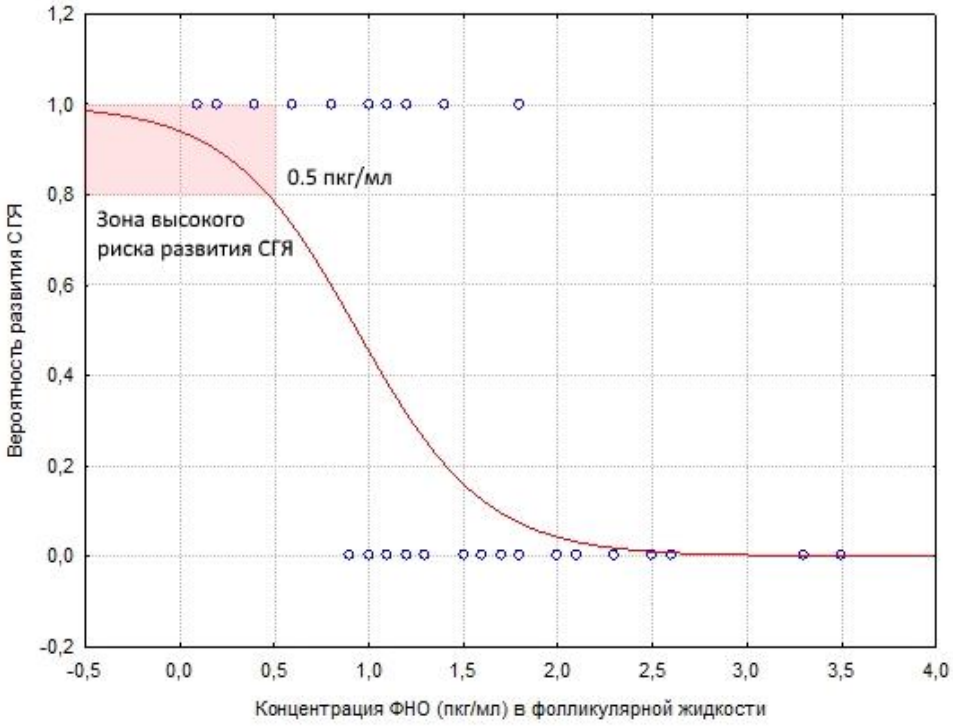


Рисунок 28 б – Ассоциация уровня ФНО-α в ФЖ с развитием «поздней» формы СГЯ у пациенток с СПЯ в программах ЭКО

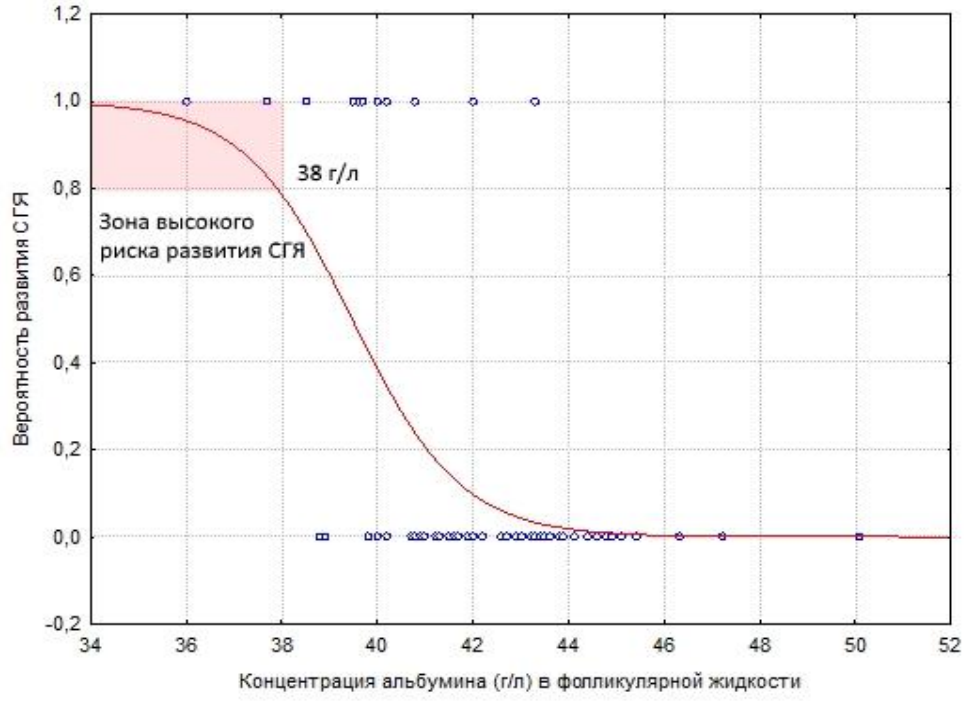


Рисунок 28 в – Ассоциация уровня АЛБ в ФЖ с развитием «поздней» формы СГЯ у пациенток с СПЯ в программах ЭКО

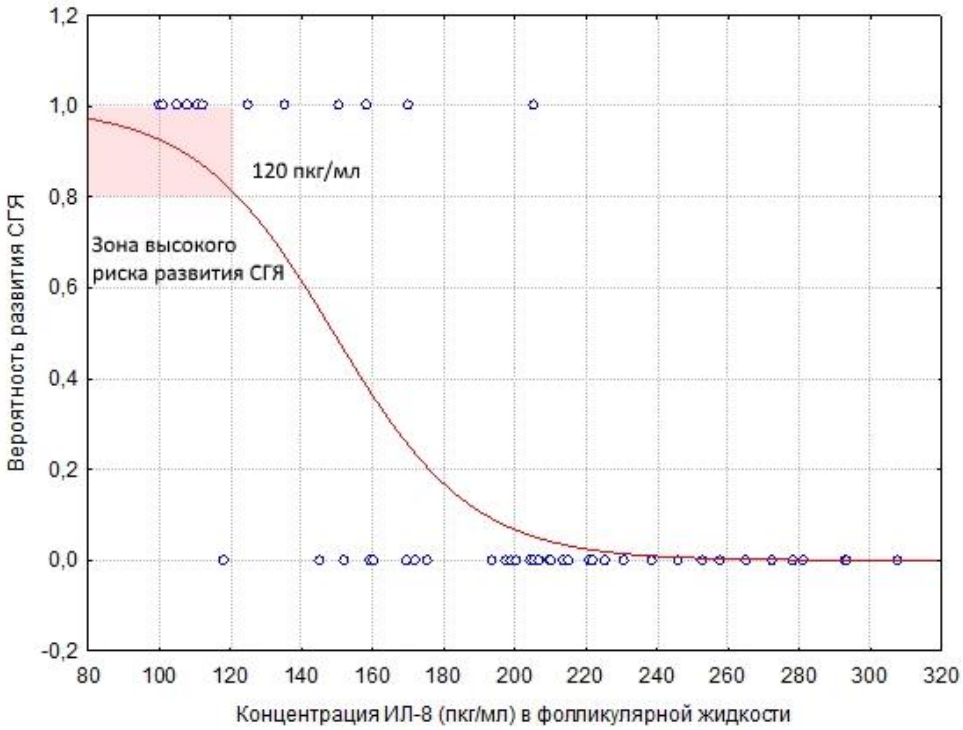


Рисунок 28 г – Ассоциация уровня ИЛ-8 в ФЖ с развитием «поздней» формы СГЯ у пациенток с СПЯ в программах ЭКО

Таким образом, можно утверждать, что иммунологическими предикторами развития «поздней» формы СГЯ у пациенток с применением хГЧ-триггера при СПЯ, забеременевших в программе ЭКО, являются повышенные концентрации α1-АТ, АБГ и VEGF при достоверном снижении уровней АЛБ, ФНО-α, ИЛ-8 в сыворотке крови и повышенные концентрации ИФН-γ при снижении содержания АЛБ, ФНО-α и ИЛ-8 в составе фолликулярной жидкости в день ТВП. По сути дела, данные изменения можно интерпретировать как проявление синдрома системного воспалительного ответа (ССВО) на фоне массивного повреждения сосудистого эндотелия в результате введения овуляторной дозы ХГЧ. При резком повышении уровней α-1АТ, АБГ и VEGF сыворотки крови и ИФН-γ в ФЖ, резко повышается проницаемость стенок сосудов и фолликулов, в результате чего из сыворотки крови вместе с жидкостью в «третье» пространство уходят АЛБ, ФНО-α, ИЛ-8, что выражается гиповолемией и снижением концентрации данных показателей в составе сыворотки крови и фолликулярной жидкости.

Ввиду того, что данные изменения являются субклиническими, в программе ЭКО производится перенос эмбриона, имплантация которого вновь приводит к повышению уровня хГЧ крови, в результате чего через несколько дней после эмбриотрансфера и разворачивается клиническая картина СГЯ разной степени выраженности.

Глава 6.

РОЛЬ РЕГУЛЯТОРНО-ТРАНСПОРТНЫХ БЕЛКОВ И ЦИТОКИНОВ В ОЦЕНКЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ ПАЦИЕНТОК ПРИ БЕСПЛОДИИ, АССОЦИИРОВАННОМ С НАРУЖНЫМ ГЕНИТАЛЬНЫМ ЭНДОМЕТРИОЗОМ 1-2 СТЕПЕНИ И ПРЕДИКЦИИ ИСХОДОВ ПРОГРАММ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ

Данную группу пациенток составили 32 инфертильные женщины с диагнозом НГЭ 1-2 стадии согласно классификации Американского общества по репродуктивной медицине – r-ASRM, у которых во время выполнения лапароскопии выявлены, а также коагулированы очаги эндометриоза на поверхности яичников, брюшины, маточных связок, ретроцервикального эндометриоза и в течение 1 года послеоперационного периода не удалось добиться восстановления естественной фертильности.

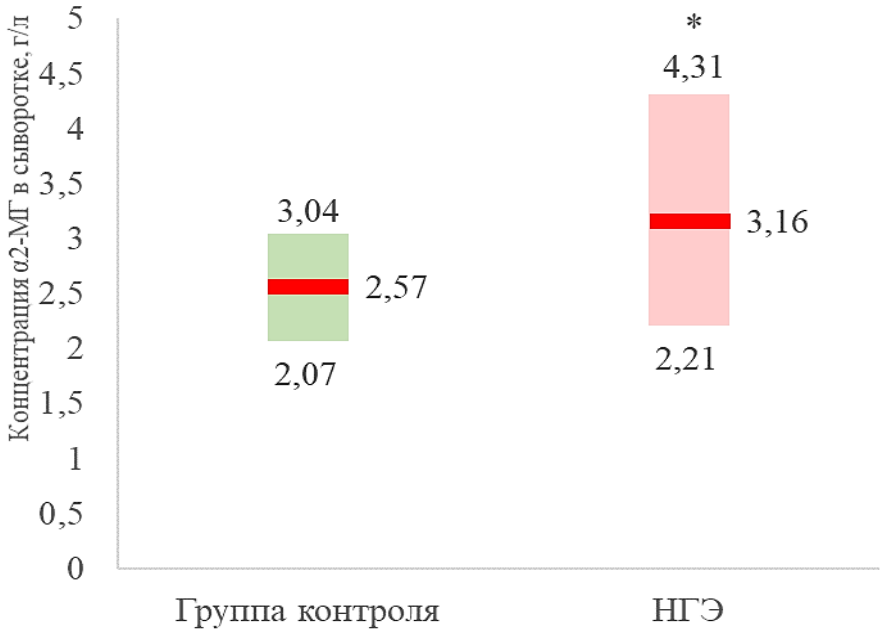
Для выявления особенностей иммунологического статуса инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 стадии исследованы концентрации регуляторно-транспортных белков и цитокинов сыворотки крови перед проведением программы ЭКО, полученные данные сравнивали с аналогичными значениями пациенток группы контроля. Результаты проведенного исследования представлены в таблице 31**.**

Анализ полученных данных продемонстрировал повышенные сывороточные значения α2-МГ, α1-АТ, АЛБ, ОБ, ИФН-γ и сниженный уровень ИЛ-6 у инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 ст. по сравнению с группой контроля, данные утверждения иллюстрированы рисунками 29-34.

Таблица 31 – Регуляторно-транспортные белки и цитокины сыворотки крови инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 ст. и группы контроля

Показатели	Группа контроля (n=37)		НГЭ (n=32)		Сравнение между группами U(p)
	среднее ± ошибка среднего	нормативный диапазон до программы	среднее ± ошибка среднего	диапазон изменения до программы	
α2-МГ г/л	**2,57±0,09**	**2,07-3,04**	**3,16±0,11**	**2,21-4,31**	**3,71 (<0,001)**
АБГ г/л	0,009±0,001	0,001-0,016	0,013±0,001	0,001-0,0021	1,70 (0,089)
α1-АТ г/л	**3,08±0,13**	**2,5-3,70**	**3,72±0,14**	**2,7-4,9**	**3,16 (0,002)**
ЛФ мг/л	1,12±0,05	0,76-1,44	1,25±0,14	0,3-2,1	0,93 (0,355)
АЛБ г/л	**45,79±0,55**	**41,5-50,3**	**47,91±0,66**	**42,7-53,7**	**2,18 (0,030)**
ОБ г/л	**75,6±0,95**	**69,8-82,7**	**82,0±1,07**	**71,3-90,3**	**4,05 (<0,001)**
ФНО-α пкг/мл	1,15±0,06	0,7-1,7	1,0±0,11	0,1-2,0	1,53 (0,125)
ИЛ-6 пкг/мл	**1,34±0,05**	**1,0-1,9**	**1,04±0,14**	**0,1-1,7**	**2,6 (0,009)**
ИЛ-8 пкг/мл	6,38±0,36	3,5-9,5	7,18±0,34	4,1-9,9	1,81 (0,064)
ИФН-γ пкг/мл	**4,36±0,20**	**2,6-5,9**	**6,24±0,26**	**4,1-8,1**	**4,92 (<0,001)**
VEGF пкг/мл	87,48±8,05	41,0-140,5	97,73±9,92	27,6-166,9	1,03 (0,302)

Примечание: U(p) – статистическая значимость различий между группой НГЭ и группой контроля, применялся критерий Манна-Уитни



* - здесь и ниже: статистическая значимость отличий между группами

Рисунок 29 – Сывороточный уровень α2-МГ у инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 ст. и группы контроля

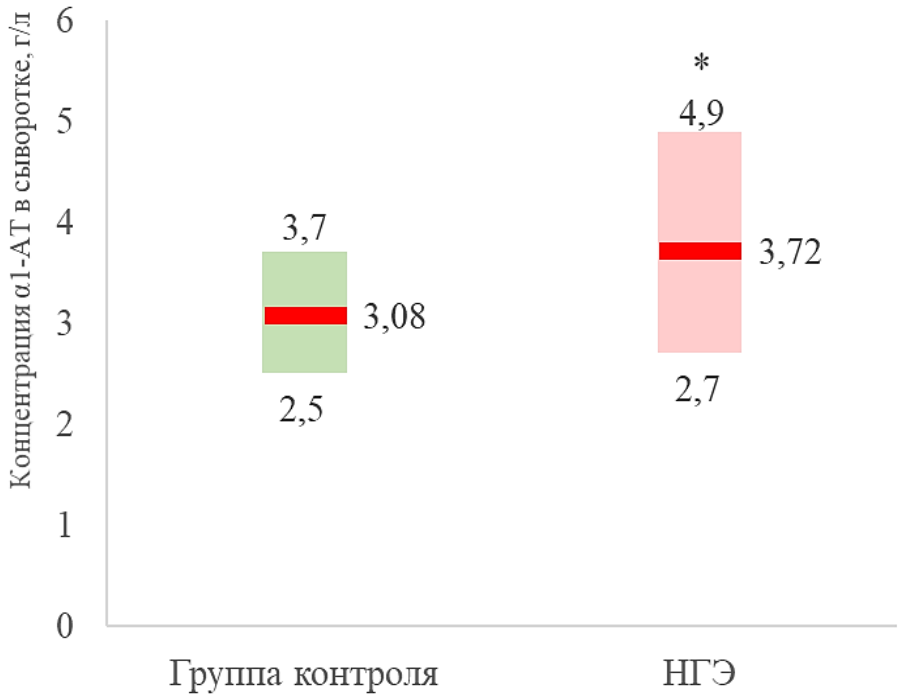


Рисунок 30 – Сывороточная концентрация α1-АТ у инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 ст. и группы контроля

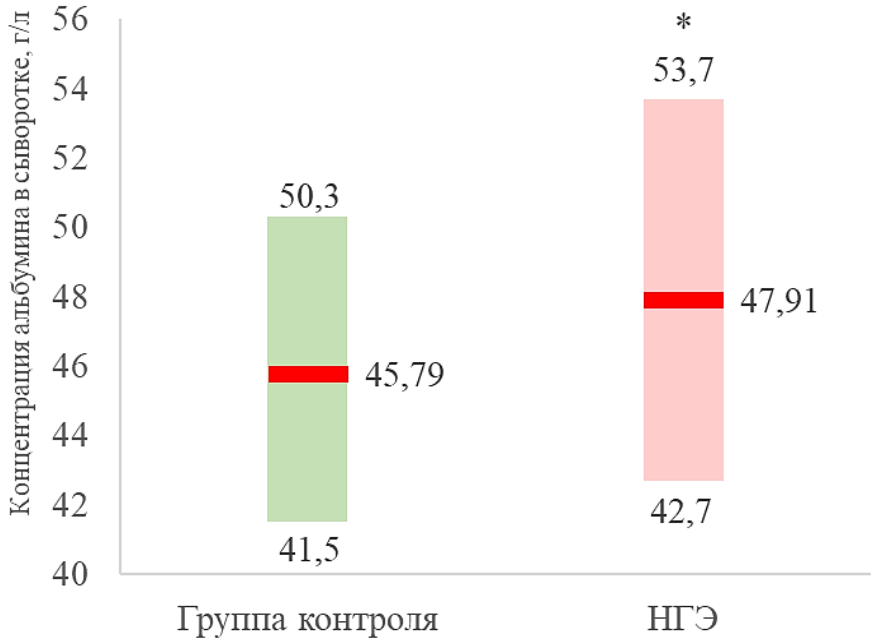


Рисунок 31 – Концентрация АЛБ сыворотки крови инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 ст. и группы контроля

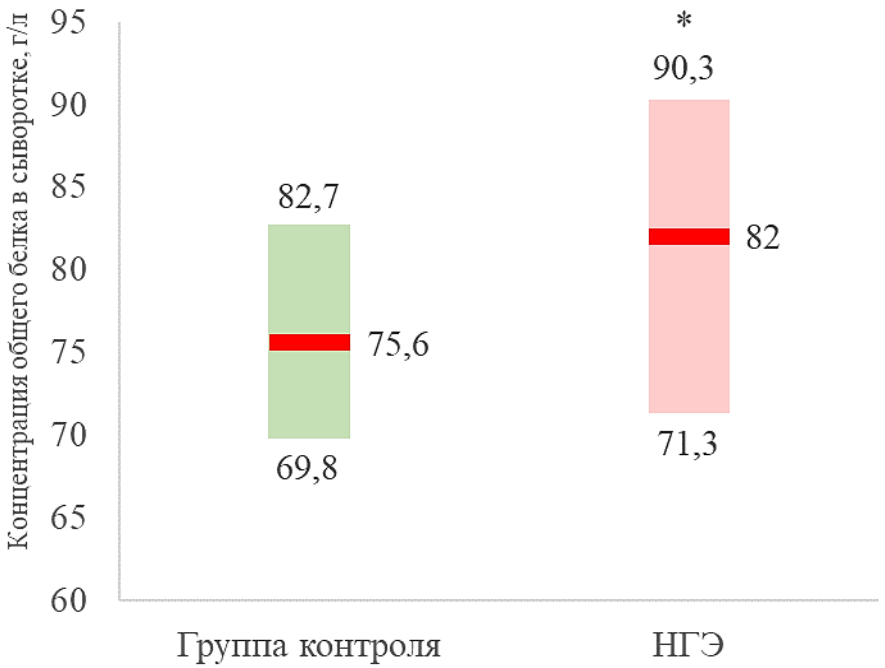


Рисунок 32 – Содержание ОБ в сыворотке крови инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 ст. и группы контроля

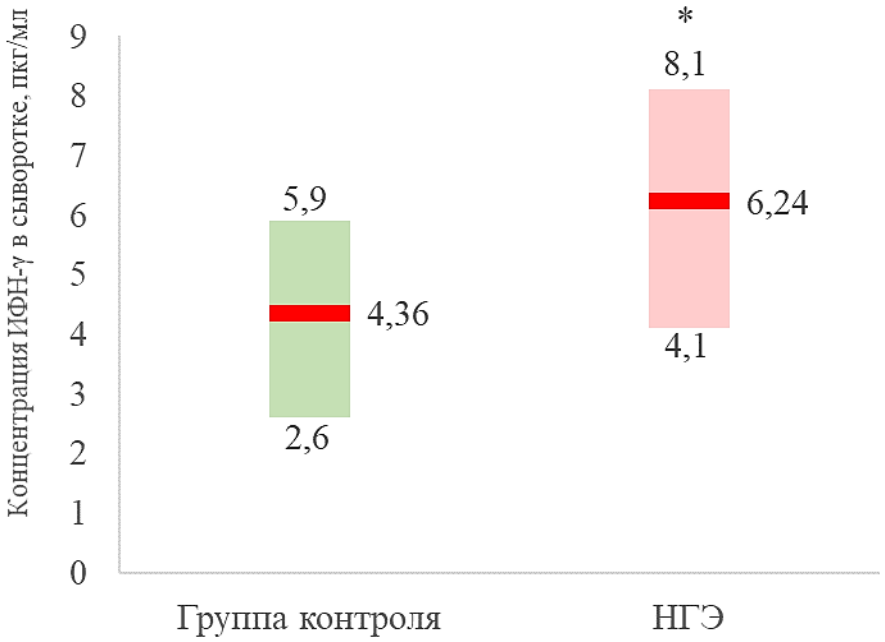


Рисунок 33 – Сывороточный уровень ИФН-γ у инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 ст. и группы контроля

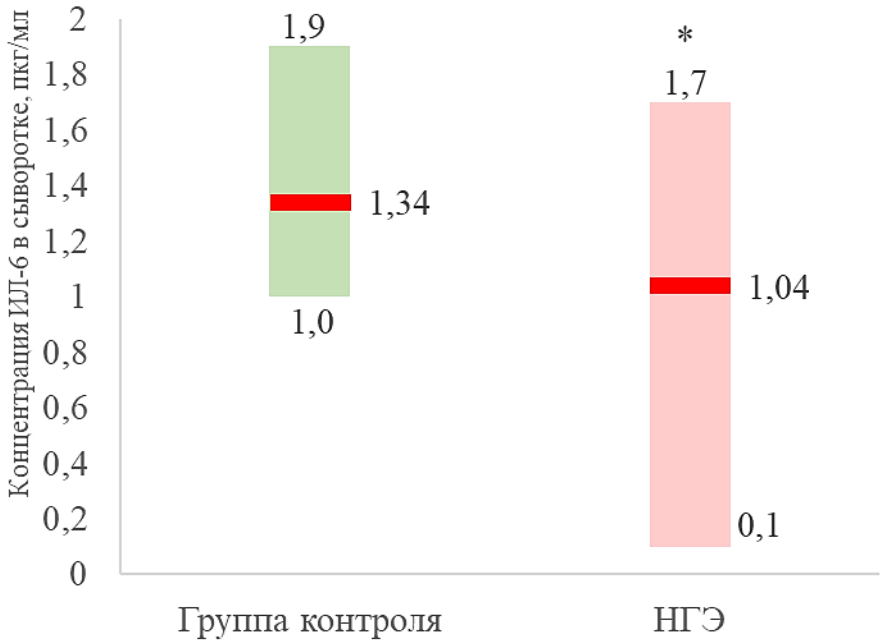


Рисунок 34 – Сывороточная концентрация ИЛ-6 у инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 ст. и группы контроля

Для выявления и оценки динамики изучаемых иммунологических показателей инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 ст. в процессе индукции суперовуляции в программе ЭКО нами проведено исследование их значений в сыворотке крови в день ТВП, полученные данные сравнивали с исходными данными внутри группы до начала программы, а также с аналогичными показателями пациенток группы контроля. Полученные данные представлены в таблице 32.

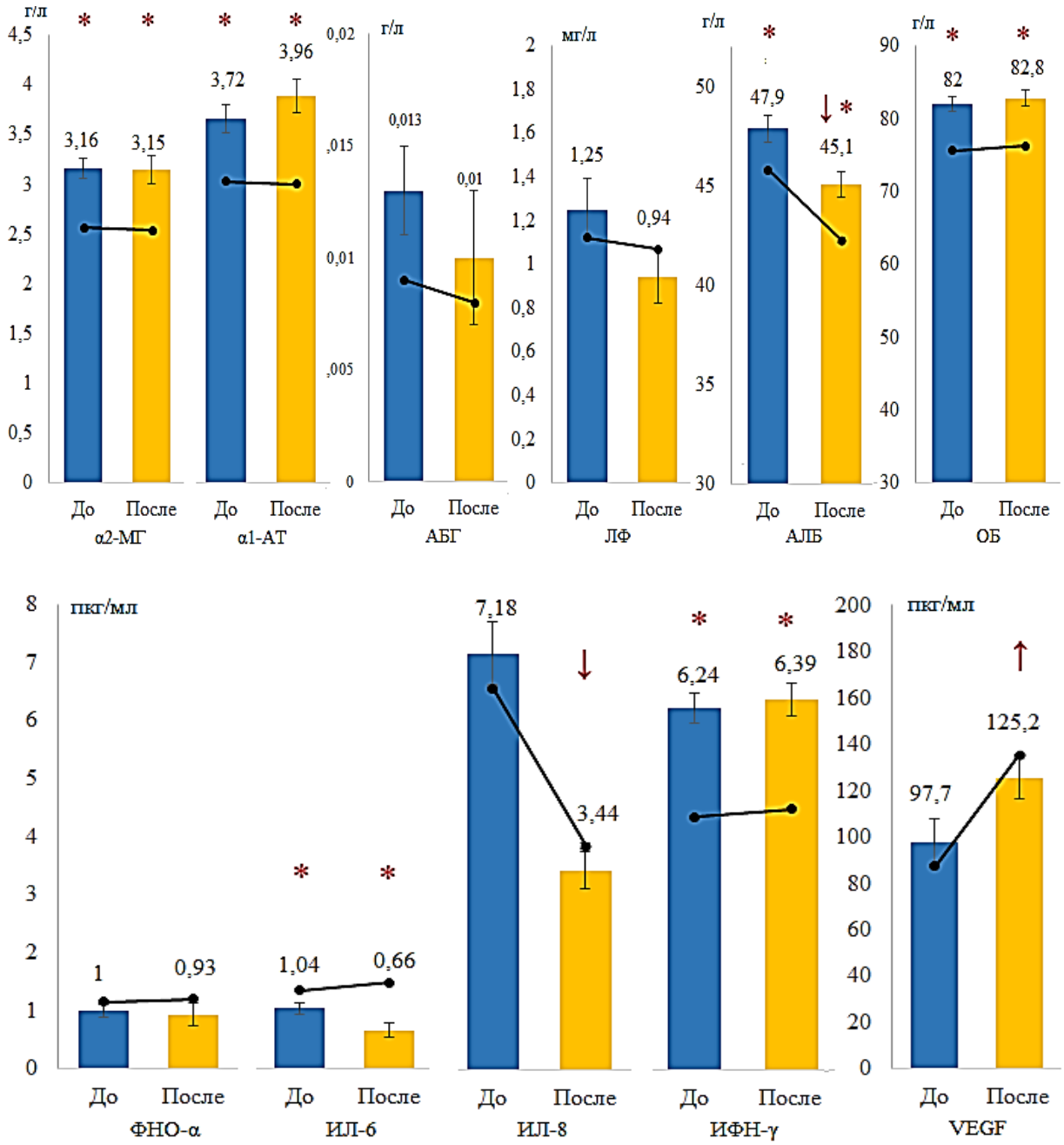
Анализируя динамику изучаемых иммунологических показателей в процессе индукции суперовуляции в сравниваемых группах можно констатировать, что тенденция ее аналогична группе контроля, а именно имеет место динамическое снижение сывороточных значений АЛБ, ИЛ-8 и повышение уровня VEGF. При этом, снижающийся в динамике исходно повышенный уровень АЛБ сыворотки крови инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 ст. в день ТВП, все равно достоверно превышает аналогичный показатель в группе контроля, равно как и концентрации α2-МГ, α1-АТ, ИФН-γ, АЛБ, ОБ, также остаётся пониженным уровень ИЛ-6. Полученные результаты отражены в рисунке 35.

Таблица 32 – Сывороточные значения иммунологических показателей инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 ст. и группы контроля до начала индукции суперовуляции в программе ЭКО и в день ТВП

Показатели		Контроль, n-37		W(p)	НГЭ (n=32)		W(p)	Между группами	
		до	после		до	после		$U(p)^{до}$	$U(p)^{после}$
α2-МГ г/л	M±m	2,57 ±0,09	2,54 ±0,12	0,01 (0,991)	3,16 ±0,11	3,15 ±0,14	0,04 (0,97)	***3,71 (<0,001)***	***2,93 (0,003)***
	Dz	2,07-3,04	1,8-3,34		2,21-4,31	2,14-4,56			
АБГ г/л	M±m	0,009 ±0,001	0,008 ±0,002	0,74 (0,46)	0,013 ±0,001	0,010 ±0,002	0,28 (0,782)	*1,7 (0,089)*	*1,8 (0,071)*
	Dz	0,001-0,016	0,001-0,016		0,001-0,0021	0,001-0,030			
α1-АТ г/л	M±m	3,08 ±0,13	3,05 ±0,09	0,82 (0,41)	3,72 ±0,14	3,96 ±0,17	0,07 (0,945)	***3,16 (0,002)***	***4,1 (<0,001)***
	Dz	2,5-3,70	2,30-3,60		2,7-4,9	2,4-5,3			
ЛФ мг/л	M±m	1,12 ±0,05	1,09 ±0,07	1,81 (0,067)	1,25 ±0,14	0,94 ±0,07	0,31 (0,753)	*0,93 (0,355)*	*1,51 (0,13)*
	Dz	0,76-1,44	0,68-1,56		0,3-2,1	0,57-1,49			
АЛБ г/л	M±m	45,79 ±0,55	42,85 ±0,46	**2,84 (0,004)**	47,91 ±0,66	45,06 ±0,64	**3,57 (<0,001)**	***2,18 (0,03)***	***1,98 (0,048)***
	Dz	41,5-50,3	40,2-45,5		42,7-53,7	40,94-50,88			
ОБ г/л	M±m	75,6 ±0,95	76,23 ±0,83	0,55 (0,585)	82,0 ±1,07	82,84 ±1,1	0,48 (0,632)	***4,05 (<0,001)***	***4,36 (<0,001)***
	Dz	69,8-82,7	72,8-81,9		71,3-90,3	71,6-91,4			
ФНО-α пкг/мл	M±m	1,15 ±0,06	1,46 ±0,23	0,4 (0,686)	1,0 ±0,11	0,93 ±0,19	0,91 (0,361)	*1,53 (0,125)*	*1,67 (0,095)*
	Dz	0,7-1,7	0,3-2,7		0,1-2,0	0,0-2,9			
ИЛ-6 пкг/мл	M±m	1,34 ±0,05	1,48 ±0,19	0,92 (0,357)	1,04 ±0,14	0,66 ±0,12	0,69 (0,493)	***2,6 (0,009)***	***2,64 (0,008)***
	Dz	1,0-1,9	0,3-2,6		0,1-1,7	0,2-1,40			
ИЛ-8 пкг/мл	M±m	6,38 ±0,36	3,87 ±0,6	**4,6 (<0,001)**	7,18 ±0,34	3,44 ±0,32	**3,29 (0,001)**	*1,81 (0,064)*	*0,05 (0,96)*
	Dz	3,5-9,5	1,1-6,7		4,1-9,9	1,51-6,15			
ИФН-γ пкг/мл	M±m	4,36 ±0,20	4,5 ±0,25	0,87 (0,387)	6,24 ±0,26	6,39 ±0,29	0,46 (0,648)	***4,92 (<0,001)***	***4,23 (<0,001)***
	Dz	2,6-5,9	3,2-5,9		4,1-8,1	4,34-8,73			
VEGF пкг/мл	M±m	87,48 ±8,05	135,33 ±12,64	**2,98 (0,003)**	97,73 ±9,92	125,16 ±7,01	**3,12 (0,002)**	*1,03 (0,302)*	*0,64 (0,522)*
	Dz	41,0-140,5	43,2-190,1		27,6-166,9	63,99-185,84			

Примечание: W(p) – статистическая значимость изменений значений показателей в процессе индукции суперовуляции, применялся критерий для связанных выборок Вилкоксона.

$U(p)^{до}$, $U(p)^{после}$ – статистическая значимость различий между группой контроля и группой НГЭ до и после стимуляции соответственно, применялся критерий Манна-Уитни



↑↓ – изменений значений показателей в процессе индукции суперовуляции статистически значимы на уровне $p \leq 0,05$

* – различия по сравнению с группой контроля статистически значимы на уровне $p \leq 0,05$

Рисунок 35 – Динамика содержания регуляторно-транспортных белков и цитокинов сыворотки крови инфертильных женщин с НГЭ 1-2 ст. и группы контроля до индукции суперовуляции и в день ТВП

Оценка результативности программ ЭКО проводилась по частоте наступления клинической беременности и в группе НГЭ 1-2 ст. составила 37,5% (12/32), а в группе контроля - 38% (14/37), что не имело статистически значимых отличий (χ^2=0,01, p=0,936).

Для выявления возможного влияния изучаемых иммунологических показателей, а также их динамики в процессе индукции суперовуляции на ЧНБ у пациенток с НГЭ 1-2 ст. проведен анализ полученных значений в зависимости от исхода программы ЭКО (наступление или отсутствие беременности после переноса эмбриона). Изучаемые иммунологические показатели сравнивали с аналогичными значениями группы контроля. Полученные данные представлены в таблице 33.

Таблица 33 – Содержание регуляторно-транспортных белков и цитокинов в сыворотке крови инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 ст. и группы контроля в зависимости от исхода программы ЭКО

Показатели	Группа	До стимуляции			день ТВП			Анализ динамики
		Б+ (Конт. n - 14; НГЭ n 12)	Б – (Конт. n - 23; НГЭ n 20)	U(p)	Б+ (Конт. n -14; НГЭ n 12)	Б – (Конт. n -23; НГЭ n 20)	U(p)	
α2-МГ г/л	Контроль n - 37	2,52 ±0,15	2,61 ±0,11	1,00 (0,32)	2,43 ±0,19	2,64 ±0,15	0,99 (0,323)	$W^{к(+)}$=0,314, p=0,754 $W^{к(-)=}$0,409, p=0,683
	НГЭ n - 32	3,14 ±0,16	3,18 ±0,16	0,27 (0,788)	3,23 ±0,27	3,1 ±0,16	0,29 (0,773)	$W^{гр(+)}$=0,314, p=0,754 $W^{гр(-)}$=0,189, p=0,850
	$U^{к/гр}$ (p)	**2,67 (0,008)**	**2,35 (0,019)**	-	**2,15 (0,032)**	**1,98 (0,048)**	-	-
АБГ г/л	Контроль	0,01 ±0,002	0,008 ±0,002	0,35 (0,73)	0,008 ±0,002	0,010 ±0,002	0,88 (0,382)	$W^{к(+)}$=0,401, p=0,688 $W^{к(-)}$=0,045, p=0,964
	НГЭ	0,012 ±0,001	0,011 ±0,002	0,29 (0,774)	0,010 ±0,004	0,013 ±0,002	1,21 (0,226)	$W^{гр(+)}$=0,184, p=0,854 $W^{гр(-)}$=1,204, p=0,229
	$U^{к/гр}$ (p)	1,05 (0,294)	1,75 (0,080)	-	0,05 (0,962)	1,55 (0,121)	-	-
α1-АТ г/л	Контроль	3,18 ±0,15	2,98 ±0,11	0,85 (0,395)	2,95 ±0,18	3,13 ±0,09	0,44 (0,659)	$W^{к(+)}$=1,125, p=0,26 $W^{к(-)}$=1,139, p=0,255
	НГЭ	3,77 ±0,17	3,85 ±0,18	0,33 (0,744)	4,02 ±0,29	3,92 ±0,2	0,3 (0,764)	$W^{гр(+)}$=0,664, p=0,507 $W^{гр(-)}$=0,414, p=0,679
	$U^{к/гр}$ (p)	**2,23 (0,026)**	**3,06 (0,002)**	-	**2,37 (0,018)**	**3,12 (0,002)**	-	-

Продолжение таблицы 33

ЛФ мг/л	Кон-троль	1,1 ±0,07	1,13 ±0,08	0,19 (0,846)	1,1 ±0,1	1,09 ±0,1	0,001 (1,000)	$W^{к(+)}$=0,118, p=0,906 Wк(-)=0,235, p=0,814
	НГЭ	1,08 ±0,23	1,25 ±0,17	1,23 (0,218)	1,05 ±0,12	0,97 ±0,08	1,24 (0,215)	$W^{гр(+)}$=0,280, p=0,779 $W^{гр(-)}$=1,875, p=0,065
	$U^{к/гр}$ (p)	0,49 (0,620)	1,39 (0,165)	-	0,25 (0,804)	1,5 (0,134)	-	-
Альбумин г/л	Кон-троль	45,98 ±0,62	45,83 ±0,77	0,54 (0,589)	43,57 ±0,45	42,23 ±0,76	1,31 (0,19)	**$W^{к(+)}$=2,072, p=0,038** **$W^{к(-)}$=2,767, p=0,006**
	НГЭ	48,69 ±0,99	48,11 ±0,78	0,4 (0,687)	43,24 ±0,69	46,18 ±0,85	**2,18 (0,029)**	**$W^{гр(+)}$=2,934, p=0,003** $W^{гр(-)}$=1,154, p=0,248
	$U^{к/гр}$ (p)	**1,99 (0,047)**	**1,99 (0,047)**	-	0,79 (0,427)	**2,78 (0,005)**	-	-
ОБ г/л	Кон-троль	74,61 ±2,57	75,1 ±1,37	0,29 (0,771)	77,06 ±0,89	75,51 ±1,34	0,58 (0,565)	$W^{к(+)}$=0,314, p=0,753 $W^{к(-)}$=0,369, p=0,712
	НГЭ	80,44 ±1,54	83,07 ±1,44	1,59 (0,111)	82,46 ±1,56	83,06 ±1,51	0,22 (0,829)	$W^{гр(+)}$=1,172, p=0,241 $W^{гр(-)}$=0,152, p=0,879
	$U^{к/гр}$ (p)	**2,09 (0,037)**	**3,28 (0,001)**	-	**2,88 (0,004)**	**3,22 (0,001)**	-	-
ФНО-α пкг/мл	Кон-троль	1,22 ±0,08	1,04 ±0,09	1,28 (0,2)	1,58 ±0,33	1,36 ±0,33	0,62 (0,533)	$W^{к(+)}$=1,10, p=0,271 $W^{к(-)}$=0,341, p=0,733
	НГЭ	1,26 ±0,17	0,91 ±0,14	1,56 (0,119)	1,01 ±0,4	0,88 ±0,19	0,29 (0,771)	$W^{гр(+)}$=0,764, p=0,445 $W^{гр(-)}$=0,028, p=0,977
	$U^{к/гр}$ (p)	0,68 (0,496)	1,68 (0,093)	-	0,72 (0,472)	1,27 (0,205)	-	-
ИЛ-6 пкг/мл	Кон-троль	1,35 ±0,1	1,39 ±0,08	0,21 (0,834)	1,22 ±0,22	1,84 ±0,3	1,67 (0,095)	$W^{к(+)}$=0,267, p=0,789 $W^{к(-)}$=1,084, p=0,278
	НГЭ	0,91 ±0,14	0,92 ±0,19	0,65 (0,517)	0,54 ±0,15	0,81 ±0,17	1,2 (0,229)	$W^{гр(+)}$=1,54, p=0,123 $W^{гр(-)}$=0,035, p=0,972
	$U^{к/гр}$ (p)	**2,08 (0,037)**	**2,79 (0,005)**	-	**2,14 (0,032)**	**2,22 (0,027)**	-	-
ИЛ-8 пкг/мл	Кон-троль	6,36 ±0,43	7,03 ±0,56	0,77 (0,442)	3,74 ±0,57	3,97 ±0,99	0,49 (0,625)	**$W^{к(+)}$=2,667, p=0,008** **$W^{к(-)}$=2,102, p=0,036**
	НГЭ	7,45 ±0,56	7,66 ±0,48	0,21 (0,833)	3,05 ±0,38	3,66 ±0,46	0,72 (0,47)	**$W^{гр(+)}$=2,803, p=0,005** **$W^{гр(-)}$=3,68, p=<0,001**
	$U^{к/гр}$ (p)	1,36 (0,174)	0,63 (0,529)	-	0,83 (0,409)	0,6 (0,551)	-	-
ИФН-γ пкг/мл	Кон-троль	5,07 ±0,46	4,14 ±0,25	1,46 (0,145)	4,63 ±0,35	4,4 ±0,35	0,46 (0,643)	$W^{к(+)}$=0,785, p=0,433 $W^{к(-)}$=0,057, p=0,955
	НГЭ	6,38 ±0,34	6,3 ±0,36	0,45 (0,656)	6,45 ±0,35	6,35 ±0,41	0,38 (0,701)	$W^{гр(+)}$=0,296, p=0,767 $W^{гр(-)}$=0,632, p=0,528
	$U^{к/гр}$ (p)	**2,21 (0,027)**	**3,84 (0,001)**	-	**2,94 (0,003)**	**3,19 (0,001)**	-	-
VEGF пкг/мл	Кон-троль	86,34 ±9,97	79,54 ±9,58	0,44 (0,662)	136,84 ±15,06	134,02 ±20,16	0,58 (0,561)	**$W^{к(+)}$=2,341, p=0,019** **$W^{к(-)}$=2,103, p=0,035**
	НГЭ	78,21 ±13,71	92,02 ±9,00	0,85 (0,394)	128,39 ±10,45	122,95 ±9,6	0,52 (0,604)	**$W^{гр(+)}$=2,201, p=0,028** **$W^{гр(-)}$=1,988, p=0,047**
	$U^{к/гр}$ (p)	0,13 (0,898)	1,09 (0,275)	-	0,78 (0,438)	0,02 (0,987)	-	-

Примечание: U(p) – статистическая значимость различий между подгруппами забеременевших и не- забеременевших женщин, применялся критерий Манна-Уитни

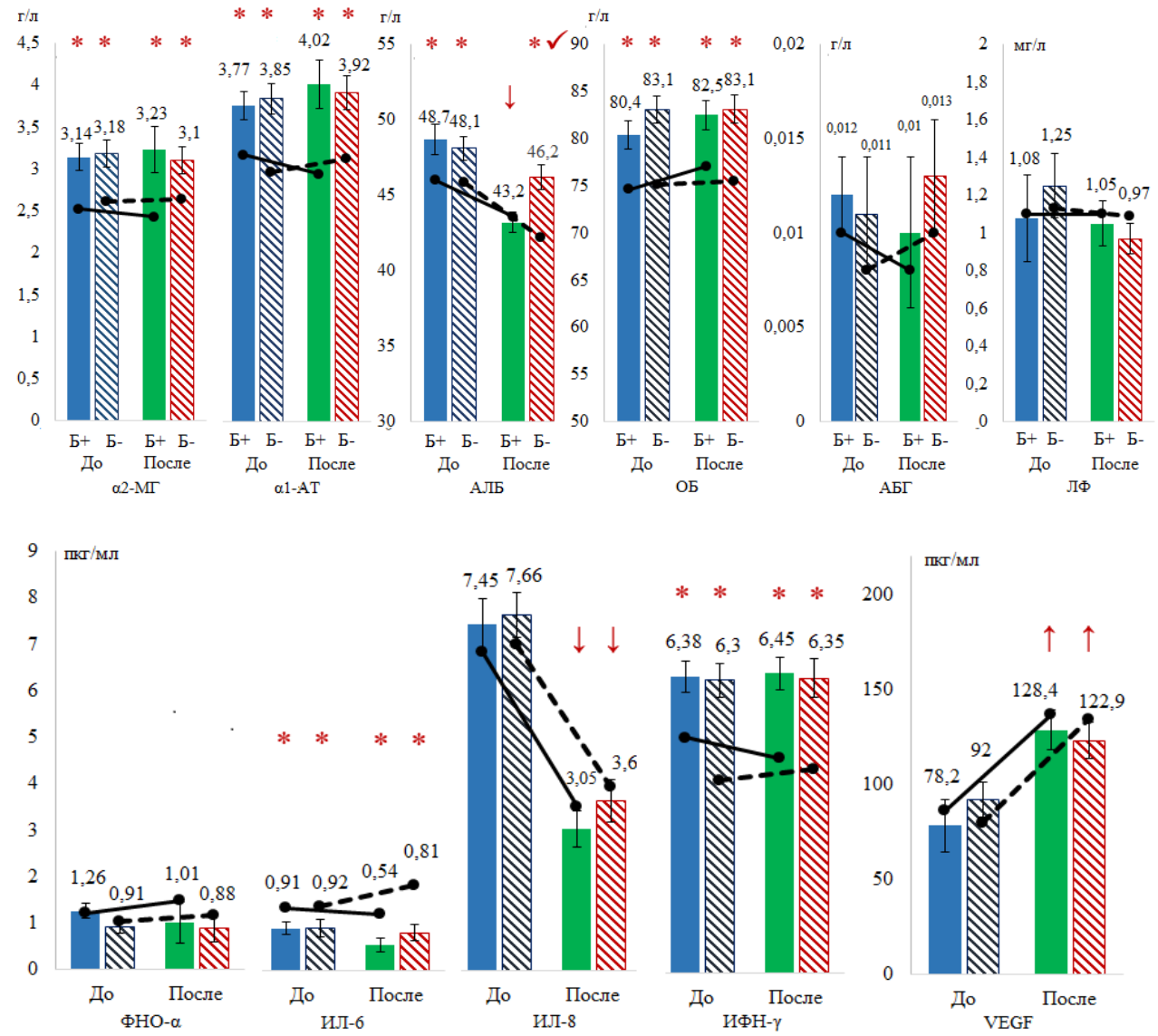
$U^{к/гр}(p)$ – статистическая значимость различий между группой НГЭ и группой контроля, применялся критерий Манна-Уитни

$W^{к(+)}$,$W^{к(-)}$ – статистическая значимость изменений значений показателей в процессе индукции суперовуляции в подгруппе пациенток группы контроля с положительным и отрицательным исходом программы ЭКО соответственно, применялся критерий для связанных выборок Вилкоксона.

$W^{гр(+)}$,$W^{гр(-)}$ – статистическая значимость изменений значений показателей в процессе индукции суперовуляции в подгруппе пациенток с НГЭ с положительным и отрицательным исходом программы ЭКО соответственно, применялся критерий для связанных выборок Вилкоксона.

Анализируя полученные данные можно утверждать, что в группе инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 ст. как до, так и после проведенной индукции суперовуляции, сохраняются повышенные относительно группы контроля значения α2-МГ, α1-АТ, ИФН-γ, ОБ , АЛБ и сниженный уровень ИЛ-6 без влияния на результативность программы ЭКО.

В процессе проводимой индукции суперовуляции в группе НГЭ 1-2 ст. отмечалась тенденция, характерная для контрольной группы в виде снижения сывороточных значений АЛБ, ИЛ-8 и повышения – VEGF. Здесь необходимо отметить, что концентрации ИЛ-8 и VEGF как до, так и после проведения индукции суперовуляции были сопоставимы с аналогичными показателями пациенток группы контроля и не оказывали влияния на факт наступления беременности. Тогда как динамика уровня АЛБ сыворотки крови, определяемого в повышенных концентрациях у пациенток с НГЭ 1-2 ст. до вступления в программу ЭКО, оказывала существенное влияние на результативность программ ЭКО. Нами отмечено, что прогностически благоприятным фактором в отношении наступления беременности после эмбриотрансфера у инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 ст. было динамическое снижение концентрации сывороточного АЛБ до значений, сопоставимых с группой контроля. И наоборот, сохранение повышенной концентрации АЛБ сыворотки крови в день ТВП ассоциировалось с отсутствием имплантации перенесенного в полость матки эмбриона (рисунок 36).



- значения показателей у забеременевших женщин до и после стимуляции соответственно;
- значения показателей у незабеременевших женщин до и после стимуляции соответственно;
- значения показателей забеременевших женщин группы контроля
- значения показателей незабеременевших женщин группы контроля

↑↓ – изменений значений показателей в процессе индукции суперовуляции статистически значимы на уровне $p \leq 0,05$

* – различия по сравнения с группой контроля статистически значимы на уровне $p \leq 0,05$

✓ – различия между забеременевшими и незабеременевшими женщинами статистически значимы на уровне $p \leq 0,05$

Рисунок 36 – Динамика содержания регуляторно-транспортных белков и цитокинов сыворотки крови инфертильных женщин с НГЭ 1-2 ст. и группы контроля до индукции суперовуляции и в день ТВП с учетом исхода программы ЭКО

Таким образом, проведенный анализ исследуемых иммунологических показателей продемонстрировал предикторную роль повышенных значений сывороточного АЛБ в день ТВП в отрицательном результате программы ЭКО у пациенток с НГЭ 1-2 ст.

Для расчета критических значений уровня АЛБ сыворотки крови у инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 ст. нами проведен анализ чувствительности с помощью логит-регрессии, который позволяет с вероятностью не менее 80% предположить отрицательный исход программы ЭКО у женщин данной группы при повышении концентрации АЛБ сыворотки крови выше 47,5 г/л в день ТВП (рисунок 37).

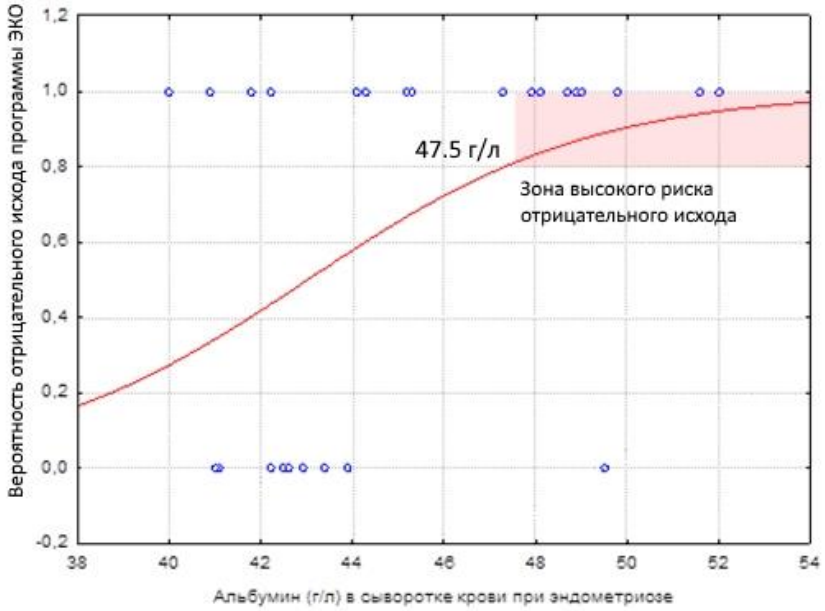


Рисунок 37 – Ассоциация уровня АЛБ в сыворотке женщин с НГЭ 1-2 ст. и исхода программы ЭКО

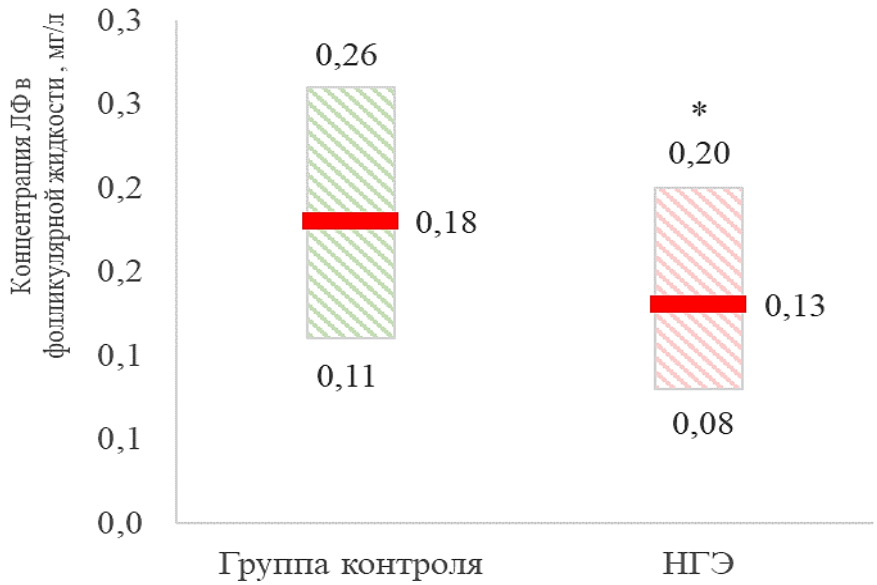
С целью оценки локального иммунологического статуса инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 ст. нами проведено исследование фолликулярной жидкости у данной категории женщин. Полученные значения сравнивались с аналогичными показателями пациенток группы контроля. Результаты проведенного исследования представлены в таблице 34.

Таблица 34 Содержание регуляторно-транспортных белков и цитокинов в составе ФЖ инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 ст. и группы контроля

Показатели в фол-ой жидкости	Группа контроля (n=37)		НГЭ (n=32)		Сравнение между группами U(p)
	среднее ± ошибка среднего	нормативный диапазон до программы	среднее ± ошибка среднего	диапазон изменения до программы	
α2-МГ г/л	0,15±0,01	0,07-0,27	0,15±0,01	0,06-0,28	0,14(0,893)
α1-АТ г/л	0,24±0,02	0,14-0,40	0,23±0,02	0,11-0,38	0,31(0,755)
ЛФ мг/л	**0,18±0,02**	**0,11-0,26**	**0,13±0,01**	**0,08-0,20**	**3,00(0,003)**
Альбумин г/л	41,92±0,5	39,1-44,85	42,57±0,58	39,11-47,71	0,44(0,659)
ОБ г/л	**61,78±0,57**	**58,44-65,74**	**66,57±0,84**	**60,2-74,1**	**4,01(<0,001)**
ФНО-α пкг/мл	1,56±0,26	0,10-2,36	1,03±0,2	0,0-2,51	1,70(0,089)
ИЛ-6 пкг/мл	13,26±1,41	4,86-22,62	14,85±2,01	4,78-28,13	0,22(0,828)
ИЛ-8 пкг/мл	**250,7±12,7**	**169,24-334,46**	**189,47±11,74**	**111,23-292,68**	**3,22(0,001)**
ИФН-γ пкг/мл	**4,92±0,35**	**3,00-7,38**	**6,27±0,12**	**4,33-8,25**	**3,53(<0,001)**

Примечание: U(p) – достоверность различий между группами

Проведенный нами анализ полученных данных продемонстрировал наличие достоверных отличий в составе фолликулярной жидкости инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 ст. от группы контроля в виде сниженных значений ИЛ-8 и ЛФ, а также повышенных концентраций ОБ и ИФН-γ (рисунок 38-41).



Примечание: *- здесь и ниже: статистическая значимость отличий между группами

Рисунок 38 – Содержание ЛФ в ФЖ инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 ст. и группы контроля

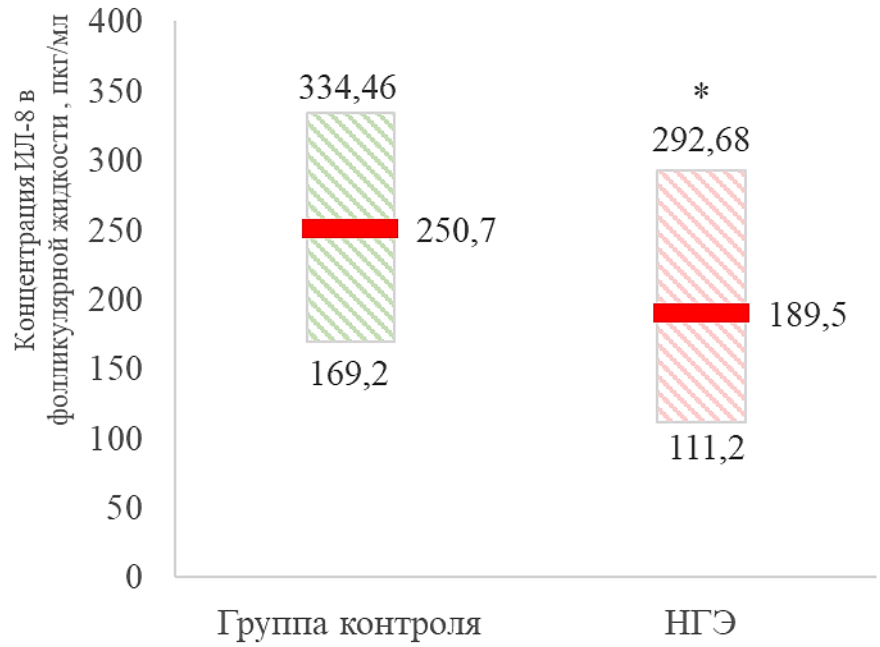


Рисунок 39 – Концентрация ИЛ-8 в ФЖ инфертильных женщин с НГЭ 1-2 ст. и группы контроля

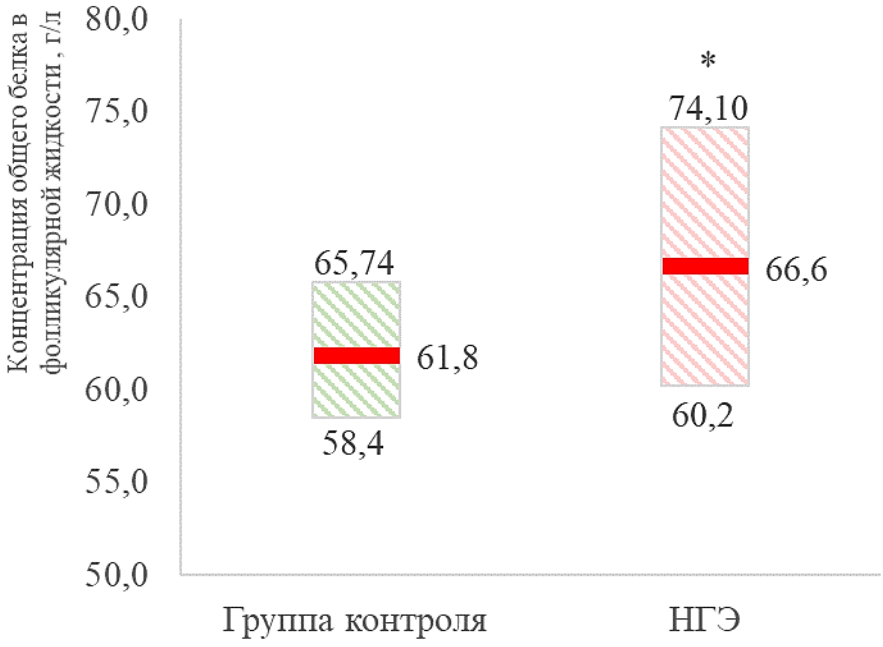


Рисунок 40 – Содержание ОБ в составе ФЖ инфертильных женщин с НГЭ 1-2 ст. и группы контроля

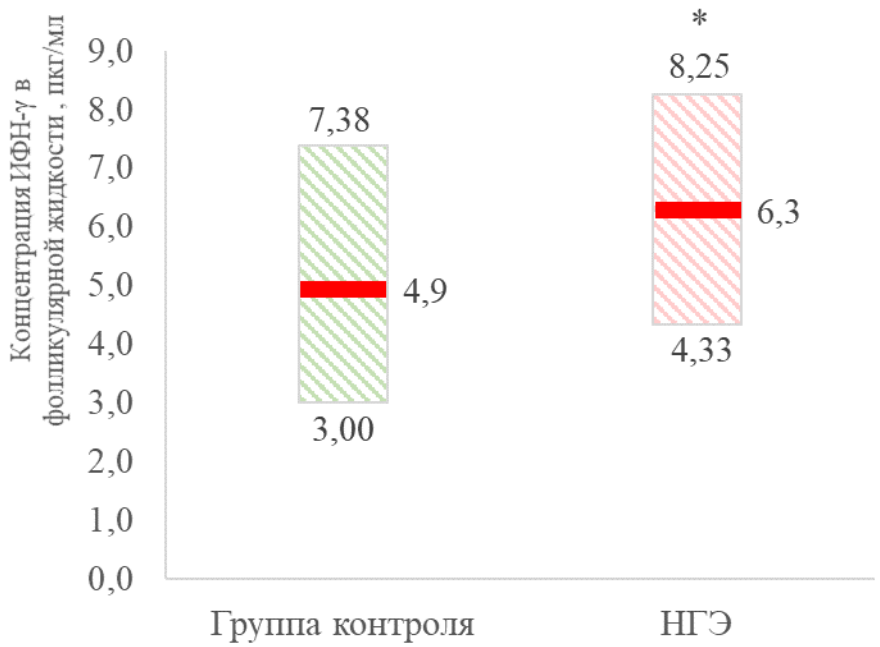


Рисунок 41 – Уровень ИФН-γ в ФЖ инфертильных женщин с НГЭ 1-2 ст. и группы контроля

Для оценки влияния уровня изучаемых регуляторно-транспортных белков и цитокинов в составе ФЖ инфертильных женщин с НГЭ 1-2 ст. на ЧНБ в программах ЭКО нами проведен анализ данных параметров в зависимости от исхода программ, полученные данные приведены в таблице 35.

Таблица 35 – Содержание регуляторно-транспортных белков и цитокинов в составе ФЖ инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 ст. и группы контроля в зависимости от результата программы ЭКО

Показатели в ФЖ		Б + (конт. n -14; НГЭ n – 12)	Б - (конт. n -23; НГЭ n - 20)	U(p)
α2-МГ г/л	Конт. n – 37	0,14±0,02	0,17±0,02	*1,52(0,128)*
	НГЭ	0,14±0,02	0,16±0,01	*1,40(0,162)*
	$U(p)^{к}$	*0,46(0,643)*	*0,16(0,874)*	
α1-АТ г/л	Конт.	0,23±0,03	0,26±0,03	*0,57(0,571)*
	НГЭ	0,24±0,03	0,23±0,02	*0,04(0,965)*
	$U(p)^{к}$	*0,12(0,908)*	*0,54(0,591)*	
ЛФ мг/л	Конт.	0,19±0,02	0,18±0,03	*0,93(0,351)*
	НГЭ	0,14±0,02	0,12±0,01	*0,6(0,548)*
	$U(p)^{к}$	***2,11(0,035)***	***2,08(0,038)***	

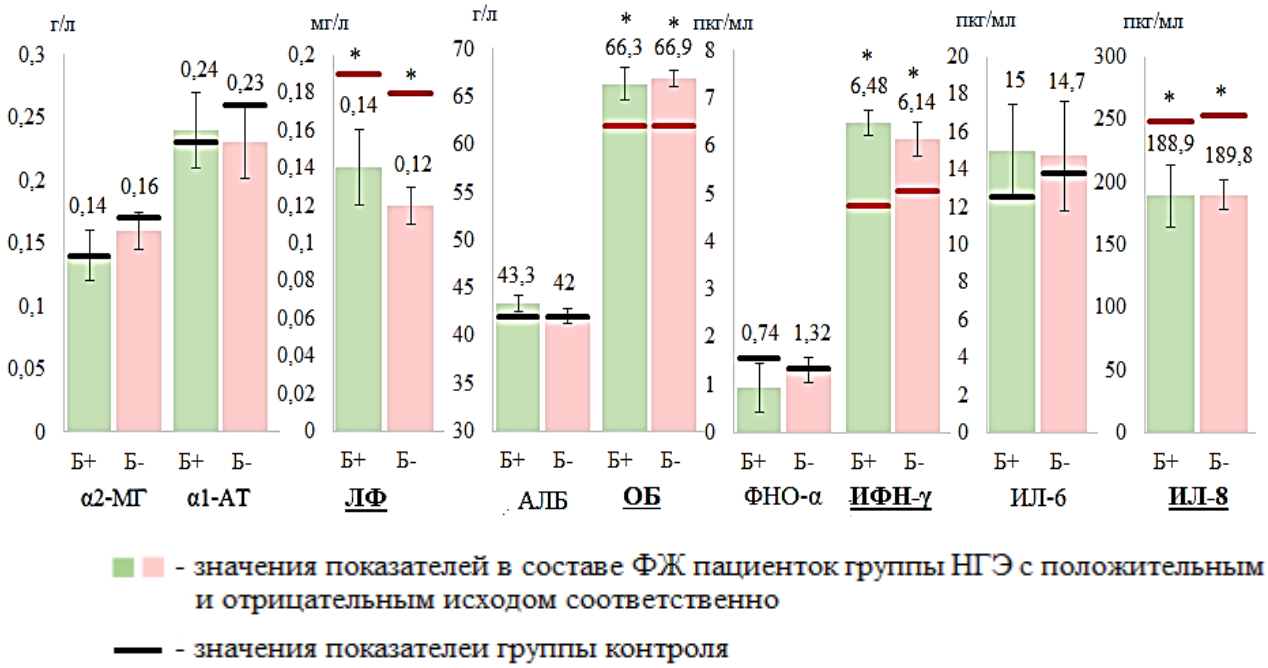
Продолжение таблицы 35

Альбумин г/л	Конт.	41,93±0,71	41,91±0,72	*0,31(0,758)*
	НГЭ	43,32±0,84	42,01±0,8	*1,28(0,202)*
	$U(p)^{к}$	0,98(0,326)	0,23(0,819)	
ОБ г/л	Конт.	61,91±1,06	61,69±0,64	*0,27(0,784)*
	НГЭ	66,36±1,7	66,69±0,92	*0,11(0,916)*
	$U(p)^{к}$	***2,04(0,047)***	***3,7(<0,001)***	
ФНО-α пкг/мл	Конт.	1,85±0,54	1,33±0,18	*0,22(0,826)*
	НГЭ	0,74±0,24	1,32±0,26	*1,75(0,081)*
	$U(p)^{к}$	*1,90(0,060)*	*0,64(0,525)*	
ИЛ-6 пкг/мл	Конт.	12,55±2,60	13,82±1,54	*0,99(0,324)*
	НГЭ	15,04±2,47	14,73±2,93	*0,82(0,414)*
	$U(p)^{к}$	*1,13(0,26)*	*0,75(0,454)*	
ИЛ-8 пкг/мл	Конт.	248,53±18,29	252,41±18,14	*0,16(0,87)*
	НГЭ	188,89±24,46	189,84±12,21	*0,34(0,732)*
	$U(p)^{к}$	***1,96(0,050)***	***2,54(0,011)***	
ИФН-γ пкг/мл	Конт.	4,76±0,59	5,05±0,44	*0,08(0,935)*
	НГЭ	6,48±0,26	6,14±0,36	*1,35(0,178)*
	$U(p)^{к}$	***2,89(0,004)***	***2,39(0,017)***	

Примечание: $U^{к}(p)$ – статистическая значимость различий между группой НГЭ и группой контроля, применялся критерий Манна-Уитни

U(p) – статистическая значимость различий между подгруппами забеременевших и незабеременевших женщин, применялся критерий Манна-Уитни

Анализируя полученные значения уровня иммуно-регуляторных белков и цитокинов в составе ФЖ инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 ст. и группы контроля можно заключить, что в группе НГЭ 1-2 ст. сохраняются выявленные ранее особенности в виде сниженных концентраций ИЛ-8 и ЛФ, а также повышенных значений ОБ и ИФН-γ. Достоверных отличий в содержании изучаемых иммунологических показателей между забеременевшими и незабеременевшими в программах ЭКО женщинами не выявлено (рисунок 42).



* – значимые различия по сравнению с группой контроля

Рисунок 42 – Содержание регуляторно-транспортных белков и цитокинов в ФЖ инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 ст. и группы контроля в зависимости от результата программы ЭКО

Таким образом, обобщая полученные в ходе настоящего исследования данные, можно утверждать, что иммунологический статус инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 ст. по изучаемым параметрам отличается от такового у здоровых женщин группы контроля. Иммунологическими особенностями женщин с НГЭ 1-2 ст., как до проведения индукции суперовуляции, так и в день ТВП, являются повышенные сывороточные значения α2-МГ, α1-АТ**,** ИФН-γ, АЛБ и ОБ, а также сниженные концентрации ИЛ-6.

В процессе проведения индукции суперовуляции в программах ЭКО у пациенток с НГЭ 1-2 ст. отмечаются изменения изучаемых иммунологических показателей, подобные группе контроля, выражающиеся в снижении уровня АЛБ, ИЛ-8 и повышении концентрации VEGF в день ТВП относительно содержания этих показателей в сыворотке крови до начала индукции суперовуляции. При этом, сывороточное содержание ИЛ-8 и VEGF как до, так и после проведенной индукции суперовуляции не отличалось от аналогичных показателей женщин

группы контроля. Что касается концентрации АЛБ сыворотки крови инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 ст., то при исходно повышенных его значениях до индукции суперовуляции в данной группе пациенток динамика данного показателя имеет предикторное значение в отношении вероятности наступления беременности в программе ЭКО: снижение его ко дню ТВП до цифр, характерных для пациенток группы контроля является прогностически благоприятным признаком и ассоциируется с наступлением клинической беременности. И наоборот, сохраняющиеся повышенные концентрации сывороточного АЛБ в день ТВП на уровне $\geq$47,5 г/л у пациенток с НГЭ 1-2 ст. ассоциированы с неудачей имплантации в $\geq$80% случаев.

Проведенное нами исследование продемонстрировало также, что кроме системных особенностей иммунного статуса инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 ст. имеются также и локальные в виде снижения концентрации ЛФ и ИЛ-8, а также повышения содержания ОБ и ИФН-γ в составе ФЖ в день ТВП. Влияния выявленных локальных изменений в составе ФЖ женщин с НГЭ 1-2 ст. на ЧНБ в программах ЭКО не установлено.

Глава 7.

СОСТАВЛЕНИЕ ПРОГНОСТИЧЕСКОГО АЛГОРИТМА РИСКА ОТРИЦАТЕЛЬНОГО ИСХОДА ПРОГРАММЫ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ У ИНФЕРТИЛЬНЫХ ПАЦИЕНТОК ПРИ БЕСПЛОДИИ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КЛИНИЧЕСКИХ, ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПРЕДИКТОРОВ

7.1. Анализ клинических факторов риска с целью отбора возможных предикторов исхода программы ЭКО

С целью оценки влияния клинических факторов на исходы программ ЭКО в регионе нами был проведен ретроспективный анализ 3.969 циклов ЭКО, проведенных в Клинике «Медика» г. Новокузнецк с 2010 – 2015 гг. В результате чего выявлены следующие клинические факторы, снижающие эффективность данных программ:

1. Возраст женщины старше 30 лет. По сравнению с женщинами возрастной категории до 30 лет включительно частота отрицательного исхода ЭКО в возрасте 31-34 года выше в 1,14 раз, в возрасте 35-39 лет – в 1,14 раз, в возрасте 40 лет и старше – в 1,32 раза.

2. Повторная попытка ЭКО (вторая и более) при предыдущих неудачах имплантации в возрасте до 30 лет включительно снижает ее эффективность в 1,23 раза.

3. Базовая программа ЭКО (в 1,47 раз) и программа ИКСИ (в 1,65 раз), по сравнению с процедурой ЭКО с применением донорских ооцитов, для женщин 35 лет и старше.

4. Трубное бесплодие, ассоциированное с хроническим эндометритом (без миомы) – эффективность программы ЭКО в 1,11 раз ниже.

5. Наличие миомы матки при трубном бесплодии, ассоциированным с хроническим эндометритом. Эффективность ЭКО в 1,14 раз ниже по сравнению с отсутствием миомы при указанной причине бесплодия, в 1,18 раз ниже по сравнению с суммарным риском для остальных причин бесплодия и их сочетаний.

6. Наличие миомы матки при трубном бесплодии в сочетании с аденомиозом. Эффективность ЭКО в 1,16 раз ниже, по сравнению с отсутствием миомы при данной причине бесплодия, в 1,21 раз ниже по сравнению с суммарным риском для остальных причин бесплодия и их сочетаний.

В целом полученные результаты согласуются с данными литературы. В большинстве исследований поздний репродуктивный возраст (старше 35 лет) и повторяющиеся неудачи имплантации определены как факторы риска неудачи ЭКО. Также ряд исследователей отмечают негативное влияние хронического эндометрита на результативность программы, но количественной оценки влияния этих факторов с коррекцией на возраст и количество попыток ранее представлено не было. Относительно влияния миомы на исходы программ ЭКО ситуация не столь однозначна. В некоторых исследованиях негативное влияние миомы на результативность ЭКО подтверждается, в других же работах опровергается. Но стоит отметить, что в опубликованных научных трудах нам не встретилось данных о влиянии миомы матки на исходы программ ЭКО в зависимости от причин бесплодия, а также их сочетания. Проведенное исследование показало, что наличие миомы матки снижает эффективность программ ЭКО только при трубном бесплодии, ассоциированным с хроническим эндометритом или с аденомиозом.

7.2. Построение математической модели риска неудачного завершения программы экстракорпорального оплодотворения при переносе в полость матки «нативного» эмбриона на основе клинических и иммунологических предикторов

Одной из задач настоящего исследования являлась разработка патогенетически обоснованного комплексного алгоритма прогноза отрицательного исхода программ ЭКО при селективном переносе в полость матки «нативного» эмбрио-

на с учетом клинико-иммунологического статуса женщины, с целью определения дополнительных показаний для сегментации цикла с отсроченным криоэмбриотрансфером после нивелирования иммунологического дисбаланса, вызванного индукцией суперовуляции в программе ЭКО. Прогнозируемая величина – отсутствие беременности после проведения процедуры, кодируется – 1, наступление беременности – 0.

Всего выборка включала в себя 211 женщин, которым была проведена процедура ЭКО с переносом «свежего» эмбриона, в 45,5% (96/211) случаев беременность наступила, в 54,5% (115/211) случаев программа закончилась неудачей (беременность не наступила).

Входные переменные представлены как качественными, так и количественными признаками. Все качественные переменные были преобразованы в бинарные dummi-переменные, где для каждой категории исходного показателя создаётся своя переменная, в которой 1 указывает на наличие у пациента данного признака, 0 – отсутствие. Всего в итоге было получено 72 входных переменных.

Для построения прогнозирующей модели вся выборка была разделена на обучающую и тестовую, в целях исключения переобучения модели. На обучающей выборке определялись параметры и коэффициенты модели, а на тестовой – проверка качества. Как правило, соотношение обучающей и тестовой выборки составляет 8:2, разделение на выборки проводилосьметодом рандомизации. Таким образом, в обучающую выборку попало 170 наблюдений, а в тестовую – 41. Распределение прогнозируемой переменной в обучающей и тестовой выборках приведено в таблице 36.

Таблица 36 – Распределение прогнозируемой переменной в обучающей и тестовой выборках

Выборка	Прогнозируемая переменная				Всего
	1 – отрицательный результат		0 – беременностьнаступила		
	абс.	%	абс.	%	
обучающая	94	55,3	76	44,7	170
тестовая	21	51,2	20	48,8	41
всего	115	54,5	96	45,5	211

Распределение прогнозируемой переменной в обучающей и тестовой выборках статистически значимо не отличались χ^2=0,221, p=0,638.

Следующим шагом был отбор переменных для включения в модель. Число переменных зависит от объема выборки и соотношения «плохих» (отрицательных исход) и «хороших» (положительных исход) случаев и определяется по формуле:

$$k = \frac{N * p}{10} + 1 \qquad (2)$$

где k – максимальное число входных переменных, включенных в модель,

N – объем выборки,

p – минимальное из значений, характеризующих долю «плохих» и «хороших» случаев.

В нашем случае объем выборки составил 211 случаев, процент программ, закончившихся беременностью, составил 45,5%, на долю программ с отрицательным результатом приходилось 54,5%. Исходя из формулы, максимальное число входных переменных, включенных в модель, равно 11.

На основе выявленных ранее факторов риска, оказывающих статистически значимое влияние на вероятность отрицательного исхода программы, была построена прогнозирующая модель. В качестве метода моделирования выбрана логистическая регрессия с регуляризацией (метод LASSO). Выбор метода объясняется необходимостью снижения размерности используемого признакового пространства, расчета оценки вклада каждого фактора в прогнозируемый эффект и дихотомической шкалой измерения выходной величины. Оценка параметров модели провоодилась на обучающем множестве. Результаты моделирования представлены оценками коэффициеентов (b), статистической значимостью входных переменных (p), оцененной с помощью теста Вальда (W), отношением шансов (RR) и его 95% доверительным интервалом. Результаты моделирования представлены в таблице 37.

Таблица 37 – Параметры модели прогноза отрицательного результата ЭКО

Факторы	B	W	p	OR
Возраст женщины 31-35 лет	0,34	4,20	0,040	1,4[1,0-1,9]
Повторная попытка ЭКО	0,24	5,40	0,020	1,3[1,1-1,5]
Потери беременности в анамнезе	0,31	4,58	0,032	1,4[1,0-1,8]
Миома	0,49	5,85	0,016	1,6[1,2-2,2]
Концентрация сывороточного альбумина в день ТВП ниже (либо равно) 47,5 г/л при причине бесплодия НГЭ	0,91	7,41	0,006	2,5[1,3-4,8]
Концентрация сывороточного ФНО-α в день TVP выше (либо равно) 3,0 пкг/мл ТПБ	0,99	6,91	0,009	2,7[1,4-5,2]
Концентрация общего белка в фолликулярной жидкости ниже (либо равно) 57 г/л при ТПБ	1,08	9,66	0,002	2,9[1,5-5,8]
Концентрация альбумина в фолликулярной жидкости ниже (либо равно) 38 г/л при СПЯ	0,86	6,68	0,010	2,4[1,2-4,6]
Концентрация ИЛ-8 в фолликулярной жидкости ниже (либо равно) 130 пкг/мл при СПЯ	0,67	3,85	0,050	2,0[1,0-3,8]
Константа	-1,31	19,95	<0,001	-

Общая оценка согласия модели и реальных данных оценивалась с использованием теста Хосмера-Лемешова χ^2_{HL}=5,2, p=0,736. Результаты теста свидетельствовали о том, что модель и реальные данные статистически значимо не различаются. В качестве критерия, определяющего возможность классификации с помощью построенной модели, использовался критерий Колмогорова-Смирнова для двух выборок. Полученные значения (D=0,62, p<0,001) продемонстрировали, что кумулятивные распределения вероятностей для «хороших» и «плохих» случаев различаются статистически значимо, то есть модель обладает классифицирующей способностью.

Итоговое уравнение модели прогноза отрицательного исхода программы выглядит следующим образом:

$$p = 1/(1 + \exp(-(-1{,}31 + 0{,}34 * x_1 + 0{,}24 * x_2 + 0{,}31 * x_3 + 0{,}49 * x_4 + 0{,}9 * x_5 * x_6 + 0{,}99 * x_7 * x_8 + 1{,}08 * x_8 * x_9 + 0{,}86 * x_{10} * x_{11} + 0{,}67 * x_{11} * x_{12}))) * 100$$

где p – Вероятность отрицательного исхода программы;

x_1 – Возраст женщины 31-35 лет (x_1=1, если возраст 31-35 лет; x_1=0 возраст ≤ 30 лет);

x_2 – Повторная попытка ЭКО (x_2=1 если процедура ЭКО проводится не в первый раз (при предыдущих неудачах имплантции); x_2=0, если ЭКО проводится в первый раз);

x_3 – Потери беременности в анамнезе (x_3=1, если у женщин были в анамнезе один или несколько абортов, выкидышей или внематочных беременностей; x_3=0, если не было ничего из перечисленного);

x_4– Наличие миомы (x_4=1, если у женщины есть миома; x_4=0 нет миомы);

x_5– Концентрация сывороточного альбумина в день ТВП ниже 47,5 г/л (x_5=1, если концентрация ниже, либо равна 47,5 г/л; x_5=0 выше 47,5 г/л);

x_6– Диагноз «НГЭ» (x_6=1, если причина бесплодия НГЭ; x_6=0 нет НГЭ 1-2 ст.);

x_7– Концентрация сывороточного ФНО-α в день ТВП выше 3,0 пкг/мл (x_7=1, если концентрация выше, либо равна 3,0 пкг/мл; x_7=0 ниже 3 пкг/мл);

x_8– Причина бесплодия ТПБ (x_8=1, если причина бесплодия ТПБ; x_8=0 нет ТПБ);

x_9– Концентрация общего белка в фолликулярной жидкости ниже 57 г/л (x_9=1, если концентрация ниже, либо равна 57,0 г/л; x_9=0 выше 57 г/л);

x_{10}– Концентрация альбумина в фолликулярной жидкости ниже 38 г/л (x_{10}=1, если концентрация ниже, либо равна 38,0 г/л; x_{10}=0 выше 38 г/л);

x_{11}– Причина бесплодия СПЯ (x_{11}=1, если причина бесплодия СПЯ; x_{11}=0 нет СПЯ);

x_{12}– Концентрация ИЛ-8 в фолликулярной жидкости ниже 130 пкг/мл (x_{12}=1, если концентрация ниже, либо равна 130 пкг/мл; x_{12}=0 выше 130 пкг/мл.

Качество модели оценивалось с помощью ROC-кривой, оценка проводилась на обучающем и тестовом множестве (рисунок 43).

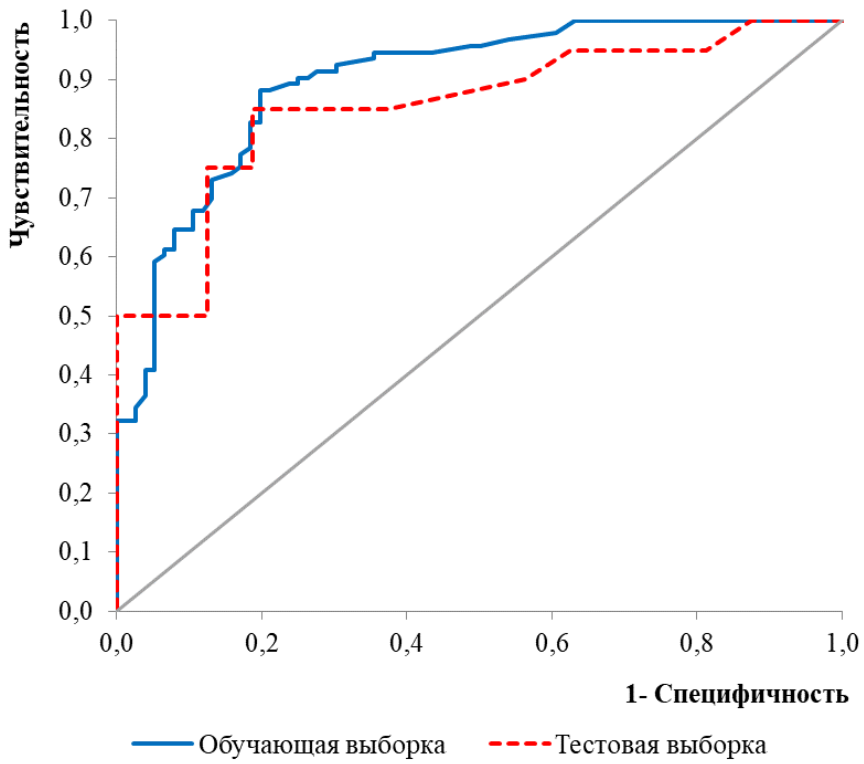


Рисунок 43 – ROC-кривые для обучающего и тестового множества модели прогноза отрицательного результата программы ЭКО

Показатель AUC (площадь под ROC-кривыми) на обучающем множестве равен 0,89, на тестовом – 0,86. В таблице 38 приведена лингвистическая оценка качества модели в зависимости от величины AUC.

Таблица 38 – Лингвистическая оценка качества модели в зависимости от величины AUC

Интервал AUC	Качество модели
0,9-1,0	Отличное
0,8-0,9	Очень хорошее
0,7-0,8	Хорошее
0,6-0,7	Среднее
0,5-0,6	Неудовлетворительное

В соответствии с этой таблицей качество построенной модели было оценено как очень хорошее на обучающем и на тестовом множествах.

Для каждой конкретной женщины определятся наличие приведенных в таблице факторов риска, затем, по формуле 1, рассчитывается вероятность отрицательного исхода программы ЭКО. Если полученное значение выше определенного порога – прогноз отрицательный (высокая вероятность ненаступления беременности), если ниже – прогноз положительный. Определение порогового значения осуществлялось с помощью показателя J-Юдена, основанного на специфичности и чувствительности модели. Оптимальной пороговой точкой является то значение, в котором J-статистика Юдена принимает максимальное значение – в нашем случае это точка 50%, где J=0,663 (рисунок 44).

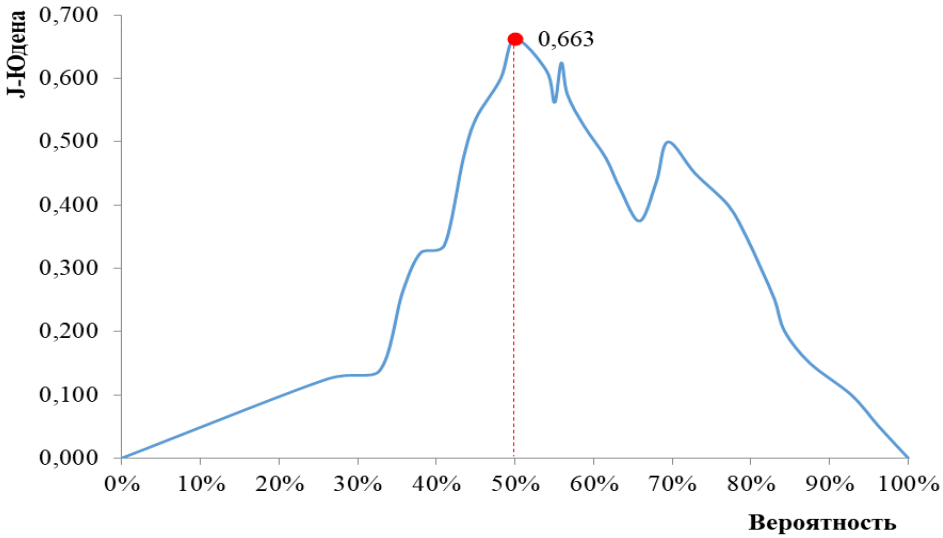


Рисунок 44 – J-статистика Юдена для модели прогноза отрицательного результата программы ЭКО

Построенная модель апробирована на тестовой выборке. Для каждой женщины, включенной в тестовую выборку, по формуле 1 была рассчитана вероятность отрицательного исхода программы. Если полученное значение было выше 50%, то прогноз считался отрицательным (беременность не наступит), если ниже (либо равным), то прогноз был положительным – программа закончится беременностью. Сравнение результатов, полученных с помощью прогнозирующей модели, и реальных данных представлено в таблице 39.

Таблица 39 – Реальные значения и полученный с помощью модели прогноза отрицательного исхода программы на тестовой выборке

Прогнозные значения	Реальные данные		
	беременность не наступила	беременность наступила	Всего
Беременность не наступит (отрицательный прогноз)	17	3	20
Беременность наступит (положительный прогноз)	3	18	21
Всего	20	21	41

Точность модели (общая доля верно выявленных случаев) составляет 85[76-94]% (41/35). Чувствительность модели – способность модели предсказывать отрицательный результат программы (характеризуется долей женщин, с отрицательным прогнозом программы, среди всех женщин у которых беременность действительно не наступила) составляет 85 [72-97]% (17/20). Специфичность модели – способность предсказывать положительный исход программы (характеризуется долей женщин с положительным прогнозом, среди всех женщин, у которых беременность действительно наступила) составляет 86 [74-97]% (18/21). Прогностическая ценность отрицательного результата прогноза – вероятность того, что беременность не наступит, если модель предсказала отрицательный результат (доля женщин, у которых беременность не наступила, среди всех женщин с отрицательным прогнозом) составила 85[72-97]% (17/20). Прогностическая ценность положительного результата прогноза – вероятность того, что беременность наступит, если модель предскажет положительный результат (доля женщин, у которых беременность наступила, среди всех женщин с положительным прогнозом) составила 86 [74-97]% (18/21).

7.3. Адаптация разработанной математической модели к практическому применению: разработка скрининговой шкалы, прогностического алгоритма и программного обеспечения

На основе коэффициентов построенной модели риска отрицательного исхода ЭКО была разработана скрининговая шкала, баллы, соответствующие каждому фактору риска, представлены в таблице 40.

Таблица 40 – Баллы, соответствующие факторам риска в прогнозной шкале отрицательного результата программы ЭКО

Факторы	Балл
Возраст женщины 31-35 лет	3
Повторная попытка ЭКО	2
Потери беременности в анамнезе	3
Миома	5
Концентрация сывороточного альбумина в день ТВП выше (либо равно) 47,5 г/л при причине бесплодия НГЭ 1-2 ст.	9
Концентрация сывороточного ФНО-α в день ТВП выше (либо равно) 3,0 пкг/мл при ТПБ	10
Концентрация общего белка в фолликулярной жидкости ниже (либо равно) 57 г/л при ТПБ	10
Концентрация альбумина в фолликулярной жидкости ниже (либо равно) 38 г/л при СПЯ	9
Концентрация ИЛ-8 в фолликулярной жидкости ниже (либо равно) 130 пкг/мл при СПЯ	7

Пороговая сумма баллов определялась с помощью индекса J. Юдена – рисунок 45.

Оптимальной пороговой точкой является сумма баллов, соответствующая 13 (J=0,651). Таким образом, если сумма баллов по всем факторам риска превышает (либо равна) 13, то у женщины высокая вероятность отрицательного исхода программы в «свежем» цикле.

На основе построенной шкалы был разработан следующий прогностический алгоритм отрицательного исхода программы (рисунок 46).

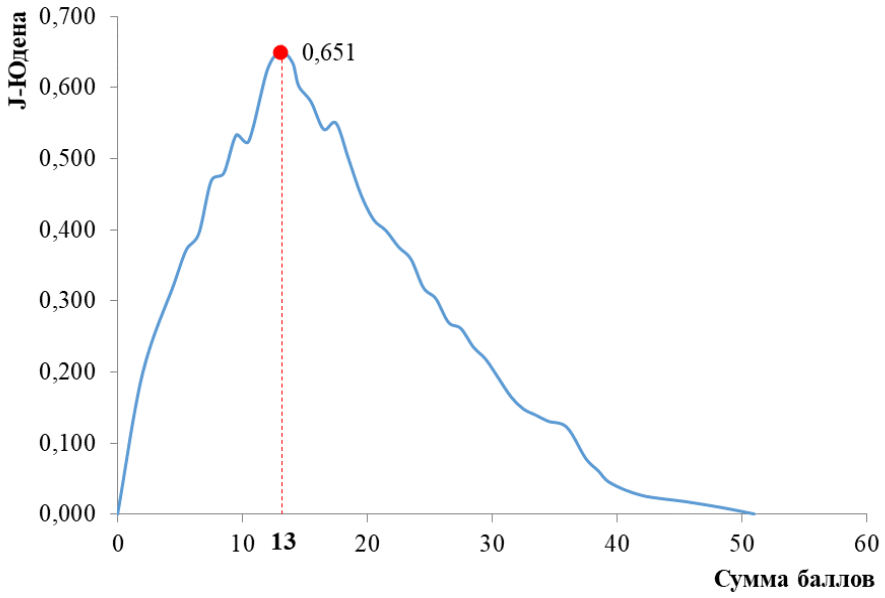


Рисунок 45 – J-статистика Юдена для прогностической шкалы отрицательного результата программы ЭКО

У пациентки определяется наличие факторов риска, каждому фактору соответствует свой балл:

- возраст женщины 31-35 лет – 3 балла;
- повторная попытка ЭКО – 2 балла;
- потери беременности в анамнезе – 3 балла;
- миома – 5 баллов.

– При причине бесплодия НГЭ определяется наличие следующих факторов риска:

- альбумин в сыворотке крови более 47,5 г/л – 9 баллов.

– При ТПБ определяется наличие следующих факторов риска:

- ФНО-α в сыворотке крови более 3 пкг/мл – 10 баллов;
- общий белок в фолликулярной жидкости менее 57 г/л – 10 баллов.

– При причине бесплодии СПЯ определяется наличие следующих факторов риска:

- альбумин в фолликулярной жидкости менее 38 г/л– 10 баллов;
- ИЛ-8 в фолликулярной жидкости менее 130 пкг/мл – 10 баллов.

Все баллы суммируются между собой, если итоговая сумма баллов выше 13, то прогнозируется высокий риск отрицательного исхода программы ЭКО. Рекомендуется отсроченный эмбриотрансфер в условиях более благоприятного иммунологического фона.

Наглядно разработанный алгоритм представлен на рисунке 46.

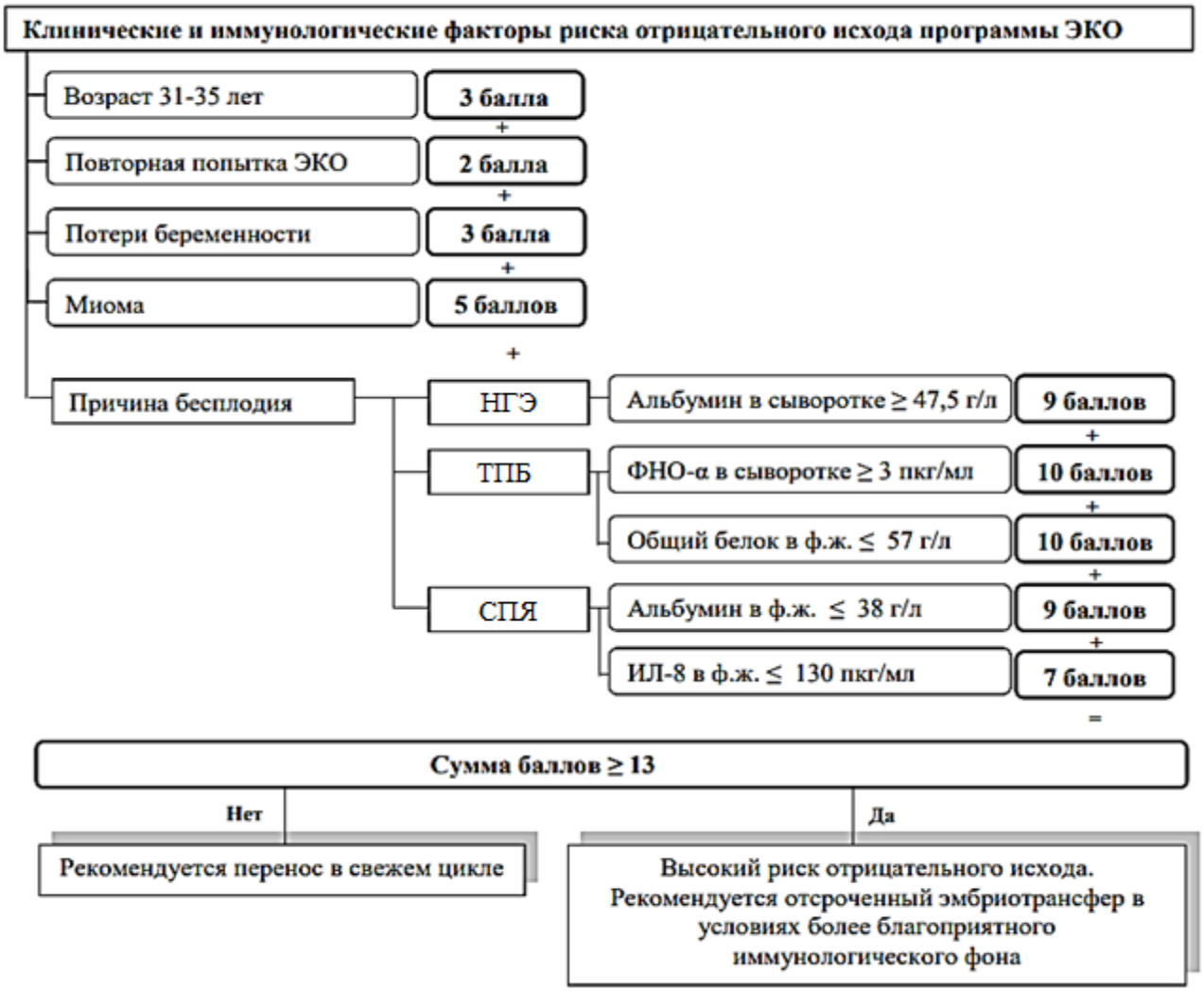


Рисунок 46 – Алгоритм прогноза отрицательного результата программы ЭКО

Для автоматизации всех расчетов было разработано программное обеспечение, язык программирования – JavaScript. Разработанное программное обеспечение представляет собой экранную форму, куда вводится информация о клинико-иммунологическом статусе женщины, причем набор иммунологических показателей, необходимых для расчета, формируется исходя из диагноза и клинических

факторов риска женщины. На основе введенных данных рассчитывается риск отрицательного исхода программы ЭКО при селективном переносе в полость матки свежего эмбриона. Если полученный риск выше 50%, это говорит о высокой вероятности отрицательного исхода, риск менее 50% считается приемлемым.

Пример 1: пациентка А., причина бесплодия: синдром поликистозных яичников, возраст 32 года, первая попытка ЭКО, 2 года назад был выкидыш. Список иммунологических показателей, необходимых для уточнения степени риска отрицательного исхода программы для данного диагноза (СПЯ) включает альбумин и ИЛ-8 в фолликулярной жидкости. Концентрация указанных показателей у пациентки: альбумин – 37,1 г/л, ИЛ-8 – 184 пкг/мл. Риск отрицательного исхода программы ЭКО, рассчитанный по клиническим и иммунологическим предикторам составляет 55% (высокий) – рисунок 47.

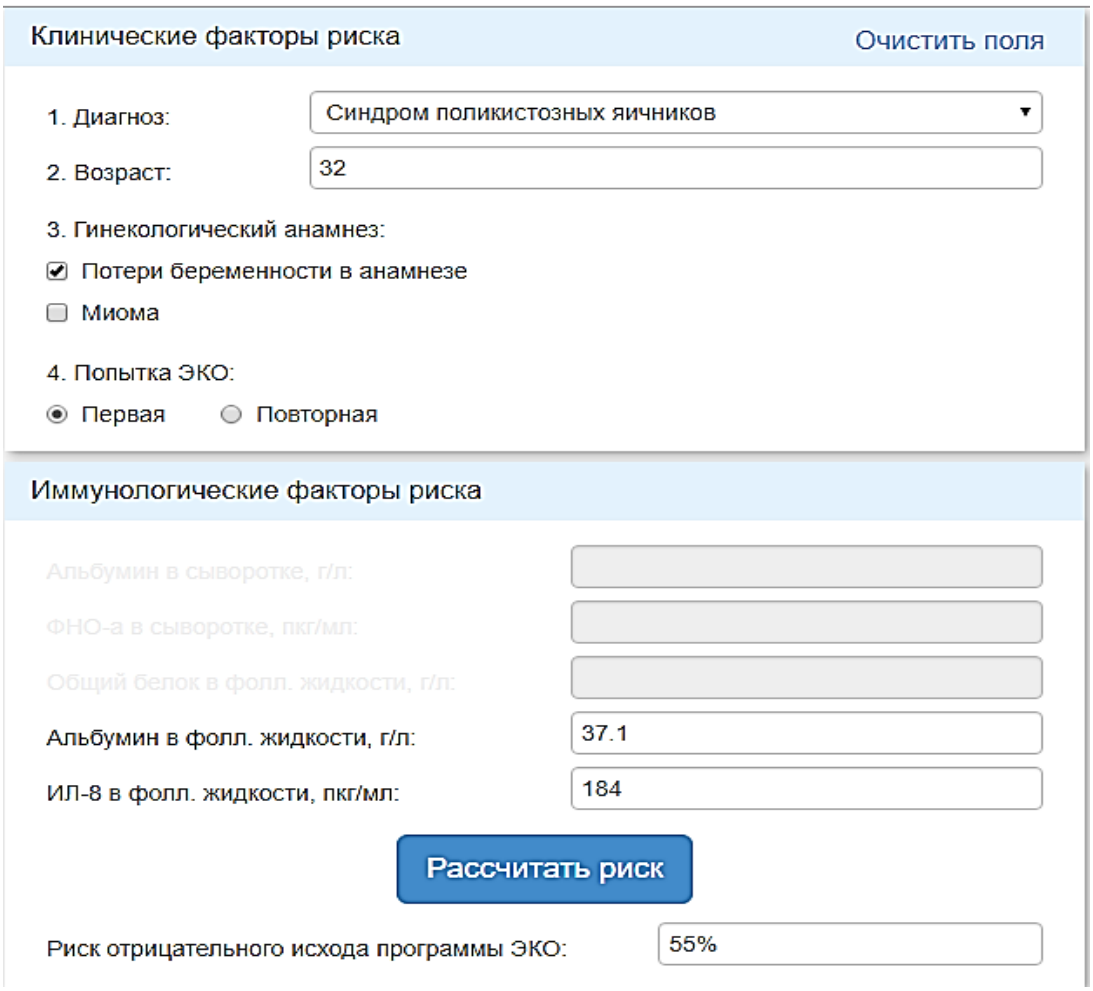


Рисунок 47 – Экранная форма расчета риска отрицательного исхода программы ЭКО пациентки А

Таким образом, смоделированный риск отрицательного исхода программы ЭКО оценивается как высокий, пациентке рекомендуется криоконсервация эмбрионов и отсроченный эмбриотрансфер в условиях более благоприятного иммунологического фона.

Пример 2: пациентка С., 29 лет, причина бесплодия: трубно-перитонеальный фактор, попытка ЭКО повторная. Список иммунологических показателей, необходимых для уточнения степени риска отрицательного исхода программы для исходных клинических данных включает ФНО-α в сыворотке и общий белок в фолликулярной жидкости. Концентрация указанных показателей у пациентки: ФНО-α – 2,1 пкг/мл, общий белок – 61,8 г/л. Риск отрицательного исхода программы ЭКО, рассчитанный по клиническим и иммунологическим предикторам остается приемлемым 26% – рисунок 48. Таким образом, пациентке рекомендуется «свежий» перенос, риск отрицательного исхода низкий.

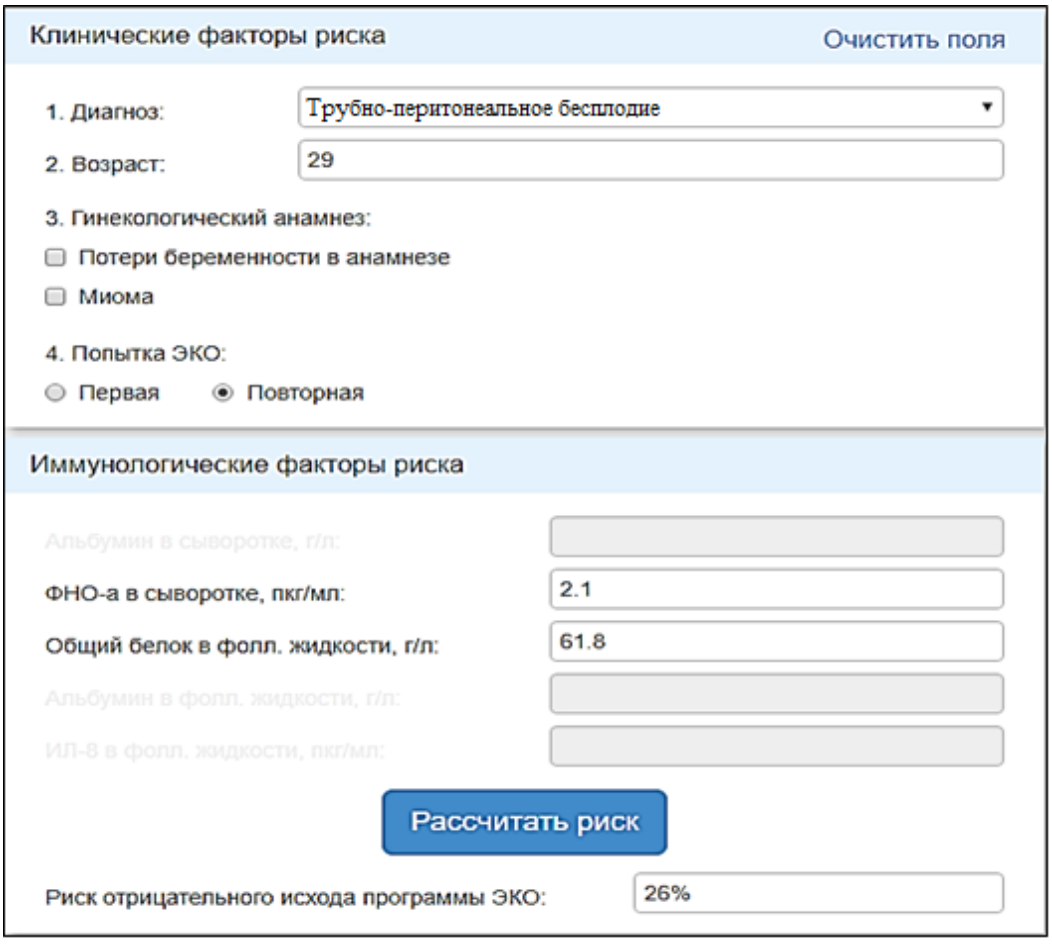


Рисунок 48 – Экранная форма расчета риска отрицательного исхода программы ЭКО пациентки С

7.4. Сравнительная частота наступления беременности в группах риска отрицательного исхода программ ЭКО в лечебном цикле при переносе нативных эмбрионов и в криоциклах

После выявления иммунологических и биохимических предикторов отрицательного исхода программ ЭКО среди пациенток с различными формами бесплодия проведена оценка ЧНБ при переносе нативных эмбрионов в лечебном цикле и у пациенток с неудавшейся имплантацией – в последующем криоцикле (таблица 41).

Таблица 41 – Частота наступления беременности в группах риска отрицательного исхода программ ЭКО при различных формах бесплодия при переносе нативных и размороженных эмбрионов

Причина бесплодия	Группы риска	Положительных исходов, % (n/N)	
		в лечебном цикле (нативные эмбрионы)	при криопереносе
ТПБ	Уровень ФНО-α в сыворотке ≥ 3,0 пкг/мл.	0% (0/8)	25% (2/8)
	Уровень ФНО-α < 3,0 пкг/мл, уровень ОБ в сыворотке < 57 г/л	20% (2/10)	37,5% (3/8)
	Всего в группе риска	**11% (2/18)**	**31,25 % (5/16)**
СПЯ (хГЧ-триггер)	Уровень ИЛ-8 в ФЖ≤ 130 пкг/мл	10% (1/10)	33,3% 3/9
	Уровень ИЛ-8 в ФЖ > 130 пк/мл, уровень АЛБ в ФЖ < 38 г/л	20% (1/5)	50% (2/4)
	Всего в группе риска	**13% (2/15)**	**38,46% (5/13)**
НГЭ 1-2 ст.	Уровень АЛБ в сыворотке ≥ 47,5 г/л	**11% (1/9)**	**37,5% (3/8)**

При ТПБ с повышением уровня ФНО-α ≥ 3,0 пкг/мл в лечебном цикле из 8 пациенток беременность не наступила ни у одной из них (0%), тогда как при последующем переносе размороженных эмбрионов 2 забеременели (25%). У 10 других пациенток этой же группы, при уровне ФНО< 3,0 пкг/мл, но сниженной концентрацией ОБ в сыворотке крови < 57 г/л, частота имплантации в «свежем» цикле составила 20% (2/10), а в криоцикле 37,5% (3/8). Таким образом, при ТПБ в группе риска отрицательного исхода программы ЭКО с переносом нативных

эмбрионов ЧНБ составила 11% (2/18), а в криоцикле была гораздо выше – 31,25% (5/16). Группу риска неудачного исхода программы ЭКО при эндокринным бесплодии на фоне СПЯ составили 15 пациенток. Среди них у 10 женщин со сниженным уровнем ИЛ-8 в ФЖ≤ 130 пкг/мл в лечебном цикле забеременела 1 пациентка (10%), и из 5 пациенток с уровнем ИЛ-8 в ФЖ > 130 пк/мл, но снижением концентрации АЛБ в ФЖ < 38 г/л, беременность наступила также только у одной (20%). Таким образом, ЧНБ в группе риска отрицательного исхода программы ЭКО при СПЯ составила 13% (2/15), а в криоцикле – 38,46% (5/13). В группе риска неудачного завершения программы ЭКО при НГЭ 1-2 ст. были 9 пациенток, из которых в лечебном цикле беременность наступила только у одной (11%), а после криопереноса из 8-ми женщин забеременели 3 (37,5%).

Таким образом, результаты проведенного исследования доказывают активное участие регуляторно-транспортных белков и цитокинов в патогенезе имплантации человеческого эмбриона, а также возможность их использования в качестве инструмента для выявления групп риска неудачных исходов программ ЭКО в стимулированных циклах с переносом в полость матки нативных эмбрионов. Более высокая частота наступления беременности в группах риска после переноса размороженных эмбрионов спустя 2-3 месяца после проведенной индукции суперовуляции позволяет рекомендовать криоконсервацию и отсроченный эмбриотрансфер с целью повышения эффективности данных программ.

Глава 8.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) на сегодняшний день помогает решить проблему бесплодия практически при любых ее причинах. Однако, эффективность данных программ ограничена и не превышает 37% при экстракорпоральном оплодотворении (ЭКО) с использованием собственного генетического материала [79]. Отсутствие морфологических обоснований неудач имплантации в программах ЭКО, таких как отсутствие эмбрионов приемлемого качества, патологии эндометрия, возрастного фактора, позволяет предположить влияние иммунологического статуса пациентки на данный процесс. В соответствии с поставленными целью и задачами мы провели исследование содержания ряда иммуно-регуляторных белков и цитокинов у инфертильных пациенток с наиболее распространенными причинами бесплодия (трубно-перитонеальным, эндокринным, эндометрио-ассоциирован-ным и мужским факторами) с оценкой влияния их на результативность программ ЭКО.

Определение содержания регуляторно-транспортных белков и цитокинов в сыворотке крови здоровых фертильных небеременных женщин в возрасте до 35 лет с сохраненным овариальным резервом продемонстрировало их идентичность аналогичным показателям инфертильных пациенток с первичным и вторичным (в анамнезе роды в предыдущих браках) бесплодием мужского генеза. Данный факт позволил рассматривать пациенток с мужским фактором бесплодия как контрольную группу, а значения иммунологических параметров в данной группе как исходные, так и меняющиеся в ответ на проводимую индукцию суперовуляции с введением хорионического гонадотропина человека в качестве триггера финального созревании ооцитов – использовать в качестве референсных для программы ЭКО. Динамика иммунологических параметров от вступления в программу ЭКО ко дню трансвагинальной пункции фолликулов в данной группе женщин характеризовалась достоверным снижением сывороточных концентра-

ций АЛБ и ИЛ-8, а также повышением уровня VEGF. Выявленные изменения не оказывали влияния на результативность программ ЭКО, что позволяет расценивать данную ситуацию как нормальную реакцию на индукцию суперовуляции в программе ЭКО препаратами ФСГ и введение триггера финального созревания ооцитов. Проблема изучения роли общих неспецифических адаптационных реакций в регуляции резистентности организма к внешним воздействиям привлекают все большее число исследователей. С этой точки зрения особое значение имеют молекулы сывороточного альбумина, представляющие собой сложную, полифункциональную, коммуникативную структуру, осуществляющую гомеостатическую функцию в организме, способные проникать через различные межтканевые барьеры [34]. Человеческий сывороточный альбумин – это основной продукт печеночного белкового синтеза и один из наиболее значимых протеинов плазмы, обладающий множеством функций, основными из которых являются обеспечение целостности сосудистого барьера и онкотического давления крови, антиоксидантная (за счет связывания ионов меди и железа) и транспортная (перенос множества метаболитов, лекарственных препаратов, компонентов эндо- и экзотоксемии) [47]. В настоящем исследовании динамическое снижение содержания АЛБ сыворотки крови у здоровых женщин в программе ЭКО ко дню пункции фолликулов, на наш взгляд, является результатом его активного участия в транспортировке лекарственных веществ, а также связывания избытка эстрогенов в условиях усиленного стероидогенеза в процессе проводимой индукции суперовуляции.

Результаты нашего исследования продемонстрировали также снижение почти в два раза уровня сывороточного ИЛ-8 у женщин группы контроля в день трансвагинальной пункции фолликулов по сравнению с концентрацией до начала индукции суперовуляции. При этом содержание данного хемокина в фолликулярной жидкости в несколько десятков раз превышало его сывороточные значения. Это обстоятельство доказывает активное участие ИЛ-8 не только в иммунных процессах, но и в регуляции фолликулогенеза и овуляции, что согласуется с результатами ранее проведенных научных исследований [193; 194; 234].

Кроме того, рядом авторов отмечена положительная корреляция уровня ИЛ-8 в фолликулярной жидкости с ростом фолликулов и достижением маточной беременности в программах ЭКО [274] и ассоциация сниженных его значений с риском внематочной беременности [241].

Что касается повышения концентрации сывороточных значений VEGF, то данная закономерность отражена в данных литературы как одно из звеньев воспалительной реакции, инициированной введением овуляторной дозы ХГЧ, имитирующей выброс ЛГ, целью которого является дозревание ооцита и разрыв стенки фолликула [19]. Кроме того, еще одним доказательством в пользу данного утверждения может служить обнаруженное нами отсутствие повышения концентрации VEGF в сыворотке крови пациенток с заменой триггера финального созревания ооцитов на агонист-Гн-РГ при росте в программе ЭКО 20 и более фолликулов. Препараты ХГЧ на сегодняшний день являются более предпочтительными для триджерринга в стимулированных циклах, поскольку при равных биологических возможностях распознавания и активации одних и тех же рецепторов, ХГЧ имеет большую молекулу, чем ЛГ. Кроме того, сродство ХГЧ к рецепторам в 2–4 раза выше, а период полувыведения больше, чем у ЛГ. Другими словами, для того чтобы запустить окончательное созревание фолликулов и имитировать натуральный пик ЛГ с помощью экзогенного ЛГ, потребуется минимум 30 000 МЕ рЛГ и только 5–10 тыс. МЕ ХГЧ. При назначении эквивалентных доз ХГЧ и ЛГ выраженность и продолжительность биологического действия ХГЧ более значительны по сравнению с ЛГ, что, кроме положительных моментов, имеет и отрицательный побочный эффект – возможность развития осложнений индуцированного цикла: возникновение синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ), многоплодие, дефекты лютеиновой фазы.

Характерной особенностью иммунологического профиля инфертильных женщин с трубно-перитонеальным бесплодием было умеренное повышение уровня сывороточного ИФН-γ без влияния на результативность программ ЭКО, а также повышенные концентрации α1-АТ и цитокина ФНО-α, отражающие ак-

тивность субклинического воспаления у части пациенток данной группы. Детальный анализ полученных данных продемонстрировал существенные различия как иммунологического профиля, так и частоты наступления беременности у пациенток данной группы, в связи с чем они были разделены на 2 подгруппы: 1-ую подгруппу составили женщины, динамика иммунологических и биохимических показателей, а также ЧНБ среди которых были сопоставимы с группой контроля. Анализ клинических данных пациенток данной подгруппы продемонстрировал минимальные изменения маточных труб (состояния после операций по поводу трубных беременностей, аппендэктомии и т.д.). У пациенток 2-ой подгруппы ТПБ лабораторные данные отражали активность субклинического воспаления в виде повышения острофазового белка α1-АТ и цитокина ФНО-α, а частота наступления беременности была гораздо ниже, чем в группе контроля. В анамнезе пациенток данной подгруппы были более выраженные воспалительные процессы с исходом в адгезивный пельвиоперитонит, сакто-гидросальпинксы, хронический эндометрит. Ввиду этих отличий в дальнейшем пациентки данных подгрупп рассматривались по-отдельности.

Сходный характер изменений, выявленный нами в сыворотке крови и в фолликулярной жидкости пациенток обеих подгрупп ТПБ в виде повышения ИФН-γ указывает на общие патогенетические механизмы данных видов бесплодия. Известно, что ИНФ-γ способен активно стимулировать дифференцировку В-клеток и усиливать выработку антител [123], а также воздействовать на макрофаги, провоцируя формирование активных форм кислорода и образование NO-радикалов. Они, в числе прочего, способны повреждать регуляторно-транспортные белки [314; 281]. Причиной повышения уровня ИФН-γ в крови является активация системы адаптивного иммунитета в ответ на повышенную экспрессию Toll-подобных рецепторов в результате воздействия бактериальной или вирусной инфекции [181]. Отсутствие зависимости частоты наступления беременности в группе ТПБ от уровня ИФН-γ (умеренное повышение данного показателя как у забеременевших, так и у незабеременевших пациенток) позволяет

расценивать данный феномен как достаточную компенсаторную реакцию адаптивного иммунитета. Перенесенное более агрессивное течение воспалительного процесса в малом тазу проявляется повышением уровня острофазового белка α1-АТ, а также цитокина ФНО-α в крови пациенток 2-ой подгруппы ТПБ в сравнении с женщинами группы контроля. Учитывая, что рядом авторов наблюдалось значительное увеличение концентраций провоспалительных цитокинов на фоне острого эндометрита [243], можно сделать вывод об активности сохраняющегося воспаления у инфертильных пациенток данной подгруппы, не выявляемого клинически, когда α1-АТ накапливается в циркуляции [73; 12]. С другой стороны, повышение уровня сывороточного α1-АТ может быть проявлением дисбаланса соотношения иммуно-регуляторных ингибиторов протеиназ (α2-МГ и α 1-АТ), что может лежать в основе хронизации воспалительного процесса в малом тазу. Повышение уровня ФНО-α в крови, как правило, связывают с наличием воспаления [12; 108]. Отсутствие при этом ожидаемого повышения такого высокочувствительного реактанта острой фазы как лактоферрин (ЛФ) крови (высвобождение депонированного резерва из нейтрофилов при воспалительной реакции), может быть свидетельством прогрессирования воспаления до нарушения структуры тканей.

Частота наступления беременности у пациенток группы ТПБ резко отличалась в 1 и 2 подгруппах. В 1-ой подгруппе (с минимальными изменениями маточных труб) ЧНБ составила 38,3% и практически не имела отличий от группы контроля (38,0%). Тогда как во 2-ой подгруппе ЧНБ была резко снижена (24,4%) по сравнению с группой контроля (38%), а отрицательные исходы программ ЭКО ассоциировались с повышенной концентрацией ФНО-α в сыворотке крови $\geq$ 3 пкг/мл, а также снижением уровня общего белка в фолликулярной жидкости $\leq$57 г/л. Выявленные при негативном исходе программ ЭКО у женщин 2-ой подгруппы ТПБ повышенные концентрации провоспалительного ФНО-α в сыворотке крови при отсутствии ожидаемой реакции в виде повышения ЛФ и интерлейкинов может свидетельствовать в пользу истощения иммунологических резервов в условиях «напряженного» иммунитета при наличии вялотекущего субклини-

ческого воспаления в органах малого таза. Проведенный нами анализ состава ФЖ у пациенток 1-ой подгруппы ТПБ не выявил существенных отличий от группы контроля, а также не отличался в подгруппах с положительным и отрицательным исходом программы ЭКО. Данный факт является свидетельством локализации патологического процесса только на уровне маточных труб и незадействованности овариальной ткани. Достоверно сниженные значения ОБ и АЛБ в ФЖ пациенток с отрицательным исходом программы ЭКО во 2-ой подгруппе ТПБ указывают на неблагоприятные условия развития ооцитов, что впоследствии сказывается на качестве и потенциале имплантации эмбрионов и отражают, вероятно, глубокие структурные повреждения овариальной ткани с нарушением микроциркуляции, накоплением продуктов перекисного окисления липидов и резким снижением антиоксидантной активности в условиях низкой концентрации альбумина.

Особенностями иммунологического статуса инфертильных пациенток с СПЯ, отличающими их от здоровых женщин, в нашем исследовании были высокие уровни ОБ и АЛБ сыворотки крови в сравнении с группой здоровых женщин. Возможно, это связано с увеличением вязкости крови при СПЯ, на что указывается в работе J. Michael [238]. Многие авторы относят СПЯ к аутоиммунной патологии. Согласно полученных нами данных, у инфертильных пациенток при этой патологии действительно наблюдался дисбаланс белкового и цитокинового профиля, выражающийся в повышении уровней α2-МГ, α1-АТ, ИФН-γ, ОБ и снижении концентрации ФНО-α и не соотвествующий ни классическим воспалительным проявлениям, ни иммунодефицитным состояниям. Результаты проведенного исследования не подтверждают мнения ряда авторов, утверждающих, что развитие СПЯ сопряжено с признаками хронического воспаления низкой степени выраженности [255; 201; 242; 321]. СПЯ часто сопровождается аутоиммунным тиреоидитом, а в крови выявляются повышенные концентрации антител к ТГ [132]. В ряде работ было показано, что при аутоиммунной патологии происходит накопление иммунокомплексов α2-МГ-IgG в крови [43]. Выраженная тенденция к более высокому уровню эстроген-чувствительного белка – АБГ в

сыворотке крови при СПЯ согласуется с результатами Hifsa Mobeen [206], которые утверждают, что относительная гиперэстрогения при СПЯ стимулируют выработку аутоантител. Мы полагаем, что это может влиять и на синтез эстрогензависимых белков – α2-МГ и α1-АТ. Поэтому полученные нами данные, в большей степени, свидетельствуют в пользу нарушения механизмов биорегуляции, а также участия аутоиммунных процессов в патогенезе СПЯ. В крови женщин при СПЯ на фоне индукции суперовуляции в программе ЭКО и использовании ХГЧ-триггера еще больше повышалась концентрация ОБ, а также уровни α-2-МГ, α1-АТ и ИФН-γ, и снижался уровень ФНО-α. При этом процент наступления беременности в программах ЭКО был несколько выше (44%), чем в группе контроля (38,0%), но нужно заметить, что разница между данными показателями недостоверна. На повышенные сывороточные концентрации фактора роста и цитокинов при СПЯ сообщается в ряде работ [166; 231]. Кроме того, в литературе отмечается факт положительной корреляции между ФНО-α и ИЛ-6 при СПЯ [62; 45]. Содержание цитокинов, изучаемое на уровне генной экспрессии при СПЯ, говорит в пользу наличия так называемой обратной связи: при повышении уровня цитокинов понижается экспрессия соответствующего гена в ткани. В частности, Schmidt J. [276] с соавторами показали, что гены пяти ассоциированных с воспалением белков в ткани центральной стромы яичников на фоне СПЯ (CCL2, IL1R1, IL8, NOS2, TIMP1) находятся в состоянии пониженной экспрессии [321]. В работах отечественных ученых показано, что отрицательный исход программы ЭКО и привычное невынашивание беременности сопровождаются повышением цитокинов, ассоциированных с повышением иммунного ответа по Th-1 типу, провоспалительному. Именно соотношением иммуномодулирующих и иммуносупрессивных эффектов в организме матери, в реализации которых непосредственное участие принимают регуляторные протеины – компоненты цитокиновой системы, определяется положительное завершение оплодотворения. По мнению В.Е. Радзинского и соавторов, особое значение имеют уровни ИЛ-4, ИФН-γ, а также соотношение Th-1/Th-2 [154]. В результате изучения содержания отдельных цитокинов у женщин с СПЯ и без патологии

яичников, была отражена сопряженность изученных биомаркеров с исходом программы ЭКО. Данные, полученные Liang P.Y. [229], показали, что у женщин с рецидивирующей неудачей имплантации в ходе ЭКО обнаруживались более высокие сывороточные концентрации ИЛ-1, ИЛ-6 и ИЛ-4, нежели у женщин с удачно завершившейся программой ЭКО. Результаты предполагали сдвиг в сторону провоспалительного состояния в периферической крови женщин с неудачно завершившимся ЭКО [224]. Так как перенос эмбриона в «свежем» цикле при СПЯ осуществлялся нами только пациенткам с ХГЧ-триггером, то и предикторное значение изученных показателей в исходе программы ЭКО мы могли оценить только у пациенток этой подгруппы. Оказалось, что несмотря на довольнотаки значительные отличия иммунного спектра изучаемых показателей на системном уровне (в сыворотке крови) в процессе проведения процедуры ЭКО от женщин группы контроля (повышение α2-МГ, α1-АТ, ИФН-γ, ОБ, а также снижение концентрации ФНО-α) они не оказывают влияния на исход программы ЭКО, а частота имплантации не ниже, а наоборот, несколько превышает данный показатель в контрольной группе. Данный феномен можно объяснить тем, что при СПЯ исходный статус инфертильных пациенток характеризуется повышенными значениями ОБ и АЛБ, что отражает хороший их энергетический и антиоксидантный потенциал, а перечисленные изменения иммунного профиля в процессе индукции суперовуляции и введении ХГЧ-триггера являются компенсаторными. Что касается локального интраовариального статуса, исследованного посредством изучения состава фолликулярной жидкости у пациенток с СПЯ с примененим ХГЧ-триггера, то здесь также, как в сыворотке крови, отмечено повышение уровня ИФН-γ, не оказывающее влияния на исход программы ЭКО. Однако наряду с повышенными значениями ИФН-γ в ряде случаев отмечались также значительно сниженные уровни АЛБ и ИЛ-8, ассоциированные с отрицательным завершением программы ЭКО. Что касается дефицита АЛБ в фолликулярной жидкости, то здесь повторяется ситуация, имевшая место при анализе факторов отсутствия имплантации у женщин 2 подгруппы трубно-перитонеального бесплодия. Это наводит на мысль о возможной общности пато-

генетических механизмов, препятствующих имплантации при бесплодии «яичникового» генеза (при СПЯ и хроническом аднексите). Необходимо отметить, что АЛБ является прогностическим фактором результативности программ ЭКО на фоне нескольких нозологий. Учитывая то, что для определения в сыворотке крови и фолликулярной жидкости концентрации АЛБ используется рутинный клинический метод, беспроблемно его внедрение его в практику.

В исследованиях, посвященных ИЛ-8, показано, что данный хемокин является не только частью иммунной системы, но и значимым молекулярным регулятором фолликулогенеза и полноценной овуляции [193], что подтверждают результаты нашего исследования – у пациенток контрольной группы уровень данного хемокина в фолликулярной жидкости в несколько десятков раз превышает его сывороточные значения в день пункции фолликулов, а сниженные значения данного показателя в фолликулярной жидкости ассоциируются с неудачей имплантации в программе ЭКО у пациенток с эндокринным фактором бесплодия. Выявленная закономерность позволяет сделать вывод о том, что низкая концентрация интрафолликулярного ИЛ-8 отражает, вероятно, неполноценность молекулярных механизмов, ответственных за дозревание ооцита с последующей его активацией и, как следствие, формирование эмбриона с низким потенциалом имплантации. Таким образом, снижение уровня ИЛ-8 фолликулярной жидкости может стать дополнительным фактором прогнозирования отрицательного исхода программмы ЭКО при эндокринном бесплодии на фоне СПЯ.

На сегодняшний день эффективным методом профилактики синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ) является замена триггера финального созревания ооцитов на а-ГнРГ в «коротких» протоколах с ант-ГнРГ и отменой переноса эмбриона в «свежем» цикле. Однако, выбор этой тактики возможен при наличии «классических» факторов риска СГЯ: молодой возраст до 30 лет с низким индексом массы тела, наличие СПЯ, объем яичников больше 15 кубических сантиметров при числе антральных фолликулов более 12 и уровне эстрадиола в раннюю фолликулярную фазу выше 400 пмоль/л, а также рост более 20 фолликулов и уровня эстрадиола сыворотки крови более 10000 пмоль/мл в ответ на индук-

цию суперовуляции в программе ЭКО. У части пациенток при отсутствии «классических» факторов риска СГЯ, при умеренном количестве растущих фолликулов, при использовании хГЧ-триггера и переносе в полость матки нативного эмбриона имеет место развитие «поздней» формы СГЯ, проявляющегося в ответ на вторую волну повышения хГЧ крови при имплантации эмбриона. Прогнозирование развития данной формы СГЯ на основании клинических данных практически невозможно. Наше исследование продемонстрировало предикторную роль повышения α1-АТ, АБГ и VEGF в сыворотке крови и ИФН-γ в фолликулярной жидкости при сниженных значениях АЛБ, ФНО-α, ИЛ-8 в обеих исследованных жидкостях в день ТВП в отношении развития «поздней» формы СГЯ у забеременевших в программе ЭКО пациенток. По сути, выявленные изменения можно интерпретировать как проявление синдрома системного воспалительного ответа (ССВО) на фоне массивного повреждения сосудистого эндотелия в результате введения овуляторной дозы хГЧ, то есть доклинические проявления СГЯ. При резком повышении уровней ИФН-γ внутри растущего фолликула и α-1 АТ, АБГ и VEGF в сыворотке крови в ответ на введение овуляторной дозы хГЧ резко повышается проницаемость стенок сосудов с транссудацией жидкой части крови в «третье» пространство со снижением уровней АЛБ, ФНО, ИЛ-8 в сыворотке крови и фолликулярной жидкости с исходом в гиповолемию, гемоконцентрацию и гиперкоагуляцию. В дальнейшем при имплантации эмбриона и повторном повышении уровня хГЧ эти процессы прогрессируют, приводя к развитию клинических форм СГЯ разной степени выраженности. Данные зарубежных исследователей свидетельствуют о наличии нарушенного или замедленного реагирования иммуносупрессивной цитокиновой системы при СГЯ. В проспективном когортном исследовании (428 женщин в программах ЭКО) показано, что у 15 пациенток с развившимся СГЯ, в сыворотке крови наблюдались значительно более низкие уровни ИЛ-10, ИЛ-3 и ИЛ-4, чем у женщин без СГЯ [180]. В исследовании продемонстрирована предикторная роль ИЛ-18, который был повышен в сыворотке, перитонеальной и плевральной жидкостях женщин с СГЯ и обнаружил положительные корреляции с содержанием маркеров повышенной сосуди-

стой проницаемости [139]. Мы полагаем, что выявленные в результате настоящего исследования иммунологические предикторы развития «поздней» формы СГЯ в день ТВП следует расценивать как доклиническое проявление СГЯ, которое должно служить показанием для криоконсервации всех полученных в программе эмбрионов с отсроченным их переносом в полость матки с целью предотвращения опасного для жизни ятрогенного состояния – синдрома гиперстимуляции яичников.

Иммунологическими маркерами наружного генитального эндометриоза 1-2 ст. в нашем исследовании были повышенные сывороточные уровни α2-МГ, α1-АТ, ИФН-γ, ОБ, АЛБ и сниженные значения ИЛ-6. Это подтверждает мнение некоторых авторов о наличии реакции острофазовых белков при НГЭ в ответ на повышение протеиназной активности патологических очагов, которая снижается после хирургического удаления эндометриоидных образований. Среди особенностей динамики исследованных иммунологических показателей в процессе индукции суперовуляции в данной группе пациенток стоит выделить АЛБ сыворотки крови, сохраняющийся повышенный уровень которого ко дню ТВП являлся предиктором отрицательного исхода программы ЭКО у пациенток с НГЭ 1-2 ст. Повышенные по сравнению с группой контроля сывороточные значения АЛБ при НГЭ 1-2 ст. и отсутствие динамического снижения его концентрации ко дню трансвагинальной пункции фолликулов, характерного для группы контроля, может быть отражением патологического накопления его в сосудистом русле ввиду нарушения утилизации печенью. Нарушение транспортной функции АЛБ может быть результатом блокады его связывающих центров токсичными лигандами и уменьшением его резервной связывающей способности и как результат - нарушение его детоксикационной и антиоксидантной функций, ведущие к усугублению эндотоксикоза, а также накоплению свободных радикалов с их повреждащим действием как общим, так и локальным, на уровне растущего фолликула с комплексом кумулюс-ооцит [34]. Кроме того, одной из возможных причин «блокады» функций сывороточного АЛБ могут быть изменения структуры его молекулы в результате нестабильности конформации, вызванной воз-

действием токсичных лигандов, влекущих за собой утрату основных его функций [86]. Это наводит на мысль о том, что НГЭ 1-2 ст. можно рассмаривать с точки зрения «конформационных» болезней, в патогенезе которых ключевым звеном является нарушение третичной структуры белков, их агрегация, в результате чего белки становятся недоступными для протеаз. Патогенные эффекты агрегатов белков могут быть прямыми и опосредованными. Примерами таких болезней являются серповидно-клеточная анемия (изменение гемоглобина), эмфизма легких и цирроз печени (при дефиците α1-АТ), амилоидоз, сахарный диабет 2 типа (изменение амилина), болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона и др.

Особенностями локального иммунологического профиля инфертильных пациенток с НГЭ 1-2 ст. было повышение концентрации ОБ и ИФН-γ, а также снижение уровня ЛФ и ИЛ-8 в составе фолликулярной жидкости, однако выявленные изменения не оказывали влияния на исход программы ЭКО. В настоящее время патогенез заболевания неизвестен. Существует масса гипотез по этому поводу: ретроградная менструация, активация эмбриональных клеток, генетическая предрасположенность, локальные и системные нарушения во врожденном и адаптивном иммунитете, нарушения в системах протеолиза и антиоксидантной защиты [4; 145]. Снижение функциональной активности показателей Т-клеточного иммунитета (особенно Т-киллеров) при эндометриозе общепризнано [188]. Некоторые авторы относят НГЭ к аутоиммунным процессам. Показано, что такие цитокины как IL-23, ИФН-γ и ФНО-α сопряжены с эндометриозом. В этом же исследовании выделен ИЛ-8 как маркер успешного завершения программы ЭКО [274]. Исследования других зарубежных ученых показывают, что чем выше уровень этого цитокина, тем ниже шансы на положительный исход программы [313]. При этом авторы отмечают, что, скорее всего, не сам хемокин имеет отношение к факту развития беременности, а сопряженный с его высоким содержанием уровень NK-клеток, которые могут оказать негативное влияние на имплантацию эмбриона [291]. В исследовании Falconer и соавторов (2009) показа-

но, что уровень ФНО-α выше в ФЖ, нежели в сыворотке у женщин с НГЭ, однако прогностическая ценность этого маркера в отношении финала программы ЭКО уступает таковой для антимюллерова гормона на фоне НГЭ [184]. Что касается ИЛ-8, то нами установлено достоверное снижение его концентрации в составе фолликулярной жидкости пациенток с НГЭ 1-2 ст. без влияния на результативность программы ЭКО. Эти данные перекликаются с результатами исследований ряда авторов [274], но согласуются с ними лишь частично – они отмечают не только изменение концентрации данного хемокина при НГЭ, но и влияние его уровня его на исход программы ЭКО. Если рассматривать НГЭ с точки зрения аутоиммунного эстрогензависимого процесса, то можно предположить, что резкая активация стероидогенеза в ходе индукции суперовуляции у части пациенток с НГЭ 1-2 ст. ведет к усилению активности патологических очагов, дисфункции регуляторных цитокиновых молекул и ростовых факторов, инициирующих каскад сигнального ответа и опосредующих дистанционное влияние патологического очага на яичники, сбою межклеточной двунаправленной коммуникации в граафовом пузырьке.

Таким образом, репродуктивное здоровье – одна из насущных проблем национальной медицины. Вспомогательные репродуктивные технологии стали надежным инструментом влияния на этот фактор, увеличивая число рожденных детей и счастливых родителей. В настоящее время наиболее важным является выработка подходов и технологий, ориентированных на увеличение положительных результатов лечения бесплодия. В ходе нашего исследования показано, что некоторые белки острой фазы воспаления и цитокины имеют как самостоятельное значение при различных заболеваниях женской половой сферы, так и отвечают определенной динамикой на проводимую индукцию суперовуляции в программе ЭКО, что можно использовать в качестве прогностических маркеров имплантации человеческого эмбриона и развития «поздней» формы СГЯ у забеременевших пациенток. С учетом высокой стоимости программы ЭКО, а также в ряде случаев ее небезопасности, важно вовремя прогнозировать неблагоприят-

ный исход как в виде отсутствия имплантации, так и виде развития трудно прогнозируемой «поздней» формы синдрома гиперстимуляции яичников и изменить тактику ведения пациентки в сторону криоконсервации всех полученных в программе эмбрионов с последующим их «отсроченным» переносом после нивелирования иммунологического дисбаланса, развившегося в результате проведения индукции суперовуляции в программе ЭКО.

ВЫВОДЫ

1. Изучаемые иммунологические показатели у инфертильных пациенток с бесплодием мужского генеза сопоставимы с аналогичными показателями фертильных женщин, а динамика их в программе ЭКО выражается в снижении сывороточных значений АЛБ, ИЛ-8 и повышении VEGF. Отсутствие зависимости частоты наступления беременности от иммунологического состава сыворотки крови и фолликулярной жидкости в данной группе позволяет расценивать выявленные изменения как нормальную иммунную реакцию в программе ЭКО, а полученные значения иммунологических показателей использовать в качестве референсных.

2. Иммунологический профиль и эффективность программ ЭКО у пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием зависит от выраженности перенесенного воспаления и сохраняющейся его субклинической активности, проявлением чего являются повышенные сывороточные значения ФНО-α и α1-АТ. При минимальном поражении маточных труб и отсутствии лабораторных признаков воспаления (подгруппа 1) динамика иммунологических показателей и частота наступления беременности (38,3%) аналогична группе контроля (38,0%). При наличии лабораторных признаков субклинического воспаления (подгруппа 2) частота наступления беременности значительно ниже (24,4%), чем в группе контроля (38%), а отрицательный исход программ ЭКО ассоциируется с повышением концентрации ФНО-α в сыворотке крови $\geq$ 3 пкг/мл (с чувствительностью 100%) и снижением уровня ОБ в фолликулярной жидкости $\leq$ 57 г/л (с чувствительностью 80%).

3. У пациенток с СПЯ выявлены более высокие сывороточные концентрации ОБ и АЛБ, а динамика иммунологических параметров в сыворотке крови и состав фолликулярной жидкости зависит от вида используемого триггера. При применении традиционного хорионического гонадотропина человека, в отличие от группы контроля, отмечается повышение сывороточных значений α2-МГ, α1-АТ, ИФН-γ, ОБ, снижение сывороточного уровня ФНО-α, а также снижение

концентрации АЛБ, ИЛ-8 и повышение содержания ИФН-γ в фолликулярной жидкости. При использовании а-ГН-РГ в качестве триггера отмечается повышение концентрации ИЛ-8, ЛФ, ИФН-γ в сыворотке крови, а также АЛБ и ОБ в фолликулярной жидкости.

4. Предикторная роль в отрицательном исходе программы ЭКО при СПЯ принадлежит сниженным уровням ИЛ-8 $\leq$ 130 пкг/мл (с чувствительностью 90%) и АЛБ $\leq$ 38 г/л (с чувствительностью 80%) в фолликулярной жидкости. Прогностическими критериями «поздней» формы синдрома гиперстимуляции яичников у пациенток с СПЯ являются повышенные значения α1-АТ (от 4,6 г/л и выше), АБГ (от 0,020 г/л и выше) и VEGF (от 220 пкг/мл и выше) в сыворотке крови и ИФН-γ (от 8,5 пкг/мл и выше) в фолликулярной жидкости при достоверном снижении уровней АЛБ, ФНО-α, ИЛ-8 в сыворотке крови и фолликулярной жидкости.

5. У пациенток с НГЭ 1-2 ст. отмечается повышение значений α2-МГ, α1-АТ, ИФН-γ, АЛБ, ОБ и снижение концентрации ИЛ-6 в сыворотке крови, а также снижение уровня ЛФ, ИЛ-8 и повышение содержания ОБ и ИФН-γ в фолликулярной жидкости. Сохраняющийся повышенный уровень сывороточного АЛБ выше 47,5 г/л в день ТВП ассоциируется с неудачей имплантации (с чувствительностью 80%).

6. Алгоритм, основанный на определении клинико-иммунологического профиля пациентки, позволяет прогнозировать отрицательный исход программ ЭКО при переносе нативных эмбрионов с чувствительностью до 80% и рекомендовать криоконсервацию всех полученных эмбрионов с целью отсроченного их переноса в полость матки.

7. Использование представленного алгоритма и выбор тактики «отсроченного» переноса эмбрионов позволяет добиться увеличения частоты наступления беременности в группах риска на 20-26,5%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У инфертильных пациенток с трубно-перитонеальным, эндокринным на фоне СПЯ бесплодием, а также при минимальных формах наружного генитального эндометриоза для выбора тактики ведения лечебного цикла ЭКО в день ТВП целесообразно исследовать следующие иммунологические и биохимические показатели:

- ФНО-α сыворотки крови и уровень ОБ в фолликулярной жидкости при ТПБ;
- уровень АЛБ и ИЛ-8 в фолликулярной жидкости при СПЯ;
- концентрацию сывороточного АЛБ при НГЭ 1-2 ст.

2. Полученные клинические и лабораторные данные составляют основу математической модели прогноза исхода программы ЭКО для каждой конкретной пациентки. Данную модель мы рекомендуем использовать в клинической практике для принятия решения о переносе нативного эмбриона (в случае «положительного» прогноза) или его криоконсервации (в случае «отрицательного» прогноза). Целью сегментации цикла в данном случае является отсроченный эмбриотрансфер после нивелирования иммунологических сдвигов в организме женщины, вызванных индукцией суперовуляции. Данная тактика позволяет повысить частоту имплантации эмбрионов в программах ЭКО.

3. У пациенток с СПЯ при применении ХГЧ-триггера рекомендуется определение дополнительных иммунологических и биохимических показателей в день ТВП, позволяющих прогнозировать развитие «поздней» формы СГЯ при следующих значениях: α1-АТ выше 4,6 г/л, АБГ выше 0,02 г/л при сниженных значениях ФНО-α менее 0,4 пкг/мл, ИЛ-8 менее 1,6 пкг/мл и АЛБ менее 41 г/л в сыворотке крови, а также повышении уровня ИФН-γ более 8,5 пкг/мл при снижении концентраций ФНО-α ниже 0,5 пкг/мл, ИЛ-8 ниже 120 пкг/мл и АЛБ ниже 38 г/л в ФЖ. При выявлении данных значений мы рекомендуем осуществлять криоконсервацию всех эмбрионов с целью профилактики опасного для жизни пациентки синдрома гиперстимуляции яичников.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АБГ	– ассоциированный с беременностью альфа–2–гликопротеин
а–ГнРг	– агонист–гонадотропин рилизинг гормон
АМГ	– антимюллеров гормон
ант–ГнРГ	– антагонист–гонадотропин рилизинг гормон
α1-АТ	– альфа-1антитрипсин
ВРТ	– вспомогательные репродуктивные технологии
ИЛ-1, 2, 4, 6, 8, ИЛ-10, 12	– интерлейкины 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12
ИФН-γ	– интерферон гамма
ЛФ	– лактоферрин
ЛФ-IgG	– иммунокомплексы лактоферрина с иммуноглобулином класса G
α2-МГ	– альфа-2макроглобулин
МГ-IgG	– иммунокомплексы макроглобулина с IgG
МГ-ПЛ	– специфические комплексы макроглобулина с плазмином
ПРЛ	– пролактин
р-ФСГ	– рекомбинантный ФСГ
СПЯ	– синдром поликистозных яичников
ФЖ	– фолликулярная жидкость
ФНО-α	– фактор некроза опухоли альфа
ХЭ	– хронический эндометрит
хГЧ	- хорионический гонадотропин человека
чМГ	– человеческий менопаузальный гонадотропин
ЭКО и ПЭ	– экстракорпоральное оплодотворение и перенос эмбрионов в полость матки
ß-ХГЧ	– ß субъединица хорионического гонадотропина
Th-1,2	– Т-хелперы 1 или 2 типа
TVP, ТВП	– трансвагинальная пункция фолликулов

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдулмеджидова, А.Г. Антитела класса IgG к вирусу простого герпеса типа 1 и 2 и нарушение женской репродуктивной системы / А.Г. Абдулмеджидова, А.В. Мельниченко, А.С. Цибизов, К.В. Краснопольская, Н.Д. Львов // Российский медицинский журнал. – 2014. – № 4. – С. 26-30.

2. Агаджанова, А. А. Современные методы терапии больных с привычным невынашиванием беременности // Рус. мед. журн. – 2003. – № 1. – С. 3-6.

3. Адамян, Л.В. Патогенетические аспекты эндометриоз-ассоциированного бесплодия / Л.В. Адамян, Д.Ф. Салимова, Л.М. Кондратович // Проблемы репродукции. – 2015. – № 6. – С. 90-96.

4. Адамян, Л.В. Сочетанные доброкачественные опухоли и гиперпластические процессы матки (миома, аденомиоз, гиперплазия эндометрия): проект клинических рекомендаций по ведению больных / под ред. Л.В. Адамян. – М., 2015. – 104 с.

5. Айзикович, И.В. Целесообразность проведения профилактической сальпингэктомии у женщин с гидросальпинском перед экстракорпоральным оплодотворением / И.В. Айзикович, Н.Д. Мехова, А.И. Айзикович // Вестник НГУ. – 2007. – Т. 5, Вып. 3. – С. 125-128.

6. Айламазян, Э.К. Проблема охраны репродуктивного здоровья женщин в условиях экологического кризиса / Э.К. Айламазян // Медицинский академический журнал. – 2005. – Т. 5, № 2. – С. 47-58.

7. Айламазян, Э.К. О применении вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), редукции плодов при многоплодной беременности и преимплантационной диагностики наследственных болезней: пособие для врачей / Э.К. Айламазян, В.М. Здановский, В.С. Кормак. – СПб.: Грааль, 2000. – 48 с.

8. Аксененко, В.А. Воспаление половых органов и профилактика репродуктивных потерь / В.А. Аксененко. – Ставрополь: Ставроп. гос. мед. акад. – 2000. –124 с.

9. Александрова, В.А., Рябчук Ф.Н. Полиокисдоний в комплексной терапии вторичных иммунодефицитов у детей / В.А. Александрова, Ф.Н. Рябчук // Механизм действия и клиническое применение полиоксидония. – М.: НПО «Петровакс Фарм». – 2004. – С. 46-50.

10. Альбумин сыворотки крови / под ред. Грызунова, Г.Е. Добрецова. – М: Ириус, 1994. – 226 с.

11. Аракелян, М.А. Дефекты местного иммунитета при хронических инфекционных заболеваниях нижних отделов женского репродуктивного тракта и возможности коррекции ликопидом / М.А. Аракелян, О.В. Галкина, А.А. Нестеров // Российский иммунологический журнал. – 2007. – Т.1, № 10. – С. 56-61

12. Ахметова, Е.С. Диагностическое значение цитокинов и роль хронического эндометрита при пролиферативных заболеваниях эндометрия / Е.С. Ахметова, Т.Е. Белокриницкая, Ю.А. Витковский // Проблемы репродукции. – 2013. – № 1. – С. 78-85.

13. Бантыш, Б.Б. Иммуноморфологические особенности эпителиально-стромальных взаимоотношений при железистой гиперплазии эндометрия: автореф. дис. … канд. мед. наук / Б.Б. Бантыш. – М., 2011. – 31 с.

14. Баова, А.Б. Этические проблемы новых репродуктивных технологий (на примере ЭКО) / А.Б. Баова, О.В. Суворина, И.И. Гериханов // Bull. of Med. Int. Conferences. – 2014. – Vol. 4. – P. 554.

15. Баранов, В.С. Пренатальная диагностика в акушерстве: современное состояние, методы, перспективы: метод. пособие / В.С. Баранов, Т.В. Кузнецова, В.Г. Вахарловский. – СПб.: Изд-во Н-Л, 2002. – 63 с.

16. Бережная, Н.М. Иммунология злокачественного роста / Н.М. Бережная Н.М., В.Ф. Чехун. – Киев: Наукова Думка. – 2005. – 791 с.

17. Богданова, М.А. Особенности диагностики гиперплазии эндометрия и хронического эндометрита как причин маточной формы бесплодия / М.А. Богданова, И.А. Токарева // Тольятинский мед. консилиум. – 2010. – № 2. – 48-51.

18. Боровиков, В.П. Статистический анализ и обработка данных в среде Windows / В.П. Боровиков, И.П. Боровиков. – М.: Филинъ, 1997. – 608 с.

19. Борисова, М.А. Хорионический гонадотропин человека: неизвестное об известном / М.А. Борисова, Д.Ю. Моисеенко, О.В. Смирнова // Журнал Физиология человека. – 2017. – Т. 43, № 1. – С. 97-110.

20. Борцвадзе, Ш.Н. Значение офисной гистероскопии в диагностике маточного фактора бесплодия и лечение таких больных / Ш.Н. Борцвадзе, Т.А. Ажибладзе, А.И. Ишенок // Рос. вестник акушера-гинеколога. – 2012. – № 5. – С. 53-56.

21. Вартанян, Э.В. Причины неудач ЭКО (обзор литературы) / Э.В. Вартанян, И.В. Айзикович, А.Р. Антонов // Проблемы репродукции. – 2010. – № 3. – С. 57-61.

22. Вартанян, Э.В. Роль сочетанной патологии в неудачных протоколах ЭКО / Э.В. Вартанян, Е.Ю. Мартышкина, К.А. Цатурова // Акушерство, гинекология, репродукция. – 2011. – Т. 5, № 4. – С. 40-43.

23. Васина, Т.Н. Клиническая диагностика наследственных заболеваний у детей / Т.Н. Васина, Т.И. Зубцова, С.Н. Ставцева // Акушерство, гинекология, репродукция. – 2008. – № 3. – С. 87-90.

24. Вахарловский, В.Г. Об обмене опытом в области пренатальной диагностики врожденных и наследственных заболеваний / В.Г. Вахарловский, Т.К. Кащеева, Е.В. Иванова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2007. – Т. 36, Вып. 1. – С. 153-155.

25. Веселов, А.В. Спирамицин в гинекологии и акушерстве: эффективность плюс безопасность / А.В. Веселов // Фарматека. – 2005. – № 19. – С. 46-51.

26. Взгляд репродуктолога на преодоление бесплодия у пациенток с генитальным эндометриозом / В.К. Чайка, В.В. Луцик, М.В. Попова и др. // Медико-социальные проблемы семьи. – 2017. – № 2. – С. 93-96.

27. Возможности неинвазивной оценки состояния ооцита и эмбриона при проведении программ ВРТ по профилю экспрессии мРНК факторов роста в фолликулярной жидкости / В.Ю. Смольникова, Е.А. Калинина, О.Е. Краснощека и др. //Акушерство и гинекология. – 2014. – № 9. – С. 36-43.

28. Воропаева, Е.Е. Иммунно-эндокринные взаимодействия и процессы.клеточного обновления в эндометрии при синдроме потери беременности ранних сроков инфекционно-воспалительного генеза / Е.Е. Воропаева, Е.Л. Казачков, Э.А. Казачкова // Вестник новых медицинских технологий. – 2010. – Т. 17, № 4. – С. 158-161.

29. Выренков, Ю.Е. Комплексная NO- и лимфатическая терапия в клинической практике / Ю.Е. Выренков, А.В. Есипов, В.И. Москаленко. – М.: 2011. – 150 с.

30. Гзгзян, А.М. Аутоиммунный гипогонадизм и репродуктивное здоровье мужчины / А.М. Гзгзян, Л.Х. Джемлиханова, Д.А. Ниаури // Клиническая патофизиология. – 2018. – Т.24. - № 4. – С. 51-55.

31. Глазкова, Л.К. Клинико-иммунологические критерии развития нарушений репродуктивной системы у женщин с генитальной хламидийной инфекции / Л.К. Глазкова, Н.М. Герасимова // ЗППП. – 1997. – № 2. – С. 18-20.

32. Глякин, Д.С. Провоспалительные цитокины у больных раком эндометрия / Д.С. Глякин, А.В. Самойлов, А.Г. Гунин // Проблемы репродукции. – 2012. – № 1. – С. 35-37.

33. Горбачева, Т.И. Клинические предикторы родов в программах вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с хроническим эндометритом / Т.И. Горбачева, Е.А. Маркова, Т.А. Кузнецова // Мать и дитя в Кузбассе. – 2013. – № 4 (55). – С. 24-30.

34. Грызунов Ю.А. Альбумин сыворотки крови в клинической медицине / Ю.А. Грызунов, Г.Е. Добрецов // Анестезиология и реаниматология. – 2004. – № 6. – С. 68-74.

35. Данусевич, И.Н. Частота встречаемости хронического эндометрита у женщин с различными вариантами репродуктивных нарушений / И.Н. Данусевич // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2013. – № 4 (92). – С. 18-20.

36. Данусевич, И.Н. Изменение основных звеньев иммунитета у женщин с хроническим эндометрита и репродуктивными нарушениями / И.Н. Данусевич, Л.С. Козлова, Л.В. Сутурина // Бюллетнь ВСНЦ СО РАМН. – 2010. – № 6 (76). – С. 54-56.

37. Данусевич, И.Н. Частота встречаемости хронического эндометрита у женщин с различными вариантами репродуктивных нарушений / И.Н. Данусевич // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2013. – № 4 (92). – С. 18-20

38. Долгушина, Н.В. Методология научных исследований в клинической медицине / Н.В. Долгушина, С.В. Грачев, Д.А. Воронов, Н.Е. Кан, Е.А. Калинина, М.П. Шувалова, В.Л. Тютюнник, Г.Т. Сухих. – М.: Гэотар-Медиа. – 2016. – 112 с.

39. Доброхотова, Ю.Э. Модулирование локальной экспрессии факторов врожденного иммунитета пациенток с хроническим эндометритом и бесплодием / Ю.Э. Доброхотова, Л.В. Ганковская, Е.И. Боровкова, З.С. Зайдиева, В.С. Скальная // Акушерство и гинекология. – 2019. - № 5. – С. 125-132.

40. Жаркова, Л.П. Возможности спирамицина в лечении урогенитальных инфекций у женщин репродуктивного возраста: взгляд клинического фармаколога / Л.П. Жаркова // Consilium medicum. – 2011 – № 6. – С. 27-32.

41. Зайнетдинова, Л.Ф. Восстановление репродуктивной функции у женщин с турбо-перитонеальным бесплодием, ассоциированным с актуальными генитальными инфекциями // Вестник ЮУрГУ. – 2010. – № 6. – С. 33-36.

42. Зорин, Н.А. Эволюция и механизмы реализации регуляторной системы белков семейства макроглобулинов / Н.А. Зорин, В.Н. Зорина // Успехи современной биологии. – 2013. – № 3. – С. 284.

43. Зорина, В.Н. Комплексы альфа2-макроглобулина с антителами класса G, плазмином и их взаимосвязь с другими факторами гуморального иммунитета при развитии ревматоидного артрита / В.Н. Зорина, Н.А. Трофименко, С.В. Архипова // Медицинская иммунология. – 2005. – Т. 7, № 5-6. – С. 557-562.

44. Иванов, И.А. Цитокины макрофагального звена при эндометриозе / И.А. Иванов, Б.Л. Цивьян, Д.А. Вологжанин // Цитокины и воспаление. – 2013. – № 1. – С. 48-52.

45. Карр, Б. Руководство по репродуктивной медицине / Б. Карр, Р. Блэкуэлл, Р. Азиз; пер. с англ. под общей ред. И. В. Кузнецовой. – М.: Практика, 2015. – 832 с.

46. Калинина, Е. Андр. Резервы повышения эффективности экстракорпорального оплодотворения при лечении бесплодия у женщин с гинекологическими заболеваниями: автореф. дис. …д-ра. мед. наук: 14.00.01 / Е.А. Калинина. – Санкт-Петербург, 2005. – 266 с.

47. Клигуненко, Е.Н. Человеческий сывороточный альбумин (прошлое и будущее) / Е.Н. Клигуненко, О.А. Зозуля // Медицина неотложных состояний. – 2017. – № 5. – С. 26-29.

48. Корнеева, И.Е. Эффективность лечения бесплодия в амбулаторных условиях / И.Е. Корнеева // Акушерство и гинекология. – 2002. – № 1. – С. 13-17.

49. Коробков, Д. М. Трубно-перитонеальное бесплодие у женщин репродуктивного возраста и его клинико-факторный анализ [Электронный ресурс] // Бюллетень науки и практики. – 2016. – № 12. – С. 186-189. – Режим доступа: http://www.bulletennauki.com/korobkov-dm (дата обращения 15.06.2017)

50. Корсак, В.С. От опытов с искусственным оплодотворением кроликов до вспомогательных репродуктивных технологий / В.С. Корсак // Журнал акушерства и женских болезней. – 2004. – Т. 32, Вып. 1. – С. 31-36.

51. Корсак, В.С. Исследования эндометрия у пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием на этапе подготовки к ЭКО / В.С. Корсак, О.В. Забелкина, Э.В. Исакова // Проблемы репродукции. – 2005. – Т. 11, № 2. – С.39-41.

52. Краснопольская, К.В. Лечение бесплодия при эндометриозе: взгляд репродуктолога / К.В. Краснопольская. – М.: Медпресс-информ. – 2019. – 112 с.

53. Краснопольская, К. В. Клинические аспекты лечения бесплодия в браке / К. В. Краснопольская, Т. А. Назаренко. – М.: ГЭОТАР–Медиа. – 2013. – 376 с.

54. Крутова, В.А. Причины женского бесплодия: обзор литературы / В.А. Крутова, Б.Г. Ермошенко // Успехи современного естествознания. – 2005. – № 11. – С. 16-19.

55. Краснопольский, В. И. Влияние инфекций на репродуктивную систему женщин / В.И. Краснопольский, О.Ф. Серова, В.А. Туманова // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2004. – № 5. – С. 12-18.

56. Куджоян, Л.С. Современные клинико-диагностические критерии поликистозных яичников: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.01 / Л.С. Куджоян. – Ереван, 2009. – 26 с.

57. Кузьмичев, Л.Н. Диагностика и коррекция инфекционного статуса супружеских пар в программе ЭКО / Л.Н. Кузьмичева, В.И. Кулаков, В.Н. Прилепская // Практическая гинекология: клинические лекции / под ред. В.И. Кулакова. – М.: МЕДпресс-информ. – 2001. – С. 424-436.

58. Кулаков, В.И. Экстракорпоральное оплодотворение и его новые направления в лечении женского и мужского бесплодия (теоретические и практические подходы): рук. для врачей / В.И. Кулаков, Б.В. Леонов. – М.: Мединформ, 2004. – 782 с.

59. Кулаков, В.И. Структура женского бесплодия и прогноз восстановления репродуктивной функции при использовании современных эндоскопических методов / В.И. Кулаков Ф.А. Маршани, Т.А. Назаренко // Акушерство и гинекология. – 2001. – № 3. – С. 33-36.

60. Лакин, Г.Ф. Биометрия : учеб. пособие / Г.Ф. Лакин. – М.: Высшая школа, 1980. – 293 с.

61. Лебедев, В.А. Современные принципы терапи и больных с хроническим эндометритом / В.А. Лебедев, В.М. Пашков, И.А. Клиндухов // Трудный пациент. – 2012. – Т. 10, № 5. – С. 44-51.

62. Лысенко, О.В. Характеристика женщин, направленных на ЭКО, причины неудач, медико-социальная характеристика женщин направленных на ЭКО и анализ неудачных попыток / О.В. Лысенко, И.В. Смирнова // Вестник ВГМУ. – 2010. – Т. 9, № 2. – С.1-7.

63. Магомедова, З.А. Эндолимфатическая лекарственная терапия с лазерным облучением полости матки в комплексном лечении острого эндометрита: автореф. дис. … канд. мед. наук / З.А. Магомедова. – М., 2007. – 22 с.

64. Макаров, И.О. Онкологические аспекты гиперпластических процессов в эндометрии / И.О. Макаров, Т.В. Овсянникова, Н.А. Шешукова // Рос. вестн. акушера-гинеколога. – 2011. – № 1. – С. 13-26.

65. Мамедалиева, Н.М. Современные аспекты синдрома поликистозных яичников: обзор литературы / Н.М. Мамедалиева, В. Грушевский, Г.М. Суюмбаева // Вестник КазНМУ. – 2015. – № 2. – С.23-27.

66. Манухин, И.Б. Хронический эндометрит и невынашивание беременности / И.Б. Манухин, Н.А. Семенцова, Ю.Ю. Митрофанова, Л.Ю. Лившиц // Медицинский совет. – 2018. - № 7. – С.46-49.

67. Матвеева, Т.Е. Вопросы патогенеза и профилактики синдрома потери плода у беременных с тромбофилией: автореф. дис….канд. мед. наук / Т.Е. Матвеева. – М., 2002. – 25 с.

68. Мельник, О.Н. Этические принципы суррогатного материнства: pro et contra / О.Н. Мельник // Bull. of Med. Int. Conferences. – 2014. – Vol. 4. – P. 558.

69. Мингалева, Н.В. Гинекологическая заболеваемость и амбулаторно-поликлиническая помощь женщинам / Н.В. Мингалева // Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. – 2007. – № 5. – С. 12-15.

70. Назаренко, Т.А. Значение оценки овариального резерва в лечении бесплодия у женщин старшего репродуктивного возраста / Т.А. Назаренко // Проблемы репродукции. – 2005. – № 2. – С.

71. Назаренко, Т.А. Стимуляция функции яичников / Т.А. Назаренко. – М.: МЕДпресс, 2015. – 272 с.

72. Насонов, Е.Л. Современные подходы к профилактике и лечению антифосфолипидного синдрома / Е.Л. Насонов // Тер. архив. – 2003. – № 5. – С. 83-87.

73. Овчарук, Э.А. Хронические аутоиммунные эндометриты: диагностика и лечение / Э.А. Овчарук, К.А. Хадарцева, В.Л. Овчарук // Вестник новых медицинских технологий. – 2013. – № 1. – С. 10-13.

74. Печеникова, В.А. Эндометриоидная болезнь: вопросы патогенеза, клиники, диагностики и лечения: дис. ...д-ра мед. наук. – СПб. – 2011. – 348 с.

75. Попов, Э.Н. Диагностика патологии полости матки у больных, страдающих трубно-перитонеальной формой бесплодия / Э.Н. Попов, В.С. Корсак, Э.В. Исакова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2005. – № 3. – С. 50-53.

76. Прилепская, В.Н. Генитальные инфекции и патологии шейки матки: курс лекций / В.Н. Прилепская, Е.Б. Рудакова. – Омск. – 2004. – 212 с.

77. Радионченко, А.А. Клинико-эпидемиологическое исследование репродуктивного здоровья городского и сельского населения Томской области / А.А. Радионченко, О.С. Филиппов // Бюл. сиб. мед. – 2002. – Т. 1, № 4. – С. 7-9.

78. Радзинский, В.Е. Провоспалительные цитокины и их роль в генезе привычного невынашивания беременности / В.Е. Радзинский, К.В. Бондаренко, М.А. Союнов // Акушерство и гинекология. – 2005. – № 5. – С. 48-57.

79. Регистр ВРТ РАРЧ. Отчет за 2015 год // Проблемы репродукции. – 2016. – Т. 22, № 5. – С. 8-21.

80. Регистр ВРТ РАРЧ. Отчет 2016 год // Проблемы репродукции. – 2018. – Т.24, № 6. – С.8-21.

81. Ресненко, А.Б. Нейроиммуноэндокринные взаимодействия: гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальная система в условиях воспаления: дис. … канд. мед. наук / А.Б. Ресненко. – М., 2004. – 89 с.

82. Рудакова, Е.Б. Внутриматочная патология: клиника, гистероскопическая диагностика и лечение / Е.Б. Рудакова, Т.Ю. Куриленко, В.В. Давыдов. – М., 2012. – 80 с.

83. Рудакова, Е.Б. Возможности повышения результативности вспомогательных репродуктивных технологий / Е.Б. Рудакова, Е.В. Полторака, А.А. Лузин // Вестник НГУ. – 2009. – Т. 7., Вып. 2. – С. 20-25.

84. Самойлова, В.В. Некоторые мифы о применении вспомогательных репродуктивных технологий / В.В. Самойлова // Семейное и жилищное право. – 2011. – № 2. – С. 25-36.

85. Самойлова, В.В. Российское и зарубежное семейное законодательство о применении вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) / В.В. Самойлова // Семейное и жилищное право. – 2010. – № 3. – С. 7-10.

86. Сахаров, В.Н. Нестабильность конформации белка – общий компонент патогенеза болезней человека / В.Н. Сахаров, П.Ф. Литвицкий // Вестник РАМН. – 2016. – Т. 71. – С. 46-51.

87. Серебренникова, К.Г. Диагностика и клинические критерии хронического эндометрита / К.Г. Серебренникова, Н.А. Арутюнян, А.И. Алехин // Гинекология. – 2018. – № 6. – С. 53-59.

88. Серебренникова, К.Г. Новое в диагностике и терапии хронического эндометрита при бесплодии / К.Г. Серебренникова, И.И. Бабиченко, Н.А. Арутюнян // Гинекология. – 2019. – № 1. – С. 14-18.

89. Серов, В.Н. Акушерская патология и синдром системного воспалительного ответа / В.Н. Серов // Русский медицинский журнал. – 2004. – Т. 12, №13. – С. 741-742.

90. Сидельникова, В.М. Привычная потеря беременности / В.М. Сидельникова. – М., 2005. – 303 с.

91. Сидорова, И.С. Патогенез и патологически обоснованная терапия хронического эндометрита (клиническая лекция) / И.С. Сидорова, И.О. Макаров, А.Л. Унанян // Акушерство, гинекология, репродукция. – 2010. – Т. 4, № 3. – С. 21-24.

92. Сизякина, Л.П. Место иммунокорригирующей терапии в лечении хронического рецидивирующего эндометрита / Л.П. Сизякина, Н.Г. Алубаева // Доктор Ру. – 2011. – № 9. – С. 43-49.

93. Синдром поликистозных яичников / под ред. И.И. Дедова, Г.А. Мельниченко. – М.: Мединформ, 2007 – 370 с.

94. Сметник, В.П. Неоперативная гинекология: рук-во для врачей / В.П. Сметник, Л.Г. Тумилович. – 3 изд. – М.: Мединформ, 2002. – 591 с.

95. Смирнова, И.В. Профилактика гнойных воспалительных заболеваний придатков матки с помощью иммуномодулятора «Ликопид»/ И.В. Смирнова // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2004. – № 2. – С. 25-28.

96. Сорокина, А.В. Роль системы врожденного иммунитета в патогенезе аденомиоза / А.В. Сорокина, В.Е. Радзинский, С.Г. Морозов // Гормонально – ассоциированные заболевания репродуктивной системы: от новых научных концепций к тактике ведения: материалы Всерос. конф. – М., 2011. – С. 42.

97. Сорокина, Т.В. Суррогатное материнство: понятие и критерии его определения / Т.В. Сорокина // Вест. Волгого. Гос. Ун-та. – 2010. – № 2. – С. 214-217.

98. Сотникова, Н.Ю. Нарушения системных реакций врожденного иммунитета у пациенток с бесплодием и эндометриозом I-II стадии и возможность их коррекции препаратом Ликопид / Н.Ю. Сотникова, Ю.С. Анциферова, А.И. Малышкина // Иммунология. – 2016. – Т.37, № 1. – С. 17-21.

99. Струкова, С.А. Перинатальные исходы у пациенток после экстракорпорального оплодотворения / С.А. Струкова, Т.В. Павлова // Вестник БГУ. – 2013. – № 1. – С. 15-20.

100. Сухих, Г.Т. Пролиферативная активность и апоптоз в гиперплазированном эндометрии / Г.Т. Сухих, Г.Е. Чернуха, В.П. Сметник // Акушерство и гинекология. – 2005. – № 5. – С. 25-29.

101. Сухих, Г.Т. Хронический эндометрит / Г.Т. Сухих, А.В. Шуршалина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 189 с.

102. Тапильская, Н.И. Применение Вильпрафена у пациенток с бесплодием и привычным невынашиванием беременности на этапах прегравидарной подготовки / Н.И. Тапильская // Трудный пациент. – 2010. – Т. 8, № 1-2. – С. 13-18.

103. Таюкина, И.П. Морфофункциональное состояние эндометрия и экспрессия рецепторов половых стероидных гормонов у пациенток с бесплодием / И.П. Таюкина, Л.Р. Мустафин, О.А. Тихоновская // Сиб. мед. журнал. – 2010. – Т. 25., № 4-2. – С. 110-112.

104. Тишкевич, О.Л. Эффективность ЭКО и частота многоплодной беременности в зависимости от числа и качества переносимых эмбрионов у женщин разного возраста / О.Л. Тишкевич // Проблемы репродукции. – 2008. – № 2. – С 24-28.

105. Унанян, А.Л. Хронический эндометрит: этиопатогенез, диагностика, клинка и лечение. Роль антифиброзирующей терапии / А.Л. Унанян, Ю.М. Коссович // Лечащий врач. – 2012. – № 11. – С. 35-40.

106. Федоровский, Н.М. Непрямая электрохимическая детоксикация / Н.М. Федоровский. – М.: Медицина, 2004. – 144 с.

107. Федотова, А.С. Разработка прогностических критериев развития атипической гиперплазии эндометрия: автореф. дис. … канд. мед. наук / А.С. Федотова. – М., 2012. – 22 с.

108. Фрейдлин, И.С. Взаимосвязи врожденного и приобретенного иммунитета при инфекциях (ревизия классических догм) / И.С. Фрейдлин // Инфекция и иммунитет. – 2011. – Е.1, № 3. – С. 199-206.

109. Хайдарова, Ф.А. Взаимосвязь цитокинов с уровнем антимюллерового фактора при синдроме поликистозных яичников / Ф.А. Хайдарова, Д.А. Мусаходжаева, С.А. Музафарова // Цитокины и воспаление. – 2009. – Т. 8 – № 4. – С. 50-56.

110. Харламов, Е.А. Иммунологические аспекты патогенеза и терапии хронических воспалительных заболеваний матки и ее придатков: автореф. дис. … канд. мед. наук / Е.А. Харламов. – М., 2007. – 18 с.

111. Хашукоева, А.З. Хронический эндометрит – проблема и решения / А.З.Хашукоева, Е.А. Цомаева, Н.Д. Водяник // Гинекология. Колоквиум. – 2012. – № 3. – С. 34-38.

112. Чернеховская, Н.Е. Лимфатическая терапия в практической медицине / Н.Е. Чернеховская, В.К. Шишко, В.Г. Андреев. – М.: МЕДпресс-информ. – 2011. – 66 с.

113. Чернуха, Г.Е. Гиперплазия эндометрия: перспективы развития проблемы / Г.Е. Чернуха // Акушерство и гинекология. – 2009. – № 4. – С. 11-16.

114. Шахова, М.А. Вспомогательные репродуктивные технологии в лечении тяжелых форм мужского бесплодия / М.А. Шахова // НМЖ. – 2005. – № 4. – С. 101-106.

115. Шешукова, Н.А. Роль воспалительного фактора в опухолевой трансформации эндометрия / Н.А. Шешукова, Т.Д. // Гинекология. – 2014. – № 3. – С. 57-59.

116. Шиганцова Н.В. Проблемы бесплодия у молодых женщин: обзор литературы / Н.В. Шиганцова, В.А. Пушкарь // Вестник общественного здоровья и здравоохранения Дальнего Востока России. – 2016. – С. 21-24.

117. Шманева, И.А. Системная цитотерапия в комплексном лечении воспалительных заболеваний органов малого таза: автореф. дис. … канд. мед. наук / И.А. Шманева. – Курск, 2008. – 22 с.

118. Шрамко, С.В. Взаимосвязь экспрессии генов стероидных рецепторов в тканях матки и сывороточных концентраций иммунорегуляторных белков, цитокинов, половых стероидов при пролиферативных заболеваниях / С.В. Шрамко, В.Н. Зорина, Н.А. Зорин // Медицинская иммунология. – 2018. – Т. 20, №5. − С.731-738.

119. Шуршалина, А.В. Хронический эндометрит у женщин с патологией репродуктивной системы: автореф. дис. … д-ра мед. наук. – М. 2007. – 38 с.

120. Шуршалина, А.В. Хронический эндометрит: современные взгляды на проблему / А.В. Шуршалина // Consilium medicum. – 2011. – Т. 13, № 6. – 36-39.

121. Ярема, И.В. Локальная лимфотропная иммунотерапия как новый подход к лечению хронического эндометрита / И.В. Ярема, Ш.М. Гайнулина, А.И. Марченко // Вестник лимфологии. – 2013. – № 4. – С. 18-24.

122. Ярема, И.В. Центральные отделы лимфатической системы как точка приложения иммунореанимационных мероприятий / И.В. Ярема, Б.М. Уртаев, В.В. Евдокимов // IV съезд лимфологов в России. – М.: Проспект, 2011. – С. 194.

123. Ярилин, А.А. Иммунология: учебник для ВУЗов / А.А. Ярилин. – М.: Геотар-Медиа, 2010. – 752 с.

124. Achache, H. Endometrial receptivity markets / Achache H. // J Succes Embryo Impant – 2006. – Vol. 12 (6). – P. 52-59.

125. Acute phase response and interleukin-6 after operative laparoscopy and microsurgery in gynecology / K. Drews, K. Szymanowski, J. Skrzypczak et all. // Ann N Y Acad Sci. – 1995. – Vol. 762. – P. 505-507.

126. Agacayak, E. Levels of Neopterin and other Inflammatory Markers in Obese and Non-Obese Patients with Polycystic Ovary Syndrome / E. Agacayak, S. Y. Tunc, S. Sak // Med Sci Monit. – 2015. – Voi. 22, N 21. – P. 2446-2455.

127. Agarwal, A. Role of oxidative stress in female reproduction / A. Agarwal, S. Gupta, R.K. Sharma // Reprod Biol Endocrinol. – 2005. – N 3. – P. 28.

128. Ahima, R.S. Leptin accelerates the onset of puberty in normal female mice / R.S. Ahima, J. Dushay, S.N. Flier // J Clin Invest. – 1997. – Vol. 99. – P. 391-395.

129. Ahima, R.S. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting / R.S. Ahima, D. Prabakaran, C. Mantzoros // Nature. – 1996. – Vol. 382. – P. 250-252.

130. Akira, S. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity / S. Akira, K. Takeda, T. Kaisho // Nature Immunology. – 2001. – Vol. 2 (8). – P. 675-680.

131. Albers, S. Detection of neonatal carnitine palmitoyltransferase II deficiency by expanded newborn screening with tandem mass spectrometry / S. Albers // Pediatrics. – 2001. – Vol. 107. – P. 1417-1418.

132. Arora, S. Endocrinal and autoimmune linkage: Evidences from a controlled study of subjects with polycystic ovarian syndrome / S. Arora, K. Sinha, S. Kolte // J. Human Reproductive Sciences. – 2016, – Vol. 9, N 1, P. 18-22.

133. Artini, P.G. Vascular endothelial growth factor, interleukin-6 and interleukin-2 in serum and follicular fluid of patients with ovarian hyperstimulation syndrome / P.G. Artini, M. Monti, A. Fasciani // Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. – 2002. – Vol. 101, N 2. – P. 169-174.

134. Asherman, J.C. Traumatic intra-uterine adhesions / J.C. Asherman // The J of Obstetrics and Gynaecology of the British Empire. – 1950. – Vol. 57, № 6. – P. 892-896.

135. Ayroldi, E. Targeting glucocorticoid side effects: selective glucocorticoid receptor modulator or glucocorticoid-induced leucine zipper? / E. Ayroldi, A. Macchiarulo, C. Riccardi // FASEB J. – 2014. – Vol. 9. – P. 14-20.

136. Azziz, R. Adenomyosis: current perspectives / R. Azziz // Obstet gynecol clin north am. –1989. – Vol. 16. – P. 221-235.

137. Bahamondes, L. Infertility care and the introduction of new reproductive technologies in poor resource settings / L. Bahamondes, M.Y. Makuch // Reprod Biol Endocrinol. – 2014. – Sep 8. – P. 12-87.

138. Banks, W.A. Passage of cytokines across t he blood-brain barrier / W.A. Banks, A.J. Kastin // Neuroimmunomodulation. – 1995. – Vol. 2. – P. 241-248.

139. Barak, V. Clinical utility of cytokeratins as tumor markers / V. Barak, H. Goike, K.W. Panaretakis, R. Einarsson // Clin Biochem. – 2004. – Vol. 37, N 7. – P.529-540.

140. Barbosa, C.P. The effect of hormones on endometriosis development / C.P. Barbosa, A.M. Bentes De Souza, B. Bianco, D. Christofolini // Minerva ginecologica. 2011. – Vol. 63, N 4. – P. 375-386.

141. Barnes, A. Efficacy and safety of intrauterineinsemination and assisted reproductive technology in populations serodiscordant for human immunodeficiency virus: a systematic review and meta-analysis / A. Barnes, D. Riche, L. Mena // Fertil Steril. – 2014. – Vol. 102(2). – P. 424-434.

142. Beck-Fruchter, R. Rescueintracytoplasmic sperm injection: a systematic review / R. Beck-Fruchter, M. Lavee, A. Weiss // Fertil Steril. – 2014. – Mar;101 (3). – P. 690-698.

143. Beguería, R. Paternal age and assisted reproductive outcomes in ICSI donor oocytes: is there an effect of older fathers? / R. Beguería, D. García, A. Obradors // Hum Reprod. – 2014. – Vol. 29 (10). – 2114-2122.

144. Behr, B. Factors relating to a successful cryopreserved blastocyst transfer program / B. Behr, J. Gebhardt, J. Lyon // Fertil Steril. – 2002. – Vol. 77 (4). – P. 697-699.

145. Bellelis, P. Environmental factors and endometriosis / P. Bellelis, S. Podgaec, M.S. Abrão. // Rev Assoc Med Bras. – 2011. –Vol. 57, N 4. – P. 448-452

146. Benaglia, L. Asymptomatic adenomyosis and embryo implantation in IVF cycles / L. Benaglia, L. Cardellicchio, M. Leonardi // Reprod Biomed Online. – 2014, Vol. 29, N 5. – P. 606-611.

147. Berga, S.L. Bone health and therapy for endometriosis revisited / S.L. Berga // Fertil Steril. – 1996. – Vol. 65, N 4. – P. 702-703.

148. Bergh, C. The success rate in a Swedish in-vitro fertilization unit: a cohort study / C. Bergh, B. Josefsson, L. Nilsson // Acta Obstet Gynecol Scand. 1995. – Vol. 74, N 6. – P. 446-450.

149. Bergholt, T. Prevalence and risk factors of adenomyosis at hysterectomy / T. Bergholt, L. Eriksen, N. Berendt // Hum reprod. – 2001. –Vol. 16. – P. 2418-2421.

150. Berkkanoglu, M. Immunology and endometriosis / M. Berkkanoglu, A. Arici // Am J Reprod Immunol. – 2003. – Vol. 50, N 1. – P. 48-59.

151. Blatteis, S. Role of OVLT in the febrile response to circulating pyrogens / S. Blatteis, E. Sehic // Prog Brain Res. – 1992. – Vol. 91. – P. 409-412.

152. Bonetti T.C.S. и соавт., 2 Bonetti TC, Salomao R, Brunialti M, Braga DP, Borges E Jr, Silva ID Cytokine and hormonal profile in serum samples of patients undergoing controlled ovarian stimulation: interleukin-1beta predicts ongoing pregnancy / T.C. Bonetti, T.C. Bonetti, R. Salomao // Hum Reprod. – 2010. – Vol. 25, N 8. – P. 2101-2106.

153. Bornstein, S.R. Evidence for a novel peripheral action of leptin as a metabolic signal to the adrenal gland: leptin inhibits cortisol release directly / S.R. Bornstein, K. Uhlmann, A. Haidan // Diabetes. – 1997. – Vol. 99. – P. 1235-1238.

154. Boyle, J.A. Prevalence of polycystic ovary syndrome in a sample of Indigenous women in Darwin, Australia / J.A. Boyle, J. Cunningham, K. O'Dea // Med J. – 2012. – Vol. 16. – P. 62-66.

155. Bradsbaw, C.S. Persistence of Mycoplasma genitalium following azithromycin therapy / C.S. Bradsbaw, M.Y. Chen, C.K. Fairley // PLoS One. – 2008. – Vol. 3 (11). – P. 36-39.

156. Bristulf, J. Interleukin-1 β and tumor necrosis factor-α stimulate the mRNA expression of interleukin-1 receptors in mouseanterior pituitary AtT-20 cells / J. Bristulf, T. Bartfal // Neurosci Lett. – 1995. – Vol. 187. – P. 53-56.

157. Bryant, A.G. Crisis pregnancy center websites: Information, misinformation and disinformation / A.G. Bryant, S. Narasimhan, K. Bryant-Comstock // Contraception. – 2014. – Jul 12. – Vol. 7824(14). – P. 565-574.

158. Buckeley, C.H. Biopsy pathology of the endometrium / C.H. Buckeley. – NY.: Arnold, 2002. – 289 p.

159. Çakıroğlu, Y. The inflammatory markers in polycystic ovary syndrome: association with obesity and IVF outcomes / Y. Çakıroğlu, F/ Vural, B. Vural // J Endocrinol Invest. – 2016. ; 39(8):899-907. doi: 10.1007/s40618-016-0446-4

160. Cakmak, H. Implantation failure: molecular mechanisms and clinical treatment / H. Cakmak, H.S. Taylor // Hum. Reprod. Update. – 2011. – Vol. 17 (2). – P. 242-253.

161. Carmeliet, P. Synergism between vascular endothelial growth factor and placental growth factor contributes to angiogenesis and plasma extravasation in pathological conditions / P. Carmeliet, L. Moons, A. Luttun // Nat. Med. – 2001. - № 5. – P. 575-583.

162. Carvalho, L.F. Minimal and mild endometriosis negatively impact on pregnancy outcome / L.F. Carvalho, A. Below, M. Abrão // Rev Assoc Med Bras. – 2012. – Vol. 58, N 5. – P. 607-614.

163. Ceccaldi, P.F. Unusual synechia at hysterosalpingography: intrauterine fallopian tube after surgical abortion / P.F. Ceccaldi, T. Nguyen, L. Mandelbrot // Fertil Steril. – 2011. – Vol. 95,N 6. – P. 2078-2079.

164. Charan, C. How to Calculate Sample Size for Different Study Designs in Medical Research? / C. Charan, C. Jaykaran, B. Tamoghna // Indian Journal of Psychological Medicine. – 2013. – Vol. 35, N 2. – P. 121-126.

165. Chen, Y. Role of angiogenesis in endometrial repair of patients with severe intrauterine adhesion / Y. Chen, Y. Chang, S. Yao // Int. J. Clin. Exp. Pathol. – 2013. – Vol. 15, N 6. – P. 1343-1350.

166. Cheng, F. Serum vascular endothelial growth factor B is elevated in women with polycystic ovary sindrom and can be descreased with metformin treatment / F. Cheng, L. Zhao, T. Huang // Clin.Endocrinol. – 2016. – Vol. 84, N 3. – P. 386-393.

167. Christoffersen, M. Inflammatory responses to induced infectious endometritis in mares resistant or susceptible to persistent endometritis / M. Christoffersen, E. Woodward, A. Bojesen // BMC Vet Res. – 2012. – Vol. 8. – P. 41.

168. Chrousos, G.P. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation / G.P. Chrousos // N Engl J Med. – 1998. – Vol. 333 (14). – P. 942-943.

169. Cogendez, E. Post-abortion hysteroscopy: a method for early diagnosis of congenital and acquired intrauterine causes of abortions / E. Cogendez, Z.N. Dolgun, I. Sanverdi // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. – 2011. – Vol. 156, N 1. – P. 101-104.

170. Daaloul, W. Epidemiological profile, etiological diagnosis and prognosis of uterine synechias: report of 86 cases / W. Daaloul, N. Ouerdiane, A. Masmoudi // Tunis Med. – 2012. – Vol. 90, N 4. – P. 306-310.

171. De Conto, E. Endometriosis-associated infertility: GDF-9, AMH, and AMHR2 genes polymorphisms / E. De Conto, U. Matte , J.P. Bilibio //. J Assist Reprod Genet. – 2017. – Aug 22.

172. Deforge, L.E. Kinetics of TNF, IL-6 and IL-8 gene expression in LPS-stimulated human whole blood / L.E. Deforge, D.G. Remick // Biochem Biophys Res Commun. – 1995. – Vol. 174. – P. 18-24.

173. D'Hooghe T.M. et al., 2003; Alpay Z., Saed G.M., Diamond M.P., 2006; Gupta S. et al., 2006; Collinet P., 2006.

174. Di Pietro, C. Altered transcriptional regulation of cytokines, growth factors, and apoptotic proteins in the endometrium of infertile women with chronic endometritis / C. Di Pietro, E. Cicinelli, M.R. Guglielmino // Am. J. Repord. Immunol. – 2013. – Vol. 69, № 5. – P. 509-517.

175. Duleba, A.J. Is PCOS an inflammatory process? / A.J. Duleba, A. Dokras // Fertil Steril. – 2012. – Vol. 97, N 1. – P. 7-12.

176. Eckert, L.O. Endometritis: the clinical-pathologic syndrome / L.O. Eckert, S.E. Hawes // Am. J. Obstet Gynecol. – 2002. – Vol. 186, N (4). – P. 690-695.

177. Edelman, S. The Effects of Androgen Deprivation Therapy on Cardiac Function and Heart Failure: Implications for Management of Prostate Cancer / S. Edelman, J. Butler, B.W. Hershatter // Clin Genitourin Cancer. – 2014. – Aug 2. – Eped.

178. Ehrhart-Bornstein, M. Intraadrenal interactions in the regulation of adrenocortical steroidogenesis / M. Ehrhart-Bornstein, J.P. Hinson, S.R. Bornstein // Endocr. Rev. – 1998. – Vol. 19. – P. 101-143.

179. Elci, E. Evalution of cardiac risk markeobese and non-obese patients with polycystic ovaries / E. Elci, C. Kaya, N. Cim // Gynecol. Endocrinol. – 2017. – №33(1). – P. 43-47.

180. Enskog, A. Plasma levels of free vascular endothelial growth factor(165) (VEGF(165)) are not elevated during gonadotropin stimulation in in vitro fertilization (IVF) patients developing ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): results of a prospective cohort study with matched controls / A. Enskog, L. Nilsson, M. Brännström // Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. – 2001. – Vol. 96, N 2. P. 196-201.

181. Epithelial and stromal cells of bovine endometrium have roles in innate immunity and initiate inflammatory responses to bacterial lipopeptides in vitro via Toll-like receptors TLR2, TLR1, and TLR6 / M.L. Turner, J.G. Cronin, G.D. Healey et all. // Endocrinology. – 2014. – Vol. 155. – P. 1453-1465.

182. Ericsson, A. Type 1 Interleukin-1 receptor in the rat brain: distribution, regulation and relationship to sites of IL-1-induced cellular activation / A. Ericsson, C. Liu, R.P. Hart // J Comp Neurol. – 1995. – Vol. 361. – P. 681-698.

183. Evans-Hoeker, E.A. Endometrial receptivity and intrauterine adhesive disease / E.A. Evans-Hoeker, S.L. Young // Semin Reprod Med. – 2014. – Vol. 32 (5). – P. 392-401.

184. Falconer, H. IVF outcome in women with endometriosis in relation to tumour necrosis factor and anti-Müllerian hormone / H. Falconer, J. Sundqvist, K. Gemzell-Danielsson // Biomed Online. – 2009. – Vol. – 18 (4). – P. 582-588.

185. Farrell, P.M. Early diagnosis of cystic fibrosis through neonatal screening prevents severe malnutrition and improves long-term growth / P.M. Farrell, M.R. Kosorok., M.J. Rock // Pediatrics. – 2001. – Vol. 107. – P. 1-3.

186. Fatemi, H.M. In vitro fertilization pregnancy in a patient with proven chronic endomettritis / H.M. Fatemi, E. Popovic-Todorovic, L. Ameryckx // Fertil. Steril. – 2009. – Vol. 91 (4). – P. 1293-1311.

187. Fauque, P. Clinical success of intrauterineinsemination cycles is affected by the sperm preparation time / P. Fauque, P. Lehert, M. Lamotte // Fertil Steril. – 2014. – Vol. 101(6). – 1618-1623.

188. Fazleabas, A.T. Endometriosis-induced changes in regulatory T cells - insights towards developing permanent contraception / A.T. Fazleabas, A. Braundmeier, K. Parkin // Contraception. – 2015. – Vol. 92, N 2. – P. 116-119

189. Fernandez, H. Post-curettage and aspiration synechiae: is there value in an anti-adhesion agent? / H. Fernandez, J.L. Benifla, X. Fritel / H. Fernandez, J.L. Benifla, X. Fritel // J. Gynecol. Obstet Biol. Reprod. – 2012. – Vol. 41, № 2. – P. 8-12.

190. Friend, D.R. Drug delivery for the treatment of endometriosis and uterine fibroids / D.R. Friend // Drug Deliv Transl Res. – 2017. – Aug 21.

191. Gaillard, R. Tumor necrosis factor α inhibits the hormonal response of the pituitary gland to hypothalamic releasing factor / R. Gaillard, D. Turnilll, P. Sappino // Endocrinology. – 1990. – Vol. 127. – P. 101-106.

192. Garcia, L. Adenomyosis: review o f the literature / Garcia L, Isaacson // J Minim Invasive Gynecol. – 2011. – Vol. 18. – P. 428-437.

193. Gazvani, M.R. Follicular fluid concentrations of interleukin-12 and interleukin-8 in IVF cycles / M.R. Gazvani, M. Bates, G. Vince // Fertil Steril. – 2000. – Vol. 74, N 5. – P. 953-958.

194. Gerard, N. The interleuking-1 system and female reproduction / N. Gerard, M. Caillaud, S. Martoriati // Journal of Endocrinology. – 2004. – Vol. 180, N 2. – P.203–212.

195. Geva, E. Autoimmune disorders: another possible cause for in-vitro fertilization and embryo transfer failure / E. Geva, A. Amit, L. Lerner-Geva // Hum Reprod. – 1995. – Vol. 10, N 10. – P. 2560-2563.

196. Glasser, S.R. The endometrium / S.R. Glasser, J. D. Aplin. – Taylor and Francis., 2002. – 203 p.

197. Gleicher, N. Is androgen production in association with immune system activation potential evidence for existence of a functional adrenal/ovarian autoimmune system in women? / N. Gleicher, A. Weghofer, V.A. Kushnir // Reprod Biol Endocrinol. – 2013. – Vol. 11. – P. 58.

198. Goshen, I. The role of endogenous interleukin-1 in stress-induced adrenal activation and a drenalectomy-induced a drenocorticotroric hormone hypersecretion / I. Goshen, R. Yirmiya, K. Iverfaldt K. // Endocrinology. – 2003. – Vol. 144. – P. 4453-4458.

199. Gu, B.X. Abnormal expression of TLRs may play a role in lower embryo quality of women with polycystic ovary syndrome / B.X. Gu, X. Wang, B.L. Yin // Syst Biol Reprod Med. – 2016. – Vol. 62, N 5. – P. 353-358.

200. Haggerty, C.L. Diagnosis and treatment of pelvic inflammatory disease / C.L. Haggerty, R.B. Ness // Womens Health (Lond Engl). – 2008. – Vol. 4, N 4. – P. 383-397.

201. Haoula, Z. Validation of proteomic biomarkers previously found to be differentially expressed in women with polycystic ovary syndrome: a cross-sectional study / Z. Haoula, B. Shaw, C. Daykin // Gynecol Endocrinol. – 2014. – Vol. 30, N 3. – P. 213-216.

202. Harris, M. Taylor G. Medical statistics made easy / M. Harris. – London: Taylor and Francis, 2006. – P. 114.

203. Hauzman, E. Use of biochemical markers to predict the outcome of pregnancies conceived by in vitro fertilization / E. Hauzman, A. Murber, P. Fancsovits // Orv Hetil. – 2006. – Vol. 147, N 30. – P. 1409-1420.

204. Heiman, M.L. Leprin inhibition of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in response to stress / M.L. Heiman, R.S. Ahima, L.S. Craft // Endocrinology. – 1997. – Vol. 138. – P. 3859-3863.

205. Heinonen, P.K. Intrauterine adhesions – Ashermah,s syndrome / P.K. Heinonen // Duodecim. – 2010. – Vol. 126, № 21. – P. 2486-2491.

206. Hifsa, M. Polycystic Ovary Syndrome May Be an Autoimmune Disorder / M. Hifsa, A. Nadeem, K. Muhammad // Scientifica. – 2016. – April.

207. Hoffken, G. Epidemiology of respiratory tract infections / G. Hoffken // Eur. Respir. Rev.–2000.–Vol.71, № 10. – P.149-155

208. Ilioi, E.C. Psychological adjustment in adolescents conceived by assisted reproduction techniques: a systematic review / E.C. Ilion, S. Golombok // Hum Reprod Update. – 2014. – Oct 3. – P. 51-55.

209. International evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome // European Society of Human Reproduction and Embryoloqy. – 2018. – Режим доступа: https://www.eshre.eu/Guidelines-and-Legal/Guidelines/Polycystic-Ovary-Syndrome

210. Jaiyeoba, O. A practical approach to the diagnosis of pelvic inflammatory disease / O. Jaiyeoba, D.E. Soper // Infect Dis Obstet Gynecol. – 2011. – Vol.11. – P. 753- 760.

211. Javed, M. Failed fertilization after clinical intracytoplasmic sperm injection / M. Javed, N. Esfandiari, R. Caspe // Reproductive BioMedicine Online – 2010. – Vol. 20. – P. 56- 67.

212. Johnson-MacAnanny, E.B. Chronic endometritis is a frequent finding in women with recurrent implantation failure after in vitro fertilization / E.B. Johnson-MacAnanny, J. Hartnett // Fertil Steril. – 2010. – Vol. 93. – P. 437-441.

213. Jones, K. Ambulatory gynecology: a new concept in the delivery of healthcare fo r women / K. Jones // Gunecological surgery. – 2006. – Vol. 3, № 3. – P. 153-156.

214. Kariagina, A. Hypothalamic-pituitary cytokine network / A. Kariagina, D. Romanenko, S.G. Ren // Endocrinology. – 2004. – Vol. 145 (1). – P. 104-112.

215. Kennedy, S. H. Localization of Anti-andometrial Antibody Binding in Women with Endometriosis Using a Double-labeling Immunohistochemical Method / S.H. Kennedy, I.L. Sargent, P.M. Starkey // Br. J. Obstet. Gynecol. 1990. Vol. 97. P. 671-674.

216. Kerdelh, B. Activation of the hypothalamo-anterior pituitary corticotrophin-releasing hormone, adrenocorticorticotropin hormone and β-endorphin systems during the estradiol 17 β-induced plasma LH surge in the ovariectomized monkey / B. Kerdelh, G.S. Jones, K. Gordon // J Neurosci Res. – 1995. – Vol. 42. – P. 228-235.

217. Khan, K.N. Changes in tissue inflammation, angiogenesis and apoptosis in endometriosis, adenomyosis and uterine myoma after GnRH agonist therapy / K.N. Khan, M. Kitajima, K. Hiraki // Hum Reprod. – 2010. – Vol. 25, N 3. – P. 642-653.

218. Kielly, M. Pelvic inflammatory disease in virginal adolescent females without tubo-ovarian abscess / M. Kielly, M.A. Jamieson // J Pediatr Adolesc Gynecol. – 2014. – Vol. 27, N 1. –P. 251-256.

219. Kim, T. A randomized, multi-center, clinical trial to assess the efficacy and safety of alginate carboxymethylcellulose hyaluronic acid compared to carboxymethylcellulose hyaluronic acid to prevent postoperative intrauterine adhesion / Kim T., Ahn K.H., Choi D.S // J. Minim. Invasive. Gynecol. – 2012. – Vol. 19, № 6. – P. 731-736.

220. Kitaya, K. Comprehensive endometrial immunoglobulin subclass analysis in infertile women suffering from repeated implantation failure with or without chronic endometritis / K. Kitaya, Y. Tada, T. Hayashi // Am J Reprod Immunol. – 2014. – Vol. 72, N 4. – P. 386-391.

221. Khan, A. Normal Ranges for AcutePhase Reactants (Interleukin-6, Tumour Necrosis factor-alpha (TNF-α) and C-reactive protein (CRP) in umbilical cord blood from healthy term neonates at the Mount Hope Women's Hospital (MHWH), Trinidad.// The West Indian Medical Journal. – 2014. – Vol. 63. – P. 465-469.

222. Kodaman, P.H. Intra-unterine adhesions and fertility outcome: how to optimize success? / P.H. Kodaman, A. Arici // Current Opinion in Obstetrics and Gynaecology. – 2007. – Vol. 19, № 3. – P. 207-214.

223. Kogan, E.A. Molecular and morphological aspects of endometrial receptivity disorders at chronicendometritis / E.A. Kogan, T.A. Demura, V. Vodianoĭ // Arkh Patol. – 2012. – Vol. 74, N 3. – P. 15-17.

224. Kume, T. A possible connection between tumor necrosis factor alpha and adropin levels in polycystic ovary syndrome / T. Kume, M. Calan, O. Yilmaz // Endocrinol Invest. – 2016. – Vol. 39, N 7. – P. 747-754.

225. Legrand, D. Lactoferrin: a modulator of immune and inflammatory responses / D. Legrand, E. Elass, M. // Carpenter. Cell. Mol. Life Sci. – 2005. – Vol. 62. – P. 2549-2559.

226. Lédée, N. New pre-conception immune biomarkers for clinical practice: interleukin-18, interleukin-15 and TWEAK on the endometrial side, G-CSF on the follicular side / N. Lédée, M. Petitbarat, M. Rahmati // J Reprod Immunol. – 2011. – Vol. 88, N 2. – P. 118-122.

227. Lees, C.M. Neonatal screening for sickle cell disease / C.M. Lees, S. Davies // Cochrane Database Syst Rev. – 2000. – Vol. 2. – P. 1913-1914.

228. Li, M. Pregnancy with oocytes characterized by narrow perivitelline space and heterogeneous zona pellucida: is intracytoplasmic sperm injection necessary? / M. Li, S.Y. Ma, H.J. Yang // J Assist Reprod Genet. – 2014. – Vol. 31, N 3. – P. 285-294.

229. Liang, P.Y. The pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokine profile in peripheral blood of women with recurrent implantation failure / P.Y. Liang, L.H. Diao, C.Y. Huang // Reprod Biomed Online. – 2015. – Vol. 31, N 6. – P. 823-826.

230. Licinio, J. Human leptin levels are pulsatile and inversely related to pituitary-adrenal function / J. Licinio, C. Mantzoros, A.B. Negrso // Nat Med. – 1997. – Vol. 3. – P. 575-579.

231. Lingling, G. High Serum Tumor Necrosis Factor-Alpha Levels in Women with Polycystic Ovary Syndrome / G. Lingling, G. Yangu, Y. Xianghua Yin // A Meta-Analysis. PLOS ONE. – 2016. – P. 20.

232. Lucena, E. Immune abnormalities in endometriosis compromising fertility in IVF-ET patients / E. Lucena, J. Cubillos // J Reprod Med. – 1999. – Vol. 44, N 5. – P. 458-464.

233. Maheshwari, A. Is frozen embryo transfer better for mothers and babies? Can cumulative meta-analysis provide a definitive answer? / A. Maheshwari, S. Pandey, R. Amalraj // Hum Reprod Update. – 2017. – Vol. 13. – P. 11-24.

234. Malizia, B. A. The human ovarian follicular fluid level of interleukin-8 is associated with follicular size and patient age / B.A. Malizia, Y.S. Wook, A.S. Penzias // Fertility and Sterility. – 2010. – Vol. 93, N 2. – P. 537-543.

235. March, W.A. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria / W.A. March, V.M. Moore, K.J. Willson // J. Hum Reprod. – 2010. – Vol. 25, N 2. – P. 544-551.

236. Matkovic, V. Gain in body fat is inversely related to the nocturnal rise in serum leptin levels in young females / V. Matkovic , J.Z. Ilich, N.E. Badenhop // J Clin Endocrinol Metab. – 1997. – Vol. 82. – P. 1368-1372.

237. Maxia, N. Can unexplained infertility be evaluated by a new immunological four biomarkers panel? A pilot study / N. Maxia, S. Uccella, V. Ersettigh // Minerva Ginecol. – 2017. – Oct 9. – 144-152.

238. Michael, J. Surendran Sabapathy Physical Properties of Blood Are Altered in Young and Lean Women with Polycystic Ovary Syndrome. / J. Michael, J. Simmonds, N. Milne // PLOS ONE. – 2016. – November 30. – P. 72-90.

239. Mock, K. Testicular sperm retrieval for ICSI: percutaneous aspiration versus open biopsy / K. Mock, A. Obkucc, E. Meixner // Int J Androl. – 2003. – Vol. 20 (1). – P. 35-37.

240. Mommersteeg, P.M. Immune and endocrine function in burnout syndrome / P.M. Mommersteeg, C.J. Heijnen, A. Kavelaars // Psychosom Med. 2006. – Vol. 68, N 6. – P. 879-886.

241. Morelli, S. S. Early serum interleukin-8 evaluation may prove useful in localizing abnormally implanted human gestations after in vitro fertilization / S.S. Morelli, D.A. Keegan, L.C. Krey // Fertility and Sterility. – 2008. – Vol. 90, N. 6. – P. 2068-2072.

242. Mortada ,R. HbA1c in Patients with Polycystic Ovary Syndrome: A Potential Marker of Inflammation / R. Mortada, K.J. Kallail, F. Dong // J. Reproduction & Infertility. – 2015. – Vol. 16, N 4. – P. 203-206.

243. Mount, S. Chlamydia trachomatis in the endometrium: can surgical pathologists indentify plasma cell / S. Mount, P. Mead P., K. Cooper // Adv. Anat. Pathol. – 2001. – Vol. 8, N 6. – P. 327-329.

244. Nap, A. W. Pathogenesis of Endometriosis / A.W. Nap, P.G. Groothuis, A.Y. Demir // Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynecol. – 2004. – Vol. 18, N 2. – P.233-244.

245. Nelson, S.M. Prophylaxis of VTE in women – during assisted reproductive techniques / S.M. Nelson // Thrombosis Res. – 2009. – Vol. 123. – P. 8-15.

246. Ness, R.B. Effectiveness of inpatient and outpatient treatment strategies for women with pelvic inflammatory disease / R.B. Ness, D.E. Soper, R.L. Holley // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2002. – Vol. 186 (5). – P. 929-937.

247. Ning, Y. Analysis of influence of inflammatory factor in patients with ovarian endometriosis follicular fluid on the outcome of in vitro fertilization / Y. Ning, B. Liu, B. Han //. Zhonghua Yi Xue Za Zhi. – 2015. – Vol. 95, N 47. – P. 3829-3832.

248. Nyalwidhe, J. The search for biomarkers of human embryo developmental potential in IVF: a comprehensive proteomic approach / J. Nyalwidhe, T. Burch, S. Bocca // Mol Hum Reprod. – 2013. – Vol. 19, N 4. – P. 250-263.

249. Olman, M.A. Beyond TGF-β: a prostaglandin promotes fibrosis / M.A. Olman // Nat Med. – 2009 –Vol. 15. – P. 1360-1361.

250. Panayotidis, C. Intrauterine adhesions (IUA): has there been progress in understanding and treatment over the last 20 years? / C. Panayotidis C., S. Weyers // Gunecological surgery. – 2009. – Vol. 6, № 3. – P. 197-211.

251. Panel of Autoimmune Markers for Noninvasive Diagnosis of Minimal-Mild Endometriosis / R. Gajbhiye, T. Bendigeri, A. Ghuge et all. // Reprod Sci. – 2017. – Vol. 24, N 3. – P. 413-420.

252. Pantoja, M. Indications for in vitro fertilization at a public center for reproductive health in Campinas, Brazil / M. Pantoja, A. Fernandes // Int J Gynaecol Obstet. – 2014. – Aug 30. – P. 213-219.

253. Parazzini, F.V. Risk factors for adenomyosis / F.V. Parazzini, S. Panazza, L. Chatenoud // Hum reprod. – 1997. – Vol. 12. – P. 1275-1279.

254. Park, H.J. Chronic endometritis and infertility / Park, H.J., Kim Y.S., Yoon T.K., // Clin Exp Reprod Med. – 2016. – Vol. 43, N 4. – P. 185-192.

255. Pawelczak, M. Evaluation of the pro-inflammatory cytokine tumor necrosis factor-α in adolescents with polycystic ovarysyndrome / M. Pawelczak, J. Rosenthal, S. Milla // Pediatr Adolesc Gynecol. – 2014. – Vol. 27, N 6. – P. 356-359.

256. Perlstain, R.S. Synergisticroles of interleukin-6, interleukin-1 and tumor necrosis factor in the adrenocorticotropin response to bacterial lipopolysaccharide in vivo / R.S. Perlstain, M.H. Whitnall, J.S. Abrams // Endocrinology. – 1993. – Vol. 132. – P. 946-952.

257. Pisarska, M.D. Fertilisation after standard in vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection in subfertile males using sibling oocytes / M.D. Pisarska, P.R. Casson, P.L. Cisneros // Fertil Steril. – 2003. – Vol. 71, N 4. – P. 627-632.

258. Polak, G. Increased levels of proteins of the acute inflammatory phase in the peritoneal fluid of women with advanced stages of endometriosis / G. Polak, B. Barczyński, W. Bednarek // Ginekol Pol. – 2015. – Vol. 86, N 6. – P. 414-418.

259. Polis, C. B. Estimating infertility prevalence in low-to-middle-income countries: an application of a current duration approach to Demographic and Health Survey data / C.B. Polis, C.M. Cox, Ö Tunçalp // Human Reproduction. – 2017. – Vol. 32, N 5. – P. 1064-1074.

260. Pozzoli, G. Lipopolysaccharide modulation of eicosanoid and corticotrophin-releasing hormone release from rat hypothalamic explants and astrocyte cultures in vivo / G. Pozzoli,A. Costa, M. Grimaldi // J Endocrin. – 1994. – Vol. 140. – P. 103-109.

261. Rabin, D.S. Glucocorticoids inhibit estradiol-mediated uterine growth: possible role of the uterine estradiol receptor / D.S. Rabin, E.O. Johnson, D.D. Brandon // Biol Reprod. – 1990. – Vol. 42. – P. 74-80.

262. Rebordão, M. Physiopathologic mechanisms involved in mare endometrosis / M. Rebordão, A. Galvão, A. Szóstek // Reprod Domest Anim. – 2014. – Vol. 49. – P. 82-87.

263. Rebordão, M.R. Estrous Cycle Phases on Mare Endometrium Secretory Function and Fibrosis Markers (TIMP 1 and TGFß1) after Neutrophil Extracellular Traps and Cytokines / M.R. Rebordão, A. Galvão, A. Amaral // Willey-Blackwell, Reprod Dom Anim. – 2013. – Vol. 48. – P. 114.

264. Rebordão, M.R. Neutrophil extracellular traps and cytokines on mare endometrium prostaglandins and fibrosis markers TIMP and TGFβ1 / M.R. Rebordão, A. Galvão, A. Szóstek // 2nd Joint German-Polish Conference on Reproductive Medicine/46th Annual Conference of Physiology and Pathology of Reproduction Gdánsk, Poland. – Gdánsk, 2013. – P. 54.

265. Riverst, S. The role of corticotrophin-releasing factor and interleukin-1 in the regulation of neurons controlling reproductive functions / S. Riverst, C. Rivier // Endocr Rev. – 1995. – Vol. 16. – P. 177-199.

266. Romanovsky, A.A. Lipopolysaccharide transport from the peritoneal cavity to the blood: is it controlled by the vagus nerve? / A.A. Romanovsky, A.I. Ivanov, M.J. Lenczowski // Auton Neurosci. – 2000. – Vol. 85 (1-3). – P. 133-140.

267. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome // Fertil Steril. – 2004. Vol. 81, N 1. P. 19-25.

268. Saad, M.F. Sexual dimorphism in plasma leptin concentration / M.F. Saad, S. Damani, R.L. Gingerich // J Clin Endocrinol Metab. – 1997. – Vol. 82. – P. 579-584.

269. Safieh-Garabedian, B. Cytokines in the central nervous system: targets for therapeutic intervention / B. Safieh-Garabedian, J.J. Haddad J.J., N.E. Saade // Curr Drug Targets CNS Neurol Disord . – 2004. – Vol. 3, N 4. – P. 271-280.

270. Sakakura, N. Inhibition of luteinizing homrmone secretion induced by LRH by long-term treatment with glucocorticiods in human subjects / N. Sakakura, K. Takebe, S. Nakagawa // J Clin Endocrinol Metab. – 1985. – Vol. 40. – P. 75-88.

271. Samer, E. Poly Cystic Ovarian Syndrome: An Updated Overview.Front / E. Samer, B. Lynn Bitar, Laya H. Hamdar // Physiol. – 2016. – April. 5.

272. Samy, N. Clinical significance of inflammatory markers in polycystic ovary syndrome: their relationship to insulin resistance and body mass index / N. Samy, M. Hashim, M. Sayed // Dis Markers. – 2009. – Vol. 26, N 4. – P. 163-170.

273. Sarapik, A. Serum anti-endometrial antibodies in infertile women – potential risk factor for implantation failure / A. Sarapik, K. Haller-Kikkatalo, M. Utt // Am J Reprod Immunol. – 2010. – Vol. 63, N 5. – P. 349-357.

274. Sarapik, A. Follicular proinflammatory cytokines and chemokines as markers of IVF success / A. Sarapik, A. Velthut, K. Haller-Kikkatalo // Clin Dev Immunol. – 2012. – doi: 10.1155/2012/606459.

275. Scheerer, C. Characterization of endometriosis-associated immune cell infiltrates (EMaICI) / C. Scheerer, P. Bauer, V. Chiantera // Arch Gynecol Obstet. – 2016. – Vol. 294, N 3. – P. 657-664.

276. Schmidt, J. Differential expression of inflammation-related genes in the ovarian stroma and granulosa cells of PCOS women / Schmidt, J. , Weijdegård B, Mikkelsen AL, // Mol Hum Reprod. – 2014, Vol. 20, N 1. – P. 49-58.

277. Senturk, L.M. Adenomyosis: what is new? / L.M. Senturk, M. Imamoglu // Womens Health (Lond). – 2015. Vol. 11, N 5. – P. 717-724.

278. Sergi, B. Interleukin 18 / B. Sergi, I. Penttila // J Biol Regul Homeost Agents. – 2004. – Vol. 18 (1). – P. 55-61.

279. Shapiro, N.I. The association of endothelial cell signaling, severity of illness, and organ dysfunction in sepsis / N.I. Shapiro, P. Schuetz, K. Yano // Crit Care. – 2010. – Vol. 14, N 5. – R 182.

280. Sharkey, A.M. The endometrium as a cause implantation failure / A.M. Sharkey, S.K. Smith // Best practice & Res Clin Genecology. – 2003. – Vol. 17 (3). – P. 289-307.

281. Chiabrando, G.A. Differential binding properties of human pregnancy zone protein and alpha 2 macroglobulin proteinase com. plexes to low density lipoprotein receptor related protein / G.A. Chiabrando, M.A. Vides, M.S. Sachez // Arch Biochem Biophys. – 2002. – Vol. 398. – P.73-78.

282. Shibahara, H. Diagnosis and treatment of immunologically infertile women with sperm-immobilizing antibodies in their sera / H. Shibahara, J. Koriyama, Y. Shiraishi Y // J Reprod Immunol. – 2009. – Vol. 83, N 1-2. – P. 139-44.

283. Shizuya K., Komori T., Fijiwara R. et al. The influence of restraint stress on the expression of mRNAs for IL-6 and the IL-6 receptor in the hypothalamus and midbrain of the rat // Pharmacol. Let. – 1997. – Vol. 61. – p. 135-140.

284. Skobeloff, E.M. The effect of the menstrual cycle on asthma presentations in the emergency department / E.M. Skobeloff, W.H. Spivey, R. Silverman // Arch Intern Med. – 1996. – Vol. 156, N 16. – P. 1837-1840.

285. Sotnikova, N. Cytokine network of eutopic and ectopic endometrium in women with adenomyosis / N. Sotnikova, I. Antsiferova, A. Malyshkina // Am J Reprod Immunol. – 2002. – Vol. 47, N 4. – P. 251-255.

286. Systemic Inflammation and Autoimmunity in Women with Chronic Endometritis / V.A. Kushnir, S. Soloki, T. Sarig-Meth // American Journal Of Reproductive Immunology. – 2016. – Vol. 75, N 6. – P. 672-677

287. Taran, F. A. Brucker Adenomyosis: epidemiology, risk factors, clinical phenotype and surgical and interventional alternatives to hysterectomy / F.A. Taran, E.A. Stewart, S Brucker // Geburtshilfe frauenheilkd. – 2013. – Vol. 73, N 9. P. 924-931.

288. Templer, S. A blessing and a curse: is high NK cell activity good for health and bad for reproduction / S. Templer, G. Sacks // Hum Fertil (Camb). – 2016. – Vol. 19, N 3. – P. 166-172.

289. The Essential Role of GATA6 in the Activation of Estrogen Synthesis in Endometriosis / L.A. Bernardi, M.T. Dyson, H. Tokunaga et all. // Reprod Sci.. – 2019. – Vol. 26, N 1. – P. 60-69.

290. The Study of Total IgE Reference Range in Healthy Adults in Tehran Iran / R.S. Shoormasti, Z. Pourpak, M. Eshraghian et all. // Journal of Public Health. – 2010. – Vol. 39, N 3. – P. 32-36.

291. Thum, M.Y. The relationship of systemic TNF-alpha and IFN-gamma with IVF treatment outcome and peripheral blood NK cells / M.Y. Thum, H.I. Abdalla, S. Bhaskaran // Am J Reprod Immunol. – 2007. – Vol. 57, N 3. – P. 210-217.

292. Thum, M.Y. Relationship between women's age and basal follicle-stimulating hormone levels with aneuploidy risk in in vitro fertilization treatment / M.Y. Thum, H.I. Abdalla, D. Taylor // Fertil Steril. – 2008. – Vol.90, N 2. – P. 315-322.

293. TLR2/4 signaling pathway mediates sperm-induced inflammation in bovine endometrial epithelial cells in vitro / M. A. Ezz, M. A. Marey, A. E. Elweza et all. // Plos one. – 2019. – Vol. 14, N 4. – P.516-521.

294. Tobin, M.J. Tuberculosis, Lang infection, and Interstitial Lung Disease in AJRCCM 2000 / M.I. Tobin // Am. J. Respir. Crit. Care Med.–2001.–Vol. 164.–№10. – P.1774-1788.

295. Tortorella, C. Interleukin-6, interleukin-1β, and tumor necrosis factor α in menstrual effluents as biomarkers of chronicendometritis / C. Tortorella, G. Piazzolla, M. Matteo // Fertil Steril. – 2014. – Vol. 101, N 1. – P. 242-247.

296. Tremellen, K.P. The distribution of immune cells and macrophages in the endometrium of women with recurrent reproductive failure. II: adenomyosis and macrophages / K.P. Tremellen, P. Russell // J Reprod Immunol. 2012. – Vol. 93, N 1. – P. 58-63.

297. Tsigos, C. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress / C. Tsigos, G.P. Chrousos // J Psychosom Res. – 2002. – Vol. 53, N 4. – P. 865-871.

298. Turnbull, A.V. Cytokines within the neuroendocrine system / A.V. Turnbull, C. Rivier // Endocrinology. – 1996. – Vol. 3. – P. 149-156.

299. Turnbull, A.V. CRF type I receptor-deficient mice exhibit pronounced pituitary-adrenal response to local inflammation / A.V. Turnbull, G.W. Smith, S. Lee // Endocrinology. – 1999. – Vol. 140. – P. 1013-1017.

300. Turnbull, A.V. Interleukin-6 is an afferent signal to the hypothalamo- pituitary-adrenal axis during localinflammation in mice / A.V. Turnbull, S. Prehar, A.R. Kennedy // Endocrinology. – 2003. – Vol. 144 (5). – P. 1894-1906.

301. Ulukus, E.C. Expression of interleukin-8 and monocyte chemotactic protein-1 in adenomyosis / E.C. Ulukus, M. Ulukus, Y. Seval // Hum Reprod. – 2005. – Vol. 20, N 10. – P. 2958-2963

302. Vamvakopoulos, N.C. Evidence os direct estrogenic regulation of human corticotrophin-releasing hormone gene expression. Potential implications for sexual dimorphism of the stress response and immune/inflammatory reaction / N.C. Vamvakopoulos, G.P. Chrousos // J Clin Invest. – 1994. – Vol. 92. – P. 1896-1902.

303. Vellucci, S.V. Expression of mRNAs for vasopressin, oxytocin and corticotrophin releasing hormone in the hypothalamus and of cyclooxygenases-1 and -2 in the cerebral vasculature, of endotoxin-challenged pigs / S.V. Vellucci, R.F. Parrott // Neuropeptides. – 1998. – Vol. 32 (5). – P. 439-446.

304. Vercellini, P. Adenomyosis: epidemiological factors / Vercellini, P., Vigano P, Somigliana E. // Best pract res clin obstet gynaecol. – 2006. – Vol. 20. P. 465-477.

305. Vercellini, P. Endometriosis: pathogenesis and treatment / P. Vercellini, P. Viganò, E. Somigliana // Nat Rev Endocrinol. – 2014. – Vol. 10, N 5. – P. 261-275.

306. Vercellini, P. Uterine adenomyosis and in vitro fertilization outcome: a systematic review and meta-analysis / P. Vercellini, D. Consonni, D. Dridi // Hum Reprod. – 2014. – Vol. 29, N 5. – P. 964-977.

307. Vignola, A.M. Future directions // Eur. Respir. J.–2002.–Vol. 20.–Suppl. 37. – P. 51-55.

308. Wand, B. Follicular fluid soluble receptor for advanced glycation endproducts (sRAGE): a potential protective role in polycystic ovary syndrome / B. Wand, M. Hao, G. Yang // G. Assist Reprod. Genet. – 2016. – Vol. 33, N 7. – P. 959-965.

309. Wang, F. Expression of interleukin-10 in patients with adenomyosis / F. Wang, H. Li, Z. Yang // Fertil Steril. – 2009. – Vol. 91, N 5. – P. 1681-1685.

310. Westendorp, I.C. Prevalence of Asherman,s syndrome after secondary removal of placental remnants or a repeat curettage for incomplete abortion / I.C. Westendorp, W.M. Ankum, W.J. Mol // Hum. Reprod. – 1998. – Vol. 13, № 12. – P. 3347-3350.

311. Wielders, P.Z. Disease monitoring in chronic obstructive pulmonary disease is there a role for biomarkers? / P.Z. Wielders, P.R. Derhuijzen // Eur. Respir. Rev.–1997. – № 10. – P. 2443-2445.

312. Wilke, G. CA-125 serum level in early pregnancy follow hMG/hCG stimulated and unstimulated cycles / G. Wilke, B. Hinney, W. Rath // Geburtshilfe Frauenheilkd. – 1990. – Vol. 50, N 12. P. 941-946.

313. Winger, E.E. Degree of TNF-α/IL-10 cytokine elevation correlates with IVF success rates in women undergoing treatment with Adalimumab (Humira) and IVIG / E.E. Winger, J.L. Reed, S. Ashoush // Am J Reprod Immunol. – 2011. – Vol. 65, N 6. – P. 610-618.

314. Wu, G. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond / G. Wu, S.M. Morris // Biochemical Journal. – 1998. – Vol. 336 (1). – P. 1-17.

315. Wynn, T.A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis / T.A. Wynn // J Pathol. – 2008. – Vol. 214. – P. 199-210.

316. Yang, J.H. Increased interleukin-6 messenger RNA expression in macrophage-cocultured endometrial stromal cells in adenomyosis / J.H. Yang, M.Y. Wu, D.Y. Chang // Am J Reprod Immunol. – 2006. – Vol. 55. – P. 181-187.

317. Yazbeck, C. An update on adenomyosis and implantation / C. Yazbeck, S. Falcone, A. Ballout // Gynecol Obstet Fertil. – 2015. – Vol. 43, N 10. – P. 665-669.

318. Younis, A. Serum tumor necrosis factor-α, interleukin-6, monocyte chemotactic protein-1 and paraoxonase-1 profiles in women with endometriosis, PCOS, or unexplained infertility / A. Younis, K. Hawkins, H. Mahini // J Assist Reprod Genet. – 2014. – Vol. 31, N 11. – P. 1445-1451.

319. Yu, B. Mumford S., Royster G.D., Segars J., Armstrong A.Y. Cost-effectiveness analysis comparing continuation of assisted reproductive technology with conversion to intrauterineinsemination in patients with low follicle numbers / B. Yu, S. Mumford, G.D. Royster // Fertil Steril. – 2014. – Vol. 102, N 2. – P. 435-439.

320. Zhang, J. What's the Relative Risk? A Method of Correcting the Odds Ratio in Cohort Studies of Common Outcomes / J. Zhang, K.F. Yu // Journal of the American Medical Association. – 1998. – Vol. 280 (19). – P. 1690-1691

321. Zheng, P. Dai Interleukin-6 Levels in Women with Polycystic Ovary Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis / P. Zheng, S. Yifan, L. Xiaolan // PLOS ONE. – 2016. – February 5.

322. Zhihong, N. Cytokine Profiling in the Eutopic Endometrium of Adenomyosis During the Implantation Window After Ovarian Stimulation / N. Zhihong, F. Yun, Z. Pinggui // Reprod Sci. – 2016. – Vol. 23 (1). – P. 124-133.