

ВСТУП

Актуальність теми. Безпліддя залишається однією з найважливіших медичних і соціальних проблем (М. Г. Грищенко, 2011; Б. Л. Маркін, 2012; В. В. Камінський, 2013; О. М. Юзько, 2014). Все більше розповсюдження отримує метод його лікування шляхом допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) (О. О. Бараш, 2011; Л. О. Михайлишин, 2013). Однак не завжди спроби ДРТ є успішними. Ефективність їх в Україні складає у середньому 33,53 % на цикл, у Франції – 27,5 %, у Бельгії – 26,7 %, Великобританії – 30,3 % (І. Д. Гюльмамедова, 2009).

Ефективність ДРТ визначається як якістю отриманих ембріонів, так і функціональною активністю ендометрія (І. О. Судома, 2006; І. Д. Гюльмамедова, 2009; Л. В. Суслікова, 2010; Г. Т. Сухих, 2010; S. Altmäe et al., 2013). Незважаючи на успіхи в розумінні механізмів імплантації, до цих пір залишається нез'ясованим ряд питань, що стосуються перетворень в секреторному ендометрії, встановлення взаємодії ембріону й рецептивного ендометрія, у тому числі у пацієнок з невдалими спробами ДРТ в анамнезі (Т. Dinget et al., 2008; A. Sokalska et al., 2010). Рецептивність ендометрія є частиною його функціональної активності, яка має більш широке поняття й включає не тільки рецептивність, але й здатність до «ремодуляції-демодуляції», імунну реактивність, проліферативні і апоптотичні властивості (В. А. Бурлев и др., 2010; E. L. Kazachkov et al., 2014).

Безліч молекулярних факторів експресується в ендометрії протягом періоду рецептивності, але й до теперішнього часу невідомо, як всі ці фактори взаємодіють один з одним, з імунними клітинами, що потребує подальших досліджень (Н. М. Fatemi et al., 2013; D. Zhang et al., 2014; D. Galliano et al., 2014). Мало вивченим залишається зв'язок піноподій з факторами росту та іншими біологічно активними речовинами та їх участь у механізмі імплантації. Проблемою залишається вірогідна діагностика хронічного ендометриту у жінок з невдалими спробами ДРТ.

Визначення комплексу необхідних діагностичних маркерів оцінки порушень функціонального стану ендометрія у безплідних жінок з невдалими спробами ДРТ дозволить розробити патогенетично обґрунтовану схему вибору корекції цих порушень, що в кінцевому підсумку повинно привести до підвищення ефективності відновлення репродуктивної функції у цієї когорти хворих.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Донецького національного медичного університету ім. М. Горького та є фрагментом теми «Патогенетичні механізми ускладнень і невдач допоміжних репродуктивних технологій та їх профілактика» (№ д/р 0110U007771). Дисертантка була співвиконавцем теми.

Мета дослідження: підвищити ефективність лікування безпліддя в програмі допоміжних репродуктивних технологій шляхом розробки та впровадження методів діагностики і корекції функціонального стану ендометрія.

Задачі дослідження:

1. Виявити особливості ендометріальних рецепторів до стероїдних гормонів у пацієнок з невдалими спробами ДРТ.

2. Вивчити характер піноподій та секретії ендометрієм молекул імплантації у пацієнок з невдалими спробами ДРТ.

3. Дослідити стан системної імунореактивності та місцевого імунітету в ендометрії у пацієнток з невдалими спробами ДРТ.

4. Оцінити доцільність імуногістохімічного визначення сіндекану-1 в ендометрії щодо діагностики хронічного ендометриту у пацієнток з невдалими спробами ДРТ.

5. Визначити особливості процесів проліферації та апоптозу в ендометрії у пацієнток з невдалими спробами ДРТ.

6. Розробити та впровадити схему діагностики та корекції функціонального стану ендометрія у пацієнток з невдалими спробами ДРТ, оцінити її ефективність.

Об'єкт дослідження – функціональний стан ендометрія у пацієнток з невдалими спробами допоміжних репродуктивних технологій в анамнезі.

Предмет дослідження – катанез і клінічна характеристика жінок з безпліддям; ультразвукові параметри внутрішніх статевих органів; гістероскопічні дані; гормональний профіль периферичної крові; характер формування піноподій; показники рецептивності, проліферативної, імунної та апоптотичної реактивності ендометрія в період передбачуваного вікна імплантації; результати відновлення репродуктивної функції.

Методи дослідження: клініко-анамнестичні, полімеразної ланцюгової реакції, ультразвукові, гістероскопічні, радіоімунологічні, імуноферментні, цитофлюорометричні, морфологічні, імуногістохімічні, скануючої електронної мікроскопії, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. У дисертації на сучасному методологічному рівні приведено нове рішення актуальної задачі сучасної гінекології – підвищення ефективності лікування безпліддя в програмі ДРТ.

Визначені особливості експресії рецепторів до стероїдних гормонів, формування піноподій та їх мікроворсинок, секреції молекул імплантації, наявність натуральних кілерних (НК)-клітин, вираженість апоптозу та проліферації в ендометрії безплідних жінок гарних відповідачів з невдалими спробами ДРТ в анамнезі і доведена їх залежність від хронологічної відповідності ендометрія фазі і дню менструального циклу (МЦ), наявності хронічних запальних та гіперпроліферативних процесів. Показано, що вони є у кожній хворій індивідуальними, і це потребує персоніфікованого вибору корекції порушень функціональної активності ендометрія.

Доведена доцільність визначення рівня CD69+НК-клітин у периферичній крові безплідних жінок для прогнозування низького шансу успішної імплантації.

Встановлено, що жінок з останньою невдалою спробою ДРТ порівняно з жінками з останньою вдалою спробою відрізняє вірогідно більш виражена гіперекспресія в ендометрії рецепторів естрогенів- α (РЕ α) в залозах; зниження співвідношення рецепторів прогестерону (РП) до РЕ α ; менш розвинуті піноподії, більш виражений мозаїцизм їх розмірів та форми та мале число випадків з малою кількістю мікроворсинок; знижена секреція лейкоїю інгібуючого фактору (ЛІФ); підвищена інфільтрація стромы ендометрія CD45+; CD56+НК; CD16+НК; CD138+; збільшений вміст Ki-67 та зменшена чисельність апоптотичних клітин.

Доведена доцільність використання імуногістохімічного дослідження наявності сіндекану-1 в ендометрії, що збільшує можливість виявлення плазмоцитів в зразках ендометрія та верифікації хронічного ендометриту.

Розроблена схема патогенезу формування арцептивності ендометрія на тлі порушень функціонального стану ендометрія.

Вперше оцінена ефективність впровадження розробленої схеми діагностики та корекції функціонального стану ендометрія.

Практичне значення одержаних результатів. Для лікарів акушерів-гінекологів та репродуктологів запропоновані схема діагностики функціональної активності ендометрія та спосіб вибору її корекції у пацієток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі, що підтверджено отриманням патентів (патент UA № 53241, МПК G01N 33/53; патент UA № 70810 U МПК (2012.01) A61B 17/00 ; заяв. № u201114626 від 09.12.2011; опубл. : 25.06.2012, Бюл. № 12). Розробки впроваджено в роботу жіночих консультацій, центрів репродукції м. Донецька, Красного Лиману, Одеси.

Теоретичні положення та практичні рекомендації дисертаційної роботи впроваджено в навчальний процес на кафедрі акушерства та гінекології ДонНМУ ім. М. Горького при підготовці студентів, лікарів-інтернів та лікарів-курсантів.

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно виконаний аналіз літератури, клінічне, інструментальне обстеження, ведення хворих, проведення ДРТ. Самостійно проводилося накопичення, вкопювання первинної документації, розроблено карти обстеження пацієток. Запропонований та впроваджений спосіб діагностики хронічних запальних процесів в ендометрії та спосіб вибору корекції функціональної активності ендометрія у безплідних жінок, оцінена його ефективність. Самостійно проведена статистична обробка отриманих результатів дослідження, сформульовані висновки та практичні рекомендації.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи були докладені на конференціях з міжнародною участю «Актуальні питання акушерства, гінекології та перинатології» (Судак, 2010; 2013); XV Всесвітньому конгресі з репродукції людини (Італія, 2013); на другій науково-практичній конференції з міжнародною участю на тему «Гармонія гормонів – основа здоров'я жінки» (Київ, 2014); об'єднаному засіданні кафедри акушерства, гінекології та перинатології та вченої ради Науково-дослідного інституту медичних проблем сім'ї Донецького національного медичного університету ім. М. Горького (2014).

Публікації. За результатами дисертації опубліковано 13 робіт, з яких: 1 монографія; 8 статей, з яких 1 – за кордоном; 2 патенти на корисну модель; 2 тез.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена на 209 сторінках і складається зі вступу, огляду літератури, розділу матеріалів і методів, 5 розділів власних досліджень, аналізу і узагальненню результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел. Текстова частина займає 187 сторінок. Список джерел включає 174 джерела, у тому числі 117 латиницею, 57 – кирилицею. Роботу ілюстровано 56 таблицями та 73 рисунками, які займають 28 повних сторінок.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Усього було досліджено 170 пацієток. Групу ДРТ склали 140 пацієток гарних відповідей, які перенесли лікування безпліддя в програмах ДРТ і мали невдалі імплантації. У групі ДРТ виділені групи в залежності від хронологічної відповідності морфофункціонального стану ендометрія дню і фазі МЦ; від наявності в ендометрії процесів хронічного запалення та

гіперплазії; від рівня CD69⁺НК-клітин в периферичній крові; від ефективності останньої спроби ДРТ (рис. 1).

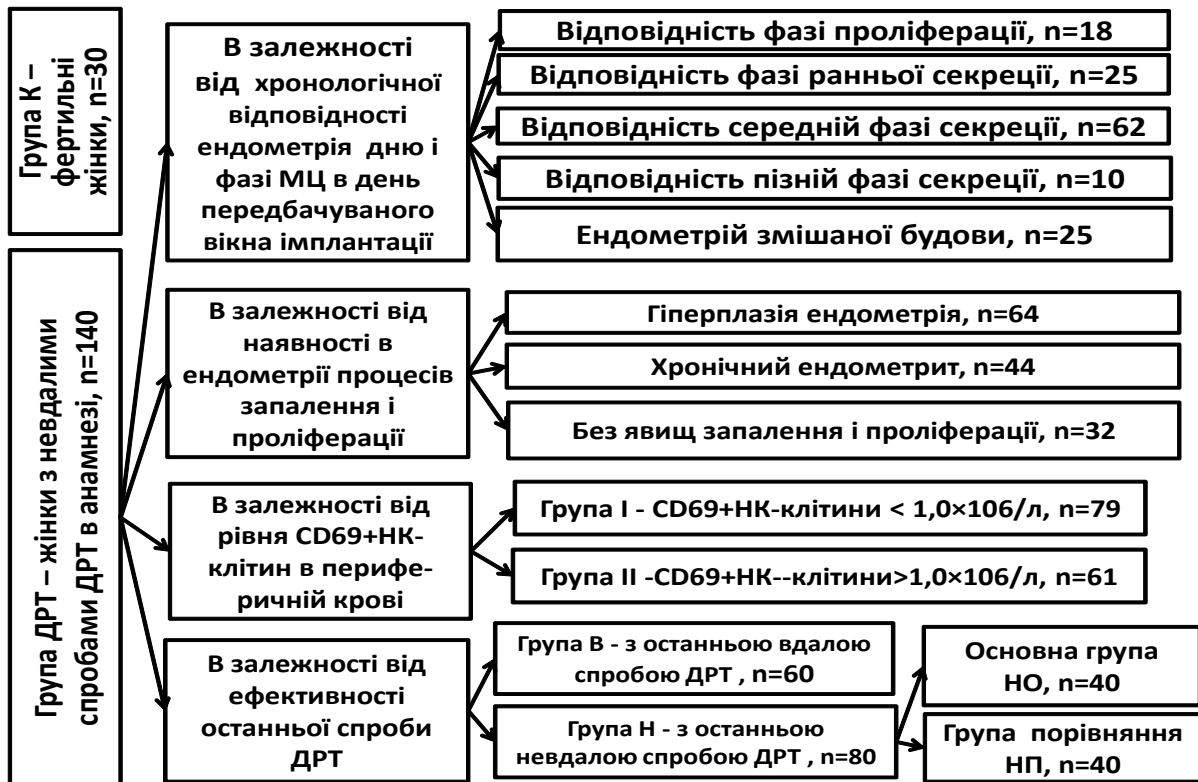


Рис. 1. Матеріал дослідження

Контрольну групу склали 30 умовно гінекологічно та соматично здорових жінок репродуктивного віку.

У обстежених пацієнток вивчали скарги, гінекологічний, репродуктивний, соматичний, операційний та інфекційний анамнез. Чоловічий фактор безпліддя виявляли за результатом спермограм, що оцінювалися за рекомендаціями ВООЗ (2010 рік). Шийковий фактор був виключений після проведення посткоїтального тесту.

Антропометричне дослідження включало оцінку масо-ростових даних з визначенням маси тіла, росту, індексу маси тіла по А. Quetelet. Вираженість гірсутизму оцінювалася за гормональною шкалою D. Ferriman, I. D. Gallwey (1961). Усі жінки були повністю лабораторно обстежені.

Стан мікробіоценозу піхви оцінювали за вмістом лактобацил, наявністю патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів з кількісним їх визначенням методом комплексної полімеразної ланцюгової реакції.

Ультразвукове дослідження (УЗД) органів малого тазу проводили із застосуванням трансабдомінального і трансвагінального конвексних датчиків частотою 3,5 та 5 МГц.

Гістероскопію здійснювали апаратурою фірми “Wiest” (Німеччина) на 22-й день МЦ. При виявленні дифузних процесів ендометрія виконували механічний кюретаж з подальшою контрольною гістероскопією. У жінок контрольної групи проводили біопсію ендометрія.

Клінічний аналіз крові проводили на автоматичному гематологічному аналізаторі “Swelab Alfa Standard” (Boule Medical A. B., Швеція).

Радіоімунологічні методи використовували для визначення вмісту гіпофізарних гормонів (лютеїнізуючого гормону (ЛГ), фолікулостимулюючого гормону (ФСГ), пролактину (ПРЛ), стероїдних гормонів (вільного тестостерону (Тв), естрадіолу (Е₂), прогестерону (П)) в сироватці периферичної крові за допомогою наборів для імунорадіометричного визначення “IMMUNOTECH” (A coulter company, Чеська республіка) і “Хозрасчетного опытного производства Института биорганической химии Национальной академии наук Беларуси”.

Для оцінки тиреоїдного статусу методом твердофазного імуноферментного аналізу визначали у сироватці крові рівні тиреотропного гормону (ТТГ), трийодтиронину (Т₃), тироксину (Т₄) за допомогою тест-систем «ТироидИФА-ТТГ», «ТироидИФА-свободный Т₃», «ТироидИФА-свободный Т₄» («Алкор Био», Росія) на аналізаторі “ChemWell 2910” (США).

Вміст АМГ оцінювали з використанням тест-системи для імуноферментного аналізу “АМН Gen II ELISA” (Beckman Coulter, Inc., США) на аналізаторі “ChemWell 2910” (США).

Поверхневий фенотип імунокомпетентних клітин CD56, CD16, CD69 і CD94 в периферичній крові досліджували за допомогою проточної цитофлюориметрії з використанням набору моноклональних антитіл (МАТ) “BD Simultest IMK Plus” (Becton Dickinson, США) на проточному цитофлюориметрі “FACS Calibur” (Becton Dickinson, США) відповідно до вказівок фірми-розробника. В кожному зразку аналізували не менш 10 000 клітин. Підрахунок проводили в програмі Lysis II.

Отримані зразки ендометрія поміщали в нейтральний забуферений 10 % розчин формаліну (рН 7,4) і фіксували протягом 24 годин. Після дегідратації шматочки заливали в парафін. На ротаційному мікротомі Microm HM325 з системою переносу зрізів STS (“Carl Zeiss”, Німеччина) виготовляли серійні гістологічні зрізи товщиною 4 мкм, які потім фарбували гематоксиліном і еозином, оцінювали хронологічну відповідність ендометрія фазі і дню МЦ відповідно критеріям R. W. Noyes і О. И. Топчиевой. Для подальшого імуногістохімічного дослідження (ІГХ) частину серійних парафінових зрізів поміщали на покриті адгезивом стекла Super Frost Plus (“Menzel”, Німеччина). Дослідження проводили на депарафінізованих і дегідратованих зрізах. Рецептори стероїдних гормонів в залозах і в стромі ендометрія вивчали за допомогою тест-систем “Pakocytomation En Vision” (США), HRP (пероксидази хрину) по інструкціях фірми мишиними МАТ до РЕ α (клон 1D5, “DAKO”, Данія), РІ (клон 16&SAN27, “Novocastra”, Великобританія). Дослідження імунореактивності ендометрія проводили з використанням мишачих МАТ до CD45 (клон PD7/26 + 2B11, “Diagnostic BioSystems”, США), CD16 (клон 2Y7, “Novocastra”), CD56 (клон 123C3. D5, “Diagnostic BioSystems”, США), до епітопу людського сіндекану-1 (CD138) (клон MI15, “Dako”, Данія). При оцінці експресії молекул імплантації рівень експресії α V β 3-інтегринів в ендометрії визначали з використанням МАТ “Chemicon International Inc.” (США) (α V β 3), ЛІФ – з МАТ “Santa Cruz Biotechnology Inc.” (США) (LIF (J-14F): SC-80159).

Проліферативну активність стромальних клітин ендометрія вивчали шляхом ІГХ визначення Ki-67-імунопозитивних клітин з використанням кролячих МАТ до Ki-67

(клон SP6, “Thermo Scientific”, США). Для підрахунку клітин, що знаходяться в стані апоптозу, використовували TUNEL-метод. Дефрагментовані ділянки ДНК апоптотичних клітин виявляли за допомогою набору “ApoTag plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit” (Chemicon/Millipore, США).

Вивчення усіх гістологічних препаратів в світлі проводили на мікроскопі Olympus AX70 (Японія) з цифровою відеокамерою Olympus DP50, сполученою з персональним комп'ютером. Мікрофотографування і морфометрію виконували з використанням програми “ANALYSIS Pro 3.2” (“SoftImaging”, Німеччина).

Дослідження піноподій проводили методом скануючої електронної мікроскопії (SEM) на мікроскопі “JEOL SuperProbe 733” (Японія).

Отримані дані оброблені за допомогою пакету програм Біостат, методів аналітичної та варіаційної статистики, кореляційного аналізу.

Основні результати дослідження. *На першому етапі дослідження* під нагляд було взято 367 безплідних подружніх пар, яким було потрібно лікування за допомогою ДРТ. 227 пацієток було виключено з дослідження відповідно критеріям включення та виключення. 140 жінкам гарним відповідачам групи ДРТ, що ввійшли в дослідження, та 30 жінкам контрольної групи К було виконано комплексне дослідження ендометрія, гормонального та імунного статусу. Усім пацієткам проведені повторні цикли ДРТ. В залежності від результатів останньої спроби ДРТ вони були розподілені на групу Н (n=80) з невдалими імплантаціями та групу В (n=60) – з вдалими.

Вік обстежених жінок групи ДРТ коливався від 25 до 39 років і в середньому склав $33,91 \pm 0,39$ років, в групі К – $34,13 \pm 0,87$ ($p > 0,05$).

Пацієтки групи Н порівняно з жінками групи В мали більший рівень Тв в 1,45 рази та надлишковий ріст пушкового волосся в зоні верхньої губи в 2,38 рази, плеча – в 3,87, задньої поверхні стегон – в 1,48 та попереку – в 2,40; у 2,91 рази частіше в анамнезі відмічали гіперплазію ендометрія; середня кількість рФСГ для стимуляції в циклі ДРТ і рівень E_2 в день введення тригера овуляції були більші відповідно в 1,21 ($p < 0,01$) і в 1,12 рази ($p < 0,01$).

Пацієток групи ДРТ відрізняли від здорових фертильних жінок білатерально збільшені яєчники та потовщене М-ехо на 5-й день МЦ. У пацієток групи Н у фолікулінову фазу МЦ базальний рівень ФСГ був вірогідно підвищений відносно такого у жінок групи К в 1,67 рази, ЛГ – в 1,41; E_2 на 2-3-й день МЦ був більший у 1,30 рази і на 22-й день менший у 1,37; П на 22-й день МЦ – менший у 2,18 рази; Тв – вищий у 1,38. У пацієток групи ДРТ відмічали порівняно з жінками групи К зниження рівнів субпопуляцій лімфоцитів периферичної крові: CD3+ – на 15,28 %; CD4+ на 23,59 %; CD8+ на 12,45 %; CD16+ – на 22,56 % і підвищення долі активованих Т-лімфоцитів CD25+ на 12,46 %.

На другому етапі роботи були проаналізовані отримані результати дослідження функціонального стану ендометрія у жінок досліджуваних груп в залежності: від хронологічної відповідності морфофункціонального стану ендометрія дню та фазі МЦ за критеріями R. W. Noyes і О. И. Топчиевой; наявності в слизовій матки хронічних запальних та гіперпластичних процесів; ефективності останньої спроби ДРТ.

У пацієток групи ДРТ в період передбачуваного вікна імплантації спостерігалися зміни експресії рецепторів стероїдних гормонів в ендометрії, загальною тенденцією яких

в залозах було підвищення продукції РЕ α та РП, а в стромі – зниження РП на тлі нормальної експресії РЕ α .

При відповідності ендометрія в день передбачуваного вікна імплантації фази проліферації IRS РЕ α в залозах склав від аналогічних показників контрольної групи 421 %, IRS РП – 357 %, а в стромі ендометрія – 133 і 67 %; при відповідності ранній фазі секреції – 406, 481 % і 118, 83 %; середній фазі секреції – 372, 366 % і 87, 80 %; пізній фазі секреції – 287, 194 % і 114, 78 %; в ендометрії змішаної будови – 267, 316 % і 112, 62 %.

При наявності хронічного ендометриту у пацієнок з невдалими спробами ДРТ IRS РЕ α в залозах перевищував такий в контролі в 2,62 рази та до РП – в 3,40; в стромі IRS до РЕ α був нижчий в 1,27 рази та до РП – в 1,60; при наявності гіперплазії IRS РЕ α в залозах був більше за такий в контролі в 4,61 рази та до РП – в 4,37; в стромі IRS до РЕ α був вище в 1,34 рази та до РП – нижче в 1,20. У пацієнок без явищ гіперпластичних та запальних процесів в ендометрії IRS РЕ α перевищував такий в контролі в 3,28 рази та до РП – в 3,14; а в стромі IRS до РЕ α та до РП вірогідно не відрізнялися від контрольних показників.

Для пацієнок групи Н порівняно з В була більш виражена експресія РЕ α в залозах – в 1,59 рази ($p < 0,01$). Співвідношення кількості РП/РЕ α в залозах в групі В перевищувало таке в групі Н в 1,47 рази ($1,73 \pm 0,04$ проти $1,18 \pm 0,08$, $p < 0,01$). Критичним рівнем цього співвідношення в залозах, при якому наставала вагітність у пацієнок групи В було $\geq 1,50$. Співвідношення РП/РЕ α в стромі вірогідно не відрізнялося від контрольних показників ні в групі Н ($1,59 \pm 0,13$), ні в групі В ($1,75 \pm 0,17$). IRS РЕ α та РП в залозах у групі Н складав від аналогічних контрольних показників 462 і 400 %; у групі В – відповідно 222 і 317 %. IRS РЕ α і РП в стромі в групах Н і В вірогідно не відрізнявся між собою і з групою К.

Спільними відмітними рисами формування піноподій в ендометрії жінок гарних відповідачів з невдалими спробами ДРТ в анамнезі було зниження кількості розвинених піноподій, підвищення чисельності піноподій, що розвиваються; часто зустрічалися ділянки відсутності піноподій; мозаїцизм їх розмірів, форми і стадії розвитку; кожна 3-4-а пацієнтка мала рясні короткі, товсті мікрворсинки; більше половини – їх помірне число, лише кожна п'ята – малу кількість. Характерною була поява циліарних клітин, найбільш виражена при гіперплазії ендометрія.

Розвинені зафіксовані на 22-й день МЦ у 90 % фертильних жінок, а у жінок з безпліддям, ендометрій яких відповідав на 22-й день фазі проліферації, вони відзначені в 6,0 разів рідше, при ранній і пізній фазі секреції – в 5,0 разів рідше. У абсолютної більшості жінок з ендометрієм, невідповідним фазі середньої секреції, спостерігалася різна форма і розмір піноподій, що не спостерігалася в жодному ендометрії групи контролю. Мала кількість мікрворсинок при відповідності ендометрія фазі середньої секреції спостерігалася лише в кожному третьому-четвертому випадку, а при інших – ще рідше. При аналізі формування піноподій залежно від патологічних процесів найбільші зміни самих піноподій виявлені при гіперплазії, а мікрворсинок – при хронічному ендометриті. Характерною рисою у жінок групи В в порівнянні з групою Н була наявність більш розвинених піноподій, менш виражений мозаїцизм їх розмірів і форми та більше число випадків з малою кількістю мікрворсинок.

Імунореактивність ЛФ в ендометрії пацієнток групи К в середньому склала $282,67 \pm 3,26$ ум. од., $\alpha V\beta_3$ -інтегринів – $295,92 \pm 2,78$ ум. од. У групі ДРТ HScore ЛФ в середньому дорівнював $256,39 \pm 3,24$ ум. од. і був менше порівняно з контролем в 1,10 рази ($p < 0,01$). Характерною була нерівномірна експресія ЛФ. HScore $\alpha V\beta_3$ -інтегринів в середньому склав $290,60 \pm 2,37$ ум. од. і вірогідно від контрольних показників не відрізнявся. При морфофункціональній невідповідності ендометрія фазі і дню МЦ тенденції змін експресії ЛФ і $\alpha V\beta_3$ -інтегринів в день передбачуваного вікна імплантації відповідали вище виявленим загальним: при відповідності ендометрія фазі проліферації HScore ЛФ склав від аналогічних показників групи К 84 %, HScore $\alpha V\beta_3$ -інтегринів – 93 %; при відповідності ранній фазі секреції – 86 і 97 %; середній фазі секреції – 94 і 101 %; пізній фазі секреції – 93 і 93 %; в ендометрії змішаної будови – 90 і 99 %.

Для ендометрія, в якому спостерігалися явища хронічного ендометриту, було характерне зниження HScore ЛФ, який склав від аналогічних показників групи К 92 %; тоді як HScore $\alpha V\beta_3$ -інтегринів вірогідно не відрізнявся і дорівнював $102,10 \pm 0,98$ %. При гіперплазії ендометрія була знижена як експресія ЛФ ($88,96 \pm 1,97$ %), так і $\alpha V\beta_3$ -інтегринів ($92,54 \pm 1,36$ %). У пацієнток без явищ хронічного ендометриту та гіперплазії реєструвалося зменшення HScore ЛФ, який склав від аналогічних показників контрольної групи $90,96 \pm 2,30$ % ($p < 0,01$), у той же час експресія $\alpha V\beta_3$ -інтегринів вірогідно не відрізнялася.

У жінок групи Н порівняно з пацієнтками групи В була знижена секреція ЛФ в 1,07 рази ($p < 0,01$), тоді як секреція $\alpha V\beta_3$ -інтегринів вірогідно не відрізнялася.

Аналіз субпопуляцій НК-клітин периферичної крові показав, що для жінок, які мали успішну вагітність, середнє значення абсолютної кількості CD69+ було $(0,58 \pm 0,12) \times 10^6$ /л. Для тих жінок, які не змогли досягти вагітності, середнє значення абсолютного числа CD69+ ($(1,62 \pm 0,52) \times 10^6$ /л) було вище в 2,79 рази ($p < 0,01$). Абсолютна кількість CD94+ і CD16+ експресії не мала суттєвої різниці між жінками з успішними і невдалими спробами ДРТ.

У роботі М. А. Coorer et al. (2001) було показано, що рівень CD69+НК-клітин $1,0 \times 10^6$ /л є прогностично значимим для результату лікування (частота настання вагітності) і результату вагітності (коефіцієнт народжуваності). Для перевірки цих даних досліджуваних жінок поділили на групу I ($n=79$), які мали кількість CD69+ $< 1,0 \times 10^6$ /л, і на групу II ($n=61$), де жінки мали рівень CD69+ $> 1,0 \times 10^6$ /л. При цьому не спостерігалось жодних істотних відмінностей між групою I і II щодо віку, чинників і тривалості безпліддя та базального рівня ФСГ. Встановлено, що у групі II частота імплантації була нижче за таку у групі I в 3,38 рази ($p < 0,01$), частота настання вагітності – в 3,42 ($p < 0,01$) і коефіцієнт народжуваності – в 7,20 ($p < 0,01$), а відсоток викиднів був вищий в порівнянні з групою I в 5,90 рази ($p < 0,05$).

Було проведено вивчення CD45+(LCA) та субпопуляцій НК-клітин в ендометрії досліджуваних жінок. Кількість імунопозитивних CD45+ в ендометрії на 22-й день МЦ в середньому склала $123,05 \pm 6,91\%$, що перевищувало аналогічний показник в контролі ($32,03 \pm 1,14\%$) в 3,84 рази ($p < 0,01$). Вміст CD56+ дорівнював $76,50 \pm 4,16\%$, що перевищувало такий вміст у пацієнток групи К ($6,06 \pm 0,36\%$) в 12,62 рази ($p < 0,01$). Кількість CD16+ в ендометрії жінок групи ДРТ була в середньому $41,68 \pm 1,98\%$, що було більше аналогічного рівня в контрольній групі ($1,47 \pm 0,15\%$) в 28,35 рази ($p < 0,01$). Індекс

CD16+/CD56+ у пацієнток групи ДРТ сягав $0,60 \pm 0,02$ і був більший за такий в контролі ($0,25 \pm 0,03$) в 2,40 ($p < 0,01$) рази.

При хронологічній невідповідності морфофункціонального стану ендометрія фази і дню МЦ тенденції змін експресії CD45+, CD56+, CD16+ і співвідношення CD16+/CD56+ в день передбачуваного вікна імплантації відповідали вище виявленим загальним тенденціям. При відповідності ендометрія фази проліферації вміст CD45+ в ньому вірогідно перевищував аналогічні показники контрольної групи в 3,61 рази; CD56+HK – в 9,00; CD16+HK – в 22,40; CD16+/CD56+ – в 2,33; ранній фазі секреції – в 2,38; в 20,19; в 47,28; в 2,65; середній фазі секреції – в 3,97; в 14,50; в 31,60; в 2,30; пізній фазі секреції – в 6,08; в 26,43; в 41,71; в 1,94; в ендометрії змішаної будови – в 2,75; в 10,40; в 27,39; в 2,54.

У пацієнток з хронічним ендометритом вміст CD45+ перевищував аналогічні показники контрольної групи в 3,58 рази; CD16+HK – в 32,27; CD56+HK – в 13,39; CD16+/CD56+ – 2,44; з гіперпластичними процесами – відповідно в 3,50 рази; в 25,06; в 11,44; в 2,27; в ендометрії без явищ гіперпластичних і запальних – в 3,66 рази; в 25,44; в 12,74; в 2,36. Досліджувані групи з різними гістологічними діагнозами стану ендометрія відрізнялися між собою лише за експресією CD16+HK, рівень яких у групі з хронічним ендометритом перевищував такий в групі з гіперплазією ендометрія в 1,29 рази ($p < 0,02$) і в групі без гіперпластичних і запальних процесів – в 1,27 ($p < 0,05$).

Незважаючи на загальну тенденцію до підвищення LCA і HK в ендометрії у пацієнток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі, також спостерігалися випадки зниженого їх вмісту впритул до слідів. Характерною рисою був нерівномірний вміст LCA і HK клітин в одному полі зору і в різних ділянках препарату ендометрія.

У жінок групи Н порівняно з В спостерігався більш високий вміст в ендометрії LCA та субпопуляцій HK-клітин в стромі: рівень CD45+ в групі Н перевищував такий в групі В в 1,19 рази ($p < 0,04$); CD56+HK – в 1,26; CD16+HK – в 1,26; тоді як співвідношення CD16+/CD56+ вірогідно не відрізнялося.

При дослідженні зразків ендометрія в групах ДРТ і К лімфоїдні елементи зустрічалися в усіх випадках і реєструвалися в стромі у вигляді поодиноких, дифузно розташованих клітин або скупчень, але імунозабарвлення клітин інфільтрату МАТ до CD138+ зустрічалось тільки у пацієнток з хронічним ендометритом. Імунореактивність до сіндекану-1 відмічалася на поверхні клітин в залозистому епітелії, особливо в базальному шарі, а також клітинній поверхні плазмоцитів. В контрольній групі не виявлено імунопозитивних клітин до CD138+. У жінок з хронічним ендометритом вміст сіндекану-1 варіював від 3,92 до 29,87% і в середньому склав $12,79 \pm 0,96\%$. Цікавим є те, що у 20,31 % пацієнток з хронічним ендометритом, у яких за даними результатів гістологічного дослідження зразків ендометрія, пофарбованих гематоксиліном та еозином, була зафіксована лише секреторна трансформація ендометрія й поодинокі лімфоїдні клітини або невеликі лімфоїдно-гістіоцитарні інфільтрати в стромі, при імуногістохімічному забарвленні виявлена наявність плазмоцитів в стромі. У групі Н порівняно з В спостерігався більш високий вміст в ендометрії сіндекану-1 в 1,50 рази ($p < 0,05$).

При аналізі проліферативної та апоптотичної активності ендометрія було виявлено, що у жінок контрольної групи кількість клітин в стані апоптозу в період

передбачуваного вікна імплантації переважала над числом клітин в стані проліферації, тоді як у досліджуваних безплідних пацієнок зареєстрована протилежна тенденція – кількість імунопозитивних клітин до Ki-67 в стромі ендометрія перевищувала число апоптотичних клітин. При цьому вміст Ki-67 в стромі у безплідних пацієнок з відповідністю ендометрія фазі проліферації перевищував аналогічний показник контрольної групи в 21,49 рази ($p < 0,01$), а клітин в стані апоптозу навпаки був менше в 6,71 рази ($p < 0,01$); при відповідності ранній фазі секреції – відповідно в 23,57 ($p < 0,01$) і в 2,19 ($p < 0,01$); середній фазі секреції – в 20,09 ($p < 0,01$) і в 1,22 ($p < 0,01$); пізній фазі секреції – в 17,48 ($p < 0,01$) і в 1,39 ($p < 0,01$); в ендометрії змішаної будови – в 23,57 ($p < 0,01$) і в 1,32 ($p < 0,01$).

Кількість імунопозитивних клітин до Ki-67 та клітин в стані апоптозу в стромі ендометрія безплідних пацієнок варіювала від відсутності до 7,45 % і 12,02 % при його відповідності фазі проліферації; до 11,96 % та 16,82 % – при відповідності ранній фазі секреції; до 8,95 % та 14,35 % – при відповідності середній фазі секреції; до 7,25 % та 4,59 % – при відповідності пізній фазі секреції; до 17,58 % та 6,21 % – при змішаній будові ендометрія.

Найбільш виражені процеси проліферації спостерігалися при наявності гіперпластичних процесів ендометрія, а апоптозу – у пацієнок без запальних та гіперпроліферативних процесів в ендометрії. Для ендометрія, в якому спостерігалися явища хронічного ендометриту, було характерне збільшення Ki-67 порівняно з аналогічними показниками контрольної групи в 21,32 рази ($p < 0,01$); тоді як відсоток клітин в стані апоптозу був менший в 1,48 рази ($p < 0,01$). При гіперплазії ендометрія відмічалася підвищення Ki-67 в 22,71 рази ($p < 0,01$) і зменшення апоптотичних клітин в 1,34 ($p < 0,01$). У пацієнок без явищ хронічного ендометриту та гіперпластичних процесів також реєструвалося підвищення відсотку імунопозитивних клітин до Ki-67 в 16,50 рази ($p < 0,01$) на тлі зниження відсотку клітин в стані апоптозу в 1,28 рази ($p < 0,01$). Кількість імунопозитивних клітин у жінок з хронічним ендометритом і гіперплазією ендометрія перевищувала таку у пацієнок без гіперпластичних і запальних процесів відповідно у 1,29 ($p < 0,01$) і 1,38 ($p < 0,01$) рази. Вірогідної різниці між відсотком апоптотичних клітин в стромі ендометрія між групами жінок з хронічним ендометритом, гіперплазією ендометрія та без таких не виявлено. Встановлено вірогідну пряму кореляційну залежність між кількістю імунопозитивних клітин до Ki-67 в стромі ендометрія та: IRS PE α в залозах – $r = 0,36$, $p < 0,01$; IRS PP в залозах – $r = 0,31$, $p < 0,02$.

У жінок групи Н порівняно з В відмічалася більша кількість імунопозитивних клітин при ІГХ-забарвленні МАТ до Ki-67 в 1,69 рази ($p < 0,02$) та менша чисельність апоптотичних клітин в 1,32 ($p < 0,05$).

Таким чином, у безплідних пацієнок гарних відповідей з невдалими спробами ДРТ в анамнезі в день передбачуваного вікна імплантації в ендометрії порушується експресія PE α та PP, формування піноподій та їх мікрворсинок, знижується секреція ЛПФ, змінюється інфільтрація ендометрія НК-клітинами і CD138+, посилюється проліферація та знижується апоптоз, що порушує функціональну активність ендометрія і приводить до розвитку його арецептивності, тобто несприйняття бластоцисти для імплантації.

На третьому етапі дослідження розроблена персоніфікована схема відновлення функціонального стану ендометрія, яка була застосована у пацієнок групи НО (n=40) перед проведенням чергового циклу ДРТ. Пацієнтки групи НП (n=40) отримали традиційну підготовку до циклу ДРТ. Після закінчення курсу лікування пацієнтки груп НО і НП були додатково досліджені і включені у наступний цикл ВРТ.

На четвертому етапі дослідження проаналізовані результати впровадження розробленої персоніфікованої схеми корекції функціонального стану ендометрія перед проведенням циклу ДРТ.

Проведене лікування привело до вірогідного зниження рівнів гонадотропінів у периферичній крові пацієнок груп НО і НП. Досліджувані групи не відрізнялися за рівнем ФСГ, а рівень ЛГ у групі НО був нижчий за такий у групі НП в 1,24 рази ($p < 0,01$). Рівень E_2 у пацієнок групи НО підвищився в 1,12 рази ($p < 0,02$), П – в 1,75 рази ($p < 0,01$), а рівень Тв знизився в 1,35 ($p < 0,01$); у групі НП – відповідно в 1,23 ($p < 0,01$), в 1,19 ($p > 0,05$) і в 1,26 ($p < 0,01$). Вірогідні відмінності сироваткового вмісту статевих стероїдів між групами спостерігалися лише за рівнем П, який у групі НО перевищував аналогічний у групі НП в 1,29 рази ($p < 0,01$).

Аналіз субпопуляційного складу НК-клітин у периферичній крові після проведеного лікування показав вірогідне зниження в динаміці лікування у групі НО вмісту CD69+ в 2,16 рази, CD94+ – в 2,38 і підвищення CD94+ – в 1,14, тоді як у групі НП вірогідно знизився вміст CD69+ в 1,16 рази і CD94+ – в 1,23. Після лікування досліджувані групи вірогідно відрізнялися за рівнями CD69+ і CD94+, котрі у групі НО були нижче за такі у групі НП відповідно в 1,91 ($p < 0,01$) і в 1,99 рази ($p < 0,01$). Слід відмітити, що після лікування відсоток жінок у групі НО з рівнем CD69+ нижчим за пороговий ($1,0 \times 10^6/\text{л}$) складав 90,00 % і перевищував такий у групі НП (15,00 %) в 6,00 разів.

Після проведення лікування у всіх пацієнок на 22-й день МЦ була проведена пайпель-біопсія ендометрія і досліджений його функціональний стан.

Під впливом лікування у групі НО зменшилося число жінок з піноподіями, які розвиваються, у 3,60 рази; з ділянками відсутності піноподій – у 2,33; з різною формою – у 1,65 і з різними розмірами піноподій – у 2,00, а кількість пацієнок з розвинутими піноподіями збільшилася в 1,94 рази. У групі НП в динаміці лікування вірогідно зменшилася лише чисельність жінок з піноподіями різних розмірів. Після закінчення лікування групи НО і НП вірогідно розрізнялися за кількістю жінок з наявністю розвинутих піноподій ($77,50 \pm 1,40$ проти $55,00 \pm 1,18$ %, $p < 0,03$), з ділянками відсутності піноподій ($22,50 \pm 0,76$ проти $45,00 \pm 1,07$ %, $p < 0,03$), з різною формою піноподій ($42,50 \pm 1,04$ проти $70,00 \pm 1,34$ %, $p < 0,01$) і з різними розмірами піноподій ($40,00 \pm 1,01$ проти $65,00 \pm 1,29$ %, $p < 0,03$). В динаміці лікування зареєстровано збільшення чисельності жінок з малою кількістю піноподій у групі НО в 1,90 рази ($p < 0,04$), яка була більша за таку у групі НП в 2,11 рази ($p < 0,04$).

Загальною тенденцією динаміки імунореактивності стероїдних рецепторів в ендометрії на L+8 день після лікування в досліджуваних групах було зниження кількості імунореактивних рецепторів до естрогенів- α та П в залозах та підвищення числа рецепторів до П в стромі. При цьому IRS рецепторів естрогенів- α в залозах у групі НО був нижчий за такий у групі НП в 1,58 рази ($p < 0,05$) і IRS рецепторів П в залозах – в 2,02 ($p < 0,01$), тоді як IRS рецепторів П в стромі перевищував аналогічний в групі НП в 1,21 рази ($p < 0,01$).

Поліпшення рецептивності ендометрія у жінок групи НО в динаміці лікування супроводжувалося підвищенням експресії ЛПФ у 1,14 рази ($p < 0,01$). Hscore ЛПФ у групі НО був більший за такий у групі НП в 1,13 рази ($p < 0,01$). Вірогідних змін експресії $\alpha V\beta_3$ -інтегринів як в динаміці лікування, так і поміж групами НО і НП після закінчення лікування не встановлено.

Динаміка спектру імунокомпетентних клітин в стромі ендометрія на L+8 день після лікування проявлялася зниженням кількості CD45+, CD56+, CD16+ в обох досліджуваних групах, вірогідно більш вираженим у групі НО. Так, кількість CD45+ у групі НО після закінчення лікування була нижча за таку в групі НП в 1,35 рази ($p < 0,01$), CD56+ – в 1,53 ($p < 0,01$), CD16+ – в 1,53 ($p < 0,01$)

Зниження активності хронічних запальних процесів в ендометрії досліджуваних жінок супроводжувалося зменшенням середньої кількості CD138+: у групі НО з $6,26 \pm 1,48$ до $0,33 \pm 0,13\%$ ($p < 0,01$), у групі НП – з $5,68 \pm 1,39$ до $2,49 \pm 0,66\%$ ($p < 0,04$). Таким чином, після закінчення лікування середня чисельність CD138+ імунореактивних клітин в ендометрії жінок групи НО була менша за таку у групі НП в 7,55 рази ($p < 0,01$).

Аналіз динаміки кількості імунопозитивних клітин ендометрія в стані проліферації та апоптозу на L+8 день після лікування в досліджуваних групах показав зниження активності проліферації в залозах та стромі та активізацію апоптозу в стромі. При цьому кількість Ki-67 у групі НО була менша за таку у групі НП в стромі в 1,36 рази ($p < 0,02$), в залозах – в 2,38 ($p < 0,02$). Кількість клітин в стані апоптозу в стромі ендометрія у групі НО перевищувала таку у групі НП в 1,37 рази ($p < 0,04$), а в залозах вірогідно не відрізнялася.

Поліпшення функціональної активності ендометрія у пацієток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі привело до того, що після наступного циклу ВРТ завагітніло у групі НО 35,00 % пацієток, а в групі НП – 15,00 % ($p < 0,04$); вагітність закінчилася пологамі відповідно у 30,00 % і 10,00 % жінок. Слід відмітити, що у групі НО у кожній сьомій жінки вагітність завершилася мимовільним перериванням, тоді як у групі НП – у кожній третій.

ВИСНОВКИ

У дисертації приведено нове розв'язання актуальної задачі сучасної гінекології – підвищення ефективності лікування безпліддя в програмі допоміжних репродуктивних технологій. На підставі вивчення загального імунного статусу, особливостей експресії ендометріальних рецепторів до стероїдних гормонів, формування піноподій, секреції молекул імплантації, загального лейкоцитарного антигену та натуральних кілерних клітин, проліферативної і апоптотичної активності в ендометрії розроблена та впроваджена схема діагностики та корекції функціонального стану ендометрія, що привело до підвищення числа випадків настання вагітності у пацієток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі.

1. Однією з основних причин неефективності допоміжних репродуктивних технологій є функціональна неповноцінність ендометрія в дні переносу ембріона, яка спостерігається в 93,9 % випадків. Тому актуальною є розробка та впровадження схеми діагностики та корекції функціонального стану ендометрія перед проведенням допоміжних репродуктивних технологій.

2. Експресія рецепторів до стероїдних гормонів в ендометрії залежить від вираженості секреторних перетворень, наявності хронічних запальних та гіперпроліферативних

процесів і є найбільшою в залозах при хронологічній відповідності середній фазі секреції та гіперплазії, найменшою – в ендометрії, хронологічно відповідному пізній секреції, без явищ гіперплазії та запалення. Зміни в експресії рецепторів статевих гормонів в стромі при наявності патологічних процесів в ендометрії зустрічаються набагато рідше, ніж в залозах; найчастіше – при хронічному ендометриті, при якому спостерігається найменший їх відсоток. У жінок з останньою невдалою спробою допоміжних репродуктивних технологій порівняно з жінками з останньою вдалою спробою більш виражена експресія рецепторів естрогенів- α в залозах (в 1,59 рази, $p < 0,01$), що приводить до зниження співвідношення рецепторів прогестерону до рецепторів естрогенів- α в 1,47 рази. Критичним рівнем цього співвідношення в залозах, при якому настає вагітність, є $\geq 1,50$.

3. Загальними рисами порушень рецептивності ендометрія у жінок гарних відповідачів з невдалими спробами допоміжних репродуктивних технологій в анамнезі є зниження кількості розвинутих піноподій; підвищення чисельності піноподій, які розвиваються; часта наявність ділянок відсутності піноподій; мозаїцизм їх розмірів, форми та стадії розвитку; від однієї чверті до одної третини пацієток мають рясні короткі, товсті мікрворсинки; понад половини – їх помірне число, кожна п'ята – малу кількість; характерною є поява циліарних клітин, найбільш виражена при гіперпластичних процесах ендометрія. Найбільші порушення формування піноподій спостерігаються при відповідності його фазі пізній секреції, при змішаній будові та при гіперплазії, а мікрворсинок – при відповідності фазі пізній секреції та при хронічному ендометриті.

4. Імплантаційна недостатність розвивається на тлі порушення експресії молекул імплантації. У пацієток з останньою невдалою спробою допоміжних репродуктивних технологій реєструється більш знижена секреція лейкоїну інгібуючого фактору, яка збільшується та зменшується відповідно зростанню та регресії секреторних змін, нерівномірна та знижена при наявності хронічних запальних процесів в 1,09 рази ($p < 0,01$), гіперплазії – в 1,12 ($p < 0,01$), при відсутності гіперпластичних і запальних процесів – в 1,10 ($p < 0,01$), в той час як експресія $\alpha V\beta_3$ -інтегринів вірогідно зменшена лише при наявності гіперплазії – в 1,08 рази ($p < 0,01$).

5. Підвищені активовані натуральні кілерні клітини периферичної крові грають шкідливу роль в результатах лікування методом допоміжних репродуктивних технологій. У жінок з рівнем $CD69^+ > 1,0 \times 10^6$ /л частота імплантації нижче за таку, ніж у пацієток з рівнем $CD69^+ < 1,0 \times 10^6$ /л в 3,38 рази ($p < 0,01$), частота настання вагітності – в 3,42 ($p < 0,01$) і коефіцієнт народжуваності – в 7,20 ($p < 0,01$), а відсоток викиднів вищий в 5,90 рази ($p < 0,05$). У пацієток гарних відповідачів в циклах ДРТ з невдалими імплантаціями в анамнезі спостерігається вірогідне підвищення інфільтрації ендометрія в день передбачуваного вікна імплантації $CD45^+$ в 3,84 рази, $CD56^+$ – в 12,62, $CD16^+$ – в 28,35, найбільш виражене при відповідності ендометрія пізній і середній фазі секреції. Експресія $CD16^+$ вище у жінок з гіперплазією ендометрія в 1,29 рази ($p < 0,02$) і у пацієток без гіперпластичних і запальних процесів – в 1,27 ($p < 0,05$).

6. Застосування імуногістохімічного виявлення сіндекану-1 збільшує можливість виявлення плазмоцитів в зразках ендометрія та вірогідної верифікації діагнозу хронічного ендометриту. У випадках, коли не відмічається чітких ознак присутності

плазмоцитів на зрізах, пофарбованих гематоксиліном та еозином, фарбування моноклональними антитілами проти сіндекану-1 дозволяє виявити плазмоцити й відрізнити їх від плазмацитоїдних стромальних клітин. У жінок з останньою невдалою спробою допоміжних репродуктивних технологій порівняно з жінками з останньою вдалою спробою спостерігається більший в 1,50 рази ($p < 0,05$) вміст в ендометрії CD138+.

7. У жінок гарних відповідей з невдалими спробами допоміжних репродуктивних технологій в анамнезі спостерігається підвищена активність проліферації в стромі ендометрія на тлі зниження апоптозу в період вікна імплантації. Проліферативні процеси найактивніші при хронологічній відповідності ендометрія фазі ранньої секреції і змішаній його будові, а апоптозу – при відповідності середній фазі секреції. Встановлено вірогідну пряму кореляційну залежність між кількістю Ki-67 в стромі ендометрія та: рецепторів естрогенів- α ($r=0,36$, $p < 0,01$) і рецепторів прогестерону ($r=0,31$, $p < 0,02$) в залозах. У жінок з останньою невдалою спробою допоміжних репродуктивних технологій порівняно з жінками з останньою вдалою спробою в період передбачуваного вікна імплантації збільшений вміст Ki-67 в 1,69 рази ($p < 0,02$) та зменшена чисельність апоптотичних клітин в 1,32 ($p < 0,05$).

8. Проведене лікування за розробленим способом порівняно з існуючим приводить до вірогідного зниження у периферичній крові рівня лютеїнізуючого гормону на 5-й день менструального циклу в 1,24 рази; підвищення рівня прогестерону на 22-й день менструального циклу в 1,29; зниження вмісту CD69+ в периферичній крові в 1,91; збільшення числа жінок з наявністю в ендометрії в період передбачуваного вікна імплантації розвинутих піноподій в 1,41 рази і з малою кількістю мікрворсинок – в 2,11; зменшення випадків з ділянками відсутності піноподій в 2,00, з різною їх формою – в 1,65 і з різними розмірами – в 1,63; зниження в залозах ендометрія рецепторів естрогенів- α в 1,58 і рецепторів прогестерону – в 2,02, підвищення вмісту рецепторів прогестерону в стромі в 1,21 рази; збільшення експресії лейкоїну інгібуючого фактору в 1,14; зниження інфільтрації строми ендометрія натуральними кілерами (CD45+ – в 1,35 рази, CD56+ – в 1,53, CD16+ – в 1,53), сіндеканом-1 – в 7,55 рази; зниження Ki-67 в стромі в 1,36 і в залозах – в 2,38 та збільшення кількості клітин в стані апоптозу в стромі ендометрія в 1,37 рази, що приводить у сукупності до поліпшення функціонального стану ендометрія і збільшення настання вагітності в наступному циклі ДРТ в 2,33 рази ($p < 0,04$) та завершення вагітностей, що настали, пологами – в 3,00 ($p < 0,03$).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Пацієнткам з невдалими імплантаціями в анамнезі потрібно проводити оцінку функціонального стану ендометрія в день передбачуваного вікна імплантації, яка включає дослідження рецепторів до стероїдних гормонів, імунний статус (CD16+), сіндекану-1, наявність піноподій, вираженість проліферації (Ki-67).

2. Після встановлення основних патогенетичних факторів, що спричиняють порушення функціонального стану ендометрія, для пацієнтки обирають спосіб лікування:

а) при хронічному ендометриті: курс 10 в/м ін'єкцій комплексу плацентарних регуляторних пептидів по 2 мл через день; впродовж 9 днів ректально по 1 супозиторію, який вміщує 15 000 МО стрептокінази та 1250 МО стрептодорнази, двічі на добу; вітамін

Е перорально в капсулах по 200 мг 1 раз на добу з 15-го по 26-й день менструального циклу 3 місяці;

б) при хронічному ендометриті з явищами гіпотрофії: додатково до терапії за п. а): циклічну гормональну терапію впродовж 3-6 місяців, яка включає прийом естрадіолу у вигляді 1 г 0,1 % гелю на шкіру 1-2 рази на добу з 3-го по 14-й день менструального циклу та мікронізований прогестерон вагінально по 100 мг тричі на добу з 15-го по 26-й день менструального циклу; фізіотерапевтичні процедури: в 1-й місяць терапії – електрофорез на низ живота з 2 %-ним розчином сульфату міді з 5-го по 14-й день менструального циклу, після цього з 15-го по 26-й день менструального циклу з 2 %-ним розчином сульфату цинку; в 2-й і 3-й місяці терапії – курс зональної декомпресії на низ живота або гінекологічного масажу з 2-го дня після місячного, 10 процедур; санаторно-курортне лікування;

в) при хронічному ендометриті з явищами гіперпроліферації: після курсу гормонотерапії гестагенами призначають 3 місяці 0,03 мг етинілестрадіолу + 0,15 мг дезогестрелу з 5-го по 26-й день менструального циклу;

г) при порушенні імунної реактивності: 10 в/м ін'єкцій комплексу плацентарних регуляторних пептидів по 2 мл через день; вітамін Е перорально по 200 мг 1 раз на добу з 15-го по 26-й день менструального циклу впродовж 3 місяців;

д) при гіперпродукції CD16+: терапія, як описано в п. г) окрім того, у 2-й і 3-й місяці призначають 5-аміно-1,2,3,4-тетрагідрофталазин-1,4-діонанатрієву сіль по 0,2 г в/м 1 раз на добу або ректально супозиторії по 0,1 г двічі на добу з 15-го по 26-й день менструального циклу;

е) при гіпопродукції CD16+ МНК-клітин: терапія, як описано в п. г), але ін'єкції 5-аміно-1,2,3,4-тетрагідрофталазин-1,4-діонанатрієвої солі вводять в дозі по 0,1 г в/м 1 раз на добу або супозиторії по 0,1 г 1 раз на добу з 15-го по 26-й день менструального циклу;

ж) при морфофункціональній невідповідності ендометрія фазі менструального циклу в день передбачуваного вікна імплантації без явищ запалення та гіперпроліферації: циклічна гормональна терапія, як за п. б);

з) при морфофункціональній відповідності ендометрія фазі менструального циклу в день передбачуваного вікна імплантації: при підвищеній експресії стероїдних рецепторів ендометрія призначають трипторелін по 3,75 мг 1 раз в 28 днів, всього 3 ін'єкції. При зниженій експресії стероїдних рецепторів ендометрія додатково призначають циклічну гормональну терапію, як за п. б), а при нормальній експресії стероїдних рецепторів ендометрія 0,03 мг етинілестрадіолу+0,15 мг дезогестрелу з 5-го по 26-й день менструального циклу, як за п. в);

и) при гіперплазії ендометрія з наявністю стероїдних рецепторів після основного курсу гормонотерапії гестагенами призначають 3 курси 0,03 мг етинілестрадіолу + 0,15 мг дезогестрелу з 5-го по 26-й день менструального циклу, а також ректально супозиторії 5-аміно-1,2,3,4-тетрагідрофталазин-1,4-діонанатрієвої солі по 0,1 г на добу впродовж 5 днів, потім – по 0,1 г 1 раз в 2 дні, 5 разів;

к) при гіперплазії ендометрія за відсутності стероїдних рецепторів: трипторелін п/ш по 3,75 мг 1 раз на 28 днів, всього 3 ін'єкції, або одноразово трипторелін по 11,25 мг; ректально супозиторії 5-аміно-1,2,3,4-тетрагідрофталазин-1,4-діонанатрієвої солі по 0,1 г на добу впродовж 5 днів, потім – по 0,1 г один раз на 2 дні 5 разів.

**СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ
ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Саенко А. И. Рецептивность эндометрия у пациенток с бесплодием : монография / В. К. Чайка, А. В. Чайка, Е. Н. Носенко, Л. В. Сусликова, И. Д. Гюльмамедова, В. Э. Дорошенко, А. И. Саенко, И. Г. Постолук, О. И. Парницкая. – Донецк : Ноулидж, 2011. – 243 с. *(Дисертанту належать участь у підготовці огляду літературних джерел, збір матеріалу, аналіз одержаних даних, підготовка до друку.)*
2. Саенко А. И. Имуногистохимическое определение синдекана-1 в диагностике хронического эндометрита у пациенток с неудачными попытками экстракорпорального запліднення / О. М. Носенко, А. И. Саенко, Е. М. Айзятуллова, О. О. Селезньов, И. Г. Постолук, Т. В. Шатохіна // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения : тр. Крым. гос. мед. ун-та им. С. И. Георгиевского. – 2010. – Т. 149, ч. III. – С. 125–128. *(Дисертанту належать збір матеріалу, аналіз одержаних даних, підготовка до друку.)*
3. Саенко А. И. Экспрессия стероидных рецепторов у жінок з неудачными попытками экстракорпорального запліднення та переносу ембріонів в період передбачуваного вікна імплантації / О. М. Носенко, А. И. Саенко, И. Г. Постолук // Медико-соціальні проблеми сім'ї. – 2011. – Т. 16, № 2. – С. 75–83. *(Дисертанту належать збір матеріалу, аналіз даних, підготовка до друку.)*
4. Саенко А. И. Экспрессия лейкоциіну інгібующего фактора і альфа-V-бета-3-інтегринів в эндометрії жінок з неудачными попытками экстракорпорального запліднення і перенесення ембріонів в період передбачуваного вікна імплантації / О. М. Носенко, А. И. Саенко, И. Г. Постолук // Медико-соціальні проблеми сім'ї. – 2011. – Т. 16, № 3. – С. 51–59. *(Дисертанту належать збір матеріалу, аналіз одержаних даних, підготовка до друку.)*
5. Саенко А. И. Иммуная реактивность эндометрия у пациенток с неудачными попытками вспомогательных репродуктивных технологий в анамнезе / Е. Н. Носенко, А. И. Саенко, И. Г. Постолук // Таврійський медико-біологічний вісник. – 2012. – Т. 15, № 2, ч. 2 (58). – С. 157–159. *(Дисертанту належать збір матеріалу, аналіз одержаних даних, підготовка до друку.)*
6. Саенко А. И. Рецепторный статус эндометрия у бесплодных женщин с неудачными попытками вспомогательных репродуктивных технологий / Е. Н. Носенко, А. И. Саенко, И. Г. Постолук // Таврійський медико-біологічний вісник. – 2013. – Т. 16, № 2, ч. 2 (62). – С. 80–82. *(Дисертанту належать збір матеріалу, аналіз одержаних даних, підготовка до друку.)*
7. Саенко А. И. Экспрессия субпопуляцій натуральних кілерних клітин у периферичній крові в жінок із вдалими та неудачними спробами допоміжних репродуктивных технологий / А. И. Саенко, О. М. Носенко // Медико-соціальні проблеми сім'ї. – 2014. – Т. 19, № 1. – С. 41–46. *(Дисертанту належать збір матеріалу, аналіз одержаних даних, підготовка до друку.)*
8. Саенко А. И. Клінічна характеристика безплідних жінок з неудачними імплантаціями, які мають гарну відповідь в циклах допоміжних репродуктивных технологий (ДРТ) / А. И. Саенко // Медико-соціальні проблеми сім'ї. – 2014. – Т. 19, № 2. – С. 99–104.

9. Саенко А. И. Особенности формирования пиноподий в эндометрии в зависимости от наличия в нем хронических воспалительных и гиперпролиферативных процессов у женщин хороших ответчиков с неудачными попытками вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) в анамнезе [Электронный ресурс] / Е. Н. Носенко, А. И. Саенко, О. И. Парницкая, Е. П. Головатюк // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 6. – Режим доступа : <http://www.science-education.ru/120-16549>. (Дисертанту належать збір матеріалу, аналіз одержаних даних, підготовка до друку.)

10. Пат. 53241 Україна, МПК G01N 33/53 Спосіб діагностики хронічного ендометриту у пацієнок з трубно-перитонеальним безпліддям / Чайка А. В., Носенко О. М., Саенко А. І., Айзятуллова Е. М., Селезньов О. О., Постолук І. Г. ; заявник і патентовласник ДонНМУ ім. М. Горького. – № и 201005020 ; заявл. 26.04.10 ; опубл. 27.09.10, Бюл. № 18. (Дисертанту належать патентний пошук, участь у розробці патенту.)

11. Патент 70810 U МПК (2012. 01) А61В 17/00 Спосіб вибору лікування порушення рецептивності ендометрія у жінок репродуктивного віку з безпліддям / Носенко О. М., Саенко А. І. ; заявник і патентовласник ДонНМУ ім. М. Горького. –№ и 201114626 ; заявл. 09. 12. 2011 ; опубл. 25. 06. 2012, Бюл. № 12. (Дисертанту належать патентний пошук, участь у розробці патенту.)

12. Саенко А. І. Діагностика хронічного ендометриту у пацієнок з безпліддям / О. М. Носенко, А. І. Саенко // Репродуктивна ендокринологія. – 2014. – № 2 (16). – С. 101. (Гармонія гормонів – основа здоров'я жінки : 2-га наук. -практ. конф. з міжнар. участю. Київ, 15–16 квітня 2014 р. : матеріали). (Дисертанту належать збір матеріалу, аналіз одержаних даних, підготовка до друку.)

13. Sayenko A. I. On the question of the feasibility of endometrial samples scanning electron microscopy before controlled ovarian stimulation in women with unsuccessful attempts ART history / O. M. Nosenko, A. I. Sayenko, O. I. Parnitskaya, V. K. Chaika, A. V. Chaika // 15th World congress on human reproduction. Venecia, Italy, Hilton Molino Stucky, 13–16 March 2013 : abstracts. – Venecia, 2013. – P. 137. (Дисертанту належать збір матеріалу, аналіз одержаних даних, підготовка до друку.)

АНОТАЦІЯ

Саенко А. І. Відновлення функціональної активності ендометрія у безплідних жінок з невдалими спробами допоміжних репродуктивних технологій. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.01 – акушерство та гінекологія. – Одеський національний медичний університет МОЗ України, Одеса, 2015.

У дисертації наведено нове розв'язання актуального завдання сучасної гінекології – підвищення ефективності лікування безпліддя в програмі допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ). Об'єктом дослідження став функціональний стан ендометрія у 140 пацієнок гарних відповідачів з невдалими спробами ДРТ в анамнезі і 30 умовно гінекологічно та соматично здорових жінок репродуктивного віку. Використані клініко-анамнестичні, полімеразної ланцюгової реакції, ультразвукові, гістероскопічні, радіоімунологічні, імуноферментні, цитофлюорометричні, морфологічні, імуногістохімічні,

скануючої електронної мікроскопії, статистичні методи дослідження. На підставі вивчення загального імунного статусу, особливостей експресії ендометріальних рецепторів до стероїдних гормонів, формування піноподій, секреції молекул імплантації, загального лейкоцитарного антигену та натуральних кілерних клітин в ендометрії, місцевої імунної, проліферативної та апоптотичної реактивності розроблена та впроваджена схема діагностики та корекції функціонального стану ендометрія, що привело до підвищення кількості випадків настання вагітності та закінчення вагітності пологами.

Ключові слова: безпліддя, допоміжні репродуктивні технології, невдалі спроби, функціональний стан ендометрія, діагностика, лікування.

АННОТАЦІЯ

Саенко А. И. Восстановление функциональной активности эндометрия у бесплодных женщин с неудачными попытками вспомогательных репродуктивных технологий. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.01 – акушерство и гинекология. – Одесский национальный медицинский университет МЗ Украины, Одесса, 2015.

В диссертации приведено новое решение актуальной задачи современной гинекологии – повышение эффективности лечения бесплодия в программе вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Для решения поставленной задачи автором проведено выявление особенностей эндометриальных рецепторов стероидных гормонов; изучен характер пиноподий и секреции эндометрием молекул имплантации; исследовано состояние системной иммунореактивности и местного иммунитета в эндометрии; оценена целесообразность иммуногистохимического определения синдекана-1 в эндометрии при диагностике хронического эндометрита; определены особенности процессов пролиферации и апоптоза в эндометрии у пациенток с неудачными попытками ВРТ. Разработаны схема патогенеза арцептивности эндометрия; схема диагностики и коррекции функционального состояния эндометрия у пациенток с неудачными попытками ВРТ, оценена ее эффективность.

Объектом исследования стало функциональное состояние эндометрия у пациенток с неудачными попытками ВРТ в анамнезе, а предметом исследования – катамнез и клиническая характеристика женщин с бесплодием; ультразвуковые параметры внутренних половых органов; гистероскопические данные; гормональный профиль периферической крови; характер формирования пиноподий; показатели рецептивности, пролиферативной, иммунной и апоптотической реактивности эндометрия в период предполагаемого окна имплантации; результаты восстановления репродуктивной функции.

Показано, что экспрессия рецепторов стероидных гормонов в эндометрии зависит от выраженности секреторных преобразований, хронических воспалительных и гиперпролиферативных процессов и является на L+8 день наибольшей в железах при хронологическом соответствии эндометрия средней фазе секреции и гиперплазии, наименьшей – в эндометрии, хронологически соответствующем поздней секреции, без явлений гиперплазии и воспаления. Изменения в экспрессии рецепторов половых

гормонов в строме при наличии патологических процессов в эндометрии встречаются гораздо реже, чем в железах; чаще всего – при хроническом эндометрите, при котором наблюдается наименьший их процент. У женщин с последней неудачной попыткой ВРТ по сравнению с женщинами с последней удачной попыткой более выражена экспрессия РЕ α в железах – в 1,59 раза ($p < 0,01$), что приводит к снижению соотношения РП / РЕ α в 1,47 раза. Критическим уровнем этого соотношения в железах, при котором наступает беременность, является РП/РЕ $\alpha \geq 1,50$. Для каждой пациентки с неудачными попытками ВРТ в анамнезе характерна своя индивидуальная экспрессия рецепторов половых гормонов.

Выявлено, что общими отличительными чертами формирования пиноподий в эндометрии женщин хороших ответчиков с неудачными попытками ВРТ в анамнезе является снижение количества развитых пиноподий, повышение численности развивающихся пиноподий; часто встречаются участки отсутствия пиноподий; мозаицизм их размеров, формы и стадии развития; от одной четверти до одной трети пациенток имеют обильные, короткие, толстые микроворсинки; более половины – их умеренное число и каждая пятая – малое количество; характерно появление цилиарных клеток, наиболее выраженное при гиперплазии эндометрия. Наибольшие нарушения формирования пиноподий наблюдаются при соответствии его фазе поздней секреции, смешанном строении и при гиперплазии, а микроворсинок – при соответствии фазе поздней секреции и при хроническом эндометрите.

Отмечено, что экспрессия ЛИФ более снижена у пациенток с последней неудачной попыткой ВРТ, увеличивается и уменьшается соответственно росту и регрессии секреторных изменений, неравномерна и снижена при наличии хронического воспаления в 1,09 раза ($p < 0,01$), гиперплазии – в 1,12 ($p < 0,01$), при отсутствии гиперпластических и воспалительных процессов – в 1,10 ($p < 0,01$), в то время как экспрессия $\alpha V\beta 3$ -интегринов достоверно уменьшена только при наличии гиперплазии – в 1,08 раза ($p < 0,01$). Для каждой больной характерна своя индивидуальная экспрессия молекул имплантации.

Установлено, что повышение активированных НК-клеток периферической крови играет отрицательную роль в результатах лечения методом ВРТ. У женщин с уровнем CD69+ $> 1,0 \times 10^6$ /л частота имплантации ниже таковой у пациенток с уровнем CD69+ $< 1,0 \times 10^6$ /л в 3,38 раза ($p < 0,01$), частота наступления беременности – в 3,42 ($p < 0,01$) и коэффициент рождаемости – в 7,20 ($p < 0,01$), а процент выкидышей выше в 5,90 раза ($p < 0,05$). У пациенток хороших ответчиков в циклах ВРТ с неудачными имплантациями в анамнезе наблюдается повышение инфильтрации эндометрия в день предполагаемого окна имплантации CD45+ в 3,84 раза ($p < 0,01$), CD56+ – в 12,62 ($p < 0,01$), CD16+ – в 28,35 ($p < 0,01$), при этом наибольшее их увеличение наблюдается при соответствии эндометрия поздней и средней фазе секреции, а наиболее выраженная диспропорция между их содержанием – при соответствии фазе пролиферации. Экспрессия CD16+ превышает таковую у женщин с гиперплазией эндометрия в 1,29 раза ($p < 0,02$) и в группе без гиперпластических и воспалительных процессов – в 1,27 ($p < 0,05$).

Использование иммуногистохимического определения синдекана-1 увеличивает возможность обнаружения плазмочитов в образцах эндометрия. В случаях, когда не

отмечается четких признаков присутствия плазмочитов на срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, иммуногистохимия с моноклональными антителами к CD138+ позволяет выявить плазмочиты и отличить их от плазмачитоидных стромальных клеток. У женщин с последней неудачной попыткой ВРТ по сравнению с женщинами с последней удачной попыткой содержание в эндометрии синдекана-1 больше в 1,50 раза ($p < 0,05$).

Доказано, что у женщин хороших ответчиков с неудачными попытками ВРТ в анамнезе наблюдается повышенная активность пролиферации в строме эндометрия на фоне снижения апоптоза в период окна имплантации. Проллиферативные процессы наиболее активны при хронологическом соответствии эндометрия фазе ранней секреции и смешанном его строении, а апоптоза – при соответствии средней фазе секреции. Установлена корреляционная зависимость между количеством иммунопозитивных клеток к Ki-67 в строме эндометрия и: IRS в железах PE- α ($r=0,36$, $p < 0,01$) и РП ($r=0,31$, $p < 0,02$). У женщин с последней неудачной попыткой ВРТ по сравнению с женщинами с последней удачной попыткой в период предполагаемого окна имплантации увеличено содержание Ki-67 в 1,69 раза ($p < 0,02$) и уменьшена численность апоптотических клеток в 1,32 ($p < 0,05$).

Проведенная коррекция функционального состояния эндометрия по разработанному способу по сравнению с существующим привела к увеличению наступления беременности в последующем цикле ВРТ в 2,33 раза ($p < 0,04$) и завершению беременностей родами – в 3,00 ($p < 0,03$).

Ключевые слова: бесплодие, вспомогательные репродуктивные технологии, неудачные попытки, функциональное состояние эндометрия, диагностика, лечение.

SUMMARY

Saenko A. I. Restoring of the endometrium functional activity in infertile women with unsuccessful attempts of assisted reproductive technologies. – Printed as a manuscript.

The thesis for the degree of candidate of medical sciences 14.01.01 – obstetrics and gynecology. – Odessa National Medical University of Health Ministry of Ukraine, Odessa, 2015.

The thesis shows the new solution actual problem of modern gynecology – improving fertility treatment in IVF program. The object of the study was the functional state of the endometrium in 140 patients good defendants with failed IVF attempts in history and 30 gynecological and somatic healthy women of reproductive age. Clinical and medical history, polymerase chain reaction, ultrasonic, hysteroscopic, radioimmunological, immunoassay, cytofluorometry, morphological, immunohistochemical, scanning electron microscopy, statistical methods used. Based on the study of general immune status, characteristics expression of endometrial receptors for steroid hormones, formation pinopodes secretion of molecules implantation, total leukocyte antigen and the natural killer cells in the endometrium, local immune, proliferative and apoptotic responsiveness developed and implemented a scheme of diagnosis and correction of functional state of the endometrium, which led to an increase in the incidence of pregnancy and ending pregnancy leave.

Key words: infertility, assisted reproductive technology failures, functional state of the endometrium, diagnosis, treatment.

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

САЄНКО АЛЛА ІВАНІВНА

УДК 618.177-089.888.11-06:618.14-002-008:615.256.5

**ВІДНОВЛЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ
ЕНДОМЕТРІЯ У БЕЗПЛІДНИХ ЖІНОК
З НЕВДАЛИМИ СПРОБАМИ ДОПОМІЖНИХ
РЕПРОДУКТИВНИХ ТЕХНОЛОГІЙ**

14.01.01 – акушерство та гінекологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Одеса – 2015

Дисертацією є рукопис.

Роботу виконано в Донецькому національному медичному університеті ім. М. Горького, МОЗ України.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор
Носенко Олена Миколаївна,
Одеський національний медичний університет МОЗ України,
професор кафедри акушерства та гінекології № 1

Офіційні опоненти: член-кореспондент НАМН України,
доктор медичних наук, професор
Маркін Леонід Борисович,
Львівський національний медичний університет
ім. Данила Галицького МОЗ України,
завідувач кафедри акушерства та гінекології

доктор медичних наук, професор
Юзько Олександр Михайлович
Буковинський державний медичний університет
МОЗ України, завідувач кафедри акушерства та гінекології

Захист відбудеться «28» жовтня 2015 р. о 10.00 на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 41.600.02 при Одеському національному медичному університеті МОЗ України (65082, м. Одеса, пров. Валіховський, 2).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Одеського національного медичного університету МОЗ України (65082, м. Одеса, пров. Валіховський, 3).

Автореферат розісланий «25» вересня 2015 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради Д 41.600.02
доктор медичних наук, професор

Т. В. Стоєва

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АМГ	– антимюллерів гормон
в/м	– внутрішньом'язово
ГнРГ	– гонадотропін-рилізинг-гормон
ДРТ	– допоміжні репродуктивні технології
E ₂	– естрадіол
ІГХ	– імуногістохімічний
ІМТ	– індекс маси тіла
КОК	– комбінований оральний контрацептив
ЛГ	– лютеїнізуючий гормон
ЛФ	– лейкемію інгібуючий фактор
МАТ	– моноклональні антитіла
МЦ	– менструальний цикл
НК	– натуральні кілерні клітини
П	– прогестерон
ПРЛ	– пролактин
РЕ	– рецептори естрогенів
РП	– рецептори прогестерону
рФСГ	– рекомбінантний ФСГ
СЕМ	– скануюча електронна мікроскопія
СПКЯ	– синдром полікістозних яєчників
Тв	– вільний тестостерон
T ₃	– вільний трийодтиронін
T ₄	– вільний тироксин
ТТГ	– тиреотропний гормон
ФСГ	– фолікулостимулюючий гормон
ХГЛ	– хоріонічний гонадотропін людини
НScore	– Histochemical score, гістохімічний індекс
IRS	– індекс імунореактивного забарвлення
LCA	– загальний лейкоцитарний антиген

Підписано до друку 21.09.2015. Формат 60x84/16.
Папір письмовий. Друк різнографічний. Обл. -вид. арк. 0,9.
Тираж 100. Зам. _____.