

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ДОНЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М. ГОРЬКОГО**

На правах рукопису

САЄНКО АЛЛА ІВАНІВНА

УДК618.177-089.888.11-06:618.14-002-008:615.256.5

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

14.01.01 – акушерство та гінекологія

Дисертація на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Науковий керівник:
д.мед.н., професор
НОСЕНКО ОЛЕНА МИКОЛАЇВНА

Донецьк – 2014

ЗМІСТ	Стор.
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	7
ВСТУП.....	9
РОЗДІЛ І ВІДНОВЛЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ЕНДОМЕТРІЯ У БЕЗПЛІДНИХ ЖІНОК З НЕВДАЛИМИ СПРОБАМИ ДОПОМІЖНИХ РЕПРОДУКТИВНИХ ТЕХНОЛОГІЙ (ДРТ) (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	14
1.1. Роль функціональної активності ендометрія в ефективності спроб ДРТ.....	14
1.2. Експресія рецепторів стероїдних гормонів у жінок з невдалими спробами ДРТ в період передбачуваного вікна імплантації .	17
1.3. Особливості формування піноподій у безплідних жінок гарних відповідачів з невдалими спробами ДРТ в анамнезі.	20
1.4. Експресія лейкоїну інгібуючого фактору (ЛІФ) та $\alpha V\beta 3$ -інтегринів в ендометрії жінок з невдалими спробами ДРТ в період передбачуваного вікна імплантації	23
1.5. Експресія субпопуляцій натуральних кілерних (НК) клітин в жінок з невдалими спробами ДРТ	24
1.5.1. Вміст субпопуляцій НК-клітин в периферичній крові в жінок з невдалими спробами ДРТ.	24
1.5.2. Експресія субпопуляцій НК-клітин в ендометрії жінок з невдалими спробами ДРТ.	26
1.6. Імуногістохімічне визначення сіндекану-1 в діагностиці хронічного ендометриту у пацієток з невдалими спробами ДРТ.	29
1.7. Корекція порушень функціональної активності ендометрія у пацієток з безпліддям.	32

РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	39
2.1. База, матеріал та дизайн дослідження.....	39
2.2. Матеріал дослідження.....	41
2.2.1. Клініко-анамнестичні дані та результати інструментального обстеження досліджуваних пацієнток.....	42
2.2.2. Дані ехографії внутрішніх статевих органів у досліджуваних пацієнток.....	55
2.2.3. Гормональний профіль периферичної крові досліджуваних пацієнток.....	57
2.2.4. Субпопуляційний склад лімфоцитів периферичної крові досліджуваних пацієнток.....	60
2.2.5. Морфофункціональний стан ендометрія в жінок досліджуваних груп.....	61
2.3. Методи дослідження.....	63
2.4. Методика проведення ДРТ в досліджуваних групах.....	71
РОЗДІЛ 3 ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ РЕЦЕПТОРІВ ДО СТЕРОЇДНИХ ГОРМОНІВ В ЕНДОМЕТРІЇ ПАЦІЄНТОК З НЕВДАЛИМИ СПРОБАМИ ДРТ В ПЕРІОД ПЕРЕДБАЧУВАНОВОГО ВІКНА ІМПЛАНТАЦІЇ.....	73
3.1. Експресія рецепторів до стероїдних гормонів в ендометрії у пацієнток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі в залежності від хронологічної відповідності морфофункціонального стану ендометрія дню та фазі менструального цикла (МЦ) за критеріями R.W. Noyes і О.И. Топчиевой.....	73
3.2. Експресія рецепторів до стероїдних гормонів в ендометрії у пацієнток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі в залежності від наявності хронічних запальних та гіперпроліферативних процесів.....	83
3.3. Стан рецепторів ендометрія до стероїдних гормонів у	

пацієнок з невдалими спробами ДРТ в анамнезі в залежності від ефективності останньої спроби 89

РОЗДІЛ 4 ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ ПІНОПОДІЙ ТА СЕКРЕЦІЇ ЕНДОМЕТРИЄМ МОЛЕКУЛ ІМПЛАНТАЦІЇ У БЕЗПЛІДНИХ ПАЦІЄНТОК ГАРНИХ ВІДПОВІДАЧІВ З НЕВДАЛИМИ СПРОБАМИ ДРТ В АНАМНЕЗІ. 92

4.1. Особливості формування піноподій в жінок гарних відповідачів з невдалими спробами ДРТ в анамнезі в період передбачуваного вікна імплантації 92

4.1.1. Характер формування піноподій в залежності від хронологічної відповідності ендометрія фази та дню МЦ 92

4.1.2. Формування піноподій в залежності від наявності хронічних запальних та гіперпроліферативних процесів в ендометрії жінок гарних відповідачів з невдалими спробами в анамнезі ДРТ. 98

4.1.3. Особливості формування піноподій в залежності від ефективності останньої спроби ДРТ. 103

4.2. Особливості секреції ендометрієм молекул імплантації в жінок гарних відповідачів з невдалими спробами ДРТ в анамнезі в період передбачуваного вікна імплантації 105

4.2.1. Характер секреції ендометрієм молекул імплантації в залежності від його відповідності фази та дню МЦ 105

4.2.2. Секреція ендометрієм молекул імплантації в залежності від наявності в ньому гіперпластичних та запальних процесів. 110

4.2.3. Особливості секреції ендометрієм молекул імплантації в залежності від ефективності останньої спроби ДРТ. 113

РОЗДІЛ 5 ДЕЯКІ ОСОБЛИВОСТІ ЗАГАЛЬНОЇ ТА ЕНДОМЕТРІАЛЬНОЇ ІМУНОРЕАКТИВНОСТІ У ПАЦІЄНТОК ГАРНИХ ВІДПОВІДАЧІВ З НЕВДАЛИМИ СПРОБАМИ ДРТ В

АНАМНЕЗІ	114
5.1. Вміст субпопуляцій натуральних кілерних клітин (НК-клітин) в периферичній крові в жінок з невдалими спробами ДРТ в анамнезі	114
5.2. Вміст загального лейкоцитарного антигену (LCA) та субпопуляцій НК-клітин в ендометрії в жінок з невдалими спробами ДРТ в анамнезі.	117
5.2.1. Вміст LCA та субпопуляцій НК-клітин в ендометрії у пацієнток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі в залежності від хронологічної відповідності морфофункціонального стану ендометрія дню та фазі МЦ за критеріями R.W. Noyes і О.И. Топчиевой	119
5.2.2 Вміст LCA та субпопуляцій НК-клітин в ендометрії у пацієнток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі в залежності від наявності в ньому хронічних запальних та гіперпроліферативних процесів.	121
5.2.3. Вміст LCA та НК-клітин в ендометрії у пацієнток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі в залежності від ефективності останньої спроби	132
5.3. Імуногістохімічне визначення сіндекану-1 (CD138+) в ендометрії щодо діагностики хронічного ендометриту у пацієнток з невдалими спробами ДРТ.	133
РОЗДІЛ 6 ОСОБЛИВОСТІ ПРОЦЕСІВ ПРОЛІФЕРАЦІЇ ТА АПОПТОЗУ В ЕНДОМЕТРІЇ БЕЗПЛІДНИХ ПАЦІЄНТОК ГАРНИХ ВІДПОВІДАЧІВ З НЕВДАЛИМИ СПРОБАМИ ДРТ В АНАМНЕЗІ	136
6.1. Особливості процесів проліферації та апоптозу в залежності від хронологічної відповідності ендометрія фазі та дню МЦ	136
6.2. Вираженість проліферації та апоптозу в стромі ендометрія у	

досліджуваних пацієнок з безплідністю в залежності від наявності хронічного ендометриту та гіперплазії	140
6.3. Проліферація та апоптоз в стромі ендометрія у досліджуваних пацієнок в залежності від ефективності останньої спроби ДРТ	144
РОЗДІЛ 7 ЕФЕКТИВНІСТЬ ВПРОВАДЖЕННЯ РОЗРОБЛЕНОЇ СХЕМИ ДІАГНОСТИКИ ТА КОРЕКЦІЇ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ЕНДОМЕТРІЯ У ПАЦІЄНОК З НЕВДАЛИМИ СПРОБАМИ ДРТ В АНАМНЕЗІ	145
7.1. Способи корекції порушень функціонального стану ендометрія у жінок досліджуваних груп	145
7.2. Результати впровадження розробленої схеми корекції функціонального стану ендометрія у пацієнок з невдалими спробами ДРТ	148
РОЗДІЛ 8 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ.....	158
ВИСНОВКИ.....	181
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	185
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	188

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ,
ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ**

АМГ	–	антимюлерів гормон
в/м	–	внутрішньом'язово
ГнРГ	–	гонадотропін-релізинг-гормон
ДНК	–	дезоксірибонуклеїнова кислота
ДРТ	–	допоміжні репродуктивні технології
E ₂	–	естрадіол
ЕКЗ	–	екстракорпоральне запліднення
еНК	–	ендометріальні натуральні кілерні клітини
ІГХ	–	імуногістохімічний
ІЛ	–	інтерлейкін
ІМТ	–	індекс маси тіла
КОК	–	комбінований оральний контрацептив
ЛГ	–	лютеїнізуючий гормон
ЛФ	–	лейкемію інгібуючий фактор
МАТ	–	моноклональні антитіла
МЦ	–	менструальний цикл
НК-клітини	–	натуральні кілерні клітини
П	–	прогестерон
ПЕ	–	перенос ембріонів
ПРЛ	–	пролактин
РЕ	–	рецептори естрогенів
РП	–	рецептори прогестерону
рФСГ	–	рекомбінантний ФСГ
СЕМ	–	скануюча електронна мікроскопія
СПКЯ	–	синдром полікістозних яєчників
Т	–	тестостерон

T _v	–	вільний тестостерон
T ₃	–	вільний трийодтиронин
T ₄	–	вільний тироксин
ТТГ	–	тиреотропний гормон
ФСГ	–	фолікулостимулюючий гормон
ХГЛ	–	хоріонічний гонадотропін людини
Hscore	–	Histochemical score, гістохімічний індекс
IRS	–	індекс імунореактивного забарвлення
LCA	–	загальний лейкоцитарний антиген

ВСТУП

Актуальність. Безпліддя залишається однією з найважливіших медичних і соціальних проблем [1- 3]. Все більше розповсюдження отримує метод лікування безпліддя шляхом ДРТ [4, 5]. Однак не завжди спроби ДРТ є успішними. Ефективність лікування методами ДРТ в Україні складає у середньому 33,53 % на цикл, у Франції – 27,5 %, у Бельгії – 26,7%, Великобританії – 30,3 % [6].

Ефективність ДРТ визначається як якістю отриманих ембріонів, так і функціональною активністю ендометрія [6-10]. Незважаючи на успіхи в розумінні механізмів імплантації, до цих пір залишається нез'ясованим ряд питань, що стосуються перетворень в секреторному ендометрії, встановлення взаємодії ембріону і рецептивного ендометрія, у тому числі у пацієнок з невдалими спробами ДРТ в анамнезі [11-13]. Рецептивність ендометрія є частиною його функціональної активності. У той же час функціональна активність ендометрія має більш широке поняття і включає не тільки рецептивність, але й здатність до «ремодуляції-демодуляції», імунну реактивність, проліферативні і апоптотичні властивості [14, 15].

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 [16-19]. 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 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 та корекції функціонального стану ендометрія.

Задачі дослідження:

1. Виявити особливості ендометріальних рецепторів до стероїдних гормонів у пацієток з невдалими спробами ДРТ.
2. Вивчити характер піноподій та секреції ендометрієм молекул імплантації у пацієток з невдалими спробами ДРТ.
3. Дослідити стан системної імунореактивності та місцевого імунітету в ендометрії у пацієток з невдалими спробами ДРТ.
4. Оцінити доцільність імуногістохімічного визначення сіндекану-1 в ендометрії щодо діагностики хронічного ендометриту у пацієток з невдалими спробами ДРТ.
5. Визначити особливості процесів проліферації та апоптозу в ендометрії у пацієток з невдалими спробами ДРТ.
6. Розробити та впровадити схему діагностики та корекції функціонального стану ендометрія у пацієток з невдалими спробами ДРТ та оцінити її ефективність.

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

Предмет дослідження – катамнез і клінічна характеристика жінок з безпліддям; антропометричні дані; ультразвукові параметри внутрішніх статевих органів; гістероскопічні дані; гормональний профіль периферичної крові; характер формування піноподій та експресія молекул імплантації;

імуногістохімічні показники рецептивності та проліферативної, імунної, апоптотичної реактивності ендометрія в період передбачуваного вікна імплантації; результати відновлення репродуктивної функції.

Методи дослідження: клініко-анамнестичні, загальносоматичні, полімеразної ланцюгової реакції, ультразвукові, гістроскопічні, 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 мікрворсинок, секреції молекул імплантації, наявність 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 МЦ, наявності хронічних запальних та гіперпроліферативних процесів. Показано, що вони є у кожної хворої 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 PEα в залозах; зниження співвідношення РП/PEα; менш розвинуті піноподії, більш виражений мозаїцизм їх розмірів та форми та мале число випадків з малою кількістю мікрворсинок; знижена секреція ЛФ; 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 її корекції у пацієток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі, що підтверджено отриманням патентів (патент UA № 53241, МПК G01N 33/53; заяв. №u 201005020 від 26.04.10; опубл. 27.09.10, Бюл. №18; 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, вкопіювання первинної документації, розроблено карти обстеження пацієток. Запропонований та впроваджений спосіб діагностики хронічних запальних процесів в ендометрії. Запропонований та впроваджений 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»; 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.

РОЗДІЛ 1

ВІДНОВЛЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ЕНДОМЕТРІЯ У БЕЗПЛІДНИХ ЖІНОК З НЕВДАЛИМИ СПРОБАМИ ДОПОМІЖНИХ РЕПРОДУКТИВНИХ ТЕХНОЛОГІЙ (ДРТ) (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Роль функціональної активності ендометрія в ефективності спроб ДРТ

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, частота безплідного шлюбу коливається в широких межах, але тенденції до зниження не спостерігається. На теперішній час близько 100 млн. подружніх пар у світі є безплідними. Підраховано, що кожен рік з'являється 10 млн. нових безплідних шлюбних пар. Безплідний шлюб з частотою понад 15 % впливає на демографічні показники вагомніше, ніж невиношування та перинатальні втрати разом узяті [20]. В Україні кількість безплідних пар сягає від 800 тис. до 1 млн. 200 тис. [2], тобто одна з восьми сімейних пар в Україні – безплідна. За даними державних статистичних звітів в Україні у 2013 році було зареєстровано 45 573 випадків жіночої (78,2 %) та 12 704 випадків чоловічої безплідності (21,8 %) [21].

Все більшого поширення набуває метод лікування безплідності в циклах ДРТ шляхом екстракорпорального запліднення (ЕКЗ) і перенесення ембріонів (ПЕ) [1, 2, 4, 5, 14, 21-33]. Однак не завжди спроби ДРТ є успішними. Їх ефективність визначається як якістю отриманих ембріонів, так і функціональною активністю ендометрія [34-37]. Пацієнтки з багаторазовими невдалими циклами ДРТ складають близько 30 % від усіх пацієнтів, які лікуються з використанням цих методів [38, 39]. Неefективність 2-6 спроб, у яких у порожнину матки сумарно перенесено більше 10 ембріонів «гарної якості», визначається різними клініцистами як повторні невдалі спроби імплантації [36, 40].

Успішна імплантація ембріону є визначальною подією в природній і допоміжній репродукції людини [41, 42]. Вона досягається в результаті обміну

сигнальними молекулами між матір'ю та ембріоном, своєрідного «діалогу» між ними, тобто інтенсивними молекулярно-генетичними, клітинно-клітинними, клітинно-тканинними взаємодіями, експресією молекул адгезії, факторів росту і цитокінів, що здійснюють паракринну, аутокринну, інтракринну, юкстакринну регуляцію [11]. На моделях тварин було показано, що імплантація відбувається тільки тоді, коли ендометрій досягає рецептивної фази [43].

Рецептивність ендометрія визначається саморегульованим періодом часу, протягом якого його епітелій переходить у тимчасовий функціональний стероїдзалежний стан, який забезпечує адгезію бластоцисти на його поверхні. Рецептивність є складовою функціонального стану ендометрія і залежить від вираженості в ньому імунореактивних, апоптотичних, проліферативних, секреторних та запальних процесів. Склад ендометріального секрету та властивості маткового епітелію визначають, чи зможе вільна бластоциста вижити та імплантуватися або її зростання припиниться, а імплантація не настане [44-50]. У людини проліферативний епітелій ендометрія набуває такий статус одночасно з децидуалізацією стромального компоненту. Цей період часу, званий вікном імплантації, триває з 4-5-го до 9-10-го дня після підвищення виробки або введення прогестерону (P_4), тобто обмежується 19-24-м днями МЦ.

При оптимальних умовах в кожному циклі імплантується тільки 35 % ембріонів. Близько 70 % практично здорових ембріонів внутрішньоутробно зникають, не даючи ніяких ознак прикріплення трофобласта та продукції хоріонічного гонадотропіну людини (ХГЛ). Цей факт піднімає питання про стан ендометрія як фактора, який визначає успіх / невдачі імплантації [51-53].

Порушення функціонального стану ендометрія і його рецептивності в період вікна імплантації вважається одним з основних факторів, що обмежують наступ вагітності та її виношування [11]. Неадекватна рецептивність ендометрія відповідальна приблизно за дві третини невдач імплантації, тоді як ембріон – тільки за одну третину [54].

Для прогнозування рецептивності ендометрія використовувалися різні методи. Важливим етапом було гістологічне датування ендометрія людини – визначення хронологічної відповідності морфологічної структури ендометрія дню та фазі МЦ. Більше 50 років воно виконувалося за допомогою критеріїв R.W. Noyes, A.T. Hertig, J. Rock (1950) [55] і О.И. Топчиевой (1978) [56], які засновані на таких морфологічних ознаках, як наявність вакуолей, секретії залоз, набряку стромы і т.д. в різні дні МЦ. Інтерпретація повинна проводитися двома різними патологоанатомами.

Рандомізовані дослідження, проведені у 2004 р. за оцінкою ефективності гістологічного датування в прогнозуванні рецептивності ендометрія, продемонстрували високу суб'єктивність методу і вказали на виражені відмінності результатів у різних дослідників і в різних циклах [57, 58]. Було також показано, що гістологічне датування ендометрія ніяк не пов'язане з фертильністю людини. Грунтуючись на цих фактах, вважається, що гістологічне датування не може бути надійним методом діагностики повноцінності лютеїнової фази, і ці дані не варто враховувати при виборі клінічної тактики при лікуванні безплідності. Таким чином, слід використовувати нові наукові підходи оцінки біології ендометрія.

Так як більшість досліджень заперечують роль гістологічного датування ендометрія (визначення хронологічної відповідності морфологічної структури оболонки матки дню МЦ) в клініці безпліддя, в даний час розвиваються альтернативні методи оцінки функції ендометрія (технологія мікрочипів, протеоміка, секретоміка), а також ведеться активний пошук біологічних маркерів вікна імплантації, здатних прогнозувати настання вагітності в програмах ДРТ [10, 38, 59-61]. Геномний підхід дозволяє в ієрархічній манері «пролити світло» на гени, що відповідають за рецептивність ендометрія, і в якості нового діагностичного методу вже використовується група таких генів. Протеоміка дозволяє виділити пептиди / протеїни, що запускають перехід до рецептивного ендометрія, головним чином, на рівні цитоскелету. Секретоміка ендометріальної

рідини є неінвазивним діагностичним інструментом оцінки рецептивності ендометрія людини.

Таким чином, наявність багатокomпонентної і нормалізованої функціональної активності ендометрія є необхідною умовою вдалої імплантації. Будь-яке порушення цієї складової означає невдачу настання вагітності як при фізіологічних умовах, так і в циклах ДРТ, навіть при наявності зростаючої і зрілої бластоцисти. Вивчення функціональної активності та молекулярних факторів порушень рецептивності ендометрія можуть сприяти розумінню механізмів недостатності імплантації і підвищенню ефективності відновлення репродуктивної функції у пацієток з безплідністю і невдалими спробами ДРТ в анамнезі.

1.2. Експресія рецепторів стероїдних гормонів у жінок з невдалими спробами ДРТ в період передбачуваного вікна імплантації

Одним з важливих факторів невдач імплантації при проведенні ДРТ є порушення експресії рецепторів стероїдних гормонів [38, 51, 62-66]. Протягом нормального МЦ вміст в ендометрії рецепторів естрогенів (RE) і рецепторів P_4 (РП) зазнає закономірні коливання, синхронні зі зміною концентрації E_2 і P_4 в загальному і матковому кровотоці [67].

P_4 з його геномною та негеномною дією відіграє важливу роль у підготовці слизової оболонки матки до імплантації, а також у регулюванні міграції та інвазії трофобласта. Геномна дія П здійснюється за посередництвом класичних ядерних РП: РП-А і РП-В. На додаток до їх геномної дії, ядерні РП можуть також викликати швидкі цитоплазматичні сигнальні події. Мембранозв'язані РП причетні до швидкої негеномної дії P_4 . P_4 відіграє важливу роль у створенні рецептивності ендометрія, блокуючи проліферативний ефект естрогенів та індукуючи гени, які дозволяють ембріону прикріпитися до ендометрія, а також діє

як негативний регулятор інвазії трофобласта шляхом контролю активності матричних металопротеїназ [68].

Одним з важливих механізмів впливу P_4 є селективне придушення його рецепторів. У ході лютеїнової фази поступово знижується концентрація рецепторів P_4 в епітеліальних клітинах, але вона залишається високою в децидуальних клітинах. Ця подія є ключовим у розвитку ендометрія – відбувається перехід від превалювання активності епітелію до активізації стромальної/децидуальної функції. Порушення співвідношення експресії РП в стромі і залозах може призводити до зниження або повної втрати рецептивності ендометрія до імплантації плодового яйця, тобто до недостатності імплантації [62-64, 69, 70].

За даними І.Ю. Гошкодері (2005) [71], у жінок з хронічним ендометритом спостерігається зниження експресії $PE\alpha$ в 9,6 рази і РП в 4 рази порівняно з аналогічними показниками контрольної групи. А. Р. Котиков и соавт. (2006) [72] також виявили в жінок з безплідністю, обумовленою хронічним ендометритом, зниження експресії рецепторів естрогенів і P_4 як у проліферативну, так й у секреторну фазу МЦ. У той же час, за даними К. Mishra et al. (2008) [73], при хронічному ендометриті як в залозах, так і в стромі ендометрія спостерігаються високі концентрації $PE\alpha$, РП в порівнянні з контролем.

І.О. Судома (2006) [7] вказує, що у хворих на аденоміоз та безпліддя часто зустрічається патологія ендометрія, що може бути причиною запізнення/зникнення експресії PE та/або РП в періімплантаційний період.

За даними І.Д. Гюльмамедової (2009) [6], у 42,48 % безплідних пацієнток, які потребують включення в програму ДРТ, спостерігається тяжкий ступінь зниження експресії ядерних $PE\alpha$ в залозах та стромі; в поєднанні з пригніченням імунореактивності РП у 21,24 % жінок. Підвищену імунореактивність $PE\alpha$ виявлено у 19 % обстежених, РП – у 23 %, У жінок з тотальним тяжким пригніченням експресії рецепторів вірогідно частіше спостерігається невідповідність структури ендометрія дню МЦ, гіпоплазія ендометрія, хронічний

ендометрит. У жінок з підвищеною імунореактивністю $PE\alpha$ в залозах та РП частіше спостерігається невідповідність морфофункціонального стану ендометрія фазі МЦ (11,55 %) та його гіперпластична трансформація (37,63 %). При неефективних циклах ДРТ в анамнезі нормальна гістологічна картина спостерігається рідше порівняно з пацієнтками з першим циклом ДРТ (3,28 % та 14,5 % відповідно).

Е.В. Дюжева (2010) [38] вказує, що при повторних невдачах імплантації спостерігаються різні варіанти дисбалансу експресії РП і $PE\alpha$ в ендометрії (зниження або гіперекспресія), найбільш виражені в стромі. Відносний шанс настання вагітності після ЕКЗ при цьому в 4,4 рази вище при співвідношенні РП/ $PE\alpha$ в діапазоні від 2 до 3. Основними прогностично сприятливими критеріями настання вагітності, за даними автора, є співвідношення РП/ $PE\alpha$, відповідне морфологічній структурі ендометрія, і кількість клітин поверхневого епітелію з наявністю піноподій ≥ 50 %, а найбільш несприятливим – персистуюча гіперекспресія $PE\alpha$ в середню лютеїнову фазу МЦ. Автор наполягає на тому, що проведення морфологічної та імуногістохімічної оцінки ендометрія дозволяє виділити групу пацієнток зі зниженими показниками експресії РП і $PE\alpha$, яким необхідно і доцільно проведення циклічної гормональної підготовки перед програмою ДРТ з використанням препаратів E_2 і P_4 .

Деякі автори [74, 75] вважають, що у пацієнток, які страждають на трубно-перитонеальну безплідність, існує гормональна недостатність яєчників, пов'язана з низькою кількістю та / або чутливістю PE і РП в ендометрії, і зазначені зміни рецептивності ендометрія у жінок з неефективними спробами ЕКЗ в анамнезі можуть з'явитися причиною невдач подальших циклів ДРТ. Інші автори наводять діаметрально протилежні дані [51], говорячи про підвищення експресії стероїдних рецепторів у пацієнток з безплідністю.

За даними Л.В. Суслікової та співавт. (2010) [8], у пацієнток з трубно-перитонеальним безпліддям відмічається підвищена експресія $PE\alpha$ в залозах, хоча вона варіює від відсутності та слідів імунореактивності у пацієнток з хронічним

склерозуючим ендометритом і гіперплазією ендометрія до наявності індексу імунореактивного забарвлення IRS=452 % при гіперплазії. Автори вказують, що експресія РП і андрогенових рецепторів в ендометрії найбільш суттєво знижена при всіх патологічних станах в стромі ендометрія, ніж в залозах, що може відображати центральні ланки порушення фертильності.

Таким чином, дані щодо експресії стероїдних рецепторів, навіть в період передбачуваного вікна імплантації природного циклу, при різних типах і факторах безпліддя варіюють та відрізняються у різних дослідників, що, можливо, пов'язано з використанням різних систем кількісної імуногістохімічної оцінки та різних клонів антитіл у реагентах. Тому актуальним є вивчення стану експресії рецепторів стероїдних гормонів у пацієнток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі в період передбачуваного вікна імплантації.

1.3. Особливості формування піноподій у безплідних жінок гарних відповідачів з невдалими спробами ДРТ в анамнезі

Початок вікна імплантації характеризується ультраструктурними змінами в морфології епітеліальних клітин ендометрія [41] і формуванням на просвітному епітелії піноподій.

Піноподії представляють собою куполоподібні виступи, що впливають з апікальної мембрани просвітнього епітелію матки [76]. Піноподії в своєму розвитку проходять три стадії: розвитку, розвинутості та регресу [11]. Піноподії, що розвиваються, з'являються з початком вікна імплантації і являють собою невеликих розмірів ектоплазматичні протрузії (випинання) просвітних поверхневих ендометріальних епітеліальних клітин, які поєднуються зі зменшенням числа коротких, товстих мікроросинок. Розвинені піноподії – це випинання, які досягають своєї максимальної величини і утворюють складки, нагадують квіти або гриби, кількість на них коротких, товстих мікроросинок різко зменшується або в більшості випадків мікроросинки повністю зникають.

Ця стадія триває менше 48 годин. Регресучі піноподії представлені випинаннями поверхневих ендометріальних епітеліальних клітин, які зменшуються, з'являються розриви апікальних поверхонь клітин і вони починають приймати бокалоподібну форму; поверхні мембран поверхневих ендометріальних клітин зморщується і знову з'являються кінчики коротких, товстих мікрроворсинок [11].

Поява піноподій збігається з експресією інших маркерів рецептивності, таких як лейкемію інгібуючий фактор (ЛІФ) [77], муцини, L-селектин, $\alpha V\beta 3$ -інтегрини, гепаринзв'язуючий епідермальний фактор росту та ін. [41, 78].

У матці піноподії виконують декілька функцій. У гризунів вони беруть участь в піноцитозі, який допомагає видаленню рідини з маткового просвіту для ініціації його закриття при попередньому захваті бластоцисти. Крім того, піноподії беруть участь у взаємодії ембріона та ендометрія за допомогою L-селектину [79, 80]. У людини піноподії випускають секреторні везикули, що містять ЛІФ, в матковий просвіт [81]. Деякі дослідники вважають, що роль піноподій в організмі людини як маркерів рецептивності ендометрія є спірною [82, 83].

Формування піноподій залежить від P_4 [84-86]. Сильна кореляція між експресією піноподій та рівнем P_4 і експресією РП виявлена в матці людини [84], щурів [87] і мишей [88].

Естрогени призводять до втрати експресії піноподій [87]. Було встановлено, що у оваріектомізованих мишей спостерігається велика кількість піноподій. Це підтвердило, що видалення E_2 найбільш імовірно, збільшує експресію [89].

Тестостерон (Т) також необхідний для імплантації [90, 91], підвищення його рівня в плазмі і рецепторів в ендометрії приводить до збільшення кількості можливих ділянок імплантації. Але, хоча Т, необхідний для нормальної імплантації [92], високий рівень цього гормону може призвести до зникнення піноподій на просвітному матковому епітелії, перешкодити матково-ембріональному периімплантаційному діалогу і призвести до невдачі імплантації або ранньої втрати вагітності [93, 94].

Дані про стан піноподій у пацієток з невдалими імплантаціями в циклах ДРТ в літературі поодинокі. Е.В. Дюжева (2010) [38] вважає, що основним прогностичним сприятливим критерієм настання вагітності є кількість клітин поверхневого епітелію з наявністю піноподій ≥ 50 %. У жінок з невдалими спробами ДРТ, за її даними, тільки у 8,5 % випадків виявляється наявність клітин з піноподіями ≥ 50 %, у решти цей показник коливається від 0 до 30 %. За даними І.О. Судоми та співав. (2011) [95], піноподії зі своєчасною стадією розвитку присутні тільки в 12,7 % випадків у пацієток з множинними невдалими імплантаціями, інші знаходяться в стадіях прискорення, затримки, арешту чи асинхронного формування. В. Ху et al. (2012) [96] показали, що у жінок з невиношуванням вагітності у порівнянні з фертильними жінками морфологія та покриття піноподіями і експресія ЛІФ та інтегринів- $\beta 3$ не змінюється, але продукція муцину-1 (MUC1, CD227, мембранного білку, протеоглікану з групи муцинів, який синтезується апікальної поверхнею епітеліальних клітин) статистично значно менша.

Є дані, що у безплідних жінок з хронічним ендометритом спостерігається зниження рецептивності ендометрія внаслідок зменшення зрілих піноподій і низької експресії ЛІФ в поверхневому епітелії [97]. Виявлено, що у жінок з трубно-перитонеальним безпліддям запального генезу реєструються відхилення в розвитку піноподій та їх мікрворсинок в ендометрії в період вікна імплантації: ділянки відсутності піноподій реєструються у 47,50 % випадків, піноподії дрібних розмірів – в 77,50 % і рясні мікрворсинки – в 37,50 %; зниження частоти наявності розвинутих піноподій у 2,12 рази, піноподій великих розмірів – в 2,29 і малої чисельності мікрворсинок – в 4,00, підвищення зустрічаємості піноподій середніх розмірів у 3,00 рази, мікрворсинок в помірній кількості – в 4,00; мозаїцизм форми (65,00 %) та розмірів (67,50 %).

За даними М. Міко́лајczyk et al. (2011) [98], ніякої різниці не було знайдено в стадії розвитку піноподій серед жінок з ідіопатичним безпліддям і жінками з рецидивуючими втратами вагітності.

Таким чином, дані щодо формування піноподій у жінок з невдалими спробами ДРТ в анамнезі поодинокі, що потребує проведення подальших досліджень.

1.4. Експресія лейкемію інгібуючого фактору (ЛІФ) та $\alpha V\beta 3$ -інтегринів в ендометрії жінок з невдалими спробами ДРТ в період передбачуваного вікна імплантації

Процес імплантації залишається обмежуючим фактором при проведенні ДРТ. У період імплантації генетично нормальна бластоциста повинна пройти хетчинг, аппозицію, прикріплення, пенетрацію, і, нарешті, інвазію в добре синхронізований ендометрій під впливом естрогенів і P_4 . Останнім часом відкрито безліч локально діючих молекул, що включають фактори росту, цитокини, матриксні металопротеїнази, молекули адгезії, компоненти позаклітинного матриксу, гомеобоксні гени, які опосередковують дію стероїдних гормонів на ендометрій [59, 99]. Одними з таких молекул є ЛІФ і $\alpha V\beta 3$ -інтегрини.

ЛІФ – секреторний глікопротеїн, який має різноманітну плейотропну дію в клітинних системах як в природних умовах, так і *in vitro*. Він відноситься до сімейства лігандів, яке включає в себе інтерлейкін-6 (ІЛ-6), ІЛ-11, онкостатін М, циліарний нейротрофічний фактор, і кардіотропін. Сигнальна трансдукція ЛІФ залежить від його зв'язування з низькоафінним рецептором ЛІФ, gp190, який викликає асоціацію ліганд / рецепторного комплексу з іншим мембранзв'язаним білком gp130. ЛІФ займає центральне положення серед багатьох сигнальних подій під час ендометріальної рецептивності та імплантації [12, 100, 101]. Висока експресія ЛІФ є показником рецептивності ендометрія у жінок дітородного віку. Тим не менш, у безплідних жінок, дані про експресію ЛІФ і його секрецію в ендометрії є спірними [100].

Найважливішу роль у процесах імплантації грають інтегрини, які протягом вікна імплантації розглядаються як потенційні маркери маткової рецептивності. Субодиниця $\alpha 1$ присутня тільки в лютеїнову фази (15-28-й дні), $\alpha 4$ -інтегрини

експресується на 14-24-й день, в той час, коли $\beta 3$ -субодиниця з'являється тільки на 20-й день МЦ і визначається в середню лютеїнову фазу. Коекспресія $\beta 3$, $\alpha 4$ і $\alpha 1$ -інтегринів спостерігається в залозистому епітелії тільки в період вікна імплантації [99, 102-106].

Зміни експресії інтегринів виявлені в ендометрії жінок з порушеннями репродуктивної функції. Рівень м-РНК інтегринів на 21-22-й день МЦ може визначати успіх програми ДРТ [12, 13, 103-108]. У пацієток з нормальним рівнем інтегринів відсоток настання вагітності вище в порівнянні з пацієтками з низьким його рівнем. У поточному дослідженні G. Casals et al. (2008) [109] експресія $\alpha V\beta 3$ -інтегринів і остеопонтину, їх коекспресія були вивчені в біоптатах ендометрія на L+6 і L+8 дні від нормальних здорових жінок і безплідних пацієток. Не виявлено статистично значущих відмінностей щодо експресії інтегринів і остеопонтину, їх спільної експресії. Зроблено висновок, що функціональне значення комплексу остеопонтину і $\alpha V\beta 3$ -інтегрину в якості маркера рецептивності ендометрія і імплантаційного потенціалу у жінок, здається неспроможним.

Таким чином, експресія ЛФ і $\alpha V\beta 3$ -інтегринів в ендометрії жінок репродуктивного віку з невдалими спробами ДРТ в анамнезі є маловивченим питанням і потребує подальших досліджень.

1.5. Експресія субпопуляцій натуральних кілерних (НК) клітин в жінок з невдалими спробами ДРТ

1.5.1. Вміст субпопуляцій НК-клітин в периферичній крові в жінок з невдалими спробами ДРТ

НК-клітини є найбільш поширеними імунними клітинами [110], які інфільтрують ендометрій під час імплантації [111]. Це перша лінія клітинного механізму імунного захисту й вона має тісні контакти з зародком або плацентою. Кількість і фенотип НК-клітин в периферичній крові і в ендометрії відрізняються.

НК-клітини складають ~ 15 % всіх лімфоцитів і визначаються фенотипічно шляхом експресії CD56 і відсутністю експресії CD3 на клітинній поверхні [112].

Більшість (~90 %) людських НК-клітин мають низьку щільність експресії CD56 (CD56dim) і експресують високі рівні Fcγ рецепторів IIIa (FcγRIIIa; CD16+), при цьому ~ 10 % від НК-клітин CD56brightCD16dim або CD56brightCD16- [113, 114].

CD16 (також класифікуються як FcγRIIIa) є одним з рецепторів з низькою спорідненістю до Fc-області IgG. FcγRIIIa є інтегральним мембранним білком, що експресується на НК-клітинах, на популяції Т-лімфоцитів, на субпопуляції моноцитів і макрофагів [115].

CD94 є інгібуючим маркером функції НК-клітин. Він є частиною сімейства кілерних інгібуючих рецепторів, яка є підгрупою суперсімейства типу С лектинів [116]. Цитотоксичність НК-клітин може бути заблокована інгібуючим рецептором CD94 [117]. Дисбаланс експресії НК-клітин CD69 і CD94 може призвести до безпліддя або повторного викидня [118, 119].

[120, 121] встановили, що підвищений відсоток НК-клітин і збільшення їх цитотоксичності в периферичній крові пов'язано з повторюваними невдалими циклами ДРТ. А. Fukui et al. (2009) [122] дослідили натуральні рецептори цитотоксичності (NKp46, NKp44, NKp30) і експресію цитокинів (фактора некрозу пухлин-α, інтерферону-γ, інтерлейкінів-4 та 10) у жінок з періодичними втратами вагітності і невдачами імплантації при ДРТ і виявили їх аномальне співвідношення у цих когортах жінок. N. Karami et al. (2012) [123] вивчали рівень цитотоксичності НК-клітин шляхом аналізу активності лактатдегідрогенази. Відсоток CD56(dim) клітин і рівень периферичної цитотоксичності НК-клітин крові у жінок з невдалими спробами екстракорпорального запліднення (ЕКЗ) був значно вище порівняно з фертильними жінками і з успішними групами контролю з ЕКЗ. Результати цього дослідження підтвердили те, що збільшення частки CD56 (dim) клітин і цитотоксичності НК-клітин в периферичній крові можуть бути важливими факторами, що сприяють невдачам ЕКЗ.

Виявлена підвищена експресія CD69 на НК-клітинах при звичному невиношуванні вагітності та безплідді невідомої етіології [118]. CD69 відноситься до суперсімейства С-лектинів і є типом II інтегрального мембранного білку, що складається з дісульфід-зшитого гомодімеру з двома фосфорильованими ланцюгами [124]. Ця функціональна тригерна молекула на активованих НК-клітинах є одним з найбільш ранніх експресуємих маркерів активації клітинної поверхні [125]. Вона здатна індукувати цитотоксичність та стимулювати продукцію цитокинів [126]. Крім того, медійована НК-клітинна цитотоксичність також опосередковує інші клітинні функції, такі як проліферація, продукція фактора некрозу пухлин- α та експресію інших антигенів активації [127, 128].

Дослідження останніх років підтвердили, що безплідні жінки, які проходять лікування методом ДРТ, також мають більш високий відсоток випадків підвищеної експресії CD69 на НК-клітинах в порівнянні з повторнородящими та фертильними жінками [118, 129-131]. Не було виявлено ніякої кореляції між будь-якими параметрами НК-клітин з тривалістю безплідності або числом циклів перенесення ембріонів.

У той же час дослідження T. Vaszowski, R. Kurzawa (2007) [132] показало, що тестування периферійних НК-клітин крові та інших лімфоцитів має обмежену цінність як прогностичного фактора лікуванні хворих методом ДРТ.

Таким чином, суперечливі дані потребують подальшого вивчення вмісту та співвідношення субпопуляцій НК-клітин в периферичній крові в жінок з невдалими спробами ДРТ в анамнезі.

1.5.2. Експресія субпопуляцій НК-клітин в ендометрії жінок з невдалими спробами ДРТ

В проліферативному ендометрії число НК-клітин складає ~20 % від числа лімфоцитів, збільшується до ~50 % в секреторну фазу і до 70-80 % в децидуальній

оболонці на ранніх термінах вагітності [133, 134]. НК-клітини грають важливу роль в імплантації, ангіогенезі та підтримці вагітності [123].

В ендометрії безпосередньо перед імплантацією, в секреторну фазу 20 % ендометріальних стромальних клітин є лейкоцитами. Після овуляторного сплеску ЛГ і під впливом естрогенів і P_4 стромальні клітини ендометрія перетворюються на пухкий шар секреторних клітин, відомий як децидуальна оболонка. У період вікна імплантації 70-80 % від загального числа лейкоцитів в ендометрії становлять великі гранульовані лімфоцити, що експресують CD56+ і CD16-. Протягом вікна імплантації децидуальна тканина стає все більш збагаченою ендометріальними НК (еНК), кількість яких різко зменшується перед початком менструації. За відсутності імплантації еНК-клітини видаляються з матки разом з іншими ендометріальними клітинами під час менструації [44-46]. Кількість НК-клітин в інших регіонах жіночого репродуктивного тракту не змінюється протягом МЦ [135]. Крім того, кількість еНК-клітин збільшується під час ранньої вагітності й досягає максимуму в кінці першого триместру та мінімум в строк пологів [136]. Це показує важливу роль цих клітин у створенні і підтримці вагітності. Дослідження, проведені досі, показали, що еНК-клітини проліферують, особливо в секреторну фазу МЦ, так як вони забарвлюються позитивно МАТ для маркера проліферації Ki67 [137]. В даний час встановлено, що імунний маркерний фенотип еНК-клітин включає CD56+, CD3-, CD16-, CD94+, CD9+, CD57-, HLA-DR+, CD69+, CD158b+, NKb1+ і L-selectin-. Експресія основних активуючих рецепторів до цих пір не визначена [138].

НК-клітини в якості ключових вроджених імунних клітин використовують різні ефекторні механізми для сприяння імунного захисту хазяїна, при одночасному усуненні інфікованих вірусом клітин і пухлинних клітин шляхом секреції цитотоксичних продуктів [139]. Дефекти в клітинній активності НК пов'язані з підвищенням інфікування, особливо, герпес-вірусною інфекцією, з раком яєчників і матки, з ендометріозом, в той час як підвищена активність НК-

клітин пов'язана зі звичним невиношуванням та невдалими спробами ДРТ [140, 141].

НК-клітини мають здатність посилювати запальну реакцію і сприяти активації макрофагів, генерації цитотоксичних Т-клітин, розпізнаванню грибкових інфекцій, і продукції цитокинів [142]. еНК-клітини експресують кілька Toll-like рецепторів (TLRs) зокрема TLR2, TLR3 і TLR4, які можуть реагувати на агоністи TLR шляхом продукції цитокинів [143, 144]. Різноманітні цитокини, у тому числі інтерлейкін-12, інтерлейкін-15, інтерлейкін-8, інтерлейкін-1 β або інтерферон- α , в поєднанні з натуральними антимікробними пептидами активують виробництво цитокинів НК-клітинами, що призводить до подальшої активації вродженого імунітету [141].

Принаймні, дві теорії були запропоновані щодо підвищення еНК-клітин в матці: *in situ* проліферація і рекрутмент НК-клітин з периферичної крові [145]. E₂ регулює діяльність НК-клітин за допомогою ендогенного трансформуючого фактору роста- β [143]. Кілька досліджень показують, що інтерлейкін-15 також потрібний для еНК-клітин для виживання, проліферації і диференціювання в децидуальні клітини [1, 2, 4, 5, 26, 27]. еНК-клітини мають відмінний фенотип від НК-клітин крові [28].

Було показано, що фенотип клітинної поверхні НК-клітин відрізняється в жіночому репродуктивному тракті. Наприклад, CD69⁺ і CD96⁺ обидва експресуються НК-клітинами в шийці матки і матці, але не в ектоцервіксі [28]. У жінок більшість НК-клітин крові слабо експресують CD56⁺, слабо або помірно CD16 (CD56^{dim}CD16⁺). еНК жінки відрізняються від них в десятки разів більшою експресією CD56⁺CD16⁻, що мають високу продукцію цитокинів, і малою кількістю CD56⁺CD16⁺, що характеризуються цитотоксичними здібностями, високим ангіогенним потенціалом і експресією кілерних Ig-подібних рецепторів [49].

еНК-клітини, але не НК-клітини крові, продукують деякі цитокини, суттєві для імплантації такі як, судинно-ендотеліальний фактор росту, плацентарний

фактор росту, ангіопоетин-2 і ЛІФ. Нарешті, можна зробити висновок, що еНК-клітини беруть участь в декількох процесах, в тому числі імунному захисті, децидуалізації, імплантації та вагітності [141].

Кілька досліджень показали збільшення кількості клітин ендометрія еНК у жінок зі звичним невиношуванням вагітності [146]. Інші роботи показали, що велике число клітин ендометрія є еНК у жінок з рецидивуючою недостатністю імплантації [48].

Таким чином, суперечливі дані потребують подальшого вивчення вмісту та співвідношення субпопуляцій НК-клітин в ендометрії в жінок з невдалими спробами ДРТ в анамнезі.

1.6. Імуногістохімічне визначення сіндекану-1 в діагностиці хронічного ендометриту у пацієток з невдалими спробами ДРТ

Хронічний ендометрит – клініко-морфологічний синдром, при якому в результаті персистуючого пошкодження ендометрія інфекційним агентом виникають множинні вторинні морфофункціональні зміни, що порушують циклічну трансформацію та рецепторний статус слизової оболонки тіла матки [147]. Дані за частоту хронічного ендометриту у жінок з безпліддям суперечливі. За даними R. Frydman і J. Hamou, хронічний ендометрит виявляється у 22 % пацієток в програмі ЕКЗ, у 14 % – з нез'ясовним безпліддям і у 23,6 % жінок з історією викиднів першого триместру [148]. За даними І.Д. Гюльмамедової (2009), хронічний ендометрит реєструється у 61,06 % пацієток, включених в програму ЕКЗ [6]. Е. Б. Рудакова и соавт. (2008) вважають, що у хворих з безпліддям частота хронічного ендометриту становить у середньому 9,8 % (від 7,8 до 15,4 %). Серед жінок з верифікованим хронічним ендометритом в 60,4 % випадків діагностується безпліддя (у 24,8 % – первинне, у 35,6 % – вторинне), невдалі спроби ЕКЗ і переносу ембріонів (ПЕ) в анамнезі відзначені у 37 % жінок [147]. Дослідження [149] показали, що хронічний ендометрит реєструється у 59,9

% пацієнок з невдалими спробами ЕКЗ, фіброз строми ендометрія – у 6,8 % [149].

Класичні морфологічні особливості хронічного ендометриту включають наявність поверхневого стромального набряку; стромального запального інфільтрату з лімфоцитів, лейкоцитів і плазматичних клітин з лейкоцитарним проникненням в залози, а також зростання стромальної щільності [150, 151]. Також при хронічному ендометриті можливо спостереження невідповідності ендометрія дню і фазі МЦ [152]. Ступінь лімфоїдної інфільтрації строми може бути у вигляді: поодиноких лімфоцитів, вогнищевої, розсіяної або дифузної інфільтрації з периваскулярною та/або перигландулярною локалізацією. При хронічному ендометриті також спостерігається колагенізація строми (слабка, помірна, виражена). Однак, не всі випадки хронічного ендометриту в даний час мають ці класичні морфологічні риси. Хронічний ендометрит гістологічно можуть імітувати зразки біоптатів ендометрія, які відповідають фазі десквамації, фазі проліферації, інфільтровані мононуклеарними клітинами, такі, що мають рясні стромальні мітози, розповсюдження плазмацитоїдних стромальних клітин або виражену предецидуальну реакцію в секреторній фазі. Лімфоцити, у тому числі НК і лімфоїдні інфільтрати, є нормальним компонентом ендометрія й особливо характерні для передменструального і менструального періодів. Додатковими факторами похибок можуть стати недостатній досвід, втома і брак часу, що може призвести до помилкового діагнозу. Це вимагає більш точної оцінки цих зразків ендометрія [151, 153].

Наявність плазмоцитів широко розглядається як найбільш корисний критерій для діагностики ендометриту, хоча вони часто змішується з іншими запальними клітинами і можуть бути компонентом запальних інфільтратів [147-154]. Плазмоцити є ефекторними клітинами гуморального імунітету. Утворюються плазмоцити з плюрипотентних ствових клітин крові і В-лімфоцитів при впливі на них антигенних речовин. Опції плазмоцитів полягають у синтезі та виділенні в міжклітинну середу антитіл – імуноглобулінів. Число

плазмоцитів відображає інтенсивність імунних реакцій. Слід підкреслити, що за відсутності інших морфологічних ознак ендометриту, вичерпний пошук плазмоцитів не є виправданим. Іноді стромальні плазмоцити можуть бути при поліпах та злоякісних новоутвореннях. Варіант ендометриту, так званий "координаційний некротичний ендометрит", характеризується наявністю запальних інфільтратів у складі лімфоцитів, нейтрофілів і гістіоцитів без плазмоцитів. Гранульоматозний ендометрит спостерігається при саркоїдозі, туберкульозі та інших гранульоматозних захворюваннях [155].

Сіндекан-1 – протеоглікан поверхні клітин, який експресується плазмоцитами та кератиноцитами, але не моноцитами, лімфоцитами або стромальними клітинами ендометрія. Він широко використовується як маркер для виявлення плазматичних клітин в заключених в парафін зрізах тканин. Його функція полягає в медіації міграції та проліферації клітин як при процесах адгезії клітина-клітина, так і клітина-екстрацелюлярний матрикс. Сіндекан-1 також бере участь в активації факторів росту, оскільки він виступає як рецептор для гепарин-зв'язуючого фактору росту [154, 155]. Антитіла до сіндекану-1 експресуються плазмоцитами й їх виявлення може бути корисним доповненням в діагностиці хронічного ендометриту [147, 153, 154, 155].

У нормальної слизовій оболонці матки більшість лімфоцитів є Т-клітинами і НК (гранульованими лімфоцитами). В-лімфоїдні клітини рідкісні, на їх долю припадає менш, ніж 1 % всіх лейкоцитів ендометрія, і вони знаходяться в основному в лімфоїдних агрегатах в шарі базальних клітин, а також окремими клітинами, розсіяними більш поверхнево. Недавнє дослідження В. Diser et al. (2004) показало, що у випадках ендометриту кількість Т-лімфоцитів і НК не відрізняються від контролю [153]. Істотне збільшення числа В клітин, однак, було визначено у випадках ендометриту і вони спостерігалися в незвичайних місцях, таких як під поверхневим епітелієм, інтраепітеліально і в залозистому просвіті. Це може мати велике значення в діагностиці ендометриту малих біоптатів, в якій поверхневий ендометрій є переважним матеріалом.

Таким чином, виявлення хронічного ендометриту у пацієток з невдалими спробами ДРТ потребує подальшого дослідження.

1.7. Корекція порушень функціональної активності ендометрія у пацієток з безпліддям

На сьогодні в Україні відсутні клінічні протоколи по корекції рецептивності ендометрія. Існуючі в літературі способи відновлення рецептивності ендометрія використовуються при хронічному ендометриті, недостатності лютеїнової фази, підготовці до ДРТ.

Запропонований І.Г. Гошкодерєю (2005) [71] спосіб включає антибактеріальну (протівірусну) терапію генітального тракту з урахуванням складу мікробної асоціати; санацію вогнищ екстрагенітальної інфекції; імунокорекцію із застосуванням: а) плазмаферезу (3-5 процедур на курс); б) введення після процедури плазмаферезу інтравенозного імуноглобуліну 25,0-50,0 мл на 150 мл фізіологічного розчину під контролем імунологічних показників; в) інтравагінальні свічки реоферон або віферон (по 1 свічці у піхву протягом 10 днів); відновлення мікробіоценозу піхви шляхом призначення еубіотиків; корекцію гормонального гомеостазу та рецепторного апарату ендометрія шляхом призначення: а) нізькодозованих естроген-гестагенних препаратів, що не подавляють овуляцію, 17β -естрадіол в дозі 2 мкг і дідрогестерон в дозі 10 мг з 1-го дня МЦ протягом 28 днів від 3 до 6 міс., при необхідності з 3-го циклу додатково дідрогестерон (10 мг) 1 раз на добу з 16-го до 25-го дня МЦ під контролем базальної температури, ехографії ендометрію, фолікуло- і лютеометрії, показників ФСГ / ЛГ на 5-6-й день, E_2 – на 12-14- й день, P_4 - на 20-22-й день МЦ; б) електрофорезу на низ живота з 3 % розчином міді з 5-го по 16-й день МЦ і 3 % розчином цинку – з 17-го по 26-й день МЦ; поліпшення кровообігу в органах малого тазу: а) застосування метаболічних, ангіопротекторного препаратів (актовегін, троксевазин та ін.) протягом 10-14 днів; б) призначення 10-15

процедур сеансів гіпобаротерапії на 1 курс, до 3 курсів; в) санаторно-курортне лікування.

При недостатності лютеїнової фази В. І. Краснопольський і співавт. (2006) [156] використовують на I етапі всім пацієнткам традиційну терапію, що включає нормалізацію психоемоційного стану (психотерапія, седативні засоби); нормалізацію обмінних процесів (ензимотерапія, метаболічна терапія, адаптогени, вітамінотерапія); корекцію гормональних змін. Пацієнткам з «класичною» недостатністю лютеїнової фази призначається мікронізований в дозі 200-300 мг на добу всередину або вагінально з 16-го по 25-й день МЦ. Пацієнткам з недостатністю лютеїнової фази на тлі нормопрогестеронемії призначають метаболічну терапію. Згідно фазам МЦ застосовують ензимотерапію і фізіолікування (гелій-неоновий лазер, електромагнітний вплив, голкорексфлексотерапія) для підвищення рецептивності ендометрія.

З.Г. Ароян (2005) [157] пропонує при підготовці до ДРТ проводити двомісячний курс замісної гормонотерапії 17- β естрадіолом (дівігель) з 5-го по 26-й день МЦ і натуральним мікронізованим прогестероном з 14-16-го дня МЦ протягом 10-12 днів.

В.Б. Цхай і співавт. (2006) [158] рекомендують спосіб лікування безплідних жінок з хронічним ендометритом, за яким під контролем гістероскопа внутриматочно вводять лікувальний коктейль за схемою: у 1-й та 3-й дні лікування – преднізолон 30 мг, діоксидин 0,5 % розчин 50 мл, метрогил 5,0 мл, лідаза 32 ОД, антибіотик, на ніч вагінально – свічки макмімор, вранці – спринцювання піхви розчином ромашки. На 2-й і 4-й дні лікування внутриматочно вводять преднізолон 30 мг, інстїлагель 6-11 мл, в задній звід піхви на ніч тампон з 20 мл мазі Вишневського. На 5-й, 7-й і 9-й дні внутрішньоматково вводять 50 мл 0,5 % розчину діоксидину, 5,0 мл метрогилу, 0,5 мл циклоферону, 32 ОД лідази, антибіотик, на ніч вагінально вводять свічки макмімор, вранці – спринцювання піхви розчином ромашки. На 6-й, 8-й і 10-й дні в / мат вводять інстїлагель 6 мл, дімексид 5 мл, в задній звід піхви на ніч тампон

з 20 мл мазі Вишневського. З 1-го дня лікування призначають вобензим по 5 пігулок тричі на день протягом 14 днів і циклічну гормональну терапію протягом 3 міс. За даними авторів, вагітність настає в 41,54 % жінок, а народжують – 36,15 %.

К.Г. Шестакова (2009) [159] вважає, що реабілітація ендометрія при втраті плода полягає в застосуванні циклічної гормонотерапії натуральними естрогенами в поєднанні з гестагенами в «супрафізіологічних дозах» з метою створення адекватної секреторної трансформації у функціональному шарі.

І.Д. Гюльмамедова (2009) [6] пропонує для підготовки безплідних пацієнок до ДРТ з метою поліпшення рецептивності ендометрія наступну схему лікування:

- пацієнткам з важким гнобленням імунореактивності РЕ α і РП, гіпоплазією ендометрія, при концентрації в маткових змивах ЛІФ < 60 пг / мл на етапі підготовки до циклу ДРТ – призначення вазоактивних препаратів, внутрішньоматкове введення озонованого фізіологічного розчину або дистильованої води в концентрації 3-5 мкг/мл в поєднанні з внутрішньовенним введенням озонованого фізіологічного розчину (до 2-2,5 мг озону на процедуру), поєднання локальної зональної декомпресії та магнітотерапії.

- При відсутності антитіл до ХГЛ, концентрації ЛІФ < 60 пг / мл в маткових змивах в день забору овоцитів внутрішньоматкове введення 1500 ОД ХГЛ.

Е.В. Дюжева (2010) [38] виявила, що проведення попередньої циклічної гормональної терапії при зниженому рівні експресії РП і РЕ α в ендометрії у пацієнок з неефективними спробами ДРТ дозволяє збільшити частоту настання вагітності до 74,3 %. Вона рекомендує при визначенні в біоптаті ендометрія фази проліферації в поєднанні з співвідношенням РП/РЕ α < 2 і низькою або помірною експресією РП і РЕ α , а також при наявності в біоптаті ендометрія фази секреції в поєднанні з співвідношенням РП/РЕ α \geq 2, низькою експресією РП в стромі і низькою експресією РЕ α і кількістю піноподій < 50 % проводити попередню гормональну підготовку із застосування препаратів Е₂ (з 5-го по 25-й день МЦ) і П (з 16-го по 25-й день МЦ) протягом двох МЦ. Автор довела, що у пацієнок із

співвідношенням $РП/РЕ\alpha < 2$ при морфологічній картині ранньої або середньої стадії фази секреції проведення циклічної гормональної терапії з використанням препаратів E_2 і P_4 недоцільно.

Л.В. Суслікова і співавт. (2011) [160] рекомендують схему диференційованої комплексної післяопераційної реабілітації пацієнток з трубно-перитонеальним безпліддям запального генезу з урахуванням стану рецептивності ендометрія:

- для корекції імунної та антиоксидантної реактивності – з 2-го дня після операції курс малооб'ємного мембранного плазмаферезу з 4-х сеансів з перервою між сеансами 2 дні. В перерві між сеансами плазмаферезу при відсутності гіперпластичних процесів ендометрія в/в інфузії озонованого 1,2 мг/л фізіологічного розчину в дозі 400 мл 1 раз на день 6 разів.

- з метою попередження утворення спайок і склерозу тканин – з 1-го дня після операції кон'югат гіалуронідази і поліоксидонію по 3000 МО ректально на ніч 10 днів. З 11-го дня – ректальні супозиторії з 15 000 МО стрептокінази і 1 250 МО стрептодорнази 3 дні – по 1 супозиторію тричі на день, 3 дні – по 1 супозиторію 2 рази на добу, 3 дні - по 1 супозиторію 1 раз на добу.

- з метою придушення цитотоксичних CD16+CD56+НК-клітин – після закінчення курсу плазмаферезу імуномодулятор галавіт 0,2 г в/м 1 раз на добу 2 дні, потім по 0,1 г в/м 1 раз на добу 10 днів.

- при порушенні експресії стероїдних рецепторів в ендометрії:

- а) при підвищенні – агоністи ГнРГ (трипторелін-3,75) по 3,75 мг 1 раз на 28 днів 3 ін'єкції;

- б) при зниженні - циклічна гормональна терапія 3 міс (естрадіол (по 1 г на шкіру 1 раз на добу або по 1 драже per os 1 раз на добу) з 5-го по 15-й день МЦ з додаванням мікронізованого прогестерону по 200 мг 3 рази на день інтравагінально з 16-го по 25-й день МЦ);

- в) при нормальній експресії стероїдних рецепторів – 3 місяці низькодозовані КОК з високим антипроліферативним індексом.

- при наявності простої неатипової гіперплазії – низькодозовані КОК з високим антипроліферативним індексом 3 курси або курси агоністів ГнРГ 3 міс. (трипторелін-3,75) і препаратів індол-3-карбінолу по 200 мг 2 рази на добу 3 міс.

- при морфофункціональній невідповідності ендометрія фазі МЦ – вищевказана циклічна гормональна терапія 3 міс.

- з метою метаболічної корекції – гепатопротектори (ессенціале форте Н по 2 капсули 3 рази на день під час їжі з невеликою кількістю води або хофітол по 2 таб. 3 рази на день перед їжею) протягом 3 міс, а також Аевіт по 1 капсулі 1 раз в день 3 міс.

І.Д. Гюльмамедова і співавт. (2011) [11] запропонували алгоритм діагностики та корекції порушень рецептивності ендометрія у жінок з неефективними циклами ДРТ в анамнезі в залежності від морфологічного стану ендометрія:

- при порушенні субендометріального кровотоку, ознаках гіпотрофії і атрофії ендометрію – призначення вазоактивних і поліпшуючих реологічні властивості крові препаратів (дипіридабол, пентоксифілін, аспірин, актовегін, сілданафіл) з 19-24-го дня МЦ, що передує контрольованій оваріальній стимуляції;

- при простій неатиповій гіперплазії ендометрія – КОК 3-6 місяців, гестагени з 16-го дня МЦ. Після трьох місяців лікування – пайпель-біопсія з морфологічним контролем. При необхідності препарати призначаються ще на три місяці, з повторним морфологічним дослідженням біоптату ендометрія. При нормальних показниках, відсутності гіперпластичних змін в клітинах ендометрію – ДРТ;

- при комплексній гіперплазії – агоністи ГнРГ на 2 місяці з наступним морфологічним контролем біоптату ендометрія. При збереженні патологічного процесу препарат призначається ще на 1-2 місяці. При нормальних контрольних результатах – цикл ДРТ. Автори вважають, що застосування супердовгого протоколу стимуляції не завжди виправдано тому, що у більшості пацієнток

зростання ендометрія і фолікулів в цьому протоколі проходить асинхронно, відзначається значне відставання ендометрія, який рідко досягає товщини більш ніж 6-7 мм в день призначення тригерної дози ХГЛ. У зв'язку з цим цикл ДРТ автори рекомендують призначати не раніше спонтанного відновлення менструальної функції;

- при поліпах ендометрія – гістероскопічна поліпектомія. За відсутності супутньої патології ендометрія раннє включення в програму ДРТ, вже в наступному МЦ. Якщо з якихось причин проведення ДРТ необхідно відкласти призначаються КОК на 1-2 місяці;

- при відсутності імплантації та наявності «нормального» ендометрія, відсутності його гіпер- і гіпопластичних змін – діагностика вікна імплантації за допомогою скануючої електронної мікроскопії пайпель-біоптатів ендометрія в динаміці:

а) жінкам з відсутністю морфологічних ознак своєчасного формування вікна імплантації або наявністю рідкісних піноподій пропонується реабілітаційна терапія з наступним визначенням піноподій на $P + 8/9$ і $P + 10/11$; за відсутності формування піноподій при повторному дослідженні в ці терміни пропонується сурогатне материнство;

б) у разі зупинки розвитку піноподій показано призначення агоністів ГнРГ протягом 2-3 місяців з подальшою замісною гормональною терапією 3 місяці; потім повторне дослідження піноподій; при нормалізації показників – цикл ДРТ з урахуванням часу вікна імплантації; при відсутності позитивної динаміки – сурогатне материнство;

в) при затримці або ранньому розвитку піноподій проводяться цикли ДРТ з переносом ембріонів на різних етапах розвитку. Це можливо з застосуванням попередньо кріоконсервованих ембріонів або, в разі затримки розвитку піноподій, частина ембріонів в поточному циклі кріоконсервується і розморожується через 1-3 дні в залежності від часу формування зрілих піноподій.

Підводячи підсумок цього підрозділу, слід сказати, що потрібні подальші дослідження з удосконалення та розробці патогенетично обґрунтованих диференційованих схем корекції рецептивності ендометрія.

Таким чином, не існує єдиної думки про схеми підготовки до програми ДРТ, тривалості їх застосування та вплив різної терапії на функціональний стан ендометрія та готовність його до імплантації. Результати різних досліджень досить суперечливі, тому представляється актуальною розробка персоналізованої терапії для підготовки до програми ДРТ у пацієнток з раніше неефективними спробами на підставі діагностики функціонального стану ендометрія.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. База, матеріал та дизайн дослідження

Робота виконувалася на протязі 2011–2014 років на базі Донецького національного медичного університету ім. М. Горького – ректор член-кореспондент НАМН України, проф., д.мед.н. Ю.В. Думанський, Українсько-французького центру репродуктивних функцій людини «Сім'я» – головний лікар ст.наук.співр., к.мед.н. Е.М. Айзятупова.

Морфологічні дослідження проводилися на базі патологоанатомічного відділення ТОВ «Нова діагностика +». Визначення піноподій методом скануючої електронної мікроскопії проводили на базі відділу патоморфології ДУ «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології НАМН України» (зав. – д.мед.н., проф. Т.Д. Задорожна) та Інституту проблем матеріалознавства ім. І.Н. Францевича НАН України.

Лабораторні дослідження виконувалася в лабораторії «Нова діагностика+», «Сінево», Українсько-французького центру репродуктивних функцій людини «Сім'я». Всі лабораторії є сертифікованими.

Усі пацієнтки надали інформовану згоду на участь в дослідженні.

Перед проведенням виконаного дослідження була сформульована наступна робоча гіпотеза:

- Порушення функціональної активності ендометрія ведуть до порушень його рецептивності під час вікна імплантації та невдалим імплантаціям в циклах ДРТ у жінок-гарних відповідачів.
- Визначення під час передбачуваного вікна імплантації піноподій, співвідношення стероїдних рецепторів, експресії молекул імплантації та місцевого імунітету з визначенням маркеру плазмоцитів сіндекану-1 будуть

сприяти вірогідній діагностиці функціонального стану ендометрія та розробці персоналізованої схеми його відновлення.

➤ Впровадження патогенетично обґрунтованої схеми корекції порушень функціонального стану ендометрія повинно привести до підвищення частоти вдалих імплантацій в циклах ДРТ.

Проведене дослідження складалося з чотирьох етапів.

На першому етапі дослідження під нагляд було взято 367 безплідних подружніх пар, яким було потрібно лікування за допомогою ДРТ. Після збору клініко-анамнестичних даних та обстеження 227 пацієток виключено з дослідження відповідно критеріям включення та виключення. 140 жінкам гарним відповідачам групи ДРТ, що ввійшли в дослідження, та 30 жінкам контрольної групи К були проведено комплексне дослідження ендометрія, гормонального та імунного статусу. Проведені цикли ДРТ усім пацієткам. В залежності від результатів ДРТ вони були розподілені на групи Н (n=80) з невдалими імплантаціями та В (n=60) – з вдалими.

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. Виділені основні відмінності та розроблена схема патогенезу арецептивності ендометрія.

На третьому етапі дослідження на підставі схеми патогенезу арецептивності ендометрія розроблена диференційована схема відновлення функціонального стану ендометрія, яка була застосована у пацієток групи НО (n=40) перед проведенням чергового циклу ДРТ. Пацієтки групи НП (n=40) отримали традиційну підготовку до циклу ДРТ. Після проведеної корекції функціонального стану ендометрія пацієткам груп НО та НП проведено цикли ДРТ.

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

2.2. Матеріал дослідження

Усього було досліджено 170 пацієнток. Групу ДРТ склали 140 пацієнток гарних відповідачів, які перенесли лікування безпліддя в програмах ДРТ і мали невдалі імплантації. У групі ДРТ виділено групи I і II, H і B.

Групу I (n=79) склали жінки, які мали в периферичній крові кількість CD69+НК-клітин $< 1,0 \times 10^6$ /л, групу II (n=61) – пацієнтки з CD69+ $> 1,0 \times 10^6$ /л.

80 жінок, в яких після останнього циклу ДРТ не настала вагітність склали групу H, а 60 жінок з настанням вагітності після останнього циклу ДРТ склали групу B.

80 жінок групи H були стратифіковані на 2 групи :

- група НО (n=40) – пацієнтки, які отримали розроблену традиційну передгравідарну підготовку та персоніфіковану схему відновлення функціональної активності ендометрія перед наступним циклом ДРТ;
- група НП (n=40) – пацієнтки, які отримали традиційну передгравідарну підготовку перед наступним циклом ДРТ.

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

Критерії включення в групу ДРТ: безпліддя; вік до 40 років; нормальний оваріальний резерв; невдалі імплантації при гарній відповіді в циклах контрольованої оваріальної стимуляції в програмах ДРТ; нормальний оваріальний резерв (кількість антральних фолікулів більше 5-7, АМГ більше 1,1 нг/мл, базальний рівень ФСГ в ранню фолікулінову фазу не більше за 10 мМО/мл).

Критерії виключення з групи ДРТ: погані відповідачі по Bologna criteria: і. вік жінки ≥ 40 років або будь який інший фактор поганої відповіді; іі. «погана відповідь» на контрольовану оваріальну стимуляцію в анамнезі (≤ 3 овоцитів при застосуванні стандартного протоколу контрольованої оваріальної стимуляції; ііі. зниження показників оваріального резерву (кількість антральних фолікулів не більше 5-7, АМГ до 1,1 нг/мл, базальний рівень ФСГ в ранню фолікулінову фазу більше за 10 мМО/мл) [161]; жінки з відомою імунологічною недостатністю (наявністю антифосфоліпідних антитіл, вовчакового антикоагулянту, антикардіоліпінових антитіл); наявність маткових аномалій (міома, поліпи, маткова перетинка); ендометріоз; цукровий діабет та інша ендокринна патологія;

- наявність менше двох ембріонів, доступних для переносу, або товщина ендометрія < 8 мм до переносу ембріонів; вибуття з-під спостереження.

Дизайн дослідження був схвалений комітетом з біоетики ДонНМУ ім. М. Горького (протокол засідання комісії по біоетиці № 1 від 25.02.2011 року, висновок комісії з біоетики № 35/16 від 25.02.2011).

2.2.1. Клініко-анамнестичні дані та результати інструментального обстеження досліджуваних пацієнток

Вік обстежених жінок коливався від 25 до 39 років і в середньому склав: у групі ДРТ – $33,91 \pm 0,39$ років, у тому числі, у групі Н – $33,88 \pm 0,53$, НО – $33,48 \pm 0,78$, НП – $34,28 \pm 0,71$, В – $33,97 \pm 0,60$, в контрольній групі – $34,13 \pm 0,87$ років, між групами вірогідно не відрізнявся.

При проведенні дослідження для виключення віку як фактора успішності ДРТ, групи жінок були сформовані так, що їх розподіл по вікових категоріях був однорідним (табл. 2.1).

Таблиця 2.1

Віковий склад обстежених груп, n (P±p, %)

Групи	19–25 років	26–35 років	36–39 років
ДРТ, n=140	3(2,14±0,12)	72(51,43±0,61)	65(46,43±0,58)
Н, n=80	2(2,50±1,58)	43(53,75±1,13)	35(43,75±1,13)
НО, n=40	1(2,50±0,04)	21(52,50±0,18)	18(45,00±0,17)
НП, n=40	1(2,50±0,25)	22(55,00±1,18)	17(42,50±1,04)
В, n=60	1(1,67±0,17)	29(48,33±0,90)	30(50,00±0,92)
К, n=30	1(3,33±0,34)	13(43,33±1,22)	16(53,33±1,22)

Примітка. Статистичної різниці між показниками не виявлено, $p > 0,05$.

Дослідження антропометричних даних жінок обстежених груп показало, що розподіл показників росту, маси, ІМТ і типу статури не мав статистично значимих розходжень (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

Антропометричні характеристики обстежених пацієнток

Група	Маса, кг M±m	Зріст, м M±m	ІМТ, кг/м ² M±m	Тип статури, n (P±p, %)		
				астенічна	нормо- стенічна	гіпер- стенічна
ДРТ, n=140	65,07±0,98	1,66±0,00	23,69±0,34	6(4,29± 0,18)	103(73,57± 0,72)	31(22,14± 0,40)
Н, n=80	64,28±1,18	1,65±0,01	23,55±0,42	4 (5,00± 0,25)	58 (72,50± 0,95)	18 (22,50± 0,53)
НО, n=40	66,00±1,76	1,66±0,01	23,93±0,63	1(2,50± 0,04)	31(77,50± 0,22)	8(20,00± 0,11)
НП, n=40	62,55±1,55	1,64±0,01	23,17±0,55	3(7,50± 0,44)	27(67,50± 1,31)	10(25,00± 0,80)
В, n=60	66,13±1,66	1,66±0,01	23,86±0,58	2 (3,33± 0,24)	45 (75,00± 1,12)	13 (21,67± 0,61)
К, n=30	61,47±2,10	1,64±0,01	22,89±0,77	1 (3,33± 0,34)	23 (76,67± 1,62)	6(20,00± 0,83)

Примітка. Статистичної різниці між показниками не виявлено, $p > 0,05$.

Жінки, які пройшли програму ДРТ, мали вищий рівень гірсутного числа ($4,33 \pm 0,16$ балів) за «гормональною» шкалою Ферімана-Галвея порівняно з обстеженими контрольної групи ($1,77 \pm 0,23$ балів) в 2,45 рази ($p < 0,01$).

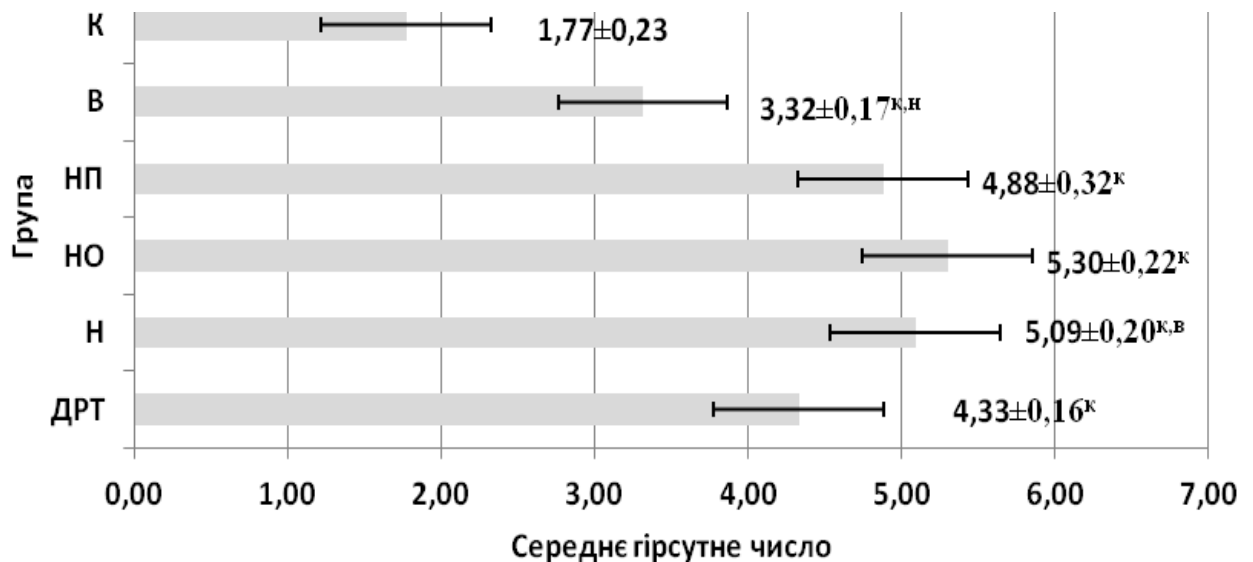


Рис. 2.1 Середнє гірсутне число в обстежених групах за гормональною шкалою Ферімана-Галвея.

Примітки: 1. ^{к, н, в} – вірогідна різниця з групами К, Н, В, $p < 0,05$;

2. Статистичної різниці між показниками груп НО і НП не виявлено ($p > 0,05$).

У групі В ($3,32 \pm 0,17$ балів) воно було менше за таке в групі Н ($5,09 \pm 0,20$ балів) у 1,53 рази ($p < 0,01$).

Характерною особливістю жінок групи ДРТ була наявність більш вираженого надлишкового росту пушкового волосся порівняно з контролем в зонах підборіддя, грудей, верхньої та нижньої частини живота, плеча, задньої поверхні стегон, поперек (табл. 2.3). При порівняльному аналізі встановлено, що пацієнтки з вдалими спробами ДРТ порівняно з пацієнтками з невдалими мали менший ріст пушкового волосся в зоні верхньої губи в 2,38 рази ($p < 0,02$), плеча – в 3,87 ($p < 0,01$), задньої поверхні стегон – в 1,48 ($p < 0,01$) та поперек – в 2,40 ($p < 0,01$).

Таблиця 2.3

**Оцінка росту волосся обстежених пацієнок
за гормональною шкалою Ферімана-Галвея, $M \pm m$**

Група	А – верхня губа	В – підборіддя	С – груди	Д – верхня частина живота	Е – нижня частина живота	Г – плече	Г – задня поверхня стегон	Н – спина	І – попереk
ДРТ, n=140	0,71± 0,04	0,53± 0,04 ^к	0,48± 0,05 ^к	0,26± 0,04 ^к	0,84± 0,04 ^к	0,39± 0,05 ^к	0,61± 0,04 ^к	0,05± 0,02	0,45± 0,05 ^к
Н, n=80	0,95± 0,05 ^{к,В}	0,56± 0,06 ^к	0,50± 0,07 ^к	0,23± 0,05 ^к	0,89± 0,05 ^к	0,58± 0,07 ^{к,В}	0,71± 0,05 ^{к,В}	0,08± 0,03	0,60± 0,08 ^{к,В}
НО, n=40	1,03± 0,06 ^к	0,55± 0,08 ^к	0,53± 0,11 ^к	0,28± 0,07 ^к	0,95± 0,03	0,60± 0,09 ^к	0,73± 0,07 ^к	0,10± 0,05	0,55± 0,11 ^к
НП, n=40	0,88± 0,07	0,58± 0,08 ^к	0,48± 0,08 ^к	0,18± 0,06 ^к	0,83± 0,09	0,55± 0,09 ^к	0,70± 0,07 ^к	0,05± 0,03	0,65± 0,11 ^к
В, n=60	0,40± 0,06 ^{к,Н}	0,48± 0,07 ^к	0,45± 0,06 ^к	0,32± 0,06 ^к	0,77± 0,06	0,15± 0,05 ^{к, н}	0,48± 0,07 ^{к,Н}	0,02± 0,02	0,25± 0,06 ^н
К, n=30	0,67± 0,10	0,13± 0,06	0,17± 0,07	0,00± 0,00	0,57± 0,11±	0,03± 0,03	0,07± 0,05	0,03± 0,03	0,10± 0,06

Примітки: 1. ^{к, н, в} – статистична різниця з показниками груп К, Н, В, $p < 0,05$;
2. статистичної різниці між показниками груп НО і НП не виявлено ($p > 0,05$).

Дослідження менструальної функції не виявило вірогідних відмінностей між групами за показниками віку менархе, тривалістю менструальної кровотечі і МЦ, середньою кількістю МЦ на рік та характером МЦ (табл. 2.4, табл. 2.5).

Таблиця 2.4

Характеристика МЦ у обстежених жінок, $M \pm m$

Група	Вік менархе, у роках	Тривалість менструації, у днях	Тривалість МЦ, у днях	Середня кількість МЦ на рік
ДРТ, n=140	13,34±0,12	5,15±0,12	28,37±0,39	13,13±0,17
Н, n=80	13,29±0,16	5,20±0,15	28,65±0,62	13,07±0,23
НО, n=40	13,13±0,19	5,00±0,19	28,68±0,85	12,97±0,22
НП, n=40	13,45±0,25	5,40±0,23	28,63±0,92	13,16±0,40
В, n=60	13,42±0,17	5,08±0,20	28,00±0,37	13,21±0,25
К, n=30	13,07±0,20	5,37±0,23	28,07±0,32	13,06±0,18

Примітка. Статистичної різниці між показниками груп не виявлено, $p > 0,05$.

Таблиця 2.5

Характеристика менструацій у обстежених жінок, n ($P \pm p$, %)

Група	Характер менструацій			
	болісні	скудні	помірні	рясні
ДРТ, n=140	65(46,43±0,58)	6(4,29±0,18)	95(67,86±0,70)	39(27,86±0,45)
Н, n=80	40(50,00±0,79)	4(5,00±0,25)	57(71,25±0,95)	19(23,75±0,55)
НО, n=40	19(47,50±0,18)	1(2,50±0,04)	28(70,00±0,21)	11(27,50±0,13)
НП, n=40	21(52,50±1,16)	3(7,50±0,44)	29(72,50±1,36)	8(20,00±0,72)
В, n=60	25(41,67±0,84)	2(3,33±0,24)	38(63,33±1,03)	20(33,33±0,75)
К, n=30	9(30,00±1,02)	1(3,33±0,34)	22(73,33±1,58)	7(23,33±0,90)

Примітка. Статистичної різниці між показниками груп не виявлено, $p > 0,05$.

Середній вік початку статевого життя вірогідно не відрізнявся в обстежених жінок і склав: у групі ДРТ – 18,12±0,17, в контрольній групі – 18,23±0,33 років.

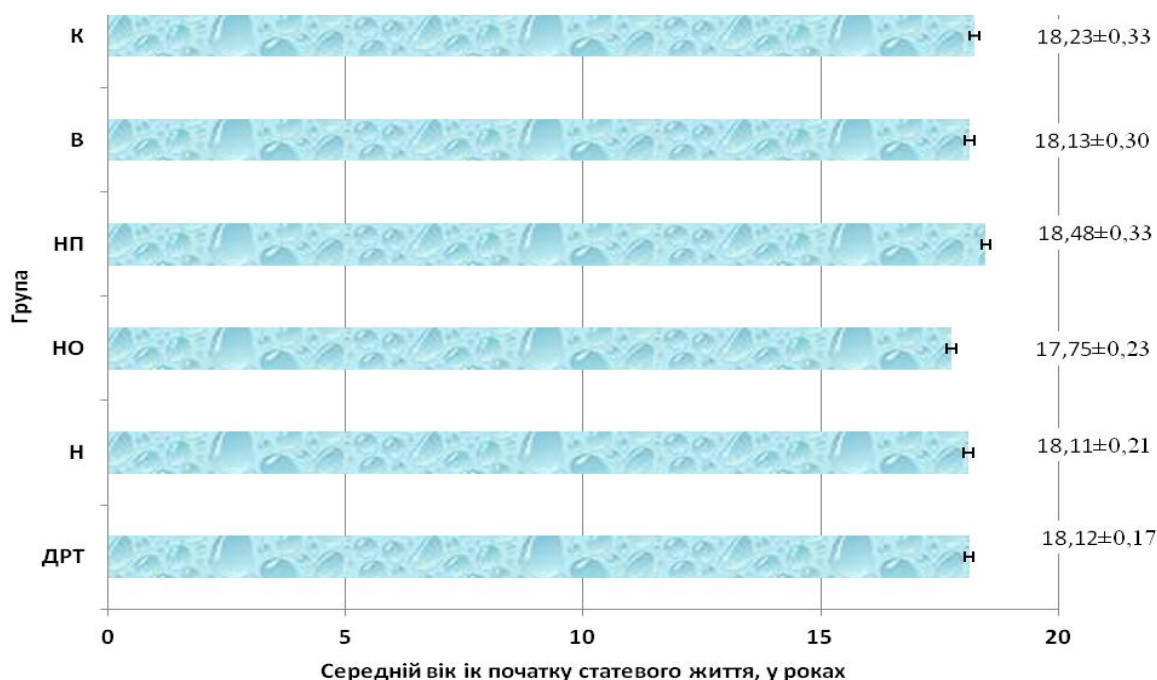


Рис. 2.2 Середній вік початку статевого життя в досліджуваних групах.

Примітка. Статистичної різниці між показниками груп не виявлено, $p > 0,05$.

Дослідження даних, що характеризують стан репродуктивної функції в групах спостереження, показало, що серед безплідних пацієток, включених до програми ДРТ, переважало первинне безпліддя на вторинним – 62,86 % проти 37,14 % ($p < 0,01$) (табл. 2.6).

Середня тривалість безпліддя у групі ДРТ склала $5,07 \pm 0,31$ років і вірогідно між групами не розрізнялася (рис. 2.3). З приводу безпліддя пацієтки групи ДРТ мали в анамнезі від 1 до 3 спроб, у середньому $-1,89 \pm 0,04$ (рис. 2.4).

Основним фактором, з приводу подружній парі проводили цикл ДРТ у 33 (23,57 %) випадків був трубний, у 37 (26,43 %) – чоловічий, у 35 (25,00 %) – ановуляція, у 35 (25,00 %) – безпліддя невстановленої етіології (табл. 2.7).

Таблиця 2.6

Показники репродуктивної функції обстежених пацієнток, n (P±p, %)

Група	Штучні аборти	Мимовільні аборти	Пологи	Позаматкова вагітність	Безпліддя	
					первинне	вторинне
ДРТ, n=140	15(10,79± 0,28) ^к	30 (21,43± 0,39) ^к	12(8,57± 0,25) ^к	19(13,57± 0,31) ^к	88 (62,86± 0,67) ^к	52 (37,14± 0,52) ^к
Н, n=80	10(12,66± 0,40) ^к	17 (21,25± 0,52) ^к	7(8,75± 0,33) ^к	12(15,00± 0,44) ^к	46(57,50± 0,85) ^к	34(42,50± 0,73) ^к
НО, n=40	4(10,00± 0,08) ^к	10 (25,00± 0,13) ^к	3(7,50± 0,07) ^к	6(15,00± 0,10) ^к	23(57,50± 1,21) ^к	17(42,50± 0,17) ^к
НП, n=40	6(15,38± 0,64) ^к	7 (17,50± 0,67) ^к	4(10,00± 0,51) ^к	6(15,00± 0,62) ^к	23(57,50± 1,21) ^к	17(42,50± 1,04) ^к
В, n=60	5(8,33± 0,38) ^к	13 (21,67± 0,61) ^к	5(8,33± 0,38) ^к	7(11,67± 0,44) ^к	42(70,00± 1,09) ^к	18(30,00± 0,71) ^к
К, n=30	14(46,67± 1,27)	0(0,00± 0,00)	30(100± 1,85)	0(0,00± 0,00)	0(0,00± 0,00)	0(0,00± 0,00)

Примітки: 1. ^к – вірогідна статистична різниця з показниками групи К (p<0,05);

2. Статистичної різниці між показниками груп НО і НП не виявлено (p>0,05).

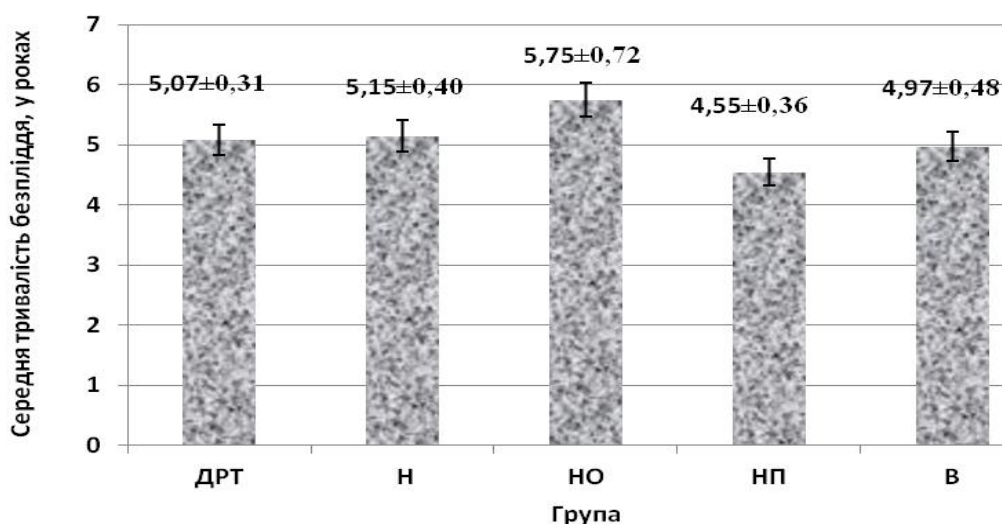


Рис. 2.3 Середня тривалість безпліддя у обстежених жінок.

Примітка. Статистичної різниці між показниками груп не виявлено, p>0,05.

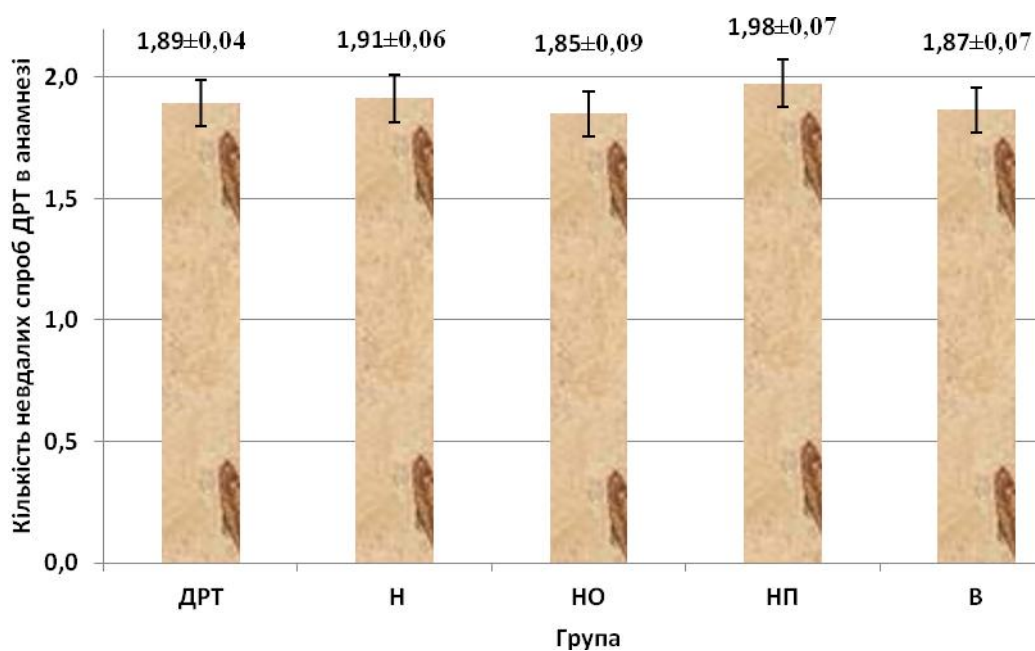


Рис. 2.4 Середня кількість невдалих спроб ДРТ в анамнезі жінок.

Примітка. Статистичної різниці між показниками груп не виявлено, $p > 0,05$.

Таблиця 2.7

Розподіл основного фактору, з приводу якого проводилося ДРТ обстеженим жінкам, n ($P \pm p$, %)

Група	Трубний фактор	Чоловічий фактор	Ановуляція	Безпліддя невістановленої етіології
ДРТ, n=140	33(23,57±0,41)	37(26,43±0,44)	35(25,00±0,42)	35(25,00±0,42)
Н, n=80	19(23,75±0,55)	20(25,00±0,56)	21(26,25±0,58)	20(25,00±0,56)
НО, n=40	11(27,50±0,13)	11(27,50±0,13)	11(27,50±0,13)	7(17,50±0,11)
НП, n=40	8(20,00±0,72)	9(22,50±0,76)	10(25,00±0,80)	13(32,50±0,91)
В, n=60	14(23,33±0,63)	17(28,33±0,69)	14(23,33±0,63)	15(25,00±0,65)

Примітка. Статистичної різниці між показниками груп не виявлено, $p > 0,05$.

При порівнянні деяких показників останнього циклу ДРТ в групах Н і В встановлено, що групи не розрізнялися за базальним рівнем ФСГ ($7,82 \pm 0,05$

проти $7,65 \pm 0,08$ мМО/мл, $p > 0,05$); середньою кількістю забраних овоцитів ($12,60 \pm 0,65$ проти $12,90 \pm 0,70$, $p > 0,05$); середньою частотою фертилізації ($65,37 \pm 1,66$ проти $69,71 \pm 1,94$ %) і середнім числом отриманих ембріонів ($8,32 \pm 0,45$ проти $8,85 \pm 0,46$) табл. 2.8. Але середня кількість рекомбінантного ФСГ (рФСГ) для стимуляції в останньому циклі і рівень E_2 в день введення тригера овуляції у групі Н були більші відповідно в 1,21 (3067 ± 34 проти 2545 ± 41 МО, $p < 0,01$) і в 1,12 рази (8655 ± 54 проти 7753 ± 61 пг/мл, $p < 0,01$). У досліджуваних групах Н і В, НО і НП не спостерігалось різниці за якістю ембріонів.

Таблиця 2.8

Деякі показники останнього циклу ДРТ у обстежених жінок

Група	Базальний рівень ФСГ в останньому циклі (мМО/мл) ($M \pm m$)	Середня кількість рФСГ для стимуляції в останньому циклі (МО) ($M \pm m$)	E_2 (пг/мл) в день введення тригера овуляції в останньому циклі ($M \pm m$)	Середня кількість забраних овоцитів в останньому циклі ($M \pm m$)	Частота фертилізації в останньому циклі ($P \pm p$, %)	Число отриманих ембріонів в останньому циклі ($M \pm m$)
ДРТ, n=140	$7,75 \pm 0,04$	2843 ± 34	8268 ± 55	$12,73 \pm 0,47$	$67,23 \pm 1,27$	$8,54 \pm 0,32$
Н, n=80	$7,82 \pm 0,05$	3067 ± 34^B	8655 ± 54^B	$12,60 \pm 0,65$	$65,37 \pm 1,66$	$8,32 \pm 0,45$
НО, n=40	$7,89 \pm 0,08$	3090 ± 44	8737 ± 76	$12,58 \pm 1,00$	$65,20 \pm 2,47$	$8,29 \pm 0,69$
НП, n=40	$7,76 \pm 0,07$	3043 ± 52	8572 ± 76	$12,63 \pm 0,84$	$65,53 \pm 2,26$	$8,34 \pm 0,59$
В, n=60	$7,65 \pm 0,08$	2545 ± 41^H	7753 ± 61^H	$12,90 \pm 0,70$	$69,71 \pm 1,94$	$8,85 \pm 0,46$

Примітки: 1. ^{H, B} – статистична різниця з показниками груп Н, В ($p < 0,05$);
2. Статистичної різниці між показниками не виявлено, $p > 0,05$.

Як видно з табл. 2.9, кожна десята жінка групи ДРТ мала в анамнезі штучні аборти, кожна п'ята – мимовільні, кожна одинадцята – пологи, кожна сьома – позаматкові вагітності. Середня кількість вагітностей у групі ДРТ порівняно з групою К була менша в 2,62 рази ($0,79 \pm 0,11$ проти $2,07 \pm 0,23$, $p < 0,01$); штучних

абортів – у 4,44 ($0,18 \pm 0,06$ проти $0,80 \pm 0,21$, $p < 0,01$); пологів – у 14,11 ($0,09 \pm 0,02$ проти $1,27 \pm 0,10$). Кількість мимовільних абортів в групі ДРТ склала $0,29 \pm 0,05$ і позаматкових вагітностей – $0,24 \pm 0,05$, тоді як в контролі таких вагітностей не було ($p < 0,01$).

Таблиця 2.9

**Середня кількість різних кінців вагітностей у обстежених пацієнток,
n (P±p, %)**

Група	Середня кількість вагітностей	Середня кількість штучних абортів	Середня кількість мимовільних абортів	Середня кількість пологів	Середня кількість позаматкових вагітностей
ДРТ, n=140	$0,79 \pm 0,11^k$	$0,18 \pm 0,06^k$	$0,29 \pm 0,05^k$	$0,09 \pm 0,02^k$	$0,24 \pm 0,05^k$
Н, n=80	$0,83 \pm 0,14^k$	$0,20 \pm 0,08^k$	$0,28 \pm 0,06^k$	$0,09 \pm 0,03^k$	$0,26 \pm 0,07^k$
НО, n=40	$0,88 \pm 0,22^k$	$0,23 \pm 0,14^k$	$0,30 \pm 0,09^k$	$0,08 \pm 0,04^k$	$0,28 \pm 0,11^k$
НП, n=40	$0,78 \pm 0,17^k$	$0,18 \pm 0,07^k$	$0,25 \pm 0,09^k$	$0,10 \pm 0,05^k$	$0,25 \pm 0,10^k$
В, n=60	$0,73 \pm 0,19^k$	$0,15 \pm 0,09^k$	$0,30 \pm 0,08^k$	$0,08 \pm 0,04^k$	$0,20 \pm 0,07^k$
К, n=30	$2,07 \pm 0,23$	$0,80 \pm 0,21$	$0,00 \pm 0,00$	$1,27 \pm 0,10$	$0,00 \pm 0,00$

Примітки: 1. ^k – статистична різниця з показниками групи К ($p < 0,05$);
2. Статистичної різниці між показниками не виявлено, $p > 0,05$.

Аналіз інфектологічного статусу показав, що хламідіоз зустрічався раніше практично у кожній п'ятій жінки групи ДРТ, уреаплазмоз – у кожній третій, інфекція, викликана *Str. agalactia*, – у кожній шостій, бактеріальний вагіноз – у кожній третій (табл. 2.10).

Таблиця 2.10

**Перенесені урогенітальні інфекції та бактеріальний вагіноз у пацієток
обстежених груп, n (P±p, %)**

Група	Хламідіоз	Трихомоніаз	Гонорея	Уреаплазмоз	Микоплазмоз	Str. agalactia	Бактеріальний вагіноз
ДРТ, n=140	30 (21,43± 0,39) ^к	1 (0,71± 0,07)	2 (1,43± 0,10)	52 (37,14± 0,52) ^к	11 (7,86± 0,24)	25 (17,99± 0,36) ^к	40 (28,57± 0,45) ^к
Н, n=80	18 (22,50± 0,53) ^к	1 (1,25± 0,13)	2 (2,50± 0,18)	34 (42,50± 0,73) ^к	6 (7,50± 0,31)	14 (17,72± 0,48) ^к	25 (31,25± 0,63) ^к
НО, n=40	8 (20,00± 0,11) ^к	1 (2,50± 0,04)	1 (2,50± 0,04)	16 (40,00± 0,16) ^к	2 (5,00± 0,06)	9 (22,50± 0,12) ^к	10 (25,00± 0,13) ^к
НП, n=40	10 (25,00± 0,80) ^к	0 (0,00± 0,00)	1 (2,50± 0,25)	18 (45,00± 1,07) ^к	4 (10,00± 0,51)	5 (12,82± 0,58) ^к	15 (37,50± 0,98) ^к
В, n=60	12 (20,00± 0,58) ^к	0 (0,00± 0,00)	0 (0,00± 0,00)	18 (30,00± 0,71) ^к	5 (8,33± 0,38)	11 (18,33± 0,56) ^к	15 (25,00± 0,65) ^к
К, n=30	0 (0,00± 0,00)	0 (0,00± 0,00)	0 (0,00± 0,00)	0 (0,00± 0,00)	0 (0,00± 0,00)	0 (0,00± 0,00)	0 (0,00± 0,00)

Примітки: 1. ^к – вірогідна статистична різниця з показниками групи К (p<0,05);
2. Статистичної різниці між показниками груп НО і НП не виявлено (p>0,05).

Серед гінекологічних захворювань у безплідних пацієток групи ДРТ найчастіше зустрічався хронічний сальпінгіт (85 %) (табл. 2.11). У пацієток групи Н порівняно з групою В у 2,91 рази (p<0,01) частіше в анамнезі відмічалася гіперплазія ендометрія.

Розподіл перенесених раніше оперативних втручань у групах I та II не носив статистично значимої різниці між пацієтками групи ДРТ. У двох третин безплідних жінок була раніше виконана сальпінгоектомія (табл. 2.12).

Таблиця 2.11

Гінекологічні захворювання в анамнезі досліджуваних пацієток, n (P±p, %)

Група	Фонові захворювання шийки матки	Гіперплазія ендометрія	Хронічний сальпінгіт	Хронічний ендометрит	СПКЯ	Кістозні утворення яєчників
ДРТ, n=140	33(23,57±0,41)	39(27,86±0,45) ^к	119(85,00±0,78) ^к	13(9,29±0,26)	13(9,29±0,26)	21(15,00±0,33) ^к
Н, n=80	21(26,25±0,58)	31(38,75±0,70) ^{к,в}	68(85,00±1,03) ^к	9(11,25±0,38)	7(8,75±0,33)	11(13,75±0,42) ^к
НО, n=40	11(27,50±0,13)	20(50,00±0,18) ^к	31(77,50±0,22) ^к	7(17,50±0,11)	3(7,50±0,07)	7(17,50±0,11) ^к
НП, n=40	10(25,00±0,80)	11(27,50±0,84) ^к	37(92,50±1,53) ^к	2(5,00±0,36)	4(10,00±0,51)	4(10,00±0,51) ^к
В, n=60	12(20,00±0,58)	8(13,33±0,48) ^{к,н}	51(85,00±1,20) ^к	4(6,67±0,34)	6(10,00±0,41)	10(16,67±0,53) ^к
К, n=30	7(23,33±0,90)	0(0,00±0,00)	0(0,00±0,00)	0(0,00±0,00)	0(0,00±0,00)	0(0,00±0,00)

Примітки: 1. ^к – статистична різниця з показниками групи К (p<0,05);
2. Статистичної різниці між групами НО і НП не виявлено (p>0,05).

Таблиця 2.12

Оперативні втручання в анамнезі пацієток обстежених груп, n (P±p, %)

Група	Сальпінгоектомія	Резекція яєчників	Цистектомія	Апендектомія	Холецистектомія	Тонзілектомія
ДРТ, n=140	33(23,57±0,41) ^к	13(9,29±0,26)	21(15,00±0,33) ^к	9(6,43±0,21)	2(1,43±0,10)	9(6,43±0,21)
Н, n=80	19(23,75±0,55) ^к	7(8,75±0,33)	11(13,75±0,42) ^к	7(8,75±0,33)	1(1,25±0,13)	5(6,25±0,28)
НО, n=40	10(25,00±0,13) ^к	3(7,50±0,07)	7(17,50±0,11) ^к	5(12,50±0,09)	1(2,50±0,04)	4(10,00±0,08)
НП, n=40	9(22,50±0,76) ^к	4(10,00±0,51)	4(10,00±0,51)	2(5,00±0,36)	0(0,00±0,00)	1(6,67±0,25)
В, n=60	14(23,33±0,63) ^к	6(10,00±0,41)	10(16,67±0,53) ^к	2(3,33±0,24)	1(1,67±0,17)	4(6,67±0,34)
К, n=30	0(0,00±0,00)	0(0,00±0,00)	0(0,00±0,00)	3(10,00±0,59)	0(0,00±0,00)	2(6,67±0,48)

Примітки: 1. ^к – вірогідна статистична різниця з показниками групи К (p<0,05);
2. Статистичної різниці між групами НО і НП не виявлено (p>0,05).

Частота дитячих інфекцій, вірусного гепатиту та соматичних захворювань статистично вірогідно по групах не відрізнялася (табл. 2.13, табл. 2.14).

Таблиця 2.13

Дитячі інфекції та вірусний гепатит в анамнезі пацієток, n (P±p, %)

Група	Кір	Вітряна віспа	Краснуха	Паротит	Скарлатина	Вірусний гепатит
ДРТ, n=140	5(3,57±0,16)	43(30,71±0,47)	16(11,43±0,29)	7(5,00±0,19)	1(0,71±0,07)	9(6,43±0,21)
Н, n=80	3(3,75±0,22)	25(31,25±0,63)	8(10,00±0,36)	4(5,00±0,25)	1(1,25±0,13)	4(5,00±0,25)
НО, n=40	1(2,50±0,04)	12(30,00±0,14)	6(15,00±0,10)	2(5,00±0,06)	0(0,00±0,00)	2(5,00±0,06)
НП, n=40	2(5,00±0,36)	13(32,50±0,91)	2(5,00±0,36)	2(5,00±0,36)	1(2,50±0,25)	2(5,00±0,36)
В, n=60	2(3,33±0,24)	18(30,00±0,71)	8(13,33±0,48)	3(5,00±0,29)	0(0,00±0,00)	5(8,33±0,38)
К, n=30	1(3,33±0,34)	11(36,67±1,12)	3(10,00±0,59)	2(6,67±0,48)	0(0,00±0,00)	2(6,67±0,48)

Примітка. Статистичної різниці між показниками груп не виявлено, p>0,05.

Таблиця 2.14

Соматичні захворювання пацієток обстежених груп, n (P±p, %)

Група	Захворювання серцево-судинної системи	Захворювання шлунково-кишкового тракту	Захворювання сечовидільної системи	Гіпотиреоз	Гіпертиреоз
ДРТ, n=140	16(11,43±0,29)	15(10,71±0,28)	8(5,71±0,20)	4(2,86±0,14)	4(2,86±0,14)
Н, n=80	9(11,25±0,38)	9(11,25±0,38)	5(6,25±0,28)	2(2,50±0,18)	3(3,75±0,22)
НО, n=40	4(10,00±0,08)	5(12,50±0,09)	3(7,50±0,07)	1(2,50±0,04)	0(0,00±0,00)
НП, n=40	5(12,50±0,57)	4(10,00±0,51)	2(5,00±0,36)	1(2,50±0,25)	3(7,50±0,44)
В, n=60	7(11,67±0,44)	6(10,00±0,41)	3(5,00±0,29)	2(3,33±0,24)	1(1,67±0,17)

Примітка. Статистичної різниці між показниками груп не виявлено, p>0,05.

Таким чином, групи Н і В в основному і групи НО і НП однорідні за вивчаними клінічними показниками, що дозволяє порівнювати результати подальших досліджень. Безплідні пацієнтки-гарні відповідачі циклів ДРТ з останньою невдалою імплантацією мають порівняно з жінками з останньою вдалою імплантацією більший ріст пушкового волосся в зоні верхньої губи в 2,38 рази ($p < 0,02$), плеча – в 3,87 ($p < 0,01$), задньої поверхні стегон – в 1,48 ($p < 0,01$) та попереку – в 2,40 ($p < 0,01$); у 2,91 рази ($p < 0,01$) частіше в анамнезі відмічається гіперплазія ендометрія; середня кількість рФСГ для стимуляції в циклі ДРТ і рівень E_2 в день введення тригера овуляції більші відповідно в 1,21 (3067 ± 34 проти 2545 ± 41 МО, $p < 0,01$) і в 1,12 рази (8655 ± 54 проти 7753 ± 61 пг/мл, $p < 0,01$).

2.2.2. Дані ехографії внутрішніх статевих органів у досліджуваних пацієнток

У всіх обстежених безплідних пацієнток-гарних відповідачів з невдалими імплантаціями в циклах ДРТ в анамнезі яєчники були білатерально збільшені порівняно з контролем (табл. 2.15): в середньому довжина правого яєчника – в 1,06 рази ($p < 0,01$), лівого – в 1,09 ($p < 0,01$); товщина правого яєчника – в 1,18 ($p < 0,01$), лівого – в 1,14 ($p < 0,01$); ширина правого яєчника – в 1,16 ($p < 0,01$), лівого – в 1,16 ($p < 0,01$). Середній об'єм правого яєчника перевищував аналогічний у контролі в 1,45 рази ($p < 0,01$), лівого – у 1,45 ($p < 0,01$) (табл. 2.16). Розміри та об'єм яєчників між групами з ДРТ вірогідно не відрізнялися.

Довжина, товщина та ширина матки у пацієнток обстежених груп вірогідно не відрізнялися ($p > 0,05$) (табл. 2.17).

Товщина М-ехо на 5-й день МЦ в групі ДРТ дорівнювала $6,36 \pm 0,18$ мм і перевищувала таку в контролі ($4,77 \pm 0,19$ мм) в 1,33 рази ($p < 0,01$), а на 22-й день не відрізнялося (див. табл. 2.17). Вірогідної різниці між товщиною М-ехо у пацієнток обстежених груп з ДРТ не відмічалось.

Таблиця 2.15

Розміри яєчників пацієток обстежених груп, $M \pm m$, у см

Група	Довжина		Ширина		Товщина	
	правий	лівий	правий	лівий	правий	лівий
ДРТ, n=140	3,37± 0,02 ^к	3,33± 0,02 ^к	1,88± 0,04 ^к	1,77± 0,05 ^к	1,66± 0,02 ^к	1,65± 0,03 ^к
Н, n=80	3,34± 0,03 ^к	3,32± 0,03 ^к	1,88± 0,05 ^к	1,68± 0,04 ^к	1,62± 0,03 ^к	1,59± 0,03 ^к
НО, n=40	3,33± 0,04 ^к	3,35± 0,04 ^к	1,85± 0,07 ^к	1,66± 0,07 ^к	1,59± 0,05 ^к	1,56± 0,04 ^к
НП, n=40	3,36± 0,04 ^к	3,28± 0,03 ^к	1,91± 0,07 ^к	1,71± 0,06 ^к	1,66± 0,04 ^к	1,62± 0,04 ^к
В, n=60	3,41± 0,04 ^к	3,35± 0,03 ^к	1,89± 0,06 ^к	1,88± 0,10 ^к	1,72± 0,04 ^к	1,74± 0,05 ^к
К, n=30	3,19± 0,05	3,05± 0,06	1,59± 0,04	1,55± 0,05	1,43± 0,03	1,42± 0,03

Примітки: 1. ^к – статистична різниця з показниками групи К ($p < 0,05$);

2. Статистичної різниці між групами НО і НП не виявлено ($p > 0,05$).

Таблиця 2.16

Об'єм яєчників пацієток обстежених груп, $M \pm m$, у см³

Група	Правий яєчник	Лівий яєчник
ДРТ, n=140	5,29±0,14 ^к	4,90±0,18 ^к
Н, n=80	5,09±0,17 ^к	4,43±0,14 ^к
НО, n=40	4,96±0,24 ^к	4,33±0,22 ^к
НП, n=40	5,14±0,24 ^к	4,53±0,18 ^к
В, n=60	5,55±0,24 ^к	5,53±0,37 ^к
К, n=30	3,65±0,16	3,37±0,15

Примітки: 1. ^к – статистична різниця з показниками групи К ($p < 0,05$);

2. Статистичної різниці між групами НО і НП не виявлено ($p > 0,05$).

Таблиця 2.17

Розміри маток обстежених пацієнток на 7-й день та товщина серединного М-ехо на 7-й та 22-й день МЦ, М±m

Група	Довжина, у см	Ширина, у см	Товщина, у см	М-ехо на 7-й день МЦ, у мм	М-ехо на 22-й день МЦ, у мм
ДРТ, n=140	5,24±0,04	3,71±0,03	4,94±0,05	6,36±0,18 ^к	13,73±0,24
Н, n=80	5,27±0,05	3,75±0,03	4,89±0,06	6,33±0,21 ^к	13,55±0,21
НО, n=40	5,22±0,06	3,78±0,04	4,97±0,06	6,30±0,32 ^к	13,65±0,24
НП, n=40	5,33±0,06	3,72±0,05	4,81±0,10	6,35±0,27 ^к	13,45±0,34
В, n=60	5,21±0,06	3,65±0,04	5,01±0,07	6,40±0,31 ^к	13,97±0,50
К, n=30	5,16±0,07	3,66±0,05	4,83±0,05	4,77±0,19	13,30±0,30

Примітки: 1. ^к – статистична різниця з показниками групи К (p<0,05);
2. Статистичної різниці між групами НО і НП не виявлено (p>0,05).

Таким чином, не спостерігалось вірогідних відмінностей між розмірами яєчників, матки і М-ехо між різними групами ДРТ, що дозволяє їх порівнювати при подальших дослідженнях. Пацієнток-гарних відповідачів циклів ДРТ з невдалими імплантаціями в анамнезі відрізняють від здорових фертильних жінок білатерально збільшені яєчники та потовщене М-ехо на 5-й день МЦ.

2.2.3. Гормональний профіль периферичної крові досліджуваних пацієнток

Як видно з табл. 2.18, при аналізі базального вмісту гонадотропних гормонів у периферичній крові виявлено, що у пацієнток-гарних відповідачів циклів ДРТ з невдалими імплантаціями в анамнезі у фолікулінову фазу МЦ рівень ФСГ був підвищений відносно групи контролю в 1,67 рази (p<0,01), ЛГ – в 1,41 (p<0,01), ПРЛ – вірогідно не відрізнявся.

Таблиця 2.18

Рівні гонадотропінів у обстежених пацієнток на 2-3-й день МЦ, $M \pm m$

Група	ФСГ, мМО/мл	ЛГ, мМО/мл	ЛГ/ФСГ	ПРЛ, нг/мл
ДРТ, n=140	7,75±0,04 ^к	6,86±0,27 ^к	0,88±0,03 ^к	8,62±0,35
Н, n=80	7,82±0,05 ^к	7,30±0,35 ^к	0,93±0,04 ^к	8,35±0,37
НО, n=40	7,89±0,08 ^к	7,07±0,59 ^к	0,90±0,08 ^к	8,58±0,50
НП, n=40	7,76±0,07 ^к	7,53±0,38 ^к	0,97±0,05	8,12±0,55
В, n=60	7,65±0,08 ^к	6,27±0,40 ^к	0,82±0,05 ^к	8,96±0,67
К, n=30	4,63±0,15	4,86±0,18	1,07±0,04	8,85±0,47

Примітки: 1. ^к – статистична різниця з показниками групи К ($p < 0,05$);
 2. Статистичної різниці між групами НО і НП не виявлено ($p > 0,05$).

У досліджуваних пацієнток групи ДРТ реєструвалися відхилення продукції статевих гормонів, більш виражені в середню лютеїнову фазу (табл. 2.19).

Таблиця 2.19

Рівні статевих стероїдів у обстежених пацієнток на 2-3-й день МЦ, $M \pm m$

Група	День МЦ	Е ₂ , пмоль/л	П, нмоль/л	Тв, нг/мл
ДРТ, n=140	2-3-й	0,431±0,009 ^к	2,19±0,08	2,17±0,09 ^к
	22-й	0,329±0,008 ^к	25,23±0,94 ^к	–
Н, n=80	2-3-й	0,426±0,006 ^к	2,10±0,11	2,35±0,12 ^{к,В}
	22-й	0,319±0,009 ^к	21,87±1,19 ^к	–
НО, n=40	2-3-й	0,429±0,008 ^к	1,93±0,16	2,24±0,18 ^к
	22-й	0,322±0,013 ^к	20,38±1,37 ^к	–
НП, n=40	2-3-й	0,424±0,010 ^к	2,28±0,17	2,45±0,15 ^к
	22-й	0,315±0,012 ^к	23,35±1,94 ^к	–
В, n=60	2-3-й	0,438±0,020 ^к	2,31±0,13	1,93±0,13 ^{к,Н}
	22-й	0,342±0,013 ^к	29,71±1,31 ^к	–
К, n=30	2-3-й	0,331±0,019	2,34±0,22	1,57±0,12
	22-й	0,451±0,020	54,92±1,32	–

Примітки: 1. ^к – статистична різниця з показниками групи К ($p < 0,05$);
 2. Статистичної різниці між групами НО і НП не виявлено ($p > 0,05$).

Середня концентрація E_2 у сироватці крові пацієток групи ДРТ на 2-3-й день МЦ перевищувала таку в контролі у 1,30 рази ($p < 0,01$); на 22-й день МЦ була менше у 1,37 рази ($p < 0,01$). Середній рівень П на 2-3-й день МЦ між групами вірогідно не відрізнявся; на 22-й день МЦ був менший за такий в контролі у 2,18 рази ($p < 0,01$). Середній вміст E_2 і П між групами Н і В, НО і НП у різні фази МЦ вірогідно не відрізнявся. Середній рівень Тв у групі ДРТ перевищував такий в контролі у 1,38 рази ($p < 0,01$); у групі Н був більший за такий у групі В – в 1,45 ($p < 0,01$); не відрізнявся між групами Н і В.

Вірогідно статистичної різниці між рівнями гормонів щитоподібної залози у обстежених групах в динаміці МЦ не виявлено (табл. 2.20).

Таблиця 2.20

Рівні гормонів щитоподібної залози у обстежених пацієток, $M \pm m$

Група	ТТГ, мМО/л	T_3 , нмоль/л	T_4 , нмоль/л
ДРТ, n=140	1,70±0,05	1,48±0,03	108,66±2,29
Н, n=80	1,73±0,07	1,51±0,04	105,78±2,93
НО, n=40	1,69±0,10	1,55±0,06	104,16±5,38
НП, n=40	1,76±0,11	1,47±0,06	107,40±2,40
В, n=60	1,67±0,08	1,44±0,04	112,49±3,60
К, n=30	1,71±0,10	1,43±0,06	106,97±4,22

Примітка. Статистичної різниці між показниками не встановлено, $p > 0,05$.

Таким чином, обстежені групи Н і В, НО і НП були гомогенними за рівнем ФСГ, ЛГ, ПРЛ, E_2 і П, ТТГ, T_3 і T_4 , що дозволяє проводити подальші порівнювальні дослідження. Безплідні пацієтки-гарні відповідачі циклів ДРТ з невдалими імплантаціями мають порівняно з жінками з останньою вдалою імплантацією більший рівень Тв в 1,45 ($p < 0,01$) рази.

У пацієток-гарних відповідачів циклів ДРТ з невдалими імплантаціями в анамнезі у фолікулінову фазу МЦ базальний рівень ФСГ підвищений відносно

фертильних жінок в 1,67 рази ($p < 0,01$), ЛГ – в 1,41 ($p < 0,01$), E_2 на 2-3-й день МЦ вищий у 1,30 рази ($p < 0,01$) і на 22-й день МЦ менший у 1,37 рази ($p < 0,01$); П на 22-й день МЦ менший у 2,18 рази ($p < 0,01$); Тв вищий у 1,38 рази ($p < 0,01$).

2.2.4. Субпопуляційний склад лімфоцитів периферичної крові досліджуваних пацієнток

При аналізі субпопуляційного складу лімфоцитів у пацієнток з ДРТ була виявлена загальна тенденція щодо зменшення відносного вмісту субпопуляцій лімфоцитів порівняно з групою К (табл. 2.21).

Таблиця 2.21

Субпопуляційний склад лімфоцитів периферичної крові обстежених пацієнток, $P \pm p$, %

Група	CD3+	CD4+	CD8+	CD4+/ CD8+	CD16+	CD22+	CD25+
ДРТ, n=140	61,28± 0,74 ^к	27,76± 0,46 ^к	18,71± 0,39 ^к	1,56± 0,04 ^к	11,36± 0,21 ^к	12,13± 0,27 ^к	18,41± 0,47 ^к
Н, n=80	60,49± 0,98 ^к	28,04± 0,61 ^к	18,73± 0,54 ^к	1,58± 0,05 ^к	11,09± 0,30 ^к	12,09± 0,36 ^к	18,31± 0,46 ^к
НО, n=40	61,45± 1,13 ^к	27,58± 0,87 ^к	19,43± 0,76 ^к	1,49± 0,07 ^к	10,93± 0,39 ^к	12,38± 0,51 ^к	18,10± 0,58 ^к
НП, n=40	59,53± 1,59 ^к	28,50± 0,86 ^к	18,03± 0,76 ^к	1,67± 0,07 ^к	11,25± 0,45 ^к	11,80± 0,51 ^к	18,53± 0,71 ^к
В, n=60	62,33± 1,14 ^к	27,38± 0,69 ^к	18,68± 0,57 ^к	1,53± 0,05 ^к	11,72± 0,29 ^к	12,18± 0,39 ^к	18,53± 0,93 ^к
К, n=30	72,33± 1,07	36,33± 0,68	21,37± 0,41	1,71± 0,04	14,67± 0,56	13,93± 0,44	16,37± 0,48

Примітки: 1. ^к – статистична різниця з показниками групи К ($p < 0,05$);

2. Статистичної різниці між групами НО і НП не виявлено ($p > 0,05$).

Зареєстровано зниження в групі ДРТ порівняно з контролем відносного вмісту Т-лімфоцитів CD3+ на 15,28 % ($p < 0,01$); імунорегуляторної

хелперної/індукторної субпопуляції Т-лімфоцитів CD4+ – на 23,59 % ($p < 0,01$); супресорної/цитотоксичної субпопуляції Т-лімфоцитів CD8+ – на 12,45 % ($p < 0,01$); коефіцієнта співвідношення імунорегуляторної хелперної/індукторної субпопуляцій Т-лімфоцитів CD4+/CD8+ – на 8,77 % ($p < 0,01$); натуральних кілерних клітин CD16+ – на 22,56 % ($p < 0,01$); відносного вмісту зрілих В-лімфоцитів CD22+ – на 12,92 % ($p < 0,01$). Доля активованих Т-лімфоцитів CD25+ в групі ДРТ була підвищеною порівняно з групою К на 12,46 % ($p < 0,01$).

Таким чином, у пацієток-гарних відповідачів циклів ДРТ з невдалими імплантаціями в анамнезі відмічається зниження рівнів субпопуляцій лімфоцитів, таких як Т-лімфоцитів CD3+ на 15,28 % ($p < 0,01$); імунорегуляторної хелперної/індукторної субпопуляції Т-лімфоцитів CD4+ на 23,59 % ($p < 0,01$); супресорної/цитотоксичної субпопуляції Т-лімфоцитів CD8+ на 12,45 % ($p < 0,01$); натуральних кілерних клітин CD16+ на 22,56 % ($p < 0,01$) і підвищення долі активованих Т-лімфоцитів CD25+ на 12,46 % ($p < 0,01$). Не виявлено різниці між субпопуляційним складом лімфоцитів пацієток-гарних відповідачів циклів ДРТ з невдалими імплантаціями в анамнезі, які в останньому циклі мали вдалу та невдалу спробу. Гомогенність субпопуляційного складу лімфоцитів у групах Н і В, НО і НП дозволяє проводити подальші дослідження.

2.2.5. Морфофункціональний стан ендометрія в жінок досліджуваних груп

При гістологічному дослідженні зразків ендометрія було встановлено, що у групах жінок з невдалими спробами ДРТ в анамнезі у половині випадків ендометрій хронологічно не відповідав за критеріями О.И. Топчиевой і R.W. Noyes фазі і дню МЦ (рис. 2.5), був на 22-й день МЦ у 18(12,86 %) жінок у фазі проліферації, у 25(17,86 %) – ранньої секреції, у 25(17,99 %) – пізньої секреції, у 10 (16,13 %) – змішаної побудови (одночасно у фазі ранньої і пізньої секреції), й лише у 62(44,29 %) був відповідним середній фазі секреції (табл. 2.22).

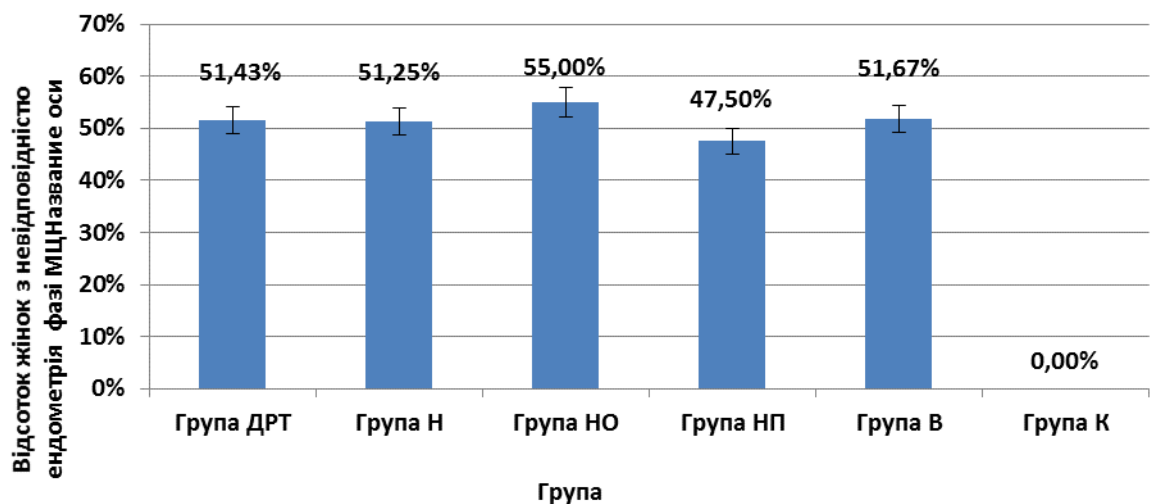


Рис. 2.5 Відсоток жінок з хронологічною невідповідністю ендометрія фазі і дню МЦ за критеріями О.И. Топчиевой і R.W. Noyes.

Примітка. Статистичної різниці між показниками не встановлено, $p > 0,05$.

Таблиця 2.22

Розподіл хронологічної відповідності ендометрія на 22-й день МЦ фазі і дню МЦ за критеріями О.И. Топчиевой і R.W. Noyes, $n(P \pm p, \%)$

Група	Фаза проліферації	Фаза ранньої секреції	Фаза середньої секреції	Фаза пізньої секреції	Змішаної побудови
ДРТ, n=140	18(12,86± 0,30) ^к	25(17,86± 0,36) ^к	62(44,29± 0,56) ^к	10(7,14± 0,23)	25(17,99± 0,36) ^к
Н, n=80	11(13,75± 0,42) ^к	15(18,75± 0,49) ^к	36(45,00± 0,75) ^к	6(7,50± 0,31)	12(15,19± 0,44) ^к
НО, n=40	6(15,00± 0,62) ^к	9(22,50± 0,76) ^к	17(42,50± 1,04) ^к	2(5,00± 0,36)	6(15,38± 0,64) ^к
НП, n=40	5(12,50± 1,22) ^к	6(15,00± 1,18) ^к	19(47,50± 0,98) ^к	4(10,00± 1,25)	6(15,00± 1,15) ^к
В, n=60	7(11,67± 0,44) ^к	10(16,67± 0,53) ^к	26(43,33± 0,86) ^к	4(6,67± 0,34)	13(21,67± 0,61) ^к
К, n=30	0(0,00± 0,00)	0(0,00± 0,00)	30(100,00± 1,85)	0(0,00± 0,00)	0(0,00± 0,00)

Примітки: 1. ^к – статистична різниця з показниками групи К ($p < 0,05$);

2. Статистичної різниці між групами НО і НП не виявлено ($p > 0,05$).

При цьому у третини пацієнок з невдалими спробами ДРТ в анамнезі виявлявся хронічний ендометрит, у третини – гіперплазія ендометрія, у третини були відсутні як хронічний ендометрит, так і гіперплазія ендометрія (табл. 2.23).

Таблиця 2.23

Розподіл гістологічних діагнозів після дослідження ендометрія у пацієнок досліджуваних груп, n(P±p, %)

Група	Хронічний ендометрит	Гіперплазія ендометрія	Без хронічного ендометриту та гіперплазії ендометрія
ДРТ, n=140	54(38,57±0,53) ^к	43(30,71±0,47) ^к	43(30,71±0,47) ^к
Н, n=80	34(42,50±0,73) ^к	26(32,50±0,64) ^к	20(25,00±0,56) ^{к,н}
НО, n=40	17(42,50±1,04) ^к	13(32,50±0,91) ^к	10(25,00±0,80) ^к
НП, n=40	17(42,50±1,09) ^к	13(32,50±1,10) ^к	10(25,00±0,99) ^к
В, n=60	20(33,33±0,75) ^к	17(28,33±0,69) ^к	23(38,33±0,80) ^{к,в}
К, n=30	0(0,00±0,00)	0(0,00±0,00)	30(100,00±1,85)

Примітки: 1. ^к – статистична різниця з показниками групи К (p<0,05);

2. Статистичної різниці між групами НО і НП не виявлено (p>0,05).

У всіх пацієнок контрольної групи ендометрій знаходився на 22-й день МЦ в стадії фази середньої секреції і не мав патологічних процесів.

Таким чином, групи Н та В, НО та НП були гомогенними за розподілом хронологічної відповідності ендометрія фазі і дню МЦ за критеріями О.И. Топчиевой і R.W. Noyes та гістологічними діагнозами після дослідження ендометрія, що дає змогу проводити подальші дослідження.

2.3. Методи дослідження

У роботі використовували наступні методи дослідження: клініко-анамнестичні, загально соматичні, гінекологічні, антропометричні, бактеріологічні, інструментальні (ультразвукові, гістероскопія), флюорометричні,

радіоімунологічні, імуноферментні, морфологічні, імуногістохімічні, скануюча електронна мікроскопія, статистичні.

Клініко-анамнестичні методи. У обстежених пацієнток детально вивчали скарги, гінекологічний, репродуктивний, соматичний, операційний та інфекційний анамнез шляхом опитування.

Діагноз “безпліддя” встановлювали при невдачі спроб зачаття після одного року регулярного статевого життя без використання контрацептивів [9].

Було проведено обстеження подружніх пар, яке включало в себе об'єктивне обстеження (загальносоматичне та гінекологічне) за загальноприйнятою методикою з дотриманням вимог протоколу по лікуванню безпліддя, затвердженому наказом МОЗУ №417 від 15.07.2011 р. “Методичні рекомендації щодо організації надання амбулаторної акушерсько-гінекологічної допомоги” [162].

Чоловічий фактор безпліддя виявляли за результатом спермограм, що оцінювалися за рекомендаціями ВООЗ (2010 рік) [163]. Шийковий фактор безпліддя був виключений після проведення посткоїтального тесту [164].

Антропометричне дослідження включало оцінку масо-ростових даних з визначенням маси тіла, росту, індексу маси тіла по А. Quetelet [165].

Вираженість гірсутизму оцінювалася за гормональною шкалою D. Ferriman, I.D. Gallwey (1961) [166] за чотирьохбальною шкалою відповідно локалізації волосся в 9 зонах, на котрих звичайно у жінок волосся відсутнє або має пушковий характер: область верхньої губи (зона А), підборіддя (зона В), грудей (зона С), верхньої (зона D) та нижньої (зона Е) частини живота, плеча (зона F), стегон (зона G), спини (зона H), попереку (зона I). У кожній із зон оцінювався ступінь росту волосся і підраховувалася кількість балів. Гірсутнє число обчислювалося як сума балів за всіма 9 зонами.

Усі жінки були повністю лабораторно обстежені: отримані загальні аналізи крові, сечі, біохімічний аналіз крові, коагулограма, визначення групи та резусу

крові, визначення рівня антифосфоліпідних та антиспермальних антитіл, вовчакового антикоагулянту, антикардіоліпінових антитіл.

Гінекологічне обстеження включало гінекологічне бімануальне дослідження та огляд шийки матки у дзеркалах.

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

Інструментальне обстеження жінок включало ультразвукове дослідження (УЗД), гістероскопію.

УЗД проводили за стандартною методикою із застосуванням трансабдомінального і трансвагінального конвексних датчиків частотою 3,5 та 5 МГц. Дослідження проводили при первинному обстеженні до гістероскопії на 5-й и 22-й день МЦ з контрольним дослідженням після лікування, в циклах ДРТ при проведенні фолікулометрію та в день забору яйцеклітин.

При проведенні УЗД вимірювали розміри матки: довжину ($D_{1м}$) та товщину матки ($D_{2м}$) при поздовжньому, а ширину ($D_{3м}$) – при поперечному скануванні; визначали розміри, локалізацію, ехогенність, звукопровідність, стан контурів, наявність включень серединного М-ехо.

При дослідженні яєчників вимірювали їх розміри та об'єм за формулою (2.1)

$$V = D_1 \times D_2 \times D_3 \times \pi / 6 \quad (2.1),$$

де D_1 – довжина яєчника, D_2 – товщина яєчника, D_3 – ширина яєчника.

При оцінці оваріального резерву підраховували кількість антральних фолікулів на 2-3-й день МЦ. При проведенні ДРТ проводили динамічну фолікулометрію.

Гістероскопію здійснювали апаратурою фірми "Wiest" (Німеччина) на 22-й день МЦ. Відеомоніторинг проводили за допомогою ендовідеоскопічної камери фірми "Wiest" та ендовідеотелевізійної установки фірми "Sony" (Японія). При виявленні осередкової патології ендометрія проводили прицільну біопсію за

допомогою біопсійних щипців, потім виконували механічний кюретаж. При виявленні дифузних процесів ендометрія виконували механічний кюретаж з подальшою контрольною гістероскопією. У жінок контрольної групи проводили біопсію ендометрія.

Забір периферичної крові для дослідження у кількості 10 мл проводили з ліктьової вени о 8-9-й годині ранку натще. Частину крові відразу використовували для проведення загального аналізу крові та після гепаринізації – для підрахунку субпопуляції лімфоцитів. Решту крові центрифугували 10 хвилин при 3000 об/хв., сироватку збирали, досліджували, при необхідності зберігали в пробірках при $t = -20^{\circ}\text{C}$ до проведення дослідження. Лабораторний аналіз проводили згідно наданих фірмами інструкцій до кожного набору окремо.

Клінічний аналіз крові проводили на автоматичному гематологічному аналізаторі Swelab Alfa Standard компанії 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 – E_2 , прогестерону – П) в сироватці периферичної крові за допомогою стандартних наборів для імунорадіометричного визначення IMMUNOTECH фірми “A coulter company” (Чеська республіка) і “Хозрасчетного опытного производства Института биорганической химии Национальной академии наук Беларуси” (Республіка Беларусь).

Імуноферментні методи. Для оцінки тиреоїдного статусу у жінок із безпліддям методом твердофазного імуноферментного аналізу визначали у сироватці крові рівні тиреотропного гормону (ТТГ) з використанням тест-системи «ТироидИФА-ТТГ», вільного трийодтироніну (T_3) з використанням тест-системи «ТироидИФА-свободный T_3 », вільного тироксину (T_4) з використанням тест-системи «ТироидИФА-свободный T_4 » («Алкор Био», м.Санкт-Петербург, Росія) на аналізаторі «ChemWell 2910» (США).

Вміст антимюлерового гормону (АМГ) у жінок з безпліддям визначали з використанням тест-системи для імуноферментного аналізу «AMH Gen II ELISA» виробництва Beckman Coulter, Inc. (США) на аналізаторі «ChemWell 2910» (США).

Цитофлюориметричні методи. Поверхневий фенотип імунокомпетентних клітин CD56 (експресується на всіх лімфоцитах, що здійснюють генетично нерестриктований лізис клітин-мішеней), CD16 (антиген НК-клітин), CD69 (ранній антиген активації Т-лімфоцитів) і CD94 (KLRD1 являє собою антиген, який переважно експресується на НК-клітинах) визначали за допомогою проточної цитофлюориметрії з використанням набору моноклональних антитіл (МАТ) фірми Becton Dickinson (США) BD Simultest IMK Plus. Для аналізу використовувався проточний цитофлюориметр FACS Calibur (Becton Dickinson, США) [168]. В якості флюорохромних міток використовували флюоресцеїн ізотіоціанат і фікоеритрин. Процедуру фарбування і фіксації клітин проводили стандартним способом відповідно до вказівок фірми-розробника. Не менш 10000 клітин аналізувалося в кожному зразку. Аналіз результатів проводили в програмі Lysis II.

Морфологічні методи. Отримані зразки ендометрія поміщали в нейтральний забуферений 10 % розчин формаліну (рН 7,4) і фіксували протягом 24 годин. Після дегідратації шматочки заливали в парафін за стандартною методикою. На ротаційному мікроскопі Microm HM325 з системою переносу зрізів STS («Carl Zeiss», Німеччина) виготовляли серійні гістологічні зрізи товщиною 4 мкм, які потім фарбували гематоксиліном і еозином за стандартною методикою, оцінювали морффункціональний стан ендометрія відповідно критеріям R.W. Noyes [55] и О.И. Топчиевой [56].

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. Для «демаскування» антигенів регідратовані зрізи

піддавали термічній обробці в розчині Target Retrieval Solution («ДАКО», Данія) з використанням мікрохвильової печі Samsung CE118KFR. Після блокування неспецифічного зв'язування білків протеїновим блоком («ДАКО», Данія) та ендогенної пероксидазної активності пероксидазного блоком («ДАКО», Данія) наносили первинні антитіла.

Вивчення рецепторів стероїдних гормонів в залозах і стромі ендометрія проводили за допомогою тест-систем «Pakocytomation En Vision» (США), HRP (пероксидази хрину) по інструкціях фірми. Використовували мишині МАТ до рецепторів естрогенів- α (клон 1D5, «ДАКО», Данія), П (клон 16&SAN27, «Novocastra», Великобританія). Для візуалізації гістологічної структури зрізів імуногістохімічні препарати дофарбовували гематоксилином Майєра та вміщували в канадський бальзам. Для оцінки експресії рецепторів в ендометрії розраховували індекс імунореактивності за формулою $IRS = SI \times PP$, де IRS – індекс імунореактивності, SI – оптична інтенсивність фарбування, PP – відсоток позитивно пофарбованих ядер.

Дослідження імунореактивності ендометрія проводили з використанням мишачих МАТ до CD45 (клон PD7/26 + 2B11, «Diagnostic BioSystems»), CD16 (клон 2Y7, «Novocastra»), CD56 (клон 123C3.D5, «Diagnostic BioSystems»), до епітопу людського сіндекану-1 CD138+ (клон MI15, «Dako»). Візуалізацію первинних антитіл проводили за допомогою високочутливої полімерної системи детекції DAKO Advance. Як субстрат для пероксидази хрону використовували DAB + («ДАКО», Данія). Препарати дофарбовували гематоксилином Майєра. Далі забарвлені зрізи укладали в напівсинтетичне середовище Permanent Mounting Medium («ДАКО», Данія). Підраховували позитивно забарвлені клітини у трьох полях зору і відсоток позитивних клітин по відношенню до всіх клітин стромі. Клітини залозистих структур, які потрапляли в поле зору, при підрахунку не враховувалися. Розрахунок проводився не менше ніж на 1000 стромальних клітинних елементів.

При оцінці експресії молекул імплантації рівень експресії $\alpha V\beta 3$ -інтегринів в ендометрії визначали з використанням МАТ «Chemicon International Inc.» (США) ($\alpha V\beta 3$), лейкоїну інгібуючого фактора (ЛІФ) – з МАТ системи «Santa Cruz Biotechnology Inc.» (США) (LIF (J-14F): SC-80159). Облік позитивних реакцій проводили за кількістю клітин, які відреагували (виражали у відсотках до загальної кількості клітин на площі гістологічного препарату) з урахуванням інтенсивності забарвлення. Оптична інтенсивність забарвлення визначалася суб'єктивно і мала 4 градації: 0 – відсутність забарвлення, 1 – слабе забарвлення, 2 – забарвлення середньої інтенсивності, 3 – інтенсивне забарвлення. Відсоток позитивно забарвлених клітин коливався від 0 до 100. Число імунопозитивних клітин при мікроскопії підраховували в 3-х полях зору при збільшенні мікроскопу $\times 300$. Далі обчислювали індекс імунореактивності за формулою: $HScore = 1 \times (P1) + 2 \times (P2) + 3 \times (P3)$, де HScore – гістохімічний індекс імунореактивності; P1, P2 і P3 – відсотки позитивно забарвлених клітин з відповідною інтенсивністю забарвлення.

Проліферативну активність стромальних клітин ендометрія вивчали ІГХ шляхом визначення Ki-67-імунопозитивних клітин Для «демаскування» антигенів регідратовані зрізи піддавали термічній обробці в розчині Target Retrieval Solution («ДАКО», Данія) з використанням мікрохвильової печі «Samsung CE118KFR». Після блокування неспецифічного зв'язування білків протеїновим блоком («ДАКО», Данія) і ендогенної пероксидазної активності пероксидазним блоком («ДАКО», Данія) наносили первинні антитіла. Використовували кролячі МАТ до Ki-67 (клон SP6, Thermo Scientific). Візуалізацію первинних антитіл проводили за допомогою високочутливої полімерної системи детекції DAKO Advance. В якості субстрату для пероксидази хрому використовували DAB + (ДАКО). Таким чином, ядра проліферувальних клітин набували коричневий колір. Препарати дофарбовували гематоксиліном Майєра. Далі пофарбовані зрізи укладали в напівсинтетичні середу Permanent Mounting Medium («ДАКО», Данія).

Для підрахунку клітин, що знаходяться в процесі апоптозу, використовували TUNEL-метод. Дефрагментовані ділянки ДНК апоптотичних клітин виявляли за допомогою набору «ApopTag plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit» виробництва «Chemicon/Millipore» (США). Ці ділянки визначалися за допомогою ферменту термінальної дезоксинуклеотиділтрансферази, який «пришивав» модифіковані олігонуклеотиди, мічені пероксидазою хрому, до вільних 3'ОН-груп в місцях фрагментації ДНК. В результаті цієї взаємодії утворювалися стійкі комплекси мічених олігонуклеотидів з кінцевими ділянками фрагментованої ДНК, які потім візуалізувалися за допомогою ДАВ-хромогену. Ядра клітин, що знаходилися в процесі апоптозу, здобували коричневий колір. Для візуалізації гістологічної структури досліджуваної тканини оброблені зрізи дофарбовували метиловим зеленим. Підраховували позитивно забарвлені клітини у трьох полях зору і розраховували відсоток позитивних клітин по відношенню до всіх клітин. Розрахунок здійснювався на не менш, ніж 1000 клітинних елементів.

Вивчення усіх гістологічних препаратів в світлі проводили на дослідницькому мікроскопі Olympus AX70 (Японія) з цифровою відеокамерою Olympus DP50, сполученою з персональним комп'ютером. Мікрофотографування і морфометричне вивчення препаратів виконувалося з використанням програми ANALYSIS Pro 3.2 («SoftImainq», Німеччина) відповідно до рекомендацій виробника програмного забезпечення.

Вивчення піноподій проводили *методом скануючої електронної мікроскопії*. Зразки ендометрія занурювали в 2,5 %-ний розчин глютарового альдегіду на фосфатному буфері і витримували так 24 години, потім вони фіксувалися у 4 % розчині осмію на фосфатному буфері, дегідратованому розчином ацетону на дистильованій воді у зростаючих концентраціях (від 20 до 100 %), висушували у вуглекислому газі, покривали золотом (150-200 А). Скануюча електронна мікроскопія проводилася на мікроскопі «JEOL Super probe 733» зі збільшенням x2000.

Статистичні методи. Вибіркові дані оцінювалися за кількісною, номінальною та ранжированою шкалами. Одержані результати обробляли на ЕОМ типу IBM PC із застосуванням пакету програм Statistica 6.0 та Біостат і методів аналітичної статистики: за допомогою вибіркового методу оцінювали параметри генеральної сукупності за даними вибірки; за допомогою статистичних критеріїв визначали правомочність висунутих гіпотез: t-критерій застосовували для порівняння середніх значень незалежних вибірок та зв'язаних (залежних) вибірок; χ^2 -критерій – для аналізу спряження ознак, порівняння частот подій; кореляційний аналіз – для вивчення стохастичної залежності між показниками.

2.4. Методика проведення ДРТ в досліджуваних групах

Перед проведенням ДРТ пацієнтки отримували курс КОК. Всі пацієнтки мали менструальну кровотечу після відміни КОК. Пацієнтки з трубно-перитонеальним, чоловічим безпліддям та безпліддям невстановленої етіології отримували агоніст ГнРГ (тріпторелін) в дозі 0,1 мг щоденно, починаючи за 3 дні до відміни КОК. Коли десенситизація була досягнута (10-15-й день від початку призначення агоністу ГнРГ), рівень сироваткового E_2 не перевищував 50 пг/мл, оваріальні фолікули були відсутніми, товщина ендометрія при трансвагінальному УЗД не перевищувала 5 мм, призначали рекомбінантний (рФСГ). Дозу агоніста ГнРГ починали знижувати з цього дня по 0,05 мг/день і продовжували до дня введення тригера фінального дозрівання овоциту.

Жінки з ендокринним безпліддям з другого дня циклу після відміни КОК починали ін'єкції рФСГ. Коли розмір фолікула сягав 14 мм, рівень E_2 перевищував 600 пг/мл, вміст сироваткового ЛГ був менше за 10 МОд/мл починали щоденне призначення ганіреліксу в дозі 0,25 мг. Лікування з рФСГ і ганіреліксом продовжували включно до дня введення тригера овуляції.

Стартова доза рФСГ була 150 МО/день для всіх пацієнток. Доза коректувалася після 5-го дня стимуляції, в залежності від оваріальної відповіді на

підставі даних за рівень E_2 та результатів УЗД. Коли три фолікули сягали максимального діаметра 18 мм вводили тригер овуляції ХГЛ в дозі 10 000 Од. Забір овоцитів здійснювали через 36 годин після ін'єкції хоріонічного гонадотропін людини пункційною голкою за допомогою трансвагінального УЗД.

Запліднення овоцитів здійснювали методом інсемінації спермою чоловіка, обробленою методом флотації. Ембріони культивували в CO_2 -інкубаторі "Memmert" (Німеччина) при концентрації CO_2 в суміші 5 %, вологості – 95 %, температурі $37^\circ C$ в секвенційних комерційних культуральних середовищах COOK ("WILLIAM A. COOK AUSTRALIA PTY. LTD") (Австралія). Спостереження за ембріонами проводилося через 18, 24, 48 і 72 години після запліднення.

Перенос 2 ембріонів в порожнину матки здійснювали через 72 години їх культивування за допомогою катетерів Cook soft transfer catheter (K-SOFT-5000 Soft Trans Universal; Cook, Queensland, Австралія). Ембріони високої якості, які залишалися, заморожували і використовували в кріоциклах.

Кріоконсервацію ембріонів здійснювали шляхом повільного заморожування в паєтках на апараті "CrioLogic" (Австралія), зберігали у рідкому азоті при температурі $-196^\circ C$.

Клінічну вагітність визначали після реєстрації гестаційного мішка за даними УЗД з наявністю серцебиття ембріона.

РОЗДІЛ 3
ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ РЕЦЕПТОРІВ
ДО СТЕРОЇДНИХ ГОРМОНІВ В ЕНДОМЕТРІЇ У ПАЦІЄНТОК З
НЕВДАЛИМИ СПРОБАМИ ДРТ В ПЕРІОД ПЕРЕДБАЧУВАНОВОГО ВІКНА
ІМПЛАНТАЦІЇ

3.1. Експресія рецепторів до стероїдних гормонів в ендометрії у пацієнток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі в залежності від хронологічної відповідності морфофункціонального стану ендометрія дню та фазі МЦ за критеріями R.W. Noyes і О.И. Топчиевой

Середній відсоток імунореактивних клітин до МАТ до естрогенів- α в ендометрії у групі К в період передбачуваного вікна імплантації складав у залозах $14,78 \pm 0,66$ %, до П – $24,16 \pm 0,81$ %; в стромі відповідно – $51,19 \pm 3,36$ % і $77,48 \pm 1,13$ % (рис. 3.1. рис. 3.2). Співвідношення експресії РП/РЕ α в контрольній групі склало в залозах $1,76 \pm 0,12$; в стромі – $1,75 \pm 0,13$.

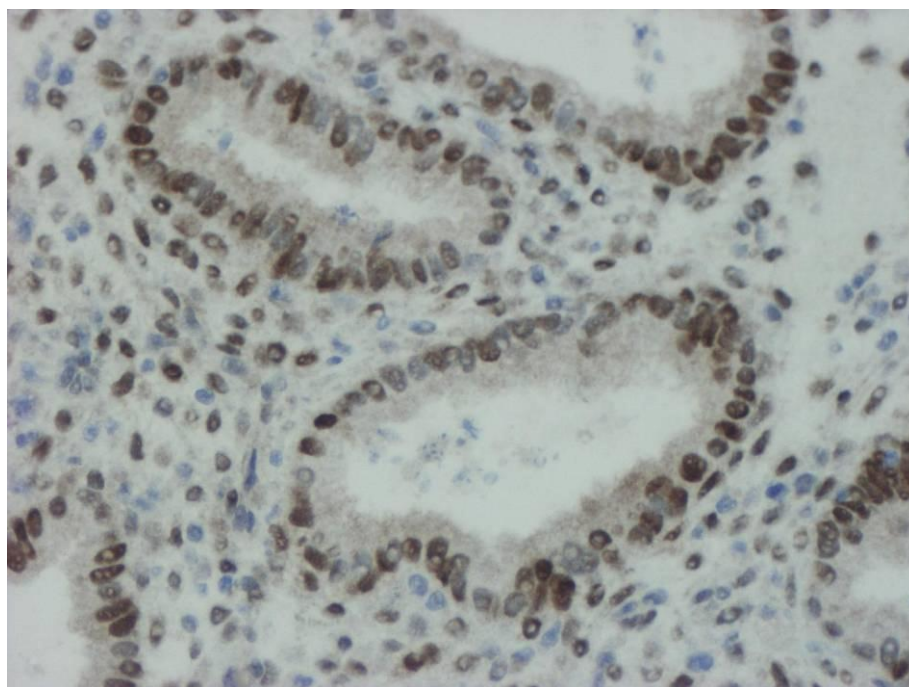


Рис. 3.1 Експресія РЕ α в ендометрії на 22-й день МЦ у пацієнтки групи контролю. ІГХ-забарвлення МАТ до РЕ α . $\times 150$.

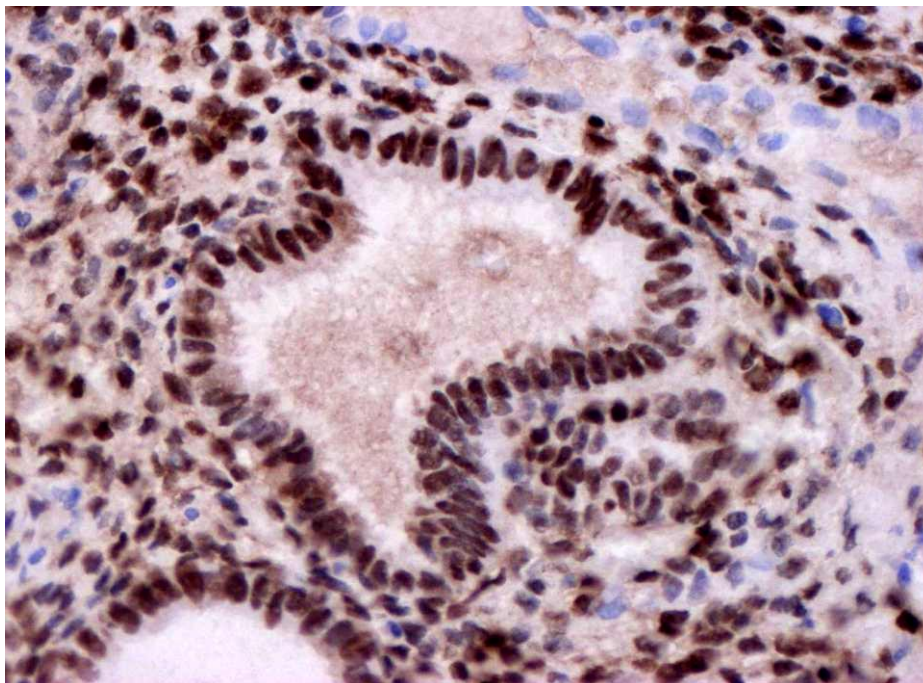


Рис. 3.2 Експресія РП в ендометрії на 22-й день МЦ у пацієнтки групи контролю. ІГХ-забарвлення МАТ до РП. $\times 150$.

Була проаналізована експресія рецепторів до стероїдних гормонів в залежності від хронологічної відповідності морфофункціонального стану ендометрія дню та фазі МЦ R.W. Noyes [55] і О.И. Топчиевой [56] (табл. 3.1).

У жінок з невдалими спробами ДРТ в анамнезі як з хронологічною невідповідністю, так і з відповідністю ендометрія на 22-й день МЦ дню і фазі МЦ спостерігалось вірогідне підвищення відсотка імунореактивних клітин до МАТ до РЕ α і РП в залозах та зниження відсотка імунореактивних клітин до МАТ до РП в стромі: при відповідності фазі проліферації відповідно в 3,53; 2,58 і 1,19 рази; ранній фазі секреції – в 3,56; 2,77 і 1,20; середній фазі секреції – в 3,18; 2,62 і 1,11; пізній фазі секреції – в 2,18; 1,23 ($p > 0,05$) і 1,34; при змішаній будові – в 2,90; 2,40 і 1,22 (див. табл. 3.1). Відсоток імунореактивних клітин до МАТ до РЕ α в стромі при різній хронологічній відповідності морфофункціонального стану ендометрія фазі МЦ не відрізнявся від такого в контролі, окрім групи пацієток з відповідністю ендометрія фазі середній секреції, де він був нижчий за такий в контролі в 1,12 рази ($p < 0,01$).

Співвідношення відсотка імунореактивних клітин до МАТ РП/РЕ α на 22-й день МЦ при різній хронологічній відповідності морфофункціонального стану ендометрія фазі МЦ було менше за таке в контрольній групі і в залозах, і в стромі: при відповідності фазі проліферації відповідно в 3,53 ($p < 0,01$) і в 3,53 рази ($p < 0,01$); ранній фазі секреції – в 3,56 ($p < 0,01$) і 1,20 ($p < 0,01$); середній фазі секреції – в 3,18 ($p < 0,01$) і 1,11 ($p < 0,01$); пізній фазі секреції – в 2,18 ($p < 0,01$) ($p > 0,05$) і 1,34 ($p < 0,01$); при змішаній будові – в 2,90 ($p < 0,01$) і 1,22 ($p < 0,01$) (рис. 3.3).

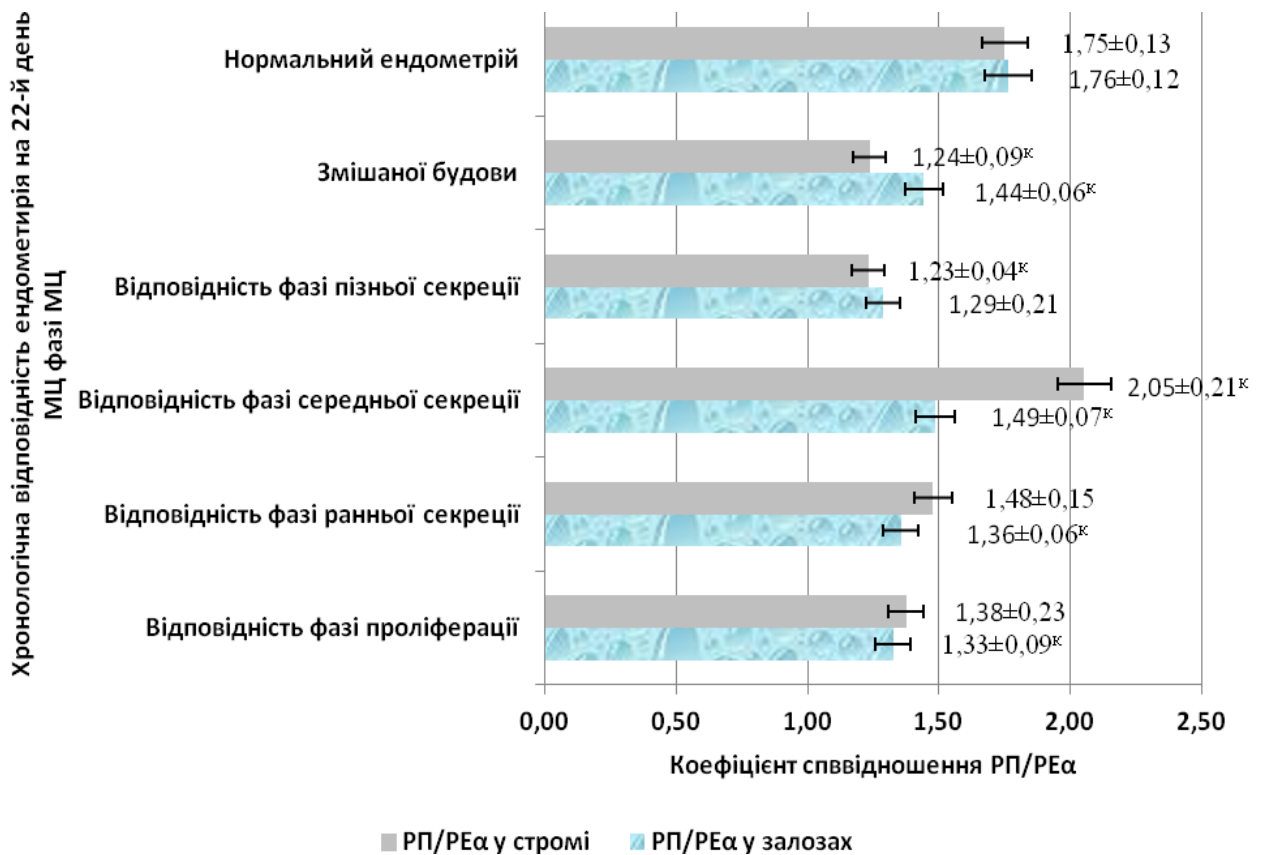


Рис. 3.3 Відсоток імунореактивних клітин до МАТ до рецепторів статевих гормонів в стромі при різній хронологічній відповідності морфофункціонального стану ендометрія фазі МЦ.

Примітка. ^к – статистична різниця з показниками групи К ($p < 0,05$).

У різних клітинах ендометрія спостерігалася різна інтенсивність забарвлення PE α та РП, тому для більш вірогідної оцінки вмісту РП та PE α розраховували індекс імунореактивності IRS, який враховував оптичну інтенсивність фарбування і відсоток позитивно пофарбованих ядер.

Таблиця 3.1

Середній відсоток імунореактивних PE α і РП в ендометрії у досліджуваних групах в період передбачуваного вікна імплантації в залежності від його морфофункціональної хронологічної відповідності дню та фазі МЦ за критеріями R.W. Noyes [55] і О.И. Топчиевой [56]

Хронологічна відповідність ендометрія на 22-й день МЦ	Залози		Строма	
	PE α	РП	PE α	РП
Фазі проліферації (n=18)	52,10 \pm 5,66 ^к	62,44 \pm 4,46 ^к	60,05 \pm 6,54	65,06 \pm 5,18 ^к
Ранній фазі секреції (n=25)	52,66 \pm 4,75 ^к	66,95 \pm 4,56 ^к	50,60 \pm 4,80	64,35 \pm 3,58 ^к
Середній фазі секреції (n=62)	47,04 \pm 2,72 ^к	63,24 \pm 3,18 ^к	45,64 \pm 2,53 ^к	69,83 \pm 1,74 ^к
Пізній фазі секреції (n=10)	32,23 \pm 7,13 ^к	29,72 \pm 5,98	48,37 \pm 7,86	57,86 \pm 8,36 ^к
Змішаної будови (n=25)	42,91 \pm 4,25 ^к	58,06 \pm 4,74 ^к	56,95 \pm 4,22	63,69 \pm 3,35 ^к
К, n=30	14,78 \pm 0,66	24,16 \pm 0,81	51,19 \pm 3,36	77,48 \pm 1,13

Примітка. ^к – вірогідна статистична різниця з показниками групи К, p<0,05.

У групі контролю під час передбачуваного вікна імплантації в залозах IRS PE α склав 16,10 \pm 0,35 ум.од., РП – 62,69 \pm 2,13 ум.од., а в стромі відповідно – 25,47 \pm 0,54 ум.од., 147,40 \pm 4,93 ум.од. (табл. 3.2).

Відмічалася не тільки ядерне забарвлення PE α , але й апікальне забарвлення поверхневого епітелію. Тенденції змін IRS стероїдних рецепторів у жінок з невдалими спробами ДРТ в анамнезі відповідали вище встановленим змінам середнього відсотку імунореактивних клітин в ендометрії до МАТ до PE- α і РП.

Таблиця 3.2

Середній IRS стероїдних рецепторів (в ум. од.) в ендометрії у досліджуваних пацієнток в період передбачуваного вікна імплантації в залежності від хронологічної відповідності морфофункціонального стану ендометрія дню та фазі МЦ (M±m)

Хронологічна відповідність ендометрія на 22-й день МЦ	Залози		Строма	
	PEα	РП	PEα	РП
Відповідність фазі проліферації (n=18)	67,85±13,55 ^к	90,93±9,95 ^к	83,69±14,15	98,84±12,79 ^к
Відповідність ранній фазі секреції (n=25)	65,38±10,10 ^к	122,64±10,70 ^к	73,87±12,03	122,64±8,05 ^к
Відповідність середній фазі секреції (n=62)	59,91±5,97 ^к	93,31±7,27 ^к	54,49±4,32	118,51±5,28 ^к
Відповідність пізній фазі секреції (n=10)	46,20±14,03	49,45±13,29	71,53±18,69	115,72±16,72
Змішаної будови (n=25)	42,91±4,25 ^к	80,50±10,15 ^к	70,10±9,13 ^к	90,92±7,54 ^к
К, n=30	16,10±0,35	25,47±0,54	62,69±2,13	147,40±4,93

Примітка. ^к – статистична різниця з показниками групи К, p<0,05.

Так, при відповідності ендометрія в день передбачуваного вікна імплантації фазі проліферації (рис. 3.4, рис. 3.5) IRS PEα в залозах склав від аналогічних показників контрольної групи 421,43±84,17 % (p<0,1), IRS РП – 357,00±39,05 % (p<0,01), а в стромі ендометрія – 133,50±22,57 % (p>0,05) і 67,05±8,67 % (p<0,01); при відповідності ранній фазі секреції (рис. 3.6, рис. 3.7) – 406,07±62,72 % (p<0,01), 481,52±42,01 % (p<0,01) і 117,83±19,19 % (p>0,05), 83,20±5,46 % (p<0,01); середній фазі секреції (рис. 3.8, рис. 3.9) – 372,10±37,07 % (p<0,01), 366,36±28,55 % (p<0,01), 86,92±6,89 % (p>0,05), 80,40±3,58 % (p<0,01); пізній фазі секреції (рис. 3.10, рис. 3.11) – 286,94±87,11 % (p>0,05), 194,17±52,17 % (p>0,05) і 114,10±29,81 % (p>0,05), 78,51±11,35 % (p>0,05); в ендометрії змішаної побудови (рис. 3.12, рис. 3.13) – 266,55±26,41 % (p<0,01), 316,05±39,84 % (p<0,01) і 111,82±14,56 % (p<0,01), 61,69±5,12 % (p<0,01).

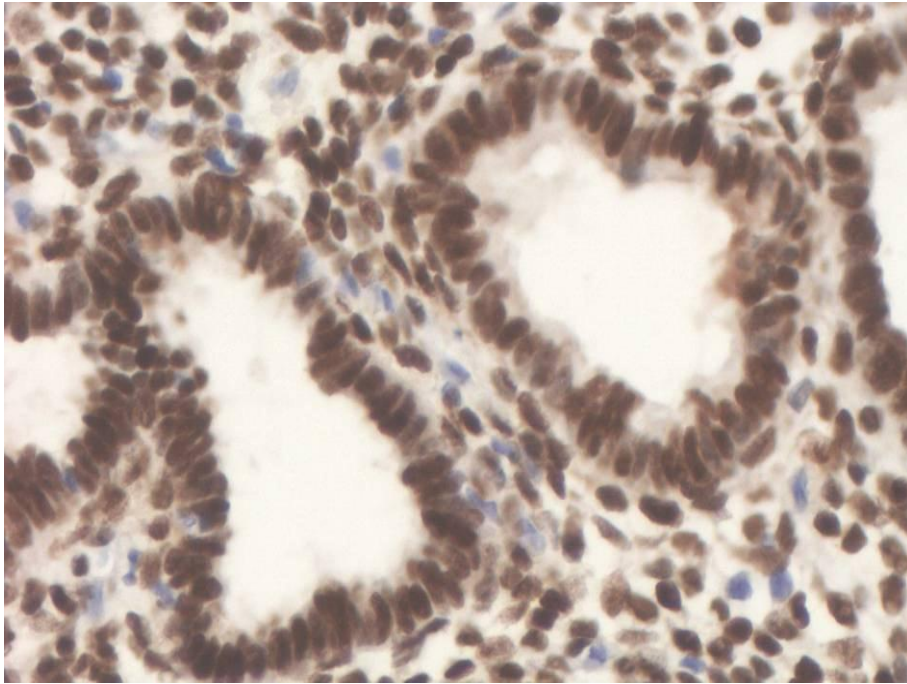


Рис. 3.4 Підвищена експресія RE- α в залозах і нормальна в стромі ендометрія у пацієнтки з невдалими спробами ДРТ і відповідністю ендометрія на 22-й день МЦ фази проліферації. ІГХ-зabarвлення МАТ до RE- α . $\times 150$.

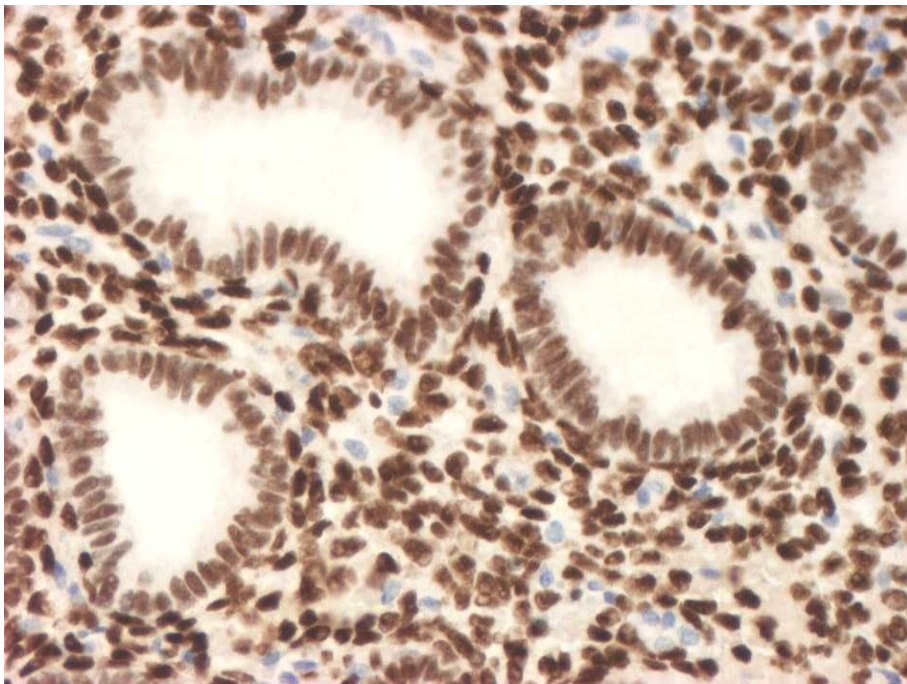


Рис. 3.5 Підвищена експресія рецепторів РР в залозах і нормальна в стромі ендометрія у пацієнтки з невдалими спробами ДРТ і відповідністю ендометрія на 22-й день МЦ фази проліферації. ІГХ-зabarвлення МАТ до РР. $\times 150$.

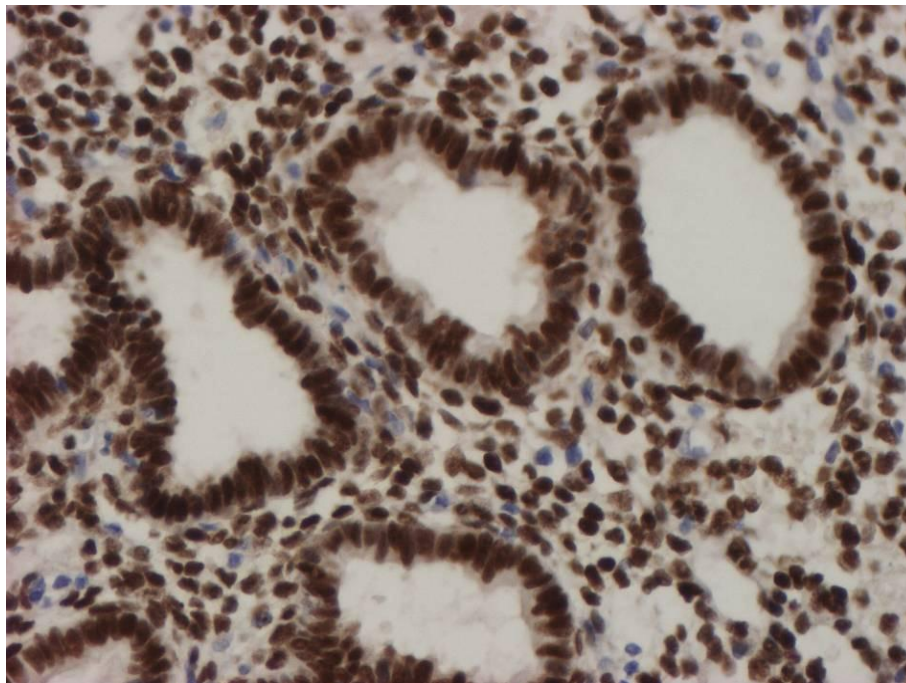


Рис. 3.6 Підвищена експресія РЕ α в залозах і нормальна в стромі ендометрія у пацієнтки з невдалими спробами ДРТ і відповідністю ендометрія на 22-й день МЦ ранній фазі секреції. ІГХ-зabarвлення МАТ до РЕ- α . $\times 150$.

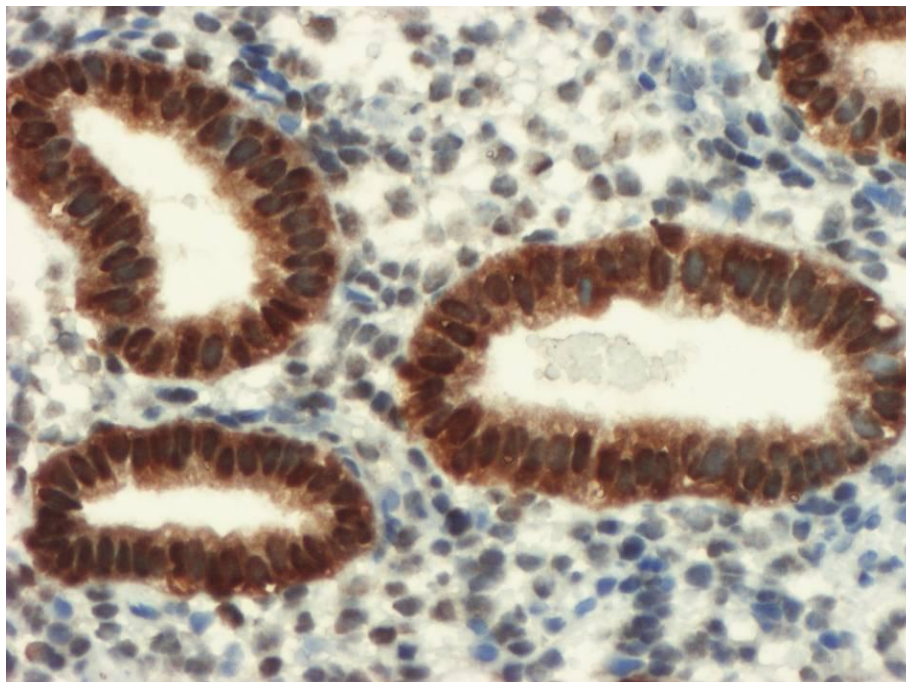


Рис. 3.7 Підвищена експресія РПІ в залозах і знижена в стромі ендометрія у пацієнтки з невдалими спробами ДРТ і відповідністю ендометрія на 22-й день МЦ ранній фазі секреції. ІГХ-зabarвлення МАТ до РПІ. $\times 150$.

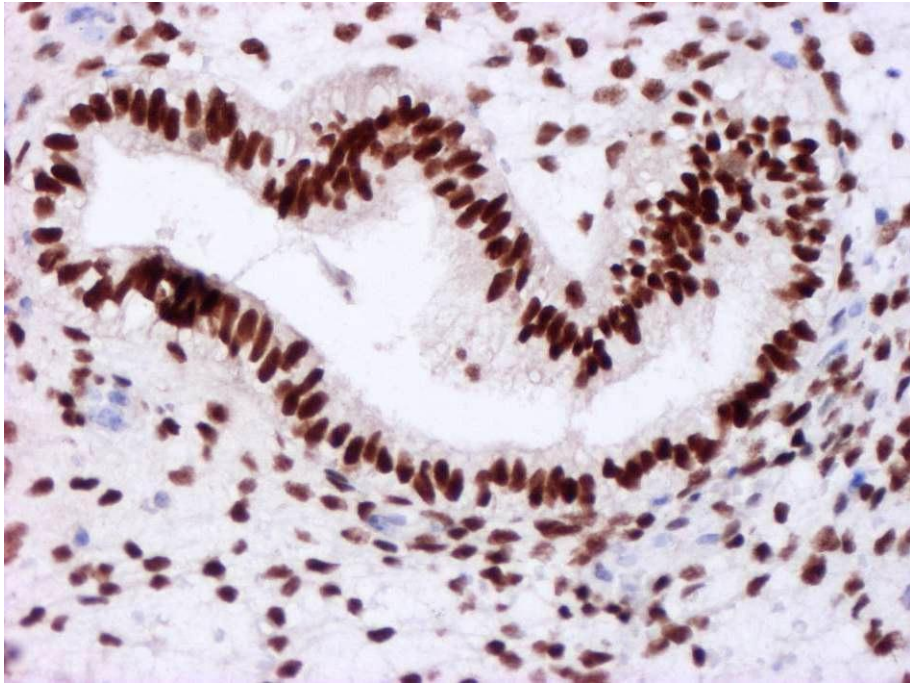


Рис. 3.8 Підвищена експресія РЕα в залозах і нормальна в стромі ендометрія у пацієнтки з невдалими спробами ДРТ і відповідністю ендометрія на 22-й день МЦ середній фазі секреції. ІГХ-зabarвлення МАТ до РЕα. $\times 150$.

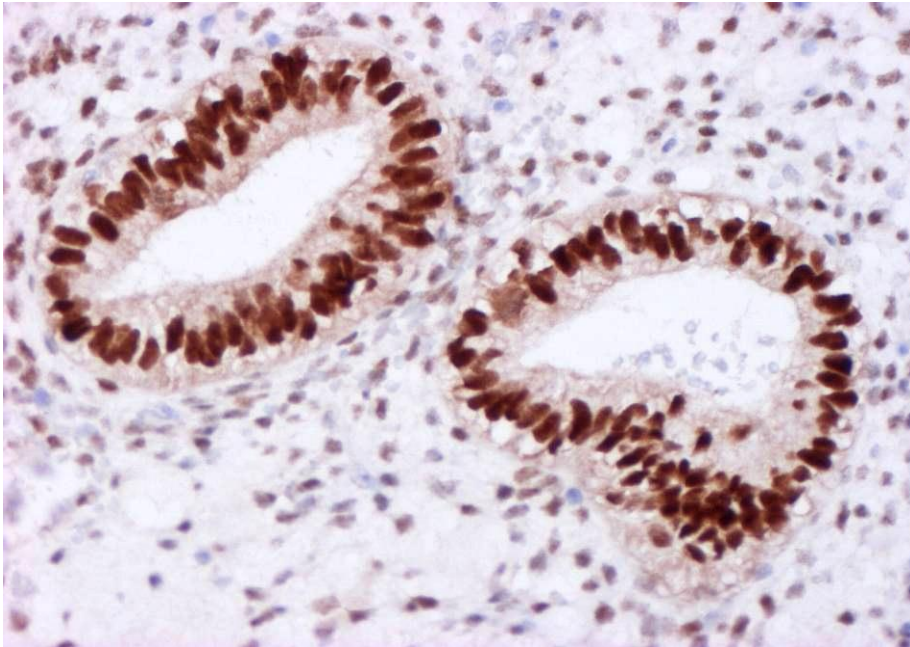


Рис. 3.9 Підвищена експресія РР в залозах і знижена в стромі ендометрія у пацієнтки з невдалими спробами ДРТ і відповідністю ендометрія на 22-й день МЦ середній фазі секреції. ІГХ-зabarвлення МАТ до РР. $\times 150$.

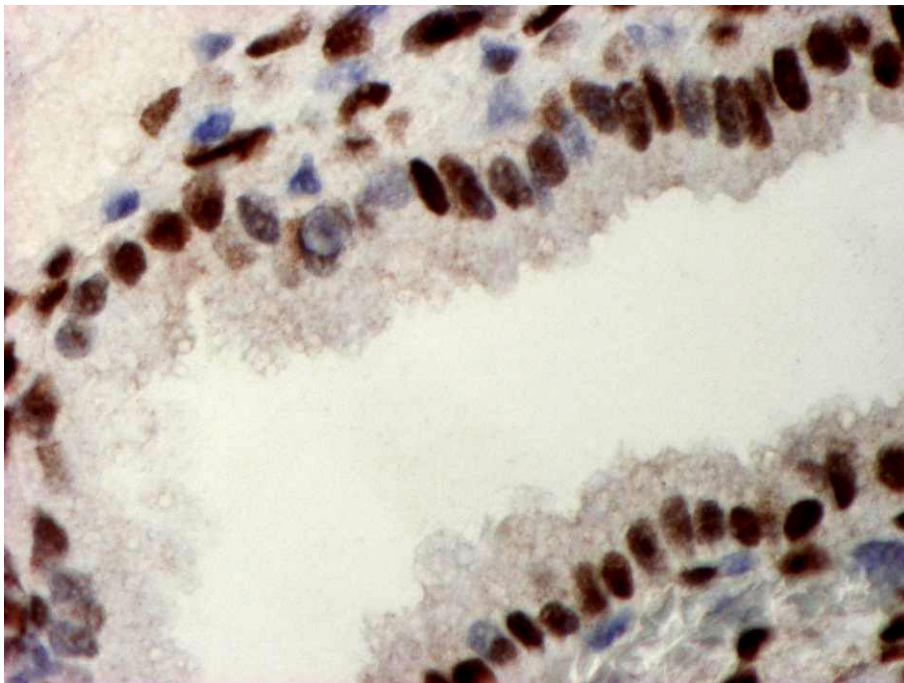


Рис. 3.10 Нормальна експресія РЕ α в залозах і в стромі ендометрія у пацієнтки з невдалими спробами ДРТ і відповідністю ендометрія на 22-й день МЦ пізній фазі секреції. ІГХ-зabarвлення МАТ до РЕ α . $\times 300$.

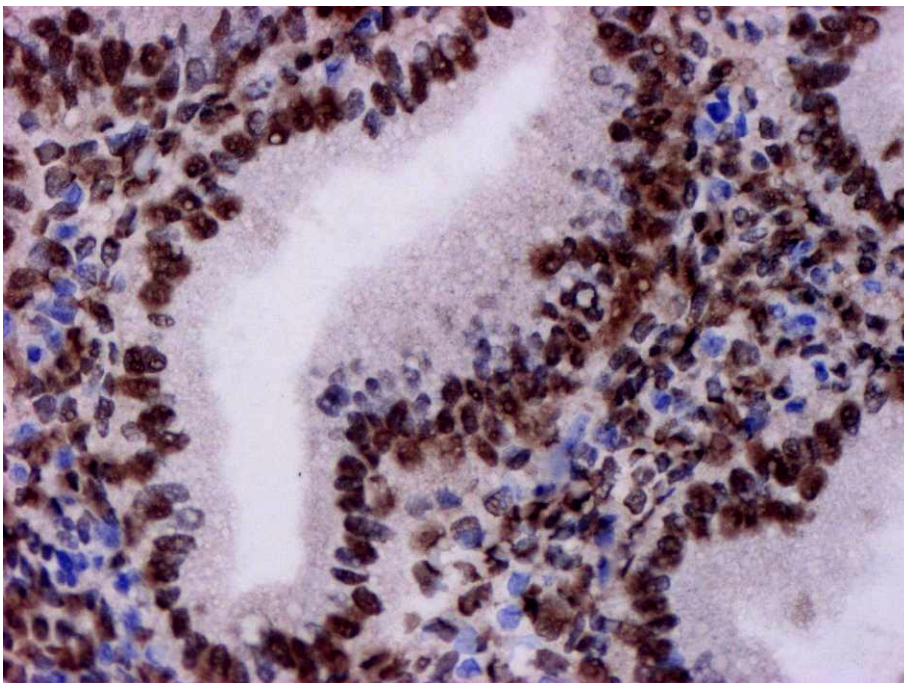


Рис. 3.11 Нормальна експресія РР в залозах ендометрія і в стромі у пацієнтки з невдалими спробами ДРТ і відповідністю ендометрія на 22-й день МЦ пізній фазі секреції. ІГХ-зabarвлення МАТ до РР. $\times 300$.

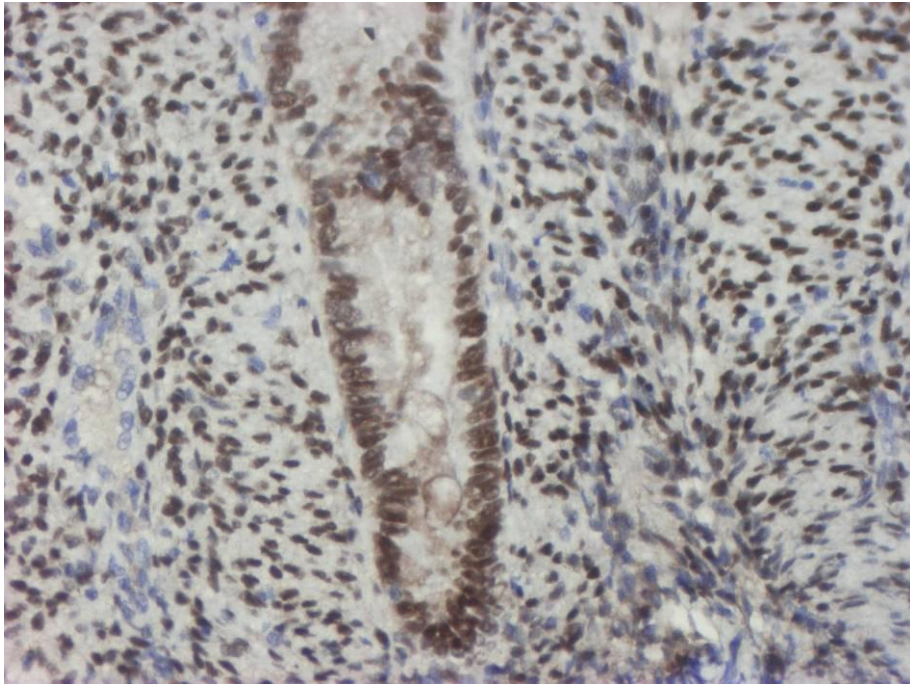


Рис. 3.12 Нерівномірна експресія РЕ α в залозах і в стромі ендометрія у пацієнтки з невдалими спробами ДРТ при змішаній будові ендометрія на 22-й день МЦ. ІГХ-зabarвлення МАТ до РЕ- α . $\times 150$.

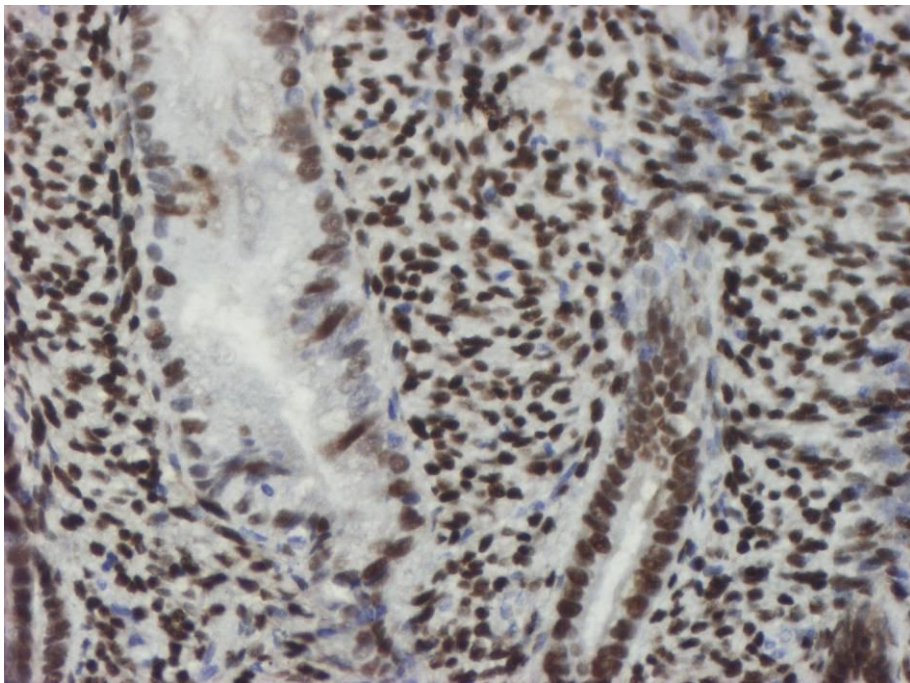


Рис. 3.13 Нерівномірна експресія РП в залозах і в стромі ендометрія у пацієнтки з невдалими спробами ДРТ при змішаній будові ендометрія на 22-й день менструального циклу. ІГХ-зabarвлення МАТ до РП. $\times 150$.

Таким чином, у пацієток з невдалими спробами ДРТ в період передбачуваного вікна імплантації спостерігаються зміни експресії рецепторів стероїдних гормонів в ендометрії, загальною тенденцією яких незалежно від хронологічної відповідності фазі і дню МЦ є підвищення продукції РЕ α та РП в залозах, в стромі – зниження РП на тлі нормальної експресії РЕ α .

3.2. Експресія рецепторів до стероїдних гормонів в ендометрії у пацієток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі в залежності від наявності хронічних запальних та гіперпроліферативних процесів

При наявності хронічного ендометриту у пацієток з невдалими спробами ДРТ середній відсоток імунореактивних клітин в ендометрії в залозах до МАТ до РЕ α ($44,53 \pm 2,24$ %) перевищував такий в контролі в 3,01 рази ($p < 0,01$), до РП ($59,42 \pm 2,75$ %) – в 2,46 ($p < 0,01$); в стромі – до РЕ α ($44,82 \pm 1,96$ %) вірогідно не відрізнявся, а до РП ($62,52 \pm 1,72$ %) був нижчий в 1,24 рази ($p < 0,01$).

Співвідношення відсотку імунореактивних РП/РЕ α в групі ДРТ склало в залозах $1,41 \pm 0,05$ і було нижче за таке в групі контролю в 1,25 рази ($p < 0,01$); в стромі сягало $1,60 \pm 0,09$ і не мало вірогідних відмінностей від контрольних (табл. 3.3).

При наявності гіперпластичних процесів в ендометрії середній відсоток імунореактивних клітин до МАТ в залозах до РЕ α ($57,69 \pm 3,41$ %) перевищував такий в контролі в 3,90 рази ($p < 0,01$), до РП ($71,40 \pm 2,97$ %) – в 2,96 ($p < 0,01$); в стромі до РЕ α ($55,43 \pm 4,23$ %) вірогідно не відрізнявся, а до РП ($67,37 \pm 3,11$ %) був нижчий в 1,15 рази ($p < 0,01$).

Співвідношення відсотку імунореактивних клітин до МАТ РП/РЕ α в групі ДРТ склало в залозах $1,34 \pm 0,06$ і було менше за таке в групі контролю в 1,31 рази ($p < 0,01$); в стромі дорівнювало $1,53 \pm 0,13$ і не мало вірогідних відмінностей від контрольних (див. табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Середній відсоток імунореактивних клітин до МАТ до РЕ- α і РП в ендометрії у пацієнок з невдалими спробами ДРТ в анамнезі в період передбачуваного вікна імплантації в залежності від наявності хронічних запальних та гіперпроліферативних процесів (Р \pm р, %)

Наявність патологічних процесів в ендометрії	Залози		Строма	
	РЕ α	РП	РЕ α	РП
Хронічний ендометрит (n=64)	44,53 \pm 2,24 к,2	59,42 \pm 2,75 к,2,3	44,82 \pm 1,96 2,3	62,52 \pm 1,72 к,3
Гіперпластичні процеси ендометрія (n=44)	57,69 \pm 3,41 к,1,3	71,40 \pm 2,97 к,1,3	55,43 \pm 4,23 1	67,37 \pm 3,11 к
Без гіперпластичних та запальних процесів (n=32)	36,79 \pm 4,47 к,2	47,58 \pm 5,20 к,1,2	55,48 \pm 4,29 1	72,33 \pm 3,14 1
Група К, n=30	14,78 \pm 0,66	24,16 \pm 0,81	51,19 \pm 3,36	77,48 \pm 1,13

Примітка. ^{к, 1, 2, 3} – статистична різниця з показниками групи К, групи з хронічним ендометритом, групи з гіперпластичними процесами, групи без гіперпластичних і запальних процесів, $p < 0,05$.

У пацієнок з невдалими спробами ДРТ в анамнезі без явищ гіперпластичних та запальних процесів в ендометрії середній відсоток імунореактивних клітин до МАТ в залозах до РЕ α (36,79 \pm 4,47 %) перевищував такий в контролі в 2,49 рази ($p < 0,01$), до РП (47,58 \pm 5,20 %) – в 1,97 ($p < 0,01$); в стромі до РЕ α (55,48 \pm 4,29 %) і до РП (72,33 \pm 3,14 %) вірогідно не відрізнявся.

Співвідношення відсотку імунореактивних клітин до МАТ РП/РЕ α в групі ДРТ склало в залозах 1,56 \pm 0,11, в стромі – 1,97 \pm 0,38 та не мало вірогідних відмінностей з контрольними (див. табл. 3.3).

Як видно з табл. 3.3, найбільший відсоток імунореактивних клітин до МАТ в залозах до стероїдних рецепторів спостерігався при гіперпластичних процесах ендометрія, найменший – в ендометрії без явищ гіперпластичних та запальних процесів в ендометрії. В той же час найменший відсоток імунореактивних клітин до МАТ в стромі до стероїдних рецепторів реєструвався при хронічному ендометриті.

Декілька інші тенденції спостерігалися при аналізі IRS стероїдних рецепторів в ендометрії (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Середній IRS стероїдних рецепторів (в ум. од.) в ендометрії у пацієнток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі в період передбачуваного вікна імплантації в залежності від наявності хронічних запальних та гіперпроліферативних процесів (M±m)

Наявність патологічних процесів в ендометрії	Залози		Строма	
	PEα	PP	PEα	PP
Хронічний ендометрит (n=64)	49,19± 3,82 ^{к,2}	87,02± 6,63 ^{к,2}	49,45± 2,50 ^{к,2,3}	92,29± 4,30 ^{к,2,3}
Гіперпластичні процеси ендометрія (n=44)	74,28± 8,17 ^{к,1}	111,36± 7,99 ^{к,1,3}	84,31± 9,76 ^{к,1}	122,58± 7,18 ^{к,1}
Без гіперпластичних та запальних процесів (n=32)	52,77± 9,44 ^к	78,94± 10,06 ^{к,2}	72,66± 8,83 ¹	135,09± 7,42 ¹
Група К, n=30	16,10±0,35	25,47±0,54	62,69±2,13	147,40±4,9 3

Примітка. ^{к, 1, 2, 3} – вірогідна статистична різниця з показниками групи К, групи з хронічним ендометритом, групи з гіперпластичними процесами, групи без гіперпластичних і запальних процесів, p<0,05.

Так, при наявності хронічного ендометриту у пацієнток з невдалими спробами ДРТ IRS PEα (49,19±3,82 ум.од.) перевищував такий в контролі в 2,62 рази (p<0,01), IRS до PP (87,02±6,63 ум.од.) – в 3,40 (p<0,01); в стромі IRS до PEα (49,45±2,50 ум.од.) був нижчий в 1,27 рази (p<0,01), IRS до PP (92,29±4,30 ум.од.) – в 1,60 (p<0,01); при наявності гіперпластичних процесів ендометрія IRS PEα в залозах (74,28±8,17 ум.од.) був більше за такий в контролі в 4,61 рази (p<0,01); IRS до PP (111,36±7,99 ум.од.) – в 4,37 (p<0,01); в стромі IRS до PEα (84,31±9,76 ум.од.) був більший в 1,34 рази (p<0,04), а IRS до PP (122,58±7,18 ум.од.) – менший в 1,20 (p<0,01). У пацієнток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі без явищ гіперпластичних та запальних процесів в ендометрії IRS PEα (52,77±9,44

ум.од.) перевищував такий в контролі в 3,28 рази ($p<0,01$), IRS до РП ($78,94\pm 10,06$ ум.од.) – в 3,14 ($p<0,01$); а в стромі IRS до PE α ($72,66\pm 8,83$ ум.од.) і IRS до РП ($135,09\pm 7,42$ ум.од.) вірогідно не відрізнявся від контрольних показників.

Описані вище тенденції були загальними по групах, але для кожної пацієнтки з невдалими спробами ДРТ в анамнезі була характерною своя індивідуальна експресія рецепторів статевих гормонів. У пацієток з хронічним ендометритом відсоток IRS PE α в залозах від аналогічних показників контрольної групи варіював від 94,41 до 925,47 %, РП – від 56,54 до 687,87 %, а в стромі ендометрія – відповідно від 34,93 до 134,95 % і від 26,66 до 103,53 % (рис. 3.14, рис. 3.15); з гіперпластичними процесами ендометрія – в залозах від 103,11 до 1222,36 %, від 97,76 до 764,04 %, в стромі від 15,63 до 297,66 %, від 7,39 до 114,79 % (рис. 3.16, рис. 3.17); у жінок без запальних і гіперпластичних процесів в ендометрії – в залозах від 43,54 до 1154,04 %, від 40,83 до 771,89 %, в стромі від 17,87 до 253,63 %, від 36,91 до 115,06 % (рис. 3.18, рис. 3.19).

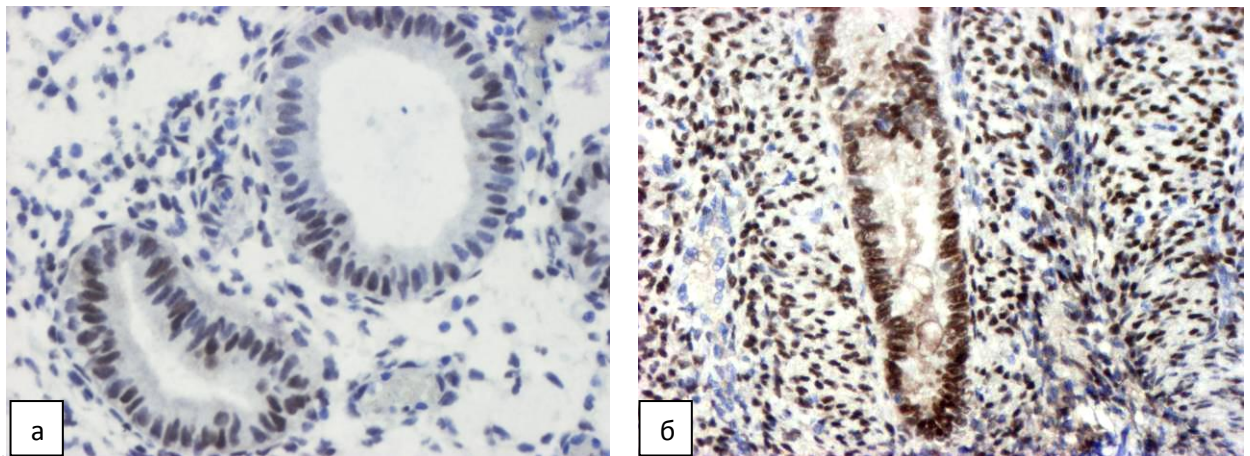


Рис. 3.14 Різна експресія PE α в ендометрії у жінок з невдалими спробами ДРТ і з хронічним ендометритом на 22-й день МЦ: а – знижена в залозах і в стромі; б – підвищена в залозах і в стромі. ІГХ-забарвлення МАТ до PE α . $\times 150$.

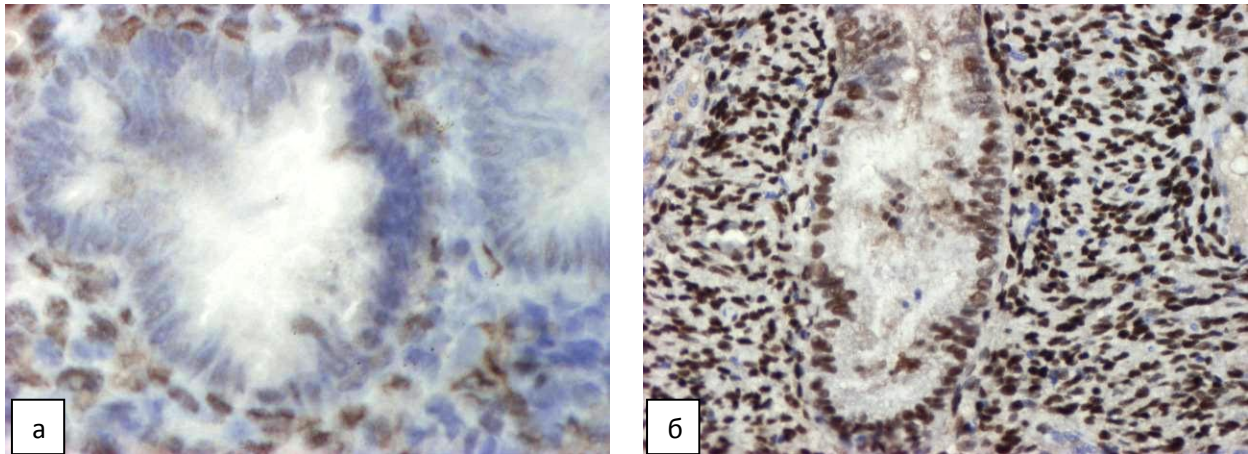


Рис. 3.15 Різна експресія РП на 22-й день МЦ в ендометрії у жінок з невдалими спробами ДРТ і з хронічним ендометритом: а – знижена експресія РП в залозах і в стромі; б – підвищена експресія в залозах і в стромі. ІГХ-зabarвлення МАТ до РП. $\times 150$.

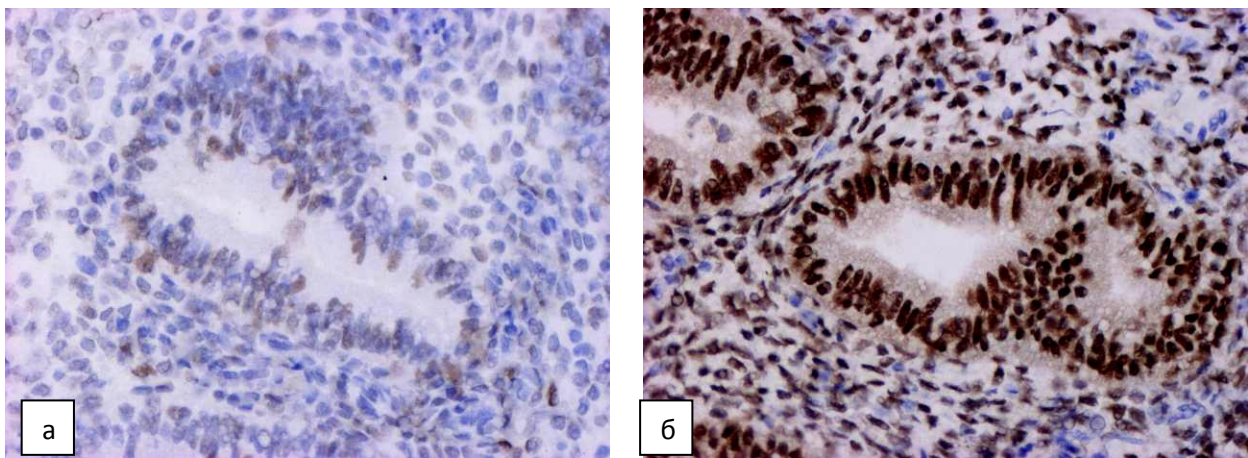


Рис. 3.14 Різна експресія РЕ α на 22-й день МЦ в ендометрії у жінок з невдалими спробами ДРТ і з гіперплазією ендометрія: а – знижена в залозах і в стромі; б – підвищена в залозах і в стромі. ІГХ-зabarвлення МАТ до РЕ α . $\times 150$.

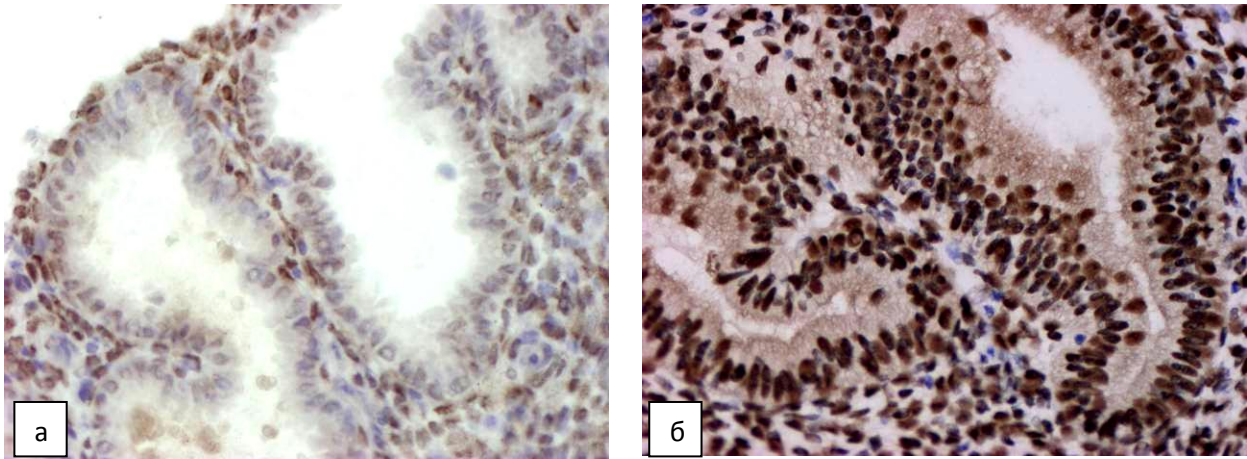


Рис. 3.15 Різна експресія РП в ендометрії на 22-й день МЦ у жінок з невдалими спробами ДРТ і з гіперплазією ендометрія: а – знижена експресія РП в залозах і в стромі; б – підвищена експресія в залозах і в стромі. ІГХ-зabarвлення МАТ до РП. $\times 150$.

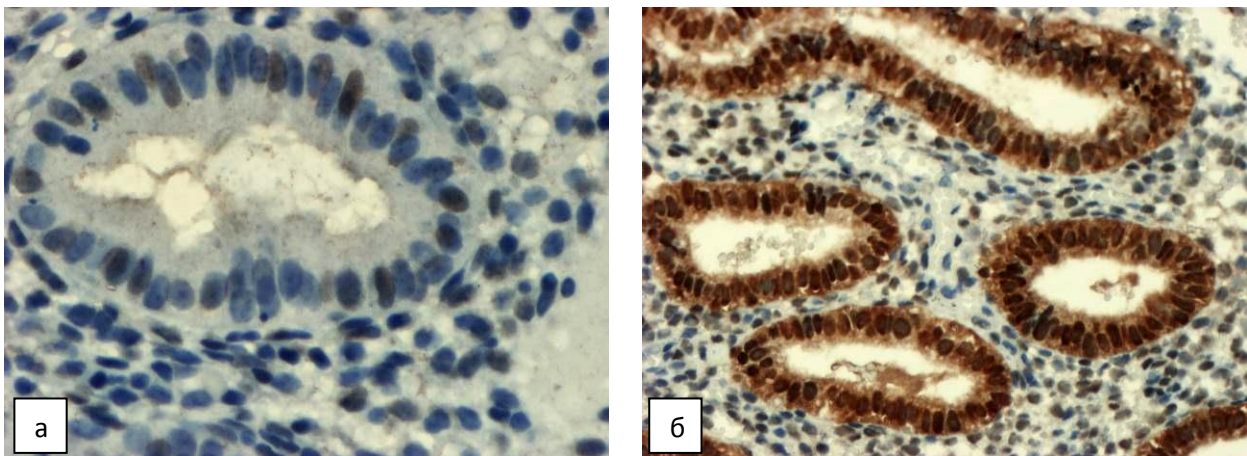


Рис. 3.14 Різна експресія РЕ α в ендометрії на 22-й день МЦ у жінок з невдалими спробами ДРТ і без запальних і гіперпластичних процесів в ендометрії: а – знижена в залозах і в стромі; б – підвищена в залозах і в стромі. ІГХ-зabarвлення МАТ до РЕ α . $\times 150$.

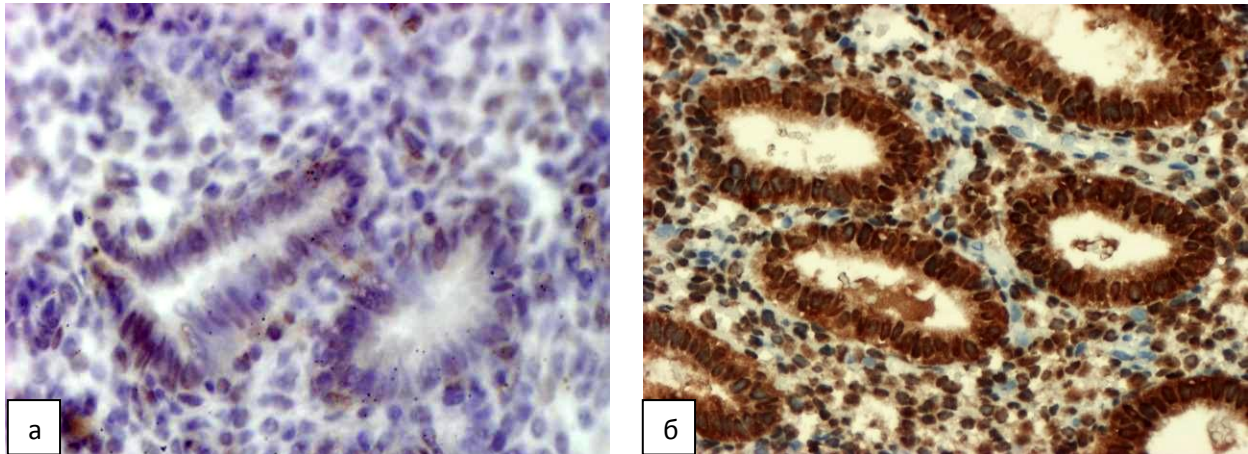


Рис. 3.15 Різна експресія РП в ендометрії на 22-й день МЦ у жінок з невдалими спробами ДРТ і без запальних і гіперпластичних процесів в ендометрії: а – знижена експресія РП в залозах і в стромі; б – підвищена експресія в залозах і в стромі. ІГХ-забарвлення МАТ до РП. $\times 150$.

Таким чином, експресія рецепторів до стероїдних гормонів в ендометрії у пацієнок гарних відповідачів з невдалими спробами ДРТ в анамнезі залежить від наявності в ньому хронічних запальних та гіперпроліферативних процесів і є найбільшою в залозах при гіперпластичних процесах ендометрія, найменшою – в ендометрії без явищ гіперпластичних та запальних процесів в ендометрії. Зміни в експресії рецепторів статевих гормонів в стромі зустрічаються набагато рідше, найчастіше – при хронічному ендометриті, при якому спостерігається найменший їх відсоток.

3.3. Стан рецепторів ендометрія до стероїдних гормонів у пацієнок з невдалими спробами ДРТ в анамнезі в залежності від ефективності останньої спроби

На підставі вищенаведених даних встановлено, що у безплідних жінок гарних відповідачів з невдалими спробами ДРТ в анамнезі експресія рецепторів до стероїдних гормонів в ендометрії порушена. Але частина таких жінок після наступної спроби ДРТ вагітніє, тому ми вирішили порівняти експресію

рецепторів до стероїдних гормонів в ендометрії у жінок з невдалими імплантаціями в анамнезі в залежності від ефективності останньої спроби ДРТ (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Середній відсоток імунореактивних клітин до МАТ до РЕ- α і РП в ендометрії у досліджуваних групах в період передбачуваного вікна імплантації (P \pm p, %)

Група	Відсоток імунореактивних клітин до МАТ до стероїдних рецепторів на 1000 клітин			
	до РЕ- α в залозах	до РП в залозах	до РЕ- α в стромі	до РП в стромі
ДРТ, n=140	46,90 \pm 1,91 ^к	60,48 \pm 2,09 ^к	50,59 \pm 1,92	66,28 \pm 1,47 ^к
Н, n=80	55,80 \pm 2,52 ^{к,в}	62,15 \pm 2,77 ^к	50,98 \pm 2,58	64,74 \pm 2,11 ^к
В, n=60	35,03 \pm 2,11 ^{к,н}	58,25 \pm 3,16 ^к	50,07 \pm 2,89	68,35 \pm 1,96 ^к
К, n=30	14,78 \pm 0,66	24,16 \pm 0,81	51,19 \pm 3,36	77,48 \pm 1,13

Примітка. ^{к, н, в} –статистична різниця з показниками груп К, Н, В, p<0,05.

Для пацієнок з невдалими спробами ДРТ в анамнезі характерною рисою було те, що у жінок з останньою невдалою спробою порівняно з жінками з останньою вдалою спробою була більш виражена гіперекспресія РЕ α в залозах: середній відсоток імунореактивних клітин до МАТ до РЕ- α у групі Н (55,80 \pm 2,52 %) перевищував такий в групі В (35,03 \pm 2,11 %) в 1,59 рази (p<0,01).

Співвідношення середнього відсотку імунореактивних клітин до МАТ 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. Суттєвим фактом є той, що співвідношення експресії 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).

Загальною тенденцією у пацієнок з невдалими спробами ДРТ було те, що IRS РЕ α та РП в залозах перевищував такий в контрольній групі, тоді як IRS РЕ α в стромі вірогідно не відрізнявся від такого в контролі, а IRS в стромі був зниженим (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Середній IRS стероїдних рецепторів (в ум. од.) в ендометрії у досліджуваних пацієнток в період передбачуваного вікна імплантації (M±m)

Група	IRS PE α		IRS РП	
	залози	строма	залози	строма
ДРТ, n=140	57,89±3,87 ^к	92,82±4,65 ^к	65,71±4,03	111,59±3,75 ^к
Н, n=80	74,50±5,97 ^{к,В}	101,92±6,28 ^{к,В}	67,58±5,55	109,67±5,30 ^к
В, n=60	35,75±2,03 ^{к,Н}	80,70±6,66 ^{к,Н}	63,21±5,84	114,16±5,19 ^к
К, n=30	16,10±0,35	25,47±0,54	62,69±2,13	147,40±4,93

Примітка. ^{к, Н, В} –статистична різниця з показниками груп К, Н, В, p<0,05.

У пацієнток з останньою невдалою спробою порівняно з жінками з останньою вдалою спробою спостерігався більш високий рівень IRS PE α (74,50±5,97 ум.од. проти 35,75±2,03 ум.од., p<0,01) та IRS РП (101,92±6,28 ум.од. проти 80,70±6,66 ум.од., p<0,02). IRS PE α та IRS РП в залозах у групі Н складав від аналогічних контрольних показників 462,74±37,06 % (p<0,01) і 400,14±24,65 % (p<0,01); у групі В – відповідно 222,03±12,61 і 316,83±26,14 %. IRS PE α і РП в групах Н і В вірогідно не відрізнявся між собою і з групою К.

Таким чином, для пацієнток з невдалими імплантаціями в циклах ДРТ в анамнезі характерною рисою є те, що у жінок з останньою невдалою спробою порівняно з жінками з останньою вдалою спробою більш виражена гіперекспресія PE α в залозах – в 1,59 рази (p<0,01), що приводить до зниження співвідношення середнього відсотку імунореактивних клітин до МАТ РП/PE α в 1,47 рази. Критичним рівнем цього співвідношення в залозах, при якому настає вагітність, є $\geq 1,50$. Перед проведенням наступних спроб ДРТ пацієнткам з невдалими спробами ДРТ в анамнезі доцільно проводити оцінку стероїдної рецептивності ендометрія в період вікна імплантації і здійснювати відповідну персоналізовану корекцію.

РОЗДІЛ 4
ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ ПІНОПОДІЙ ТА СЕКРЕЦІЇ
ЕНДОМЕТРИЄМ МОЛЕКУЛ ІМПЛАНТАЦІЇ
У БЕЗПЛІДНИХ ПАЦІЄНТОК ГАРНИХ ВІДПОВІДАЧІВ
З НЕВДАЛИМИ СПРОБАМИ ДРТ В АНАМНЕЗІ

4.1. Особливості формування піноподій в жінок гарних відповідачів з невдалими спробами ДРТ в анамнезі в період передбачуваного вікна імплантації

4.1.1. Характер формування піноподій в залежності від хронологічної відповідності ендометрія фази та дню МЦ

Ступень порушення формування піноподій та їх мікроросинок залежав, як і очікувалося, від відповідності фази та дню МЦ (табл. 4.1). Найчастіше розвинуті піноподії зустрічалися в групі пацієнток, у яких ендометрій на 22-й день МЦ відповідав середній фазі секреції (64,52 %), а найрідше – в жінок з відповідністю морфофункціональних змін слизової матки в день передбачуваного вікна імплантації фази проліферації (16,67 %).

При цьому при СЕМ для жінок з відповідністю морфофункціональних змін слизової матки на день LH+8 фази проліферації найбільш характерною була візуалізація сканограми "до початку зростання піноподій" (66,67 %), рідкісні піноподії, що розвиваються, з короткими товстими мікроросинками або поля піноподій, що розвиваються (83,33 %), вкриті помірною кількістю товстих коротких мікроросинок (61,11 %). У 77,78 % випадків піноподії були різної форми і у 83,33 % – різних розмірів. У кожній шостій з таких жінок зустрічалися поодинокі розвинуті піноподії (рис. 4.1). У 27,78 % жінок цієї групи на поверхневому просвітному епітелії спостерігалися рясні короткі, товсті мікроросинки. У контрольній групі на день LH+8 піноподії, що розвиваються, при СЕМ не виявлялися; переважали випадки з малою кількістю коротких,

товстих мікрворсинок на поверхневому проясвітному епітелії (табл. 4.2, див. рис. 4.1).

Таблиця 4.1

Розподіл піноподій в ендометрії жінок на 22-й день МЦ за ступенем розвитку та розмірами в залежності від хронологічної відповідності ендометрія фазі та дню МЦ, n(P±p, %)

Хронологічна відповідність ендометрія на 22-й день МЦ	Піноподії, що розвиваються	Розвинуті піноподії	Піноподії, що регресують	Ділянки відсутності піноподій	Різна форма піноподій	Різні розміри піноподій
Фазі проліферації (n=18)	15(83,33±2,20) ^к	3(16,67±0,99) ^к	0(0,00±0,00)	12(66,67±1,97) ^к	14(77,78±2,13) ^к	15(83,33±2,20) ^к
Ранній фазі секреції (n=25)	20(80,00±1,82) ^к	5(20,00±0,91) ^к	0(0,00±0,00)	12(48,00±1,41) ^к	14(56,00±1,52) ^к	16(64,00±1,63) ^к
Середній фазі секреції (n=62)	12(19,35±0,56) ^к	40(64,52±1,03) ^к	10(16,13±0,51)	34(54,84±0,95) ^к	50(80,65±1,15) ^к	55(88,71±1,20) ^к
Пізній фазі секреції (n=10)	1(10,00±1,05)	2(20,00±1,49) ^к	7(70,00±2,78) ^к	4(40,00±2,10) ^к	8(80,00±2,97) ^к	8(80,00±2,97) ^к
Змішаної будови (n=25)	3(12,00±0,71)	10(40,00±1,29) ^к	12(48,00±1,41) ^к	13(52,00±1,47) ^к	25(100,00±2,03) ^к	25(100,00±2,03) ^к
К, n=30	0(0,00±0,00)	27(90,00±1,75)	3(10,00±0,59)	0(0,00±0,00)	0(0,00±0,00)	0(0,00±0,00)

Примітка. ^к – вірогідна статистична різниця з показниками групи К, p<0,05.

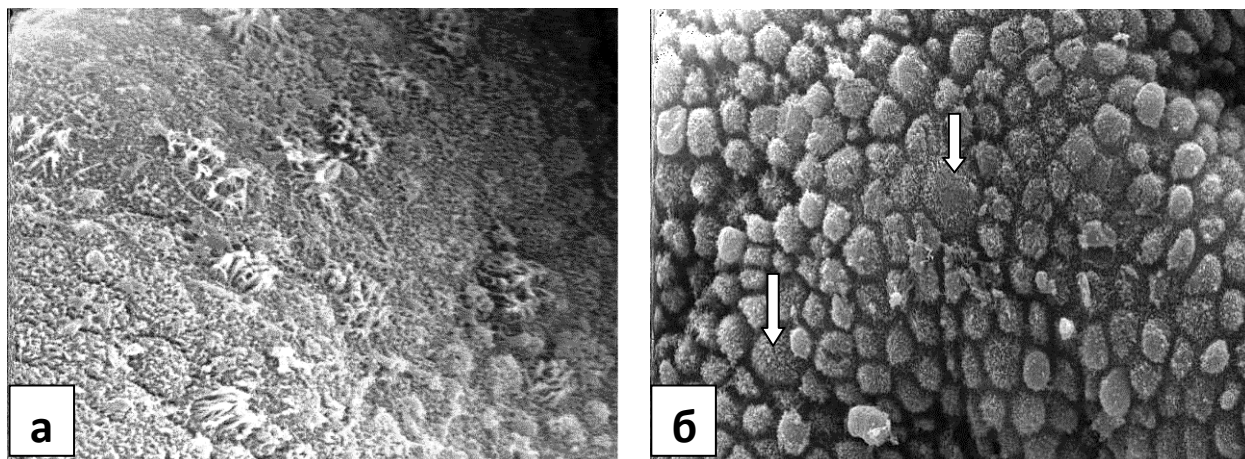


Рис 4.1 Піноподії на 22-й день МЦ у пацієнтки з невдалими спробами ДРТ і відповідністю ендометрія на 22-й день МЦ фази проліферації. а – картина "до початку зростання піноподій", рідкісні піноподії, що розвиваються, безліч коротких товстих мікрворсинок; б – поля піноподій, що розвиваються, вкриті помірною кількістю товстих коротких мікрворсинок. Поодинокі розвинуті піноподії великих розмірів (стрілки). СЕМ. $\times 2000$. Шкала барів = 5 мкм.

Таблиця 4.2

Розподіл ендометріальних мікрворсинок за кількістю на 22-й день МЦ в залежності від хронологічної відповідності ендометрія фази та дню МЦ $n(P \pm p, \%)$

Хронологічна відповідність ендометрія на 22-й день МЦ	Рясні	Помірна кількість	Мала кількість
Фази проліферації (n=18)	5(27,78 \pm 1,28) ^к	11(61,11 \pm 1,89) ^к	3(16,67 \pm 0,99) ^к
Ранній фазі секреції (n=25)	6(24,00 \pm 1,00) ^к	15(60,00 \pm 1,58) ^к	6(24,00 \pm 1,00) ^к
Середній фазі секреції (n=62)	21(33,87 \pm 0,74) ^к	27(43,55 \pm 0,84) ^к	18(29,03 \pm 0,69) ^к
Пізній фазі секреції (n=10)	4(40,00 \pm 2,10) ^к	4(40,00 \pm 2,10) ^к	2(20,00 \pm 1,49) ^к
Змішаної будови (n=25)	6(24,00 \pm 1,00) ^к	16(64,00 \pm 1,63) ^к	3(12,00 \pm 0,71) ^к
Група К, n=30	0(0,00 \pm 0,00)	3(10,00 \pm 0,59)	27(90,00 \pm 1,75)

Примітки: 1. ^к – статистична відмінність з групою К ($p < 0,05$);

2. У однієї пацієнтки могли зустрітися ділянки з різною кількістю мікрворсинок.

При СЕМ у пацієток з ендометрієм, відповідним на день LH+8 фази ранньої секреції, найчастіше зустрічали чергування ділянок відсутності піноподій (48,00 %) з ділянками піноподій, що розвиваються (80,00 %); наявність циліарних клітин або поля піноподій, що розвиваються, вкриті помірною кількістю товстих коротких мікрворсинок (60,00 %); мозаїцизм форми (56,00 %) та розмірів (64,00 %) (рис. 4.2). Розвинуті піноподії візуалювалися у 20,00 % цієї групи. У 24,00 % жінок короткі, товсті мікрворсинки на поверхневому просвітному епітелії були рясними і у 24,00 % – нечисленними.

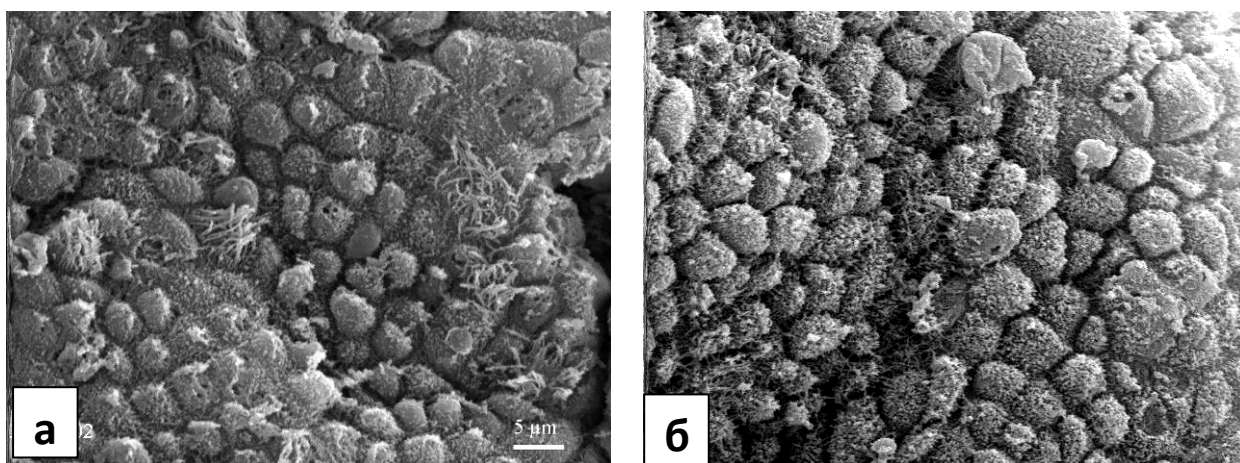


Рис 4.2 Поля піноподій, що розвиваються, у пацієток з невдалими спробами ДРТ і відповідністю ендометрія на 22-й день фази ранньої секреції: а – ділянки відсутності піноподій чергуються з ділянками піноподій, що розвиваються; наявність циліарних клітин; б – поля піноподій, що розвиваються, вкриті великою кількістю товстих коротких мікрворсинок; мозаїцизм форми та розмірів. Поодинокі розвинуті піноподії великих розмірів (позначені стрілкою). СЕМ. $\times 2000$. Шкала барів = 5 мкм.

У жінок з відповідністю морфофункціональних змін ендометрія на день LH+8 фази середньої секреції на скенограмах переважна кількість піноподій була розвинутими (64,52 %), але різних розмірів (80,65 %) і форми (88,71 %), вкриті помірною кількістю мікрворсинок (43,55 %), зустрічалися циліарні клітини або

рідше візуалювалися поля розвинутих піноподій різних розмірів з малою кількістю мікрворсинок (29,03 %), наявність циліарних клітин (рис. 4.3). У 19,35 % випадків піноподії були на стадії таких, що розвиваються. Ділянки відсутності піноподій візуалювали у 54,84 % випадків. У 33,87 % жінок цієї групи на поверхневому просвітному епітелії спостерігалися рясні короткі, товсті мікрворсинки. У контрольній групі на день LH+8 розвинуті піноподії виявлялися у 90,00 % пацієток; найчастіше з малою кількістю мікрворсинок.

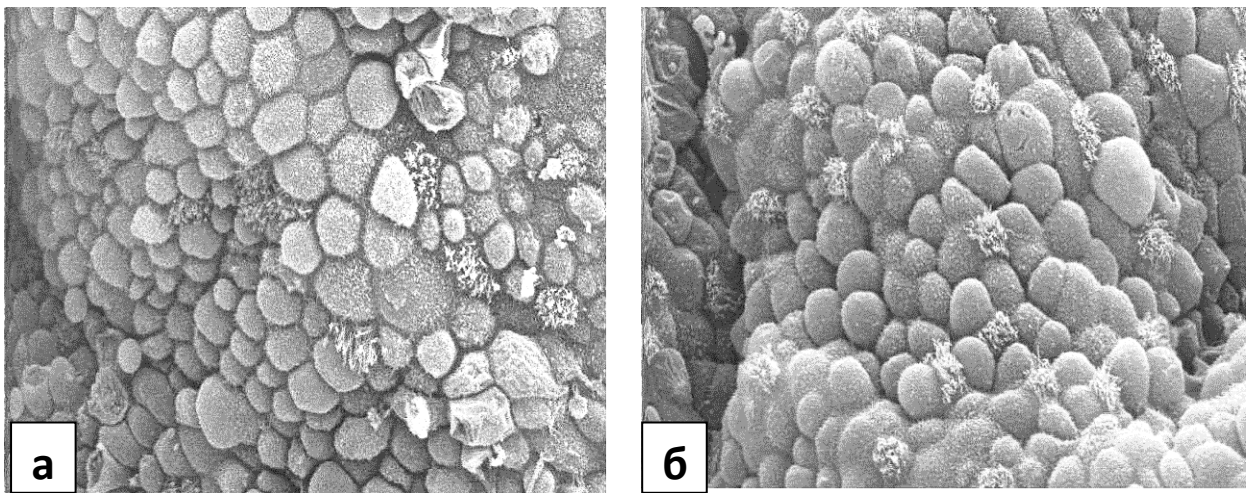


Рис 4.3 Піноподії у пацієток з невдалими спробами ДРТ і відповідністю ендометрія на 22-й день фази середньої секреції. а – переважна кількість піноподій розвинуті, але різних розмірів і форми, вкриті помірною кількістю мікрворсинок, наявність циліарних клітин; б – поля розвинутих піноподій різних розмірів з малою кількістю мікрворсинок, наявність циліарних клітин. СЕМ. $\times 2000$. Шкала барів = 5 мкм.

При СЕМ у пацієток з ендометрієм, відповідним на LH+8 день фази пізньої секреції, найчастіше реєстрували піноподії в стадії регресу (70,00 %) та багато циліарних клітин з великою (40,00 %) або помірною (40,00 %) кількістю мікрворсинок; а також поля піноподій в стадії регресу з малою кількістю коротких товстих мікрворсинок (20,00 %) (рис. 4.4). Розвинуті піноподії візуалювалися лише у 20,00 % цієї групи. Був виражений мозаїцизм форми (80,00

%) та розмірів (80,00 %) піноподій. Ділянки відсутності піноподій спостерігали у 40,00 % випадків.

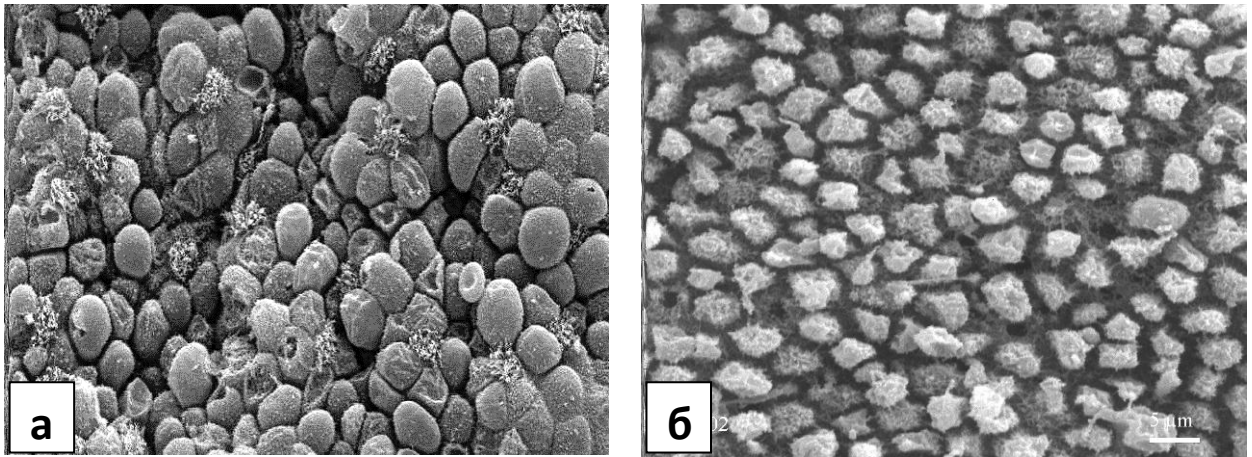


Рис 4.4 Піноподії у пацієток з невдалими спробами ДРТ і відповідністю ендометрія на 22-й день фази пізньої секреції: а – серед розвинутих піноподій реєструються піноподії в стадії регресу та багато циліарних клітин, мала кількість мікрворсинок; б – піноподії в стадії регресу з помірною кількістю коротких товстих мікрворсинок. SEM. x2000. Шкала барів = 5 мкм.

При SEM у пацієток з ендометрієм змішаної будови на LH+8 день практично з однакою частотою спостерігали розвинуті піноподії (40,00 %) та піноподії в стадії регресу (48,00 %), а піноподії, що розвиваються, – у 12,00 % жінок. У 100 % пацієток піноподії були різної форми та розмірів (рис. 4.5). Ділянки відсутності піноподій спостерігали у 52,00 % випадків. Просвітний поверхневий матковий епітелій мав у 24,00 % випадків рясні мікрворсинки, у 64,00 % – помірну їх кількість, у 12,00 % – малу.

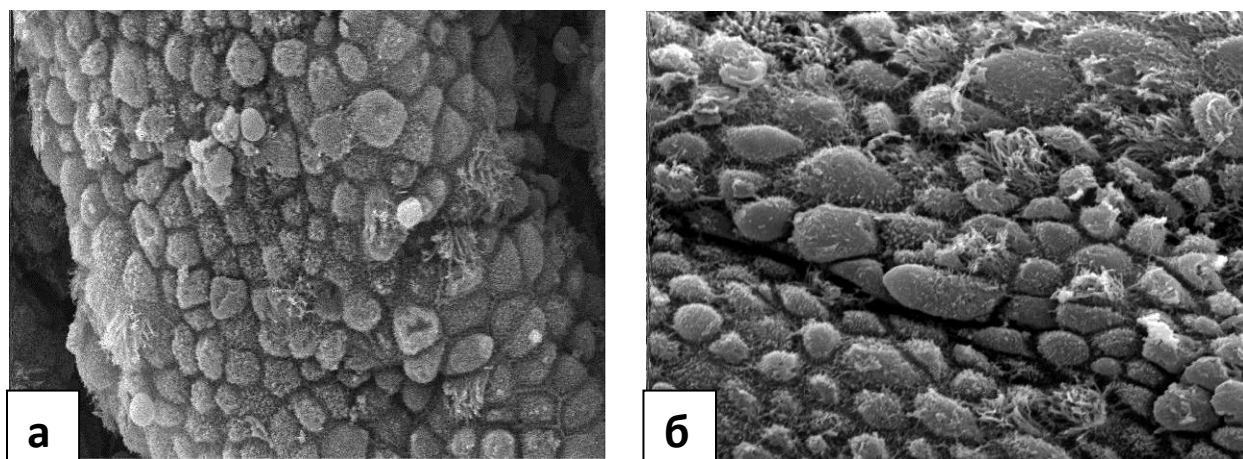


Рис 4.5 Піноподії на 22-й день МЦ у пацієток з невдалими спробами ДРТ і змішаною будовою ендометрія: а – від піноподій, що розвиваються до піноподій в стадії регресу; наявність циліарних клітин і помірної кількості мікрворсинок; б – піноподії, що розвиваються, чергуються з повністю розвинутими піноподіями, а також з ділянками з картиною «до початку росту піноподій». СЕМ. $\times 2000$. Шкала барів = 5 мкм.

Таким чином, особливості розвитку піноподій і мікрворсинок просвітлого поверхневого маткового епітелію у жінок гарних відповідачів з невдалими спробами ДРТ залежать від наявності хронологічної відповідності його морфофункціональних змін: у пацієток без хронологічно відповідних секреторних змін порівняно з жінками з відповідними частіше в 2,58 рази ($p < 0,01$) зустрічаються піноподії, що розвиваються, в 1,51 ($p < 0,01$) – піноподії, які регресують, та в 1,35 ($p < 0,01$) – помірна кількість мікрворсинок, тоді як рідше спостерігаються розвинуті піноподії в 2,52 ($p < 0,01$) і мала кількість мікрворсинок – в 1,62 ($p < 0,01$) рази.

4.1.2. Формування піноподій в залежності від наявності хронічних запальних та гіперпроліферативних процесів в ендометрії жінок гарних відповідачів з невдалими спробами в анамнезі ДРТ.

Були проаналізовані особливості формування піноподій в ендометрії жінок гарних відповідачів з невдалими спробами в анамнезі ДРТ в залежності від наявності в ньому таких патологічних процесів, як хронічне запалення та гіперпроліферація, в день передбачуваного вікна імплантації (табл. 4.3).

Таблиця 4.3

Розподіл піноподій в ендометрії досліджуваних жінок в день передбачуваного вікна імплантації в залежності від наявності патологічних процесів в ендометрії, n(P±p, %)

Наявність патологічних процесів в ендометрії	Піноподії, що розвиваються	Розвинуті піноподії	Піноподії, що регресують	Ділянки відсутності піноподій	Різна форма піноподій	Різні розміри піноподій
Хронічний ендометрит (n=64)	14(21,88±0,59) ^{к,2}	34(53,13±0,92) ^{к,2}	15(23,44±0,61)	34(53,13±0,92) ^к	58(90,63±1,19) ^{к,3}	58(90,63±1,19) ^{к,3}
Гіперпластичні процеси ендометрія (n=44)	26(59,09±1,17) ^{к,1,3}	11(25,00±0,76) ^{к,1,3}	8(18,18±0,65) ^к	24(54,55±1,12) ^к	36(81,82±1,37) ^{к,3}	40(90,91±1,45) ^{к,3}
Без гіперпластичних та запальних процесів (n=32)	10(31,25±1,00) ^{к,2}	15(46,88±1,23) ^{к,2}	7(21,88±0,84)	17(53,13±1,31) ^к	17(53,13±1,31) ^{к,1,2}	21(65,63±1,45) ^{к,1,2}
Група К, n=30	0(0,00±0,00)	27(90,00±1,75)	3(10,00±0,59)	0(0,00±0,00)	0(0,00±0,00)	0(0,00±0,00)

Примітка. ^{к, 1, 2, 3} – статистична різниця з показниками групи К, групи з хронічним ендометритом, групи з гіперпластичними процесами, групи без гіперпластичних і запальних процесів, p<0,05.

Як видно з табл. 4.3, у 53,13 % жінок з хронічним ендометритом піноподії в день передбачуваного вікна імплантації були розвинутими; у 21,88 % – піноподіями, які розвиваються, та у 23,44 % – такими, які регресують. У 53,13 % жінок спостерігалися ділянки відсутності піноподій. Піноподії були різними за

формою (90,63 %) та розмірами (90,63 %) у переважній кількості пацієток (рис. 4.6). Понад половини жінок (56,25 %) мали помірну кількість мікрворсинок на поверхневому просвітному матковому епітелії, 26,56 % – рясні мікрворсинки, 18,75 % – малу кількість (табл. 4.4). У пацієток з хронічним ендометритом число випадків наявності в ендометрії розвинутих піноподій було в 2,13 рази більше ($p<0,01$), ніж у жінок з гіперпластичними процесами ендометрія, проте піноподій, що розвиваються, – в 2,70 рази менше ($p<0,01$). У жінок з хронічним ендометритом порівняно з пацієтками без запальних та гіперпроліферативних процесів в ендометрії, було більше число випадків наявності піноподій різної форми та розмірів – відповідно в 1,71 ($p<0,01$) і в 1,38 ($p<0,01$) рази.

Таблиця 4.4

Кількісний розподіл мікрворсинок в ендометрії жінок в день передбачуваного вікна імплантації в залежності від наявності в ньому патологічних процесів, n(P±p, %)

Наявність патологічних процесів в ендометрії	Рясні	Помірна кількість	Мала кількість
Хронічний ендометрит (n=64)	17(26,56±0,65) ^к	36(56,25±0,94) ^к	12(18,75±0,55) ^к
Гіперпластичні процеси ендометрія (n=44)	13(29,55±0,83) ^к	22(50,00±1,08) ^к	13(29,55±0,83) ^к
Без гіперпластичних та запальних процесів (n=32)	12(37,50±1,10) ^к	15(46,88±1,23) ^к	7(21,88±0,84) ^к
Група К, n=30	0(0,00±0,00)	3(10,00±0,59)	27(90,00±1,75)

Примітки: 1. ^к – статистична відмінність з групою К ($p<0,05$);

2. У однієї пацієтки могли зустрічатися ділянки з різною кількістю мікрворсинок.

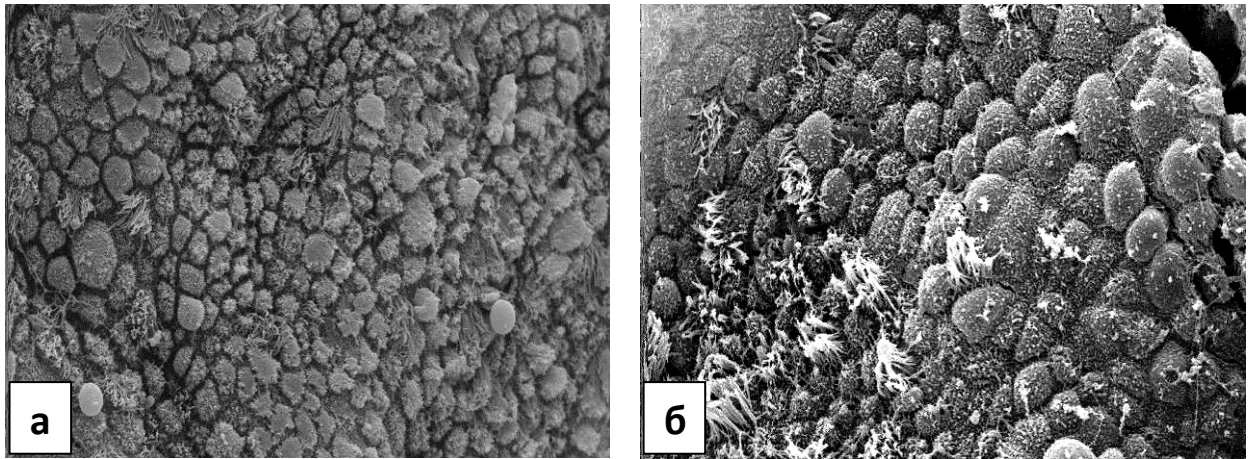


Рис. 4.6. Піноподії на 22-й день МЦ у пацієток з хронічним ендометритом: мозаїцизм форми, розмірів, стадії розвитку піноподій, безліч коротких товстих мікрворсинок; а – переважна кількість піноподій, які розвиваються, поодинокі розвинуті піноподії; б – переважна кількість розвинутих піноподій, але різних розмірів, чисельні циліарні клітини. СЕМ. $\times 2000$. Шкала барів = 5 мкм.

Як видно з табл. 4.3, тільки в 25,00 % жінок з гіперпроліферативними процесами в ендометрії піноподії в день передбачуваного вікна імплантації були розвинутими; в 59,09 % – піноподіями, які розвиваються, та в 18,18 % – такими, які регресують. У 54,55 % жінок реєструвалися ділянки відсутності піноподій. Мозаїцизм форми (81,82 %) та розмірів (90,91 %) спостерігався у переважній кількості пацієток (рис. 4.7). Практично у всіх жінок спостерігалися циліарні клітини, при цьому більш, ніж в половині випадків вони були численними. 50,00 % жінок мали помірну кількість мікрворсинок на поверхневому просвітному матковому епітелії, 29,55 % – рясні мікрворсинки, 29,55 % – малу кількість (див. табл. 4.4).

У пацієток з гіперпластичними процесами ендометрія число випадків наявності в ендометрії розвинутих піноподій було менше в 1,88 рази ($p < 0,01$), ніж у жінок без запальних та гіперпроліферативних процесів в ендометрії, проте піноподій, що розвиваються, – в 1,89 рази більше ($p < 0,01$). У жінок з гіперпластичними процесами ендометрія порівняно з пацієтками без запальних

та гіперпроліферативних процесів в ендометрії, частіше зустрічалися піноподії різної форми та розмірів – відповідно в 1,54 ($p<0,01$) і в 1,39 ($p<0,01$) рази.

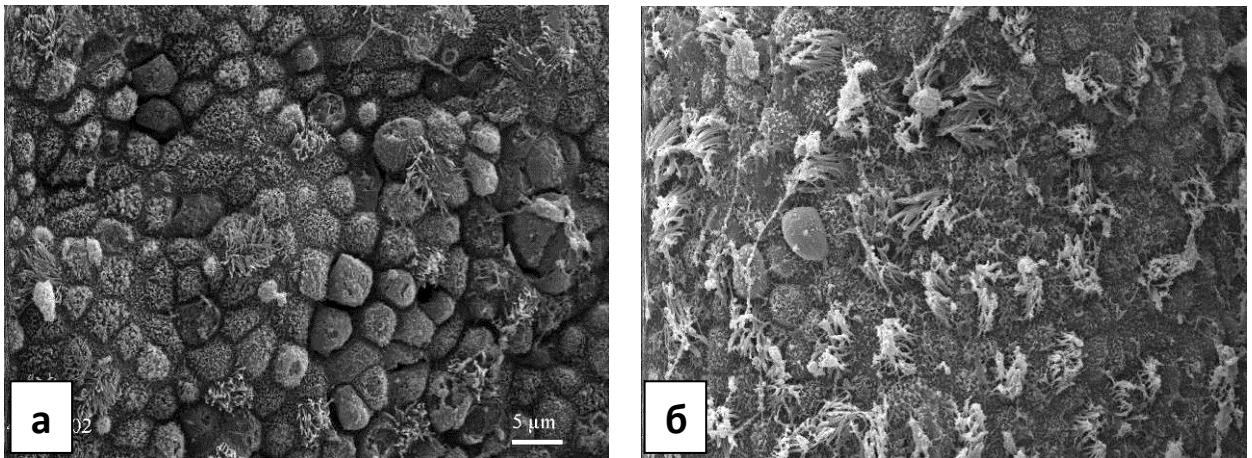


Рис. 4.7 Піноподії на 22-й день МЦ у пацієнтки з невдалими спробами ДРТ в анамнезі і явищами гіперплазії ендометрія: а – мозаїцизм наявності, стадії розвитку, форми та розмірів піноподій, безліч коротких, товстих мікрворсинок, поява циліарних клітин; б – велика кількість дрібних піноподій, поверхня яких покрита короткими, товстими, густими мікрворсинками, нерівномірно розташовані численні циліарні клітини. СЕМ. $\times 2000$. Шкала барів = 5 мкм.

Безплідні пацієнтки - гарні відповідачі з невдалими спробами ДРТ в анамнезі без хронічних та запальних процесів в ендометрії, хоча й не мали перерахованої патології, але вірогідно відрізнялися від жінок групи К за характером формування піноподій (рис. 4.8): розвинутих піноподій було в 1,92 рази менше ($p<0,01$), ніж у жінок контролю; проте піноподії, що розвиваються, - спостерігалися у 31,25 % пацієток, тоді як в контролі таких не було ($p<0,01$). У 53,13 % жінок спостерігалися ділянки відсутності піноподій. Піноподії були різними за формою у 53,13 жінок та за розмірами у 65,63 %. У контрольній групі не виявлені ділянки відсутності піноподій, варіабельність форми і розмірів піноподій. Біля половини жінок без хронічних та запальних процесів в ендометрії (46,88 %) мали помірну кількість мікрворсинок на поверхневому просвітному матковому епітелії, 37,50 % – рясні мікрворсинки, 21,88 % – малу кількість (див. табл. 4.4).

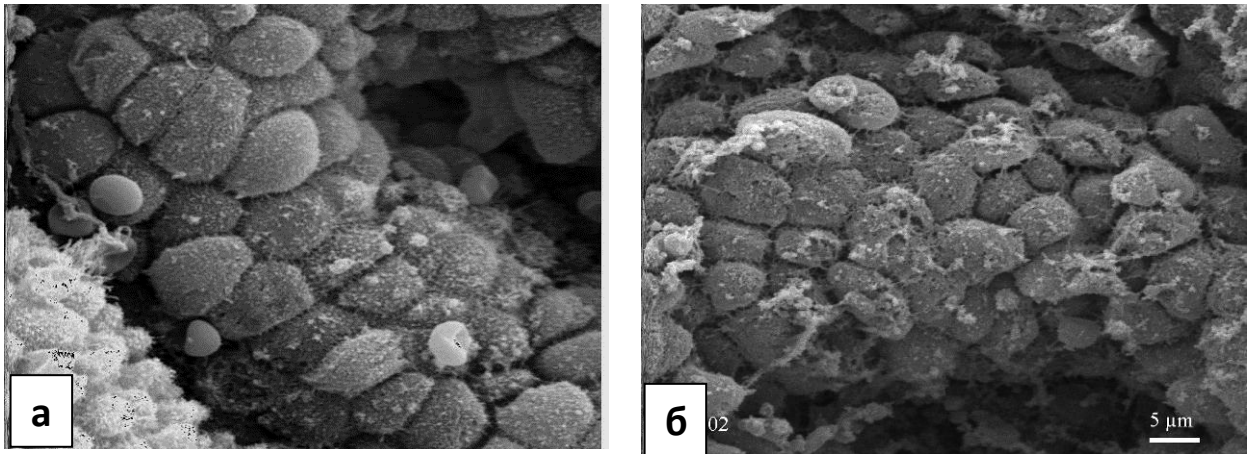


Рис. 4.8 Піноподії на 22-й день МЦ у пацієнтки з невдалими спробами ДРТ в анамнезі без гіперпластичних та запальних процесів в ендометрії: а – поля з великою кількістю повністю розвинених піноподій різної форми, з помірною кількістю мікрворсинок; б – поля піноподій, що розвиваються, навколо вустів залоз різних розмірів та форми, з помірною кількістю мікрворсинок. СЕМ. $\times 2000$. Шкала барів = 5 мкм.

Таким чином, формування піноподій в день передбачуваного вікна імплантації в ендометрії жінок гарних відповідачів з невдалими спробами ДРТ в анамнезі залежить від наявності в ньому таких патологічних процесів, як хронічне запалення та гіперпроліферація, але, навіть при їх відсутності відрізняється від такого у здорових фертильних жінок. Загальними відмінними рисами 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 пацієнток 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.

4.1.3. Особливості формування піноподій в залежності від ефективності останньої спроби ДРТ

Аналіз особливостей формування піноподій (табл. 4.5) та їх мікрворсинок (табл. 4.6) в ендометрії в залежності від ефективності останньої спроби ДРТ показав, що в групі В в 2,05 рази ($p < 0,01$) рідше зустрічалися пацієнтки з піноподіями, що розвиваються, і в 1,52 ($p < 0,01$) частіше з розвинутими піноподіями; в 1,50 рази ($p < 0,04$) рідше зустрічалися жінки з ділянками відсутності піноподій в ендометрії; в 1,45 ($p < 0,01$) – з різною формою піноподій і в 1,24 ($p < 0,03$) – з різними розмірами піноподій.

Таблиця 4.5

Розподіл піноподій в ендометрії досліджуваних жінок в день передбачуваного вікна імплантації в залежності від ефективності останньої спроби ДРТ, $n(P \pm p, \%)$

Група	Піноподії, що розвиваються	Розвинуті піноподії	Піноподії, що регресують	Ділянки відсутності піноподій	Різна форма піноподій	Різні розміри піноподій
ДРТ, n=140	50(35,71±0,51) ^к	60(42,86±0,55) ^к	30(21,43±0,39)	75(53,57±0,62) ^к	111(79,29±0,75) ^к	119(85,00±0,78) ^к
Н, n=80	30(37,50±0,69) ^{к,в}	35(43,75±0,74) ^{к,в}	16(20,00±0,50)	42(52,50±0,81) ^{к,в}	62(77,50±0,99) ^{к,в}	66(82,50±1,02) ^{к,в}
В, n=60	11(18,33±0,56) ^{к,н}	40(66,67±1,06) ^{к,н}	9(15,00±0,50)	21(35,00±0,77) ^{к,н}	32(53,33±0,95) ^{к,н}	40(66,67±1,06) ^{к,н}
К, n=30	0(0,00±0,00)	27(90,00±1,75)	3(10,00±0,59)	0(0,00±0,00)	0(0,00±0,00)	0(0,00±0,00)

Примітка. ^{к, н, в} – статистична різниця з показниками груп К, Н, В, $p < 0,05$.

Групи Н і В вірогідно не розрізнялися за чисельністю жінок з рясними та з помірною кількістю мікрворсинок. У пацієток з останньою вдалою спробою ДРТ в 1,70 рази частіше ($p < 0,04$) зустрічалися жінки з малою кількістю мікрворсинок (табл. 4.6).

Таблиця 4.6

**Кількісний розподіл мікрворсинок в ендометрії жінок в день
передбачуваного вікна імплантації в залежності
від ефективності останньої спроби ДРТ, n(P±p, %)**

Група	Рясні	Помірна кількість	Мала кількість
ДРТ, n=140	42(30,00±0,46) ^к	73(52,14±0,61) ^к	32(22,86±0,41) ^к
Н, n=80	24(30,00±0,62) ^к	42(52,50±0,81) ^к	18(22,50±0,53) ^{к,В}
В, n=60	15 (25,00±0,65) ^к	25 (41,67±0,84) ^к	23 (38,33±0,80) ^{к,Н}
Група К, n=30	0(0,00±0,00)	3(10,00±0,59)	27(90,00±1,75)

Примітка. ^{к, Н, В} –статистична різниця з показниками груп К, Н, В, p<0,05.

Таким чином, для пацієнок з невдалими імплантаціями в циклах ДРТ в анамнезі характерною рисою є наявність у жінок з останньою вдалою спробою порівняно з жінками з останньою невдалою спробою більш розвинутих піноподій, менш виражений мозаїцизм розмірів та форми та більше число випадків з малою кількістю мікрворсинок.

4.2. Особливості секреції ендометрієм молекул імплантації в жінок гарних відповідачів з невдалими спробами ДРТ в анамнезі в період передбачуваного вікна імплантації

4.2.1. Особливості секреції ендометрієм молекул імплантації в залежності від його відповідності фазі та дню МЦ

ЛІФ та $\alpha V\beta_3$ -інтегрини при ІГХ мали цитоплазматичний характер забарвлення, яке було найбільш виражене в апікальних і базальних відділах клітин.

Імунореактивність ЛІФ в ендометрії пацієнок контрольної групи варіювала від 206,90 до 302,20 ум.од., в середньому склала 282,67±3,26 ум.од. (рис.1), $\alpha V\beta_3$ -інтегринів – від 244,29 до 323,12 ум. од., в середньому дорівнювала 295,92±2,78 ум. од. (рис. 4.9, табл. 4.7).

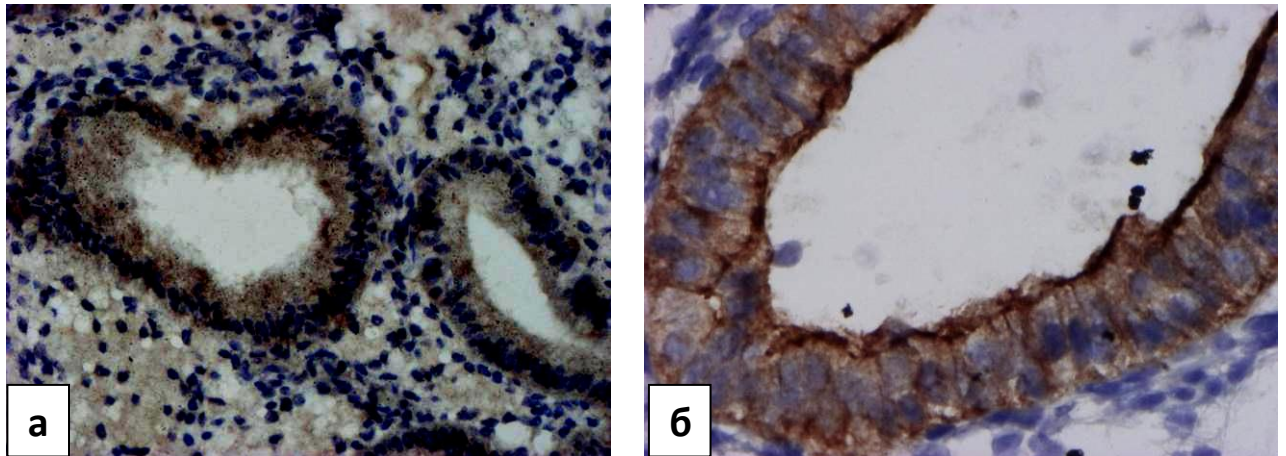


Рис. 4.9 Експресія ЛІФ (а) та $\alpha V\beta_3$ -інтегринів (б) в ендометрії на 22-й день МЦ у пацієнтки групи контролю. ІГХ-фарбування МАТ до ЛІФ (а) та $\alpha V\beta_3$ -інтегринів (б). $\times 150$ (а) та $\times 300$ (б).

Таблиця 4.7

Імунореактивність ЛІФ і $\alpha V\beta_3$ -інтегринів на 22-й день МЦ в ендометрії досліджуваних пацієнток в залежності від хронологічної відповідності його фази та дню МЦ ($M \pm m$), в ум. од.

Хронологічна відповідність ендометрія на 22-й день МЦ	HScore ЛІФ	HScore $\alpha V\beta_3$ -інтегринів
Фазі проліферації (n=18)	238,03 \pm 7,89 ^к	274,51 \pm 6,58 ^к
Ранній фазі секреції (n=25)	244,34 \pm 8,38 ^к	286,15 \pm 5,84
Середній фазі секреції (n=62)	267,45 \pm 4,07 ^к	299,13 \pm 3,66
Пізній фазі секреції (n=10)	263,44 \pm 14,47 ^к	276,47 \pm 4,98 ^к
Змішаної будови (n=25)	253,16 \pm 8,60 ^к	294,40 \pm 3,33 ^к
Група К, n=30	282,67 \pm 3,26	295,92 \pm 2,78

Примітка. ^к – статистична різниця з показниками групи К, $p < 0,05$.

У групі безплідних пацієнток з невдалими спробами ДРТ HScore ЛІФ варіював в межах від 202,30 до 298,60 ум. од., в середньому склав 256,39 \pm 3,24 ум. од., був менше порівняно з контролем в 1,10 рази ($p < 0,01$). Характерною була нерівномірна експресія ЛІФ. HScore $\alpha V\beta_3$ -інтегринів варіював від 216,17 до 341,50

ум. од., в середньому склав $290,60 \pm 2,37$ ум. од. і вірогідно від контрольних показників не відрізнявся.

Був проведений аналіз експресії ЛПФ і $\alpha V\beta_3$ -інтегринів в день передбачуваного вікна імплантації у безплідних пацієнок гарних відповідачів з невдалими спробами ДРТ залежно від відповідності морфофункціонального стану ендометрія дню і фазі МЦ (див. табл. 4.5).

При морфофункціональній невідповідності ендометрія фазі і дню МЦ тенденції змін експресії ЛПФ і $\alpha V\beta_3$ -інтегринів в день передбачуваного вікна імплантації відповідали вище виявленим загальним: при відповідності ендометрія фазі проліферації (рис. 4.10) HScore ЛПФ склав від аналогічних показників контрольної групи $84,21 \pm 2,79$ % ($p < 0,01$), HScore $\alpha V\beta_3$ -інтегринів – $92,76 \pm 2,22$ % ($p < 0,01$); при відповідності ранній фазі секреції (рис. 4.11) – $86,44 \pm 2,96$ % ($p < 0,01$), $96,70 \pm 1,97$ % ($p > 0,05$); середній фазі секреції (рис. 4.12) – $94,61 \pm 1,44$ % ($p < 0,01$), $101,09 \pm 1,24$ % ($p > 0,05$); пізній фазі секреції (рис. 4.13) – $93,20 \pm 5,12$ % ($p < 0,01$), $93,43 \pm 1,68$ % ($p < 0,01$); в ендометрії змішаної будови (рис. 4.14) – $89,56 \pm 3,04$ % ($p < 0,01$), $99,49 \pm 1,12$ % ($p < 0,01$).

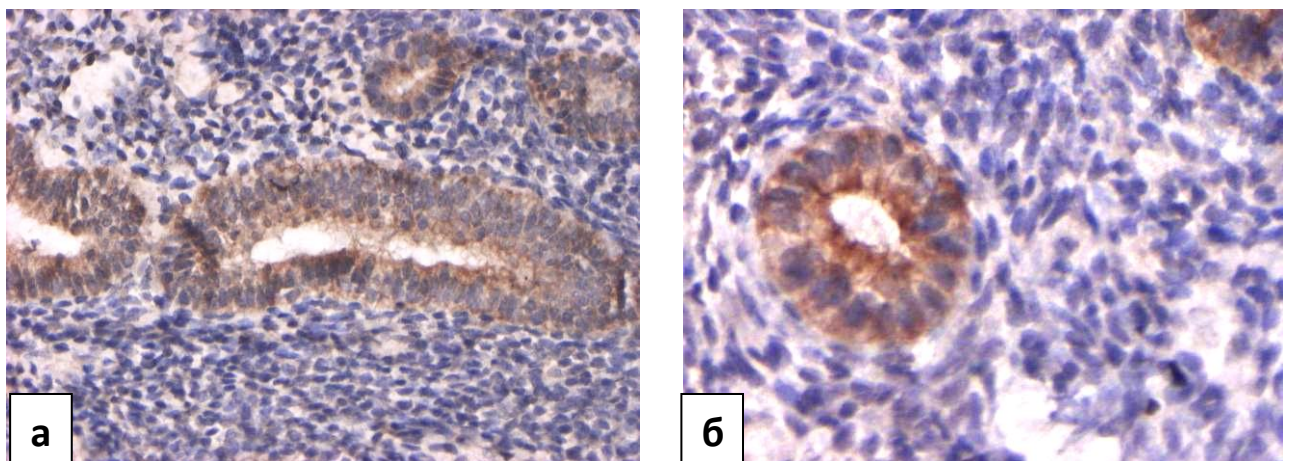


Рис. 4.10 Знижена та нерівномірна експресія ЛПФ (а) та $\alpha V\beta_3$ -інтегринів (б) в ендометрії на 22-й день МЦ у пацієнтки з відповідністю ендометрія на 22-й день МЦ фазі проліферації. ІГХ-фарбування МАТ до ЛПФ (а) та $\alpha V\beta_3$ -інтегринів (б). $\times 150$ (а) та $\times 150$ (б).

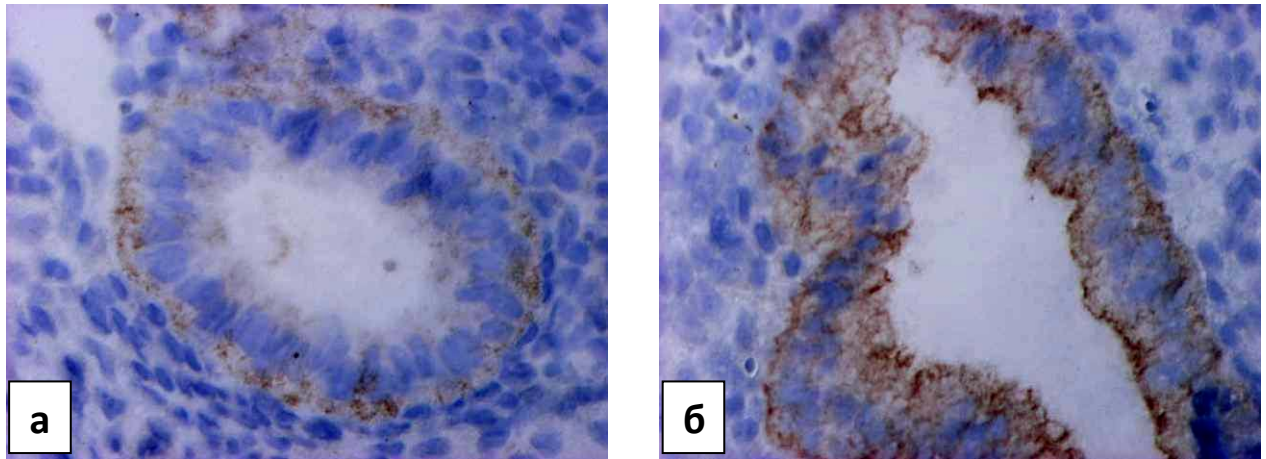


Рис. 4.11 Знижена та нерівномірна експресія ЛІФ (а) та нормальна $\alpha V\beta_3$ -інтегринів (б) в ендометрії на 22-й день МЦ у пацієнтки з відповідністю ендометрія на 22-й день МЦ фазі ранньої секретії. ІГХ-фарбування МАТ до ЛІФ (а) та $\alpha V\beta_3$ -інтегринів (б). $\times 300$ (а) та $\times 300$ (б).

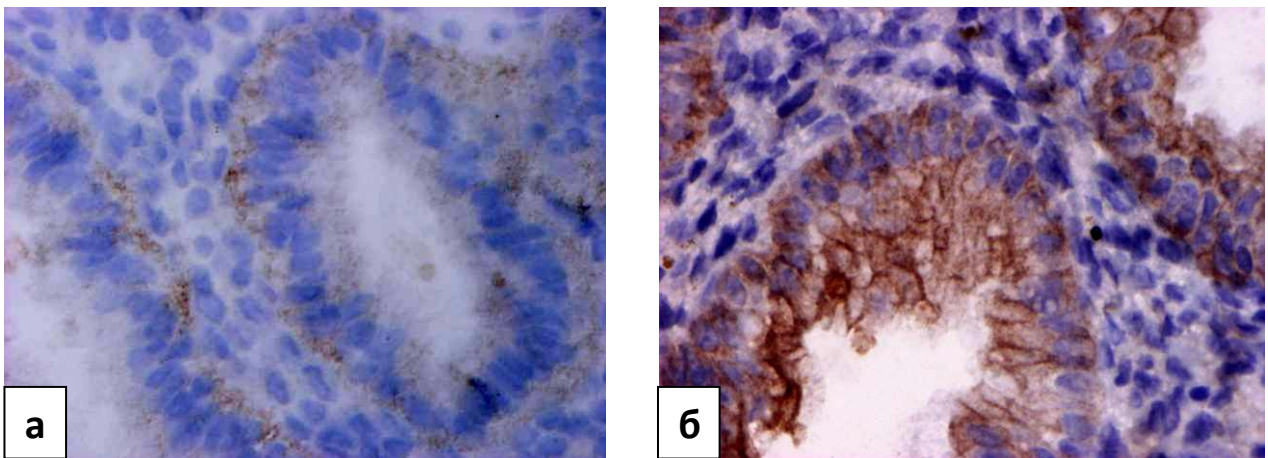


Рис. 4.12 Знижена та нерівномірна експресія ЛІФ (а) та нормальна $\alpha V\beta_3$ -інтегринів (б) в ендометрії на 22-й день МЦ у пацієнтки з відповідністю ендометрія на 22-й день МЦ фазі середньої секретії. ІГХ-фарбування МАТ до ЛІФ (а) та $\alpha V\beta_3$ -інтегринів (б). $\times 300$ (а) та $\times 300$ (б).

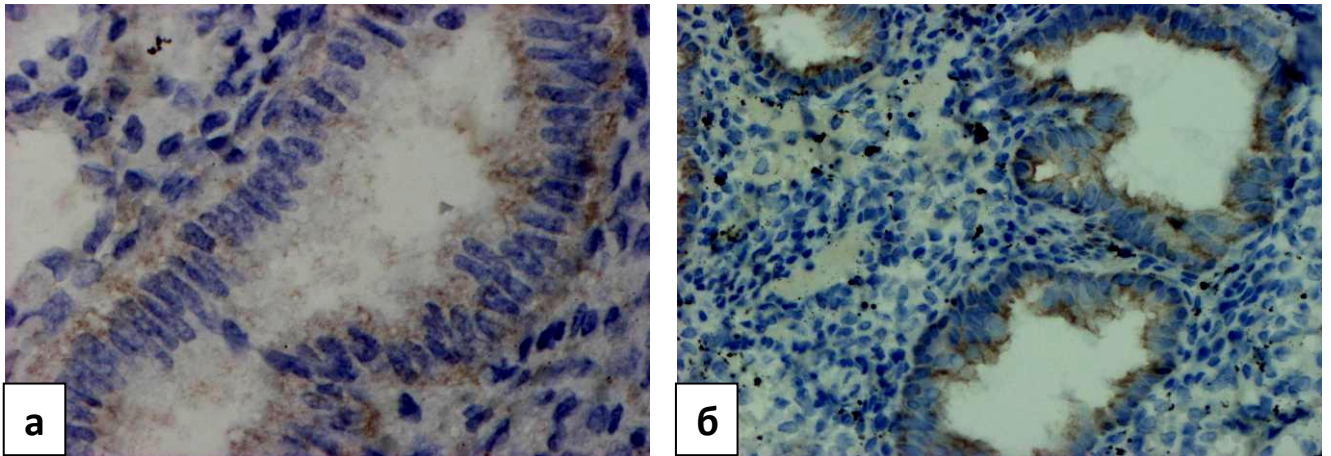


Рис. 4.13 Знижена експресія ЛІФ (а) та $\alpha V\beta_3$ -інтегринів (б) в ендометрії на 22-й день МЦ у пацієнтки з відповідністю ендометрія на 22-й день МЦ фазі пізньої секреції. ІГХ-фарбування МАТ до ЛІФ (а) та $\alpha V\beta_3$ -інтегринів (б). $\times 300$ (а) та $\times 150$ (б).

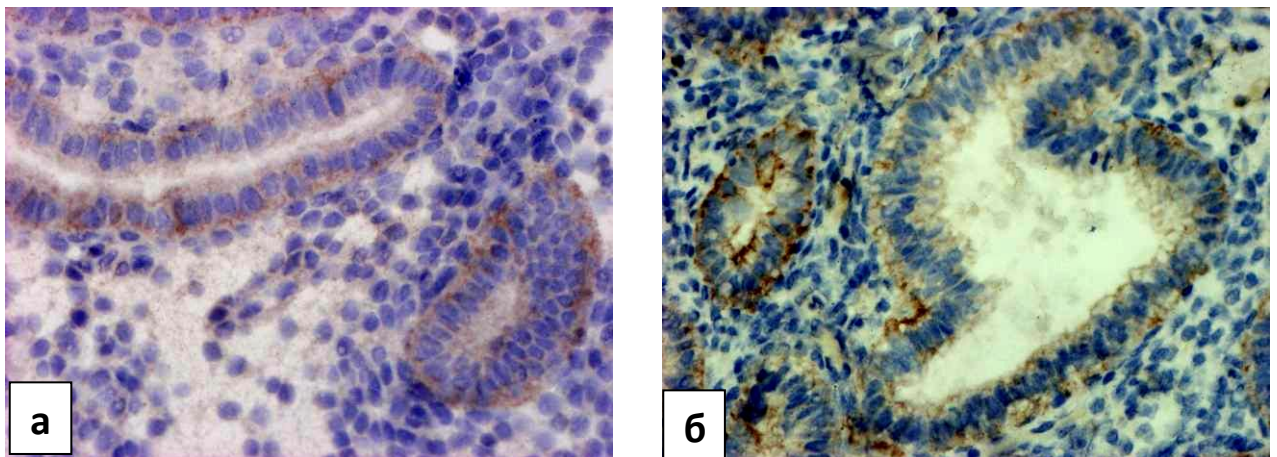


Рис. 4.14 Знижена та нерівномірна експресія ЛІФ (а) та $\alpha V\beta_3$ -інтегринів (б) в ендометрії на 22-й день МЦ у пацієнтки зі змішаною будовою ендометрія на 22-й день МЦ фазі пізньої секреції. ІГХ-фарбування МАТ до ЛІФ (а) та $\alpha V\beta_3$ -інтегринів (б). $\times 187$ (а) та $\times 187$ (б).

Таким чином, експресія молекул імплантації залежить від хронологічної відповідності морфофункціонального стану ендометрія фазі і дню МЦ і збільшується та зменшується відповідно зростанню та регресії секреторних змін. В ендометрії безплідних жінок гарних відповідачів з невдалими спробами ДРТ в

анамнезі реєструється зниження продукції ЛІФ в 1,10 рази ($p < 0,01$), в той час як експресія $\alpha V\beta_3$ -інтегринів взагалі вірогідно не відрізняється від контрольних показників, хоча відмічається вірогідна різниця секреції ендометрієм $\alpha V\beta_3$ -інтегринів порівняно зі здоровими фертильними жінками при хронологічній відповідності його в день передбачуваного вікна імплантації фазі проліферації, пізньої секреції та при змішаній його будові.

4.2.2. Особливості секреції ендометрієм молекул імплантації в залежності від наявності в ньому гіперпластичних та запальних процесів

Була проаналізована експресія ЛІФ і $\alpha V\beta_3$ -інтегринів в день передбачуваного вікна імплантації у безплідних пацієнток гарних відповідей з невдалими спробами ДРТ в залежності від наявності запальних та гіперпластичних процесів в ендометрії (табл. 4.8).

Таблиця 4.8

Імунореактивність ЛІФ і $\alpha V\beta_3$ -інтегринів на 22-й день в ендометрії досліджуваних груп в залежності від наявності в ньому запальних та гіперпроліферативних процесів ($M \pm m$), в ум. од.

Наявність патологічних процесів в ендометрії	HScore ЛІФ	HScore $\alpha V\beta_3$ -інтегринів
Хронічний ендометрит (n=64)	259,39 \pm 5,03 ^к	302,13 \pm 2,90 ^{2,3}
Гіперпластичні процеси ендометрія (n=44)	251,48 \pm 5,56 ^к	273,85 \pm 4,04 ^{к,1,3}
Без гіперпластичних та запальних процесів (n=32)	257,12 \pm 6,49 ^к	290,56 \pm 4,94 ^{1,2}
Група К, n=30	282,67 \pm 3,26	295,92 \pm 2,78

Примітка. ^{к, 1, 2, 3} –статистична різниця з показниками групи К, групи з хронічним ендометритом, групи з гіперпластичними процесами, групи без гіперпластичних і запальних процесів, $p < 0,05$.

Для ендометрія, в якому спостерігалися явища хронічного ендометриту (рис. 4.15), було характерне зниження HScore ЛІФ, який склав від аналогічних

показників контрольної групи $91,77 \pm 1,78$ % ($p < 0,01$); тоді як HScore $\alpha V\beta_3$ -інтегринів вірогідно не відрізнявся і дорівнював $102,10 \pm 0,98$ % ($p > 0,05$). При гіперпластичних процесах ендометрія була знижена як експресія ЛІФ ($88,96 \pm 1,97$ %, $p < 0,01$), так і $\alpha V\beta_3$ -інтегринів ($92,54 \pm 1,36$ %, $p < 0,01$) (рис. 4.16). У пацієток без явищ хронічного ендометриту та гіперпластичних процесів (рис. 4.17) реєструвалося зменшення HScore ЛІФ, 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 ($98,19 \pm 1,67$ %, $p > 0,05$).

Для кожної хворої була характерна своя індивідуальна експресія молекул імплантації. У пацієток з хронічним ендометритом відсоток HScore ЛІФ від аналогічних показників контрольної групи в ендометрії варіював від 73,68 до 107,88 %, HScore $\alpha V\beta_3$ -інтегринів – від 83,00 до 109,62 %; з гіперпластичними процесами ендометрія – від 74,59 до 84,19 %; без явищ хронічних запальних і гіперпластичних процесів – від 75,74 до 107,10 % і від 84,04 до 115,40 %.

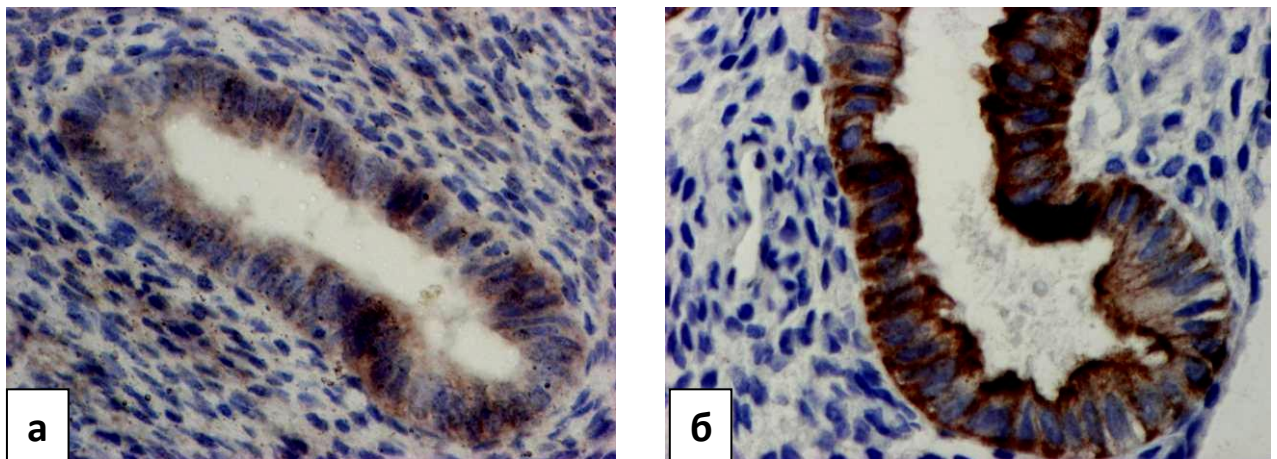


Рис. 4.15 Експресія молекул імплантації в ендометрії у пацієтки з невдалими спробами ДРТ в анамнезі та з хронічним ендометритом на 22-й день МЦ: а – знижена та нерівномірна експресія ЛІФ в ендометрії ІГХ-фарбування МАТ до ЛІФ. $\times 187$; б – нерівномірна, але не знижена експресія $\alpha V\beta_3$ -інтегринів. ІГХ-фарбування МАТ до $\alpha V\beta_3$ -інтегринів. $\times 300$.

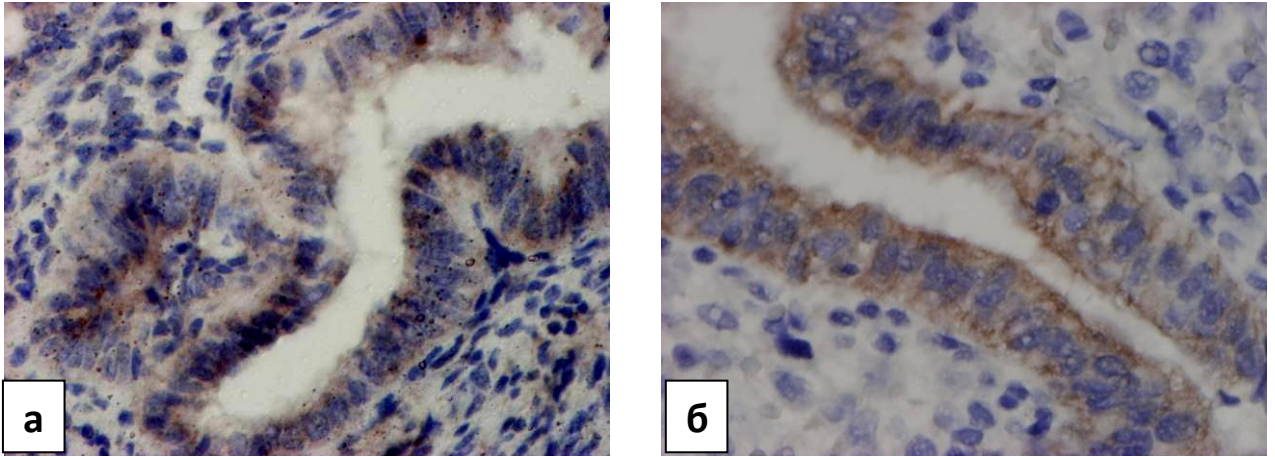


Рис. 4.16 Експресія молекул імплантації у пацієнтки з невдалими спробами ДРТ в анамнезі та з гіперпластичними процесами в ендометрії на 22-й день МЦ: а – знижена та нерівномірна експресія ЛІФ ; ІГХ-фарбування МАТ до ЛІФ. $\times 187$; б – знижена та нерівномірна експресія $\alpha V\beta_3$ -інтегринів; ІГХ-фарбування МАТ до $\alpha V\beta_3$ -інтегринів. $\times 300$.

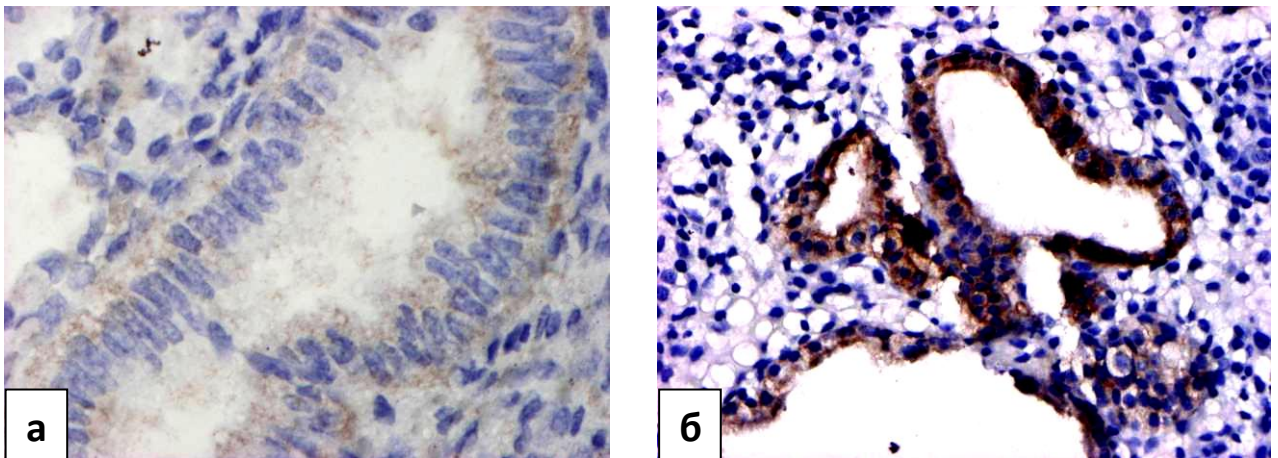


Рис. 4.17 Експресія молекул імплантації у пацієнтки з невдалими спробами ДРТ в анамнезі та без запальних та гіперпластичних процесів в ендометрії на 22-й день МЦ: а – знижена експресія ЛІФ; ІГХ-фарбування МАТ до ЛІФ. $\times 300$; б – нерівномірна, але не знижена експресія $\alpha V\beta_3$ -інтегринів. ІГХ-фарбування МАТ до $\alpha V\beta_3$ -інтегринів. $\times 150$.

Таким чином, в ендометрії жінок гарних відповідачів з невдалими спробами ДРТ в анамнезі реєструється зниження і нерівномірна продукція ЛІФ 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 відрізняється від контрольних показників лише при наявності гіперплазії – менше в 1,08 рази ($p < 0,01$).

4.2.3. Особливості секреції ендометрієм молекул імплантації в залежності від ефективності останньої спроби ДРТ.

Проаналізовані особливості секреції ендометрієм молекул імплантації в залежності від ефективності останньої спроби ДРТ (табл. 4.9).

Таблиця 4.9

Імунореактивність ЛІФ і $\alpha V\beta_3$ -інтегринів на 22-й день в ендометрії досліджуваних груп в залежності від наявності в ньому запальних та гіперпроліферативних процесів ($M \pm m$), в ум. од.

Група	HScore ЛІФ	HScore $\alpha V\beta_3$ -інтегринів
ДРТ, n=140	256,39 \pm 3,24 ^к	291,97 \pm 2,37
Н, n=80	249,17 \pm 4,14 ^{к,в}	289,57 \pm 3,16
В, n=60	266,01 \pm 4,94 ^{к,н}	291,97 \pm 3,62
К, n=30	282,67 \pm 3,26	295,92 \pm 2,78

Примітка. ^{к, н, в} – статистична різниця з показниками груп К, Н, В, $p < 0,05$.

Як видно з табл. 4.9, що у жінок з останньою невдалою спробою порівняно з жінками з останньою вдалою спробою була знижена секреція ЛІФ в 1,07 рази ($p < 0,01$), тоді як секреція $\alpha V\beta_3$ -інтегринів вірогідно не відрізнялася.

Таким чином, для пацієток з невдалими імплантаціями в циклах ДРТ в анамнезі характерною рисою є те, що у жінок з останньою невдалою спробою порівняно з жінками з останньою вдалою спробою знижена секреція ЛІФ в 1,07 рази ($p < 0,01$).

РОЗДІЛ 5
ДЕЯКІ ОСОБЛИВОСТІ ЗАГАЛЬНОЇ ТА ЕНДОМЕТРІАЛЬНОЇ
ІМУНОРЕАКТИВНОСТІ У ПАЦІЄНТОК ГАРНИХ ВІДПОВІДАЧІВ З
НЕВДАЛИМИ СПРОБАМИ ДРТ В АНАМНЕЗІ

5.1. Вміст субпопуляцій НК-клітин в периферичній крові в жінок з невдалими спробами ДРТ в анамнезі

Аналіз субпопуляцій НК-клітин периферичної крові показав, що для жінок, які мали успішну триваючу вагітність, середнє значення абсолютної кількості CD16⁺CD69⁺НК-клітин було $(0,58 \pm 0,12) \times 10^6/\text{л}$. Для тих жінок, які не змогли досягти вагітності, середнє значення абсолютного числа CD56^{dim}CD16⁺CD69⁺НК-клітин $(1,62 \pm 0,52) \times 10^6/\text{л}$ було вище в 2,79 рази ($p < 0,01$). Абсолютна кількість CD94 і CD16 експресії CD56^{dim}НК-клітинами і CD56^{bright}НК-клітинами не мала суттєвої різниці між жінками з успішними і невдалими спробами ДРТ (табл. 5.1).

Таблиця 5.1

Рівень субпопуляцій НК-клітин у периферичній крові ($M \pm m$), у $\times 10^6/\text{л}$

Показник	Група Н (n=80)	Група В (n=60)
CD56 ^{dim} CD16 ⁺ CD69 ⁺	1,62±0,52*	0,58±0,12
CD56 ^{dim} CD16 ⁺ CD94 ⁺	138,2±8,2	151,4±6,3
CD56 ^{dim} CD16 ⁺	218,5±10,1	228,56±8,7
CD56 ^{bright} CD69 ⁺	0,30±0,08	0,29±0,09
CD56 ^{bright} CD94 ⁺	16,2±0,4	16,8±0,6

Примітка: * – статистична різниця з показником групи В ($p < 0,05$).

У роботі [113] було показано, що рівень CD56^{dim}CD16⁺CD69⁺ НК клітин $1,0 \times 10^6/\text{л}$ 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⁺НК-клітин < 1,0×10⁶/л, на групу II (n=61), де жінки мали число CD69⁺>1,0×10⁶/л. Табл. 5.2 показує, що не спостерігалось жодних істотних відмінностей між групою I і II щодо віку, причин і тривалості безпліддя і базального рівня ФСГ.

Таблиця 5.2

Дані клінічної характеристики та результатів стимуляції в циклах ДРТ жінок досліджуваних груп в залежності від порігового рівня CD69⁺ НК-клітин (1,0×10⁶/л)

Показник	Група I CD69 ≤1,0×10 ⁶ /л, (n=79)	Група II CD69 >1,0×10 ⁶ /л, (n=61)
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>
Вік (у роках) (M±m)	31,98±4,7	32,01±3,8
Трубний фактор, n(%)	17(21,52)	16(26,23)
Чоловічий фактор, n(%)	19(24,05)	18(29,51)
Ановуляція, n(%)	23(29,11)	12(19,67)
Безпліддя невстановленої етіології, n(%)	20(25,32)	15(24,59)
Тривалість безпліддя (у роках) (M±m)	5,02±0,24	5,14±0,32
Базальний рівень ФСГ (МО/л) (M±m)	7,68±0,21	7,77±0,25
Середня кількість попередніх невдалих спроб ДРТ (M±m)	1,19±0,33*	2,54±0,48
Середня кількість попередніх мимовільних абортів (M±m)	0,18±0,02*	0,41±0,06
Середня кількість р ФСГ, затраченого для стимуляції (МО)	3050,8±91,2	3356,1±105,4
E ₂ (пг/мл) в день введення тригера овуляції (M±m)	8524,6±105,1	7425,3±98,2
Середня кількість забраних овоцитів (M±m)	12,8±1,1	11,86±1,2
Частота фертилізації (%)	63,29	70,49
Число отриманих ембріонів (M±m)	8,95±1,03	7,82±0,91

Продовження таблиці 5.2

1	2	3
Частота імплантації, (n) %	44,30* (35/79)	13,11 (8/61)
Число вагітностей на цикл, n(%)	39,24* (31/79)	11,48 (7/61)
Кількість живонароджень на цикл, n(%)	35,44* (28/79)	4,92 (3/61)
Частота викиднів, n(%)	9,68* (3/31)	57,14 (4/7)

Примітка: * – статистична різниця з показником групи В (p<0,05).

Середнє число попередніх невдалих спроб ДРТ і середнє число попередніх викиднів були вище в 2,13 (p<0,01) рази і в 2,28 (p<0,01) в групі II порівняно з групою I. Не було ніякого істотного розходження між двома групами щодо кількості використаного гонадотропіну для стимуляції, рівня естрадіолу в день введення ХГЛ, кількості зібраних овоцитів, частоти запліднення, кількості отриманих ембріонів для переносу. 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).

При оцінці CD56^{bright}CD69+НК-клітин, субпопуляції НК-клітин, яка фенотипично схожа на маткові кілери, виявлено, що рівень периферичних клітин CD56^{bright}CD69+НК достовірно не відрізнявся між вагітними і невагітними групами. Не виявлено ніякого зв'язку між абсолютним числом CD56^{dim}CD16+CD94+НК-клітин і CD56^{bright}CD94+НК-клітин з підсумками ДРТ.

Результати показують, що для жінок з рівнем CD56^{dim}CD16+D69+НК-клітин > 1,0×10⁶/л, частота імплантації та настання вагітності була значно нижчою і відсоток викиднів була значно вище в порівнянні з жінками з CD56^{dim}CD16+D69+НК-клітин нижче цього рівня. Дані також показують, що жінки з підвищеним числом в периферичній крові CD56^{dim}CD16+D69+НК-клітин

мали значно більшу кількість попередніх викиднів і попередніх невдалих спроб ДРТ, незважаючи на те, що не було ніяких статистично значущих клінічних відмінностей між вагітними і невагітними групами.

Таким чином, підвищені активовані НК-клітини в периферичній крові можуть грати шкідливу роль в результатах лікування методом ДРТ і пов'язані зі зниженою частотою імплантації ембріонів, збереження вагітності і живонародження в циклах ДРТ. Жінки з підвищеним рівнем CD56^{dim}CD16+CD69+НК-клітин, які досягають вагітності після ДРТ, мають значно вищий відсоток викиднів.

5.2. Вміст загального лейкоцитарного антигену (LCA) та субпопуляцій НК-клітин в ендометрії в жінок з невдалими спробами ДРТ в анамнезі

Було проведено вивчення деяких особливостей LCA та субпопуляцій НК-клітин ендометрія у жінок-гарних відповідачів з невдалими спробами ДРТ в анамнезі.

У цієї когорти пацієток кількість імунопозитивних CD45+(LCA) в ендометрії на 22-й день МЦ варіювала від 16,32 до 250,90 ‰ і в середньому склала $123,05 \pm 6,91$ ‰, що перевищувало аналогічний показник в контролі ($32,03 \pm 1,14$ ‰) в 3,84 рази ($p < 0,01$) (рис. 5.1).

Вміст CD56+НК в ендометрії жінок групи ДРТ був в межах від 9,97 до 213,28 ‰ і в середньому дорівнював $76,50 \pm 4,16$ ‰, що перевищувало такий вміст у пацієток групи К ($6,06 \pm 0,36$ ‰) в 12,62 рази ($p < 0,01$) (рис. 5.2).

Кількість імунопозитивних клітин до МАТ до CD16+НК в ендометрії жінок групи ДРТ була від 5,64 до 112,93 ‰, в середньому – $41,68 \pm 1,98$ ‰, що було більше аналогічного рівня в контрольній групі ($1,47 \pm 0,15$ ‰) в 28,35 рази ($p < 0,01$) (рис. 5.4).

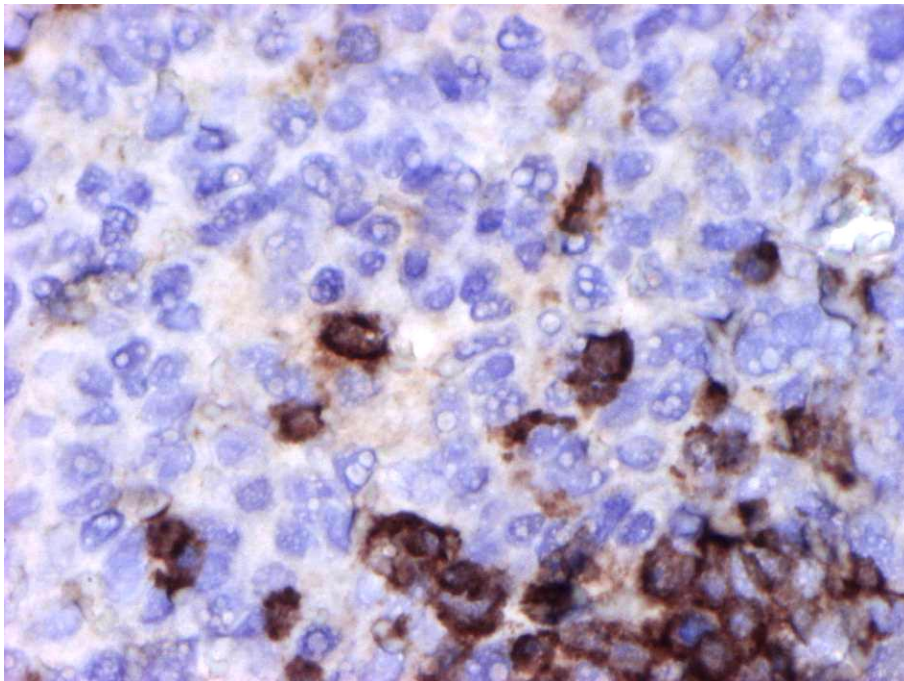


Рис. 5.1 Підвищений вміст CD45+ (130,80 %) в стромі ендометрія у пацієнтки з невдалими спробами ДРТ на 22-й день МЦ. ІГХ з МАТ до CD45+, $\times 300$.

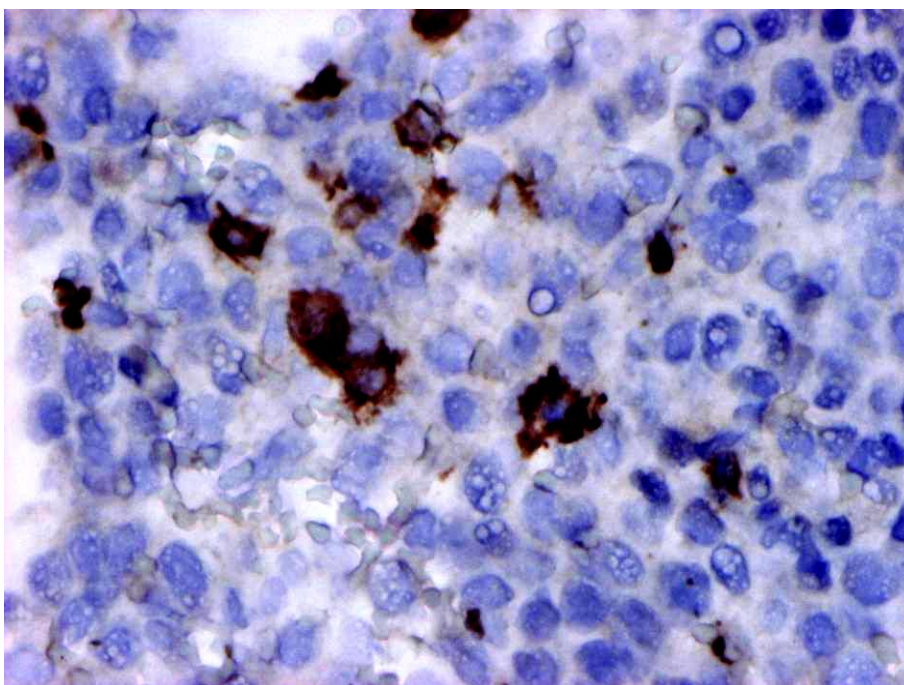


Рис. 5.2 Підвищена інфільтрація CD56+НК (59,87 %) в стромі ендометрія у пацієнтки з невдалими спробами ДРТ на 22-й день МЦ. ІГХ з МАТ до CD56+, $\times 300$.

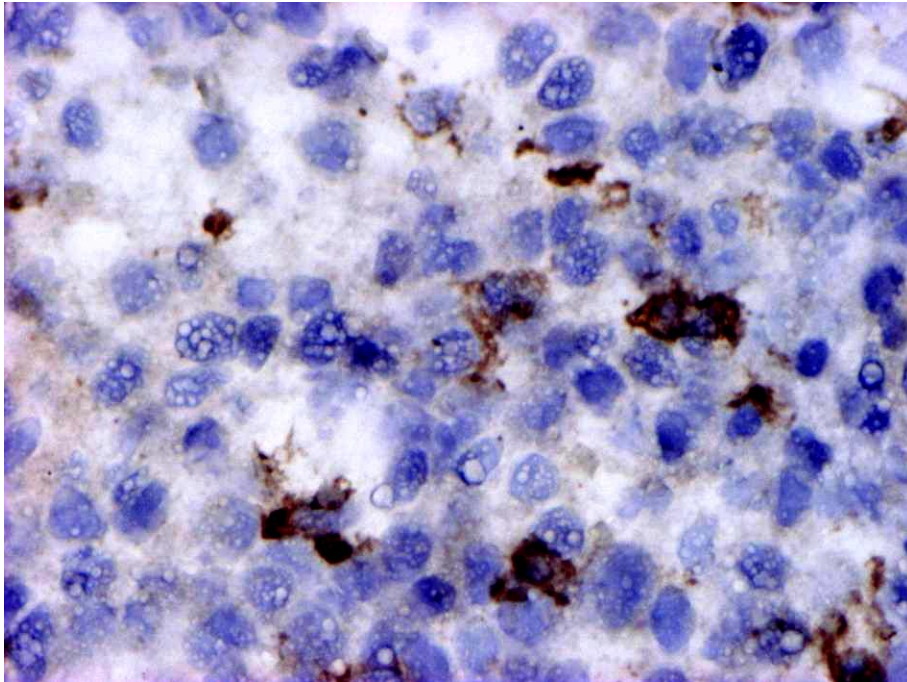


Рис. 5.3 Підвищена інфільтрація CD16+НК (72,64 %) в стромі ендометрія у пацієнтки з невдалими спробами ДРТ на 22-й день МЦ. ІГХ з МАТ до CD16+, $\times 300$.

Індекс CD16+/CD56+ у пацієток групи ДРТ варіював від 0,11 до 1,26, в середньому сягав $0,60 \pm 0,02$, що було більше таких середніх показників контролю ($0,25 \pm 0,03$) відповідно в 2,40 ($p < 0,01$) рази.

Таким чином, у пацієток гарних відповідей в циклах ДРТ з невдалими імплантаціями в анамнезі спостерігається підвищення інфільтрації ендометрія в день передбачуваного вікна імплантації CD45+ в 3,84 рази ($p < 0,01$), CD56+НК – в 12,62 ($p < 0,01$), CD16+НК – в 28,35 ($p < 0,01$).

5.2.1. Вміст LCA та субпопуляцій НК-клітин в ендометрії у пацієток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі в залежності від хронологічної відповідності морфофункціонального стану ендометрія дню та фазі МЦ за критеріями R.W. Noyes і О.И. Топчиевой

При хронологічній невідповідності морфофункціонального стану ендометрія фазі і дню МЦ тенденції змін експресії CD45+, CD56+НК, CD16+НК і співвідношення CD16+/CD56+ в день передбачуваного вікна імплантації відповідали вище виявленим загальним тенденціям (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

Вміст LCA та субпопуляцій НК-клітин в ендометрії у досліджуваних групах в період передбачуваного вікна імплантації в залежності від хронологічної відповідності його морфофункціонального стану дню та фазі МЦ за критеріями R.W. Noyes і О.И. Топчиевой

Хронологічна відповідність ендометрія на 22-й день МЦ	CD45+, ‰	CD56+НК, ‰	CD16+НК, ‰	CD16+/ CD56
Фазі проліферації (n=18)	115,65±12,70 ^к	54,56±7,10 ^к	32,93±5,49 ^к	0,58±0,04 ^к
Ранній фазі секреції (n=25)	76,21±5,98 ^к	44,09±5,63 ^к	29,68±4,55 ^к	0,66±0,04 ^к
Середній фазі секреції (n=62)	127,27±7,84 ^к	87,89±6,17 ^к	46,46±3,09 ^к	0,57±0,02 ^к
Пізній фазі секреції (n=10)	194,73±15,87 ^к	160,16±20,93 ^к	61,32±6,50 ^к	0,48±0,10 ^к
Змішаної будови (n=25)	88,03±3,97 ^к	63,00±1,31 ^к	40,26±2,74 ^к	0,64±0,04 ^к
К, n=30	32,03±1,14	6,06±0,36	1,47±0,15	0,25±0,03

Примітка. ^к – статистична різниця з показниками групи К, p<0,05.

При відповідності ендометрія фазі проліферації вміст CD45+ в ньому вірогідно перевищував аналогічні показники контрольної групи в 3,61 рази; CD56+НК – в 9,00; CD16+НК – в 22,40; CD16+/CD56+ – в 2,33; при відповідності ранній фазі секреції – в 2,38 рази; в 20,19; в 47,28; в 2,65; при відповідності середній фазі секреції – в 3,97 рази; в 14,50; в 31,60 ; в 2,30; при відповідності пізній фазі секреції – в 6,08 рази; 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.

З наведених даних видно, що найбільше збільшення експресії CD45+, CD56+НК і високоцитотоксичних CD16+НК спостерігалось при відповідності ендометрія пізній і середній фазі секреції, а найбільша диспропорція між їх вмістом – при відповідності фазі проліферації.

Таким чином, у пацієток гарних відповідачів в циклах ДРТ з невдалими імплантаціями в анамнезі спостерігається підвищення інфільтрації ендометрія в день передбачуваного вікна імплантації CD45+, CD56+НК, CD16+НК при різній хронологічній відповідності морфофункціонального стану ендометрія фазі і дню МЦ, при цьому найбільше їх збільшення спостерігалось при відповідності ендометрія пізній і середній фазі секреції, а найбільш виражена диспропорція між їх вмістом – при відповідності фазі проліферації.

5.2.2 Вміст LCA та субпопуляцій НК-клітин в ендометрії у пацієток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі в залежності від наявності в ньому хронічних запальних та гіперпроліферативних процесів

При аналізі імунореактивних клітин в ендометрії у безплідних пацієток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі залежно від гістологічного діагнозу встановлено, що у пацієток з хронічним ендометритом вміст CD45+ вірогідно перевищував аналогічні показники контрольної групи в 3,58 рази (рис. 5.4); CD16+НК – в 32,27 (рис. 5.5); CD56+НК – в 13,39 (рис. 5.6); CD16+/CD56+ – 2,44; з гіперпластичними процесами – відповідно в 3,50 рази (рис. 5.7); в 25,06 (рис. 5.8); в 11,44 (рис. 5.9); в 2,27; в ендометрії без явищ гіперпластичних і запальних – в 3,66 рази (рис. 5.10); в 25,44 (рис. 5.11); в 12,74 (рис. 5.12); в 2,36 (табл. 5.3).

Як видно з табл. 5.3, що досліджувані групи з різними гістологічними діагнозами стану ендометрія відрізнялися між собою лише за експресією CD16+НК, 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 ($p < 0,05$).

Таблиця 5.3

Вміст LCA та субпопуляцій НК-клітин в ендометрії у пацієнток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі в період передбачуваного вікна імплантації в залежності від наявності хронічних запальних та гіперпроліферативних процесів (P±p)

Наявність патологічних процесів в ендометрії	CD45+, ‰	CD16+НК, ‰	CD56+НК, ‰	CD16+/ CD56
Хронічний ендометрит (n=64)	114,53±7,13 к	47,28±2,87 к,2,3	81,10±5,23 к	0,61±0,02 к
Гіперпластичні процеси ендометрія (n=44)	112,28±7,54 к	36,72±3,31 к,1	69,28±6,22 к	0,57±0,03 к
Без гіперпластичних та запальних процесів (n=32)	117,37±12,35 к	37,28±4,33 к,1	77,21±12,25 к	0,59±0,04 к
Група К, n=30	32,03±1,14	1,47±0,15	6,06±0,36	0,25±0,03

Примітка. ^{к, 1, 2, 3} – статистична різниця з показниками групи К, групи з хронічним ендометритом, групи з гіперпластичними процесами, групи без гіперпластичних і запальних процесів, $p < 0,05$.

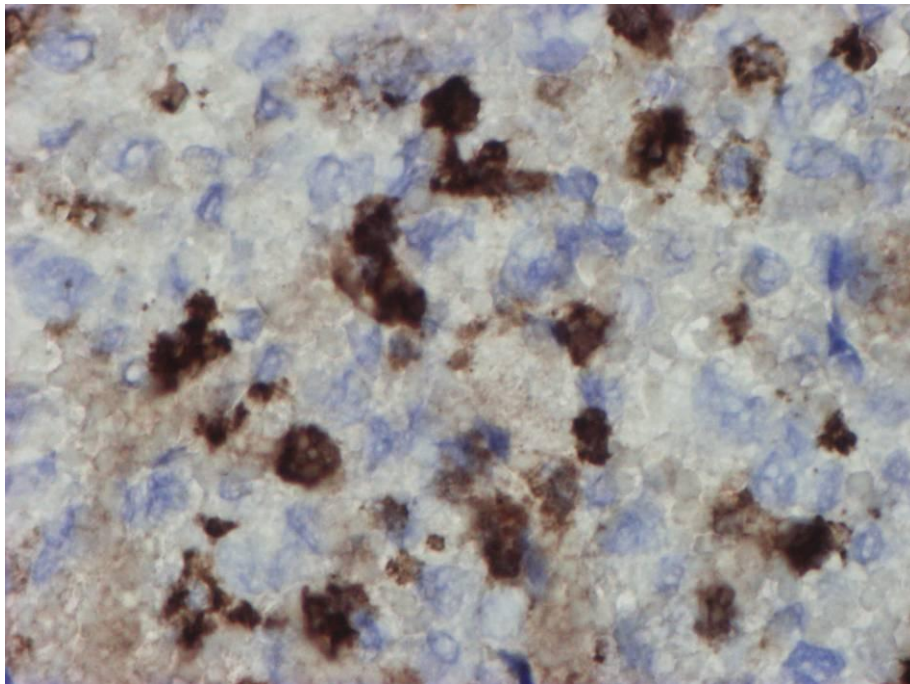


Рис. 5.4 Підвищений вміст CD45+ в стромі ендометрія у пацієнтки з хронічним ендометритом та невдалими спробами ДРТ на 22-й день МЦ. ІГХ з МАТ до CD45+, вірогідно $\times 300$.

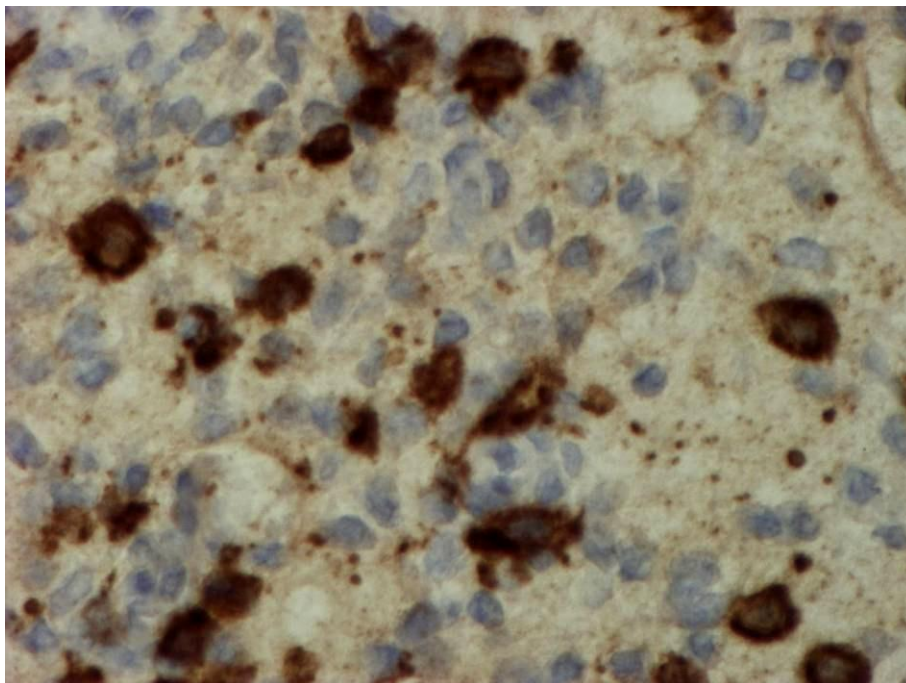


Рис. 5.5. Підвищений вміст CD56+НК в стромі ендометрія у пацієнтки з хронічним ендометритом та невдалими спробами ДРТ на 22-й день МЦ. ІГХ з МАТ до CD56+, $\times 300$.

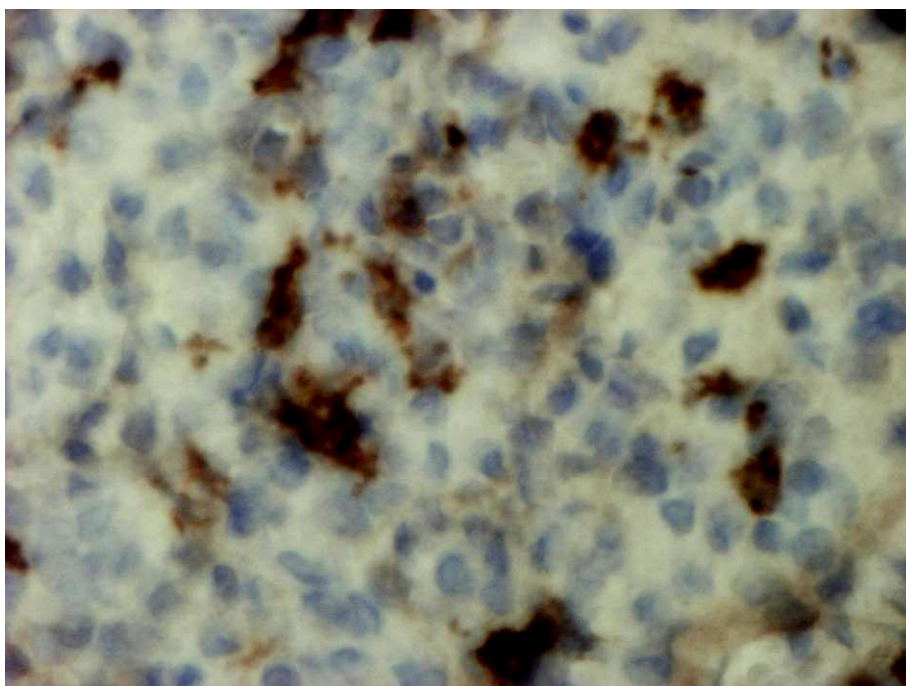


Рис. 5.6 Підвищений вміст CD16+НК в стромі ендометрія у пацієнтки з хронічним ендометритом та невдалими спробами ДРТ на 22-й день МЦ. ІГХ з МАТ до CD16+, $\times 300$.

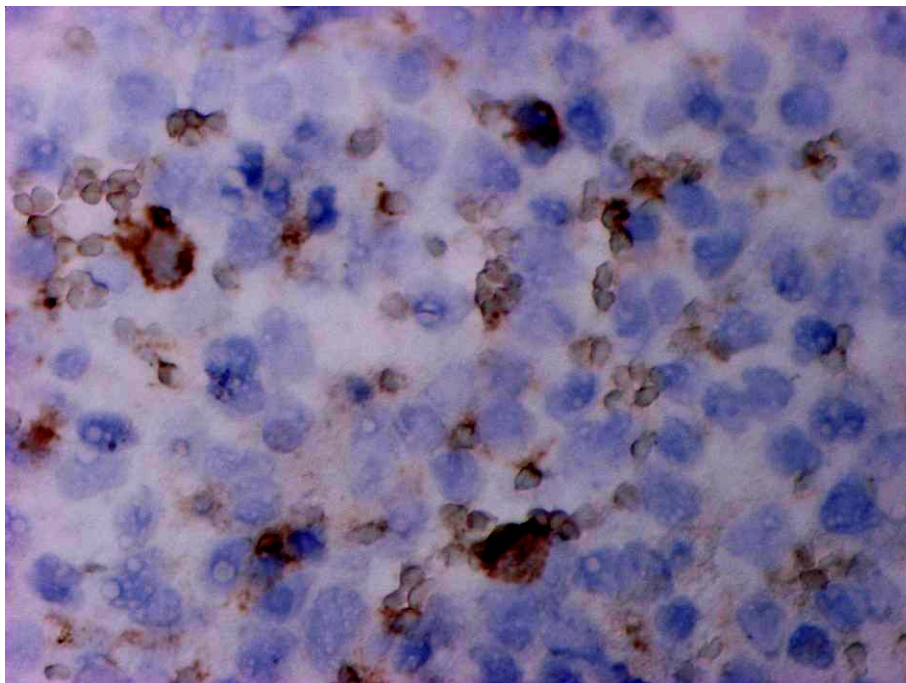


Рис. 5.7 Підвищений вміст CD45+ в стромі ендометрія у пацієнтки з гіперплазією ендометрія та невдалими спробами ДРТ на 22-й день МЦ. ІГХ з МАТ до CD45+, $\times 300$.

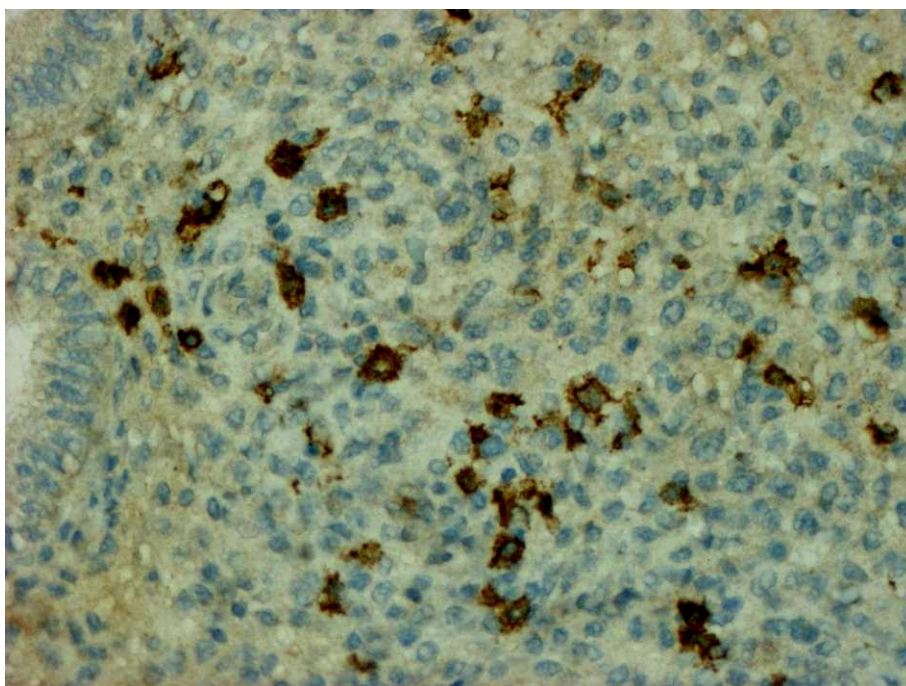


Рис. 5.8 Підвищений вміст CD56+HK в стромі ендометрія у пацієнтки з гіперплазією ендометрія та невдалими спробами ДРТ на 22-й день МЦ. ІГХ з МАТ до CD56+, $\times 150$.

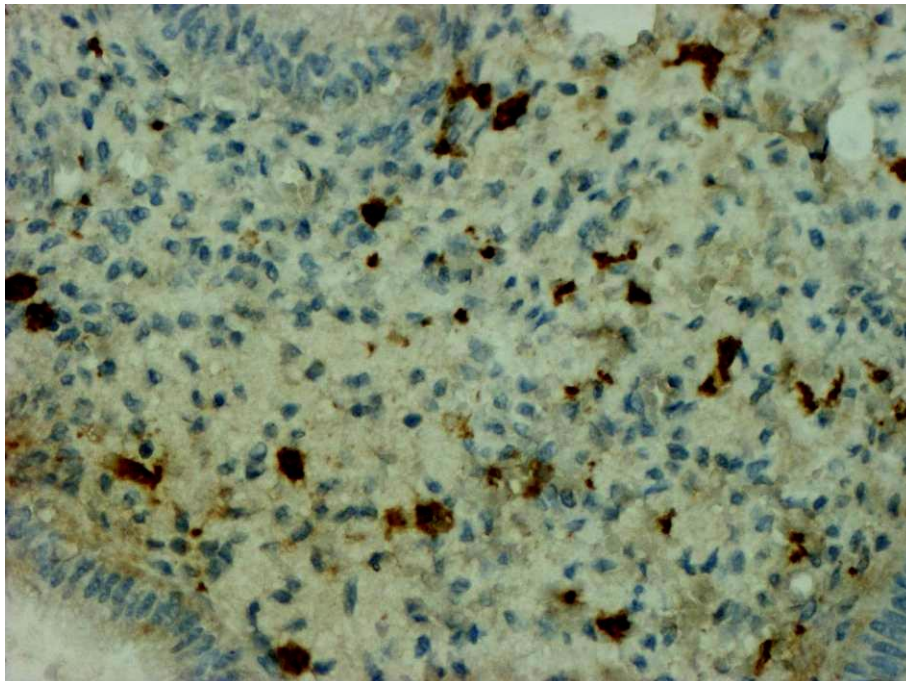


Рис. 5.9 Підвищений вміст CD16+НК в стромі ендометрія у пацієнтки з гіперплазією ендометрія та невдалими спробами ДРТ на 22-й день МЦ. ІГХ з МАТ до CD16+, $\times 150$.

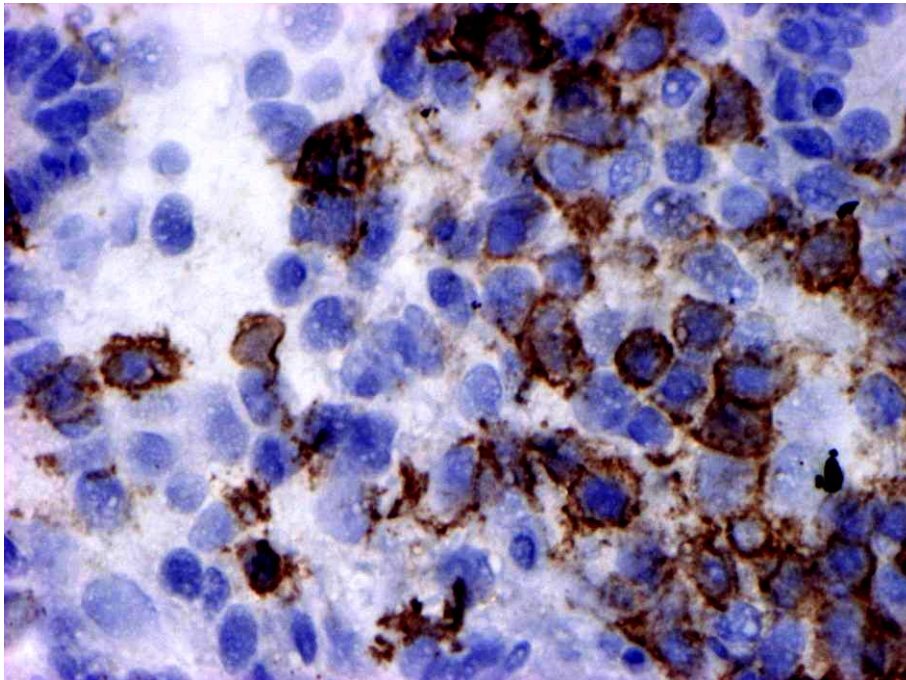


Рис. 5.10 Підвищений вміст CD45+ в стромі ендометрія у пацієнтки без запальних і гіперпластичних процесів ендометрія та невдалими спробами ДРТ на 22-й день МЦ. ІГХ з МАТ до CD45+, $\times 150$.

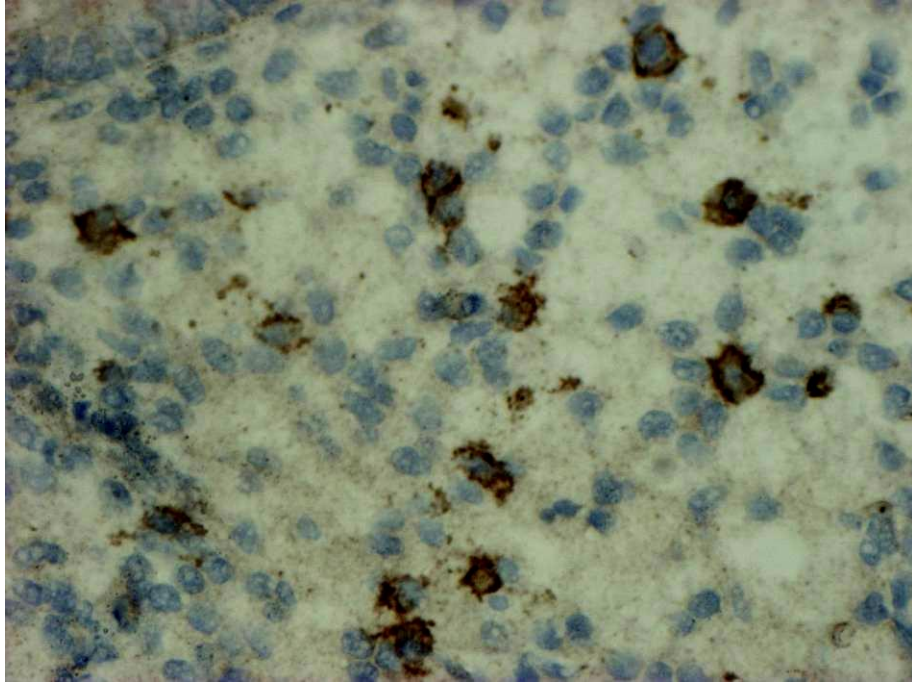


Рис. 5.11 Підвищений вміст CD56+НК в стромі ендометрія у пацієнтки без явищ запалення й гіперплазії та з невдалими спробами ДРТ на 22-й день МЦ. ІГХ з МАТ до CD56+, $\times 187$.

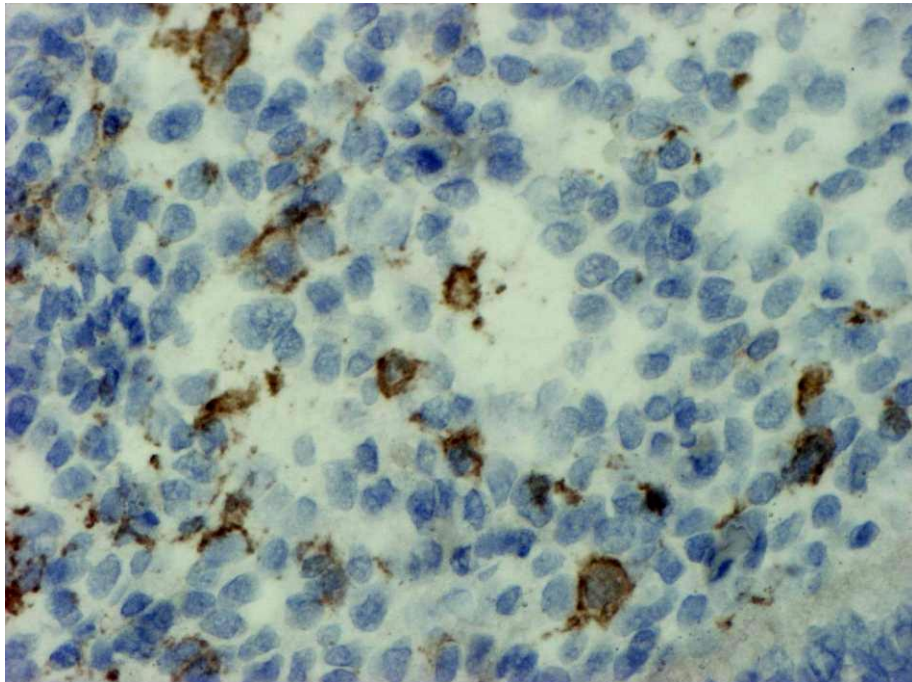


Рис. 5.12 Підвищений вміст CD16+НК в стромі ендометрія у пацієнтки без явищ запалення й гіперплазії та з невдалими спробами ДРТ на 22-й день МЦ. ІГХ з МАТ до CD16+, $\times 225$.

Незважаючи на загальну тенденцію до підвищення LCA і НК в ендометрії у пацієнок з невдалими спробами ДРТ в анамнезі, ми також спостерігали випадки зниженого їх вмісту аж до слідів. Характерною рисою був нерівномірний вміст LCA і НК клітин в одному полі зору і в різних ділянках препарату ендометрія. Так, у жінок з хронічним ендометритом вміст імунопозитивних CD45+ в ендометрії варіював від 45,55 до 250,90‰ (рис.5.13); CD56+ НК – від 42,13 до 203,00 ‰ (рис. 5.14); CD16+НК – від 12,54 до 111,70‰ (рис.5.15); з гіперплазією ендометрія – від 24,70 до 201,23 ‰ (рис.5.16); від 9,97 до 179,78 ‰ (рис.5.17); від 7,92 до 112,93‰ (рис.5.18); без явищ хронічних запальних і гіперпластичних процесів в ендометрії – від 16,32 до 250,52 ‰ (рис.5.19); від 12,94 до 213,28 ‰ (рис.5.20); від 5,64 до 81,43 ‰ (рис.5.21).

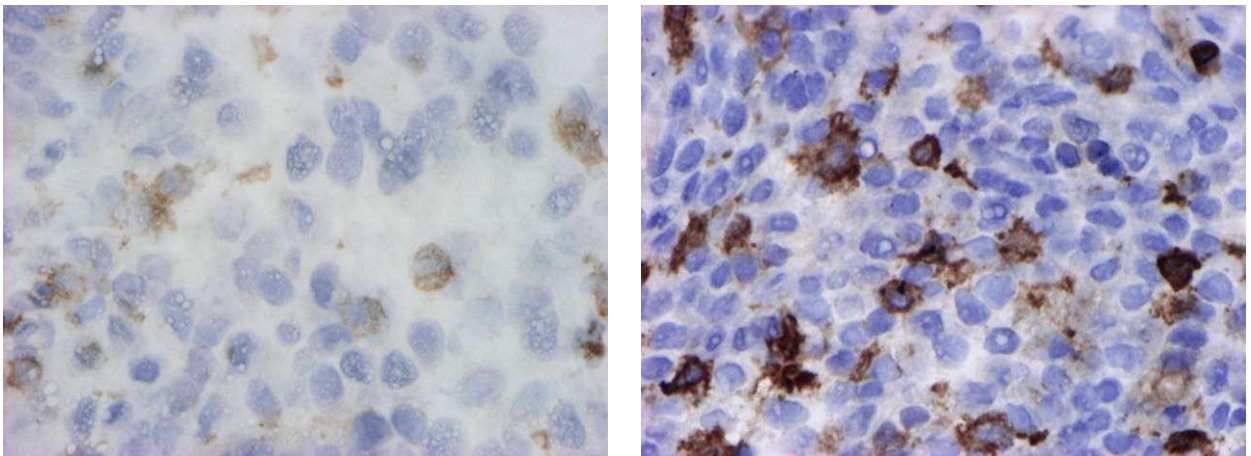


Рис. 5.13 CD45+ в стромі ендометрія у пацієнок з хронічним ендометритом і невдалими спробами ДРТ на 22-й день МЦ. ІГХ з МАТ до CD45+: а – поодинокі CD45+, $\times 300$; б – підвищений вміст, $\times 225$.

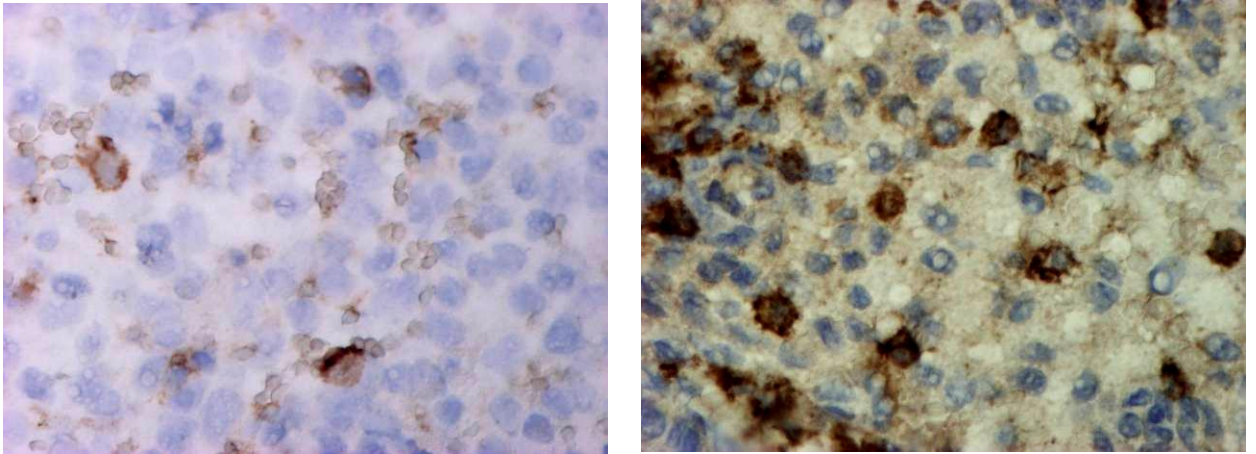


Рис. 5.14 CD56+НК в стромі ендометрія у пацієток з хронічним ендометритом і невдалими спробами ДРТ на 22-й день МЦ. ІГХ з МАТ до CD56+: а – поодинокі CD56+НК, $\times 300$; б – підвищений вміст, $\times 300$.

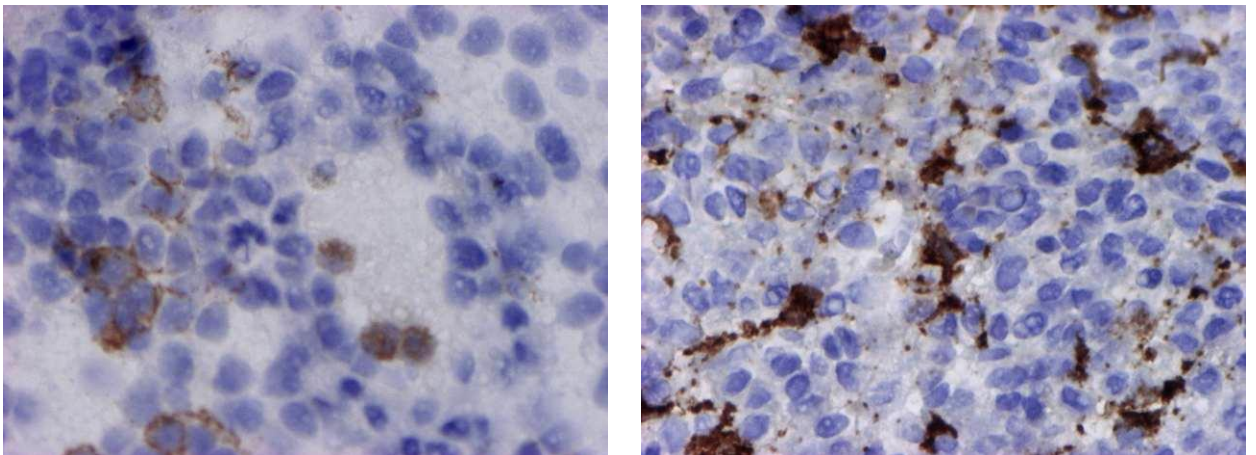


Рис. 5.15 CD16+НК в стромі ендометрія у пацієток з хронічним ендометритом і невдалими спробами ДРТ на 22-й день МЦ. ІГХ з МАТ до CD16+: а – поодинокі CD16+НК, $\times 300$; б – підвищений вміст, $\times 225$.

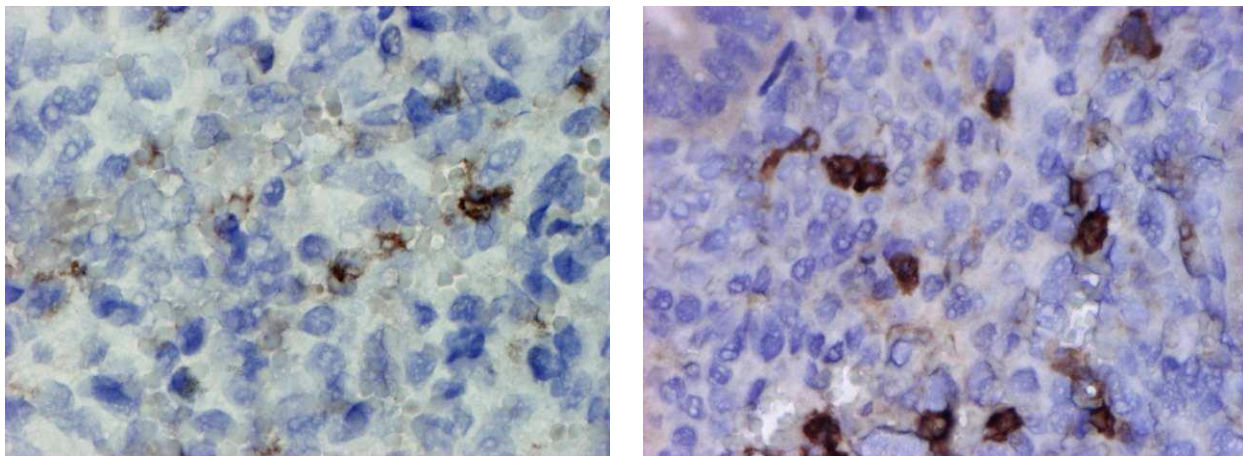


Рис. 5.16 CD45+ в стромі ендометрія у пацієток з гіперплазією ендометрія і невдалими спробами ДРТ на 22-й день МЦ. ІГХ з МАТ до CD45+, а – поодинокі CD45+, $\times 300$; б – підвищений вміст, $\times 225$.

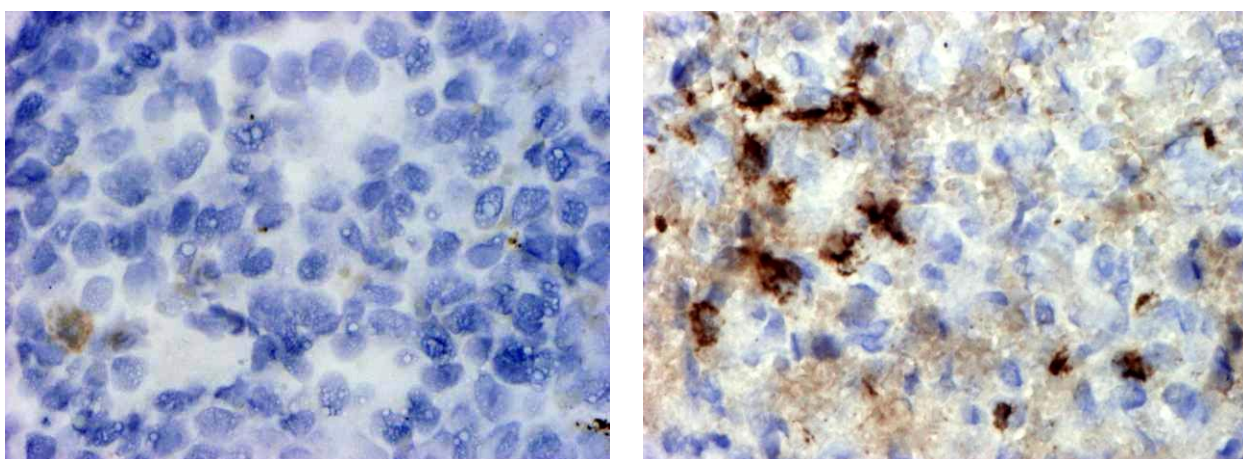


Рис. 5.17 CD56+НК в стромі ендометрія у пацієтки з гіперплазією ендометрія і невдалими спробами ДРТ на 22-й день МЦ. ІГХ з МАТ до CD56+: а – поодинокі CD56+НК, $\times 300$; б – підвищений вміст, $\times 225$.

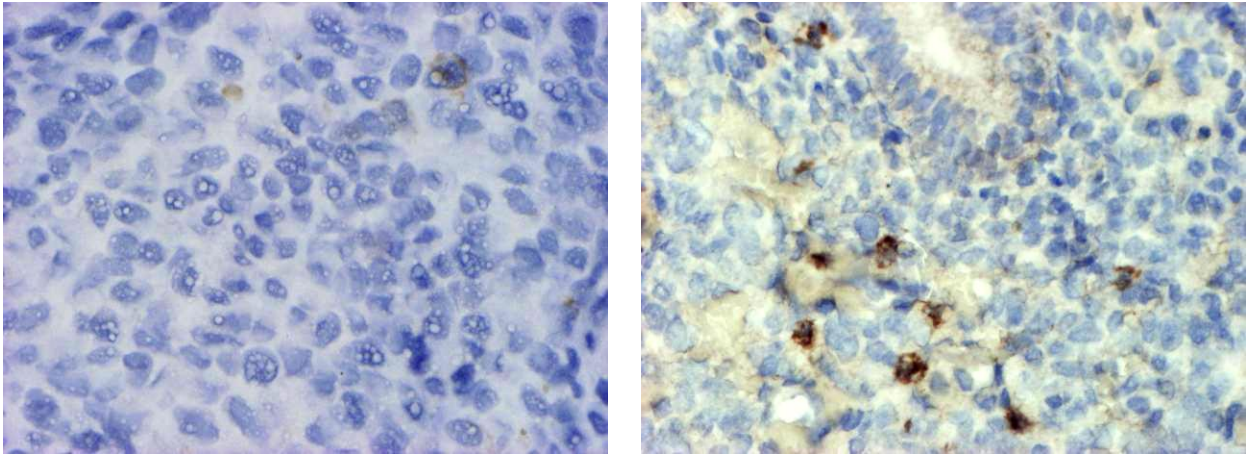


Рис. 5.18 CD16+НК в стромі ендометрія у пацієнтки з гіперплазією ендометрія і невдалими спробами ДРТ на 22-й день МЦ. ІГХ з МАТ до CD16+, а – поодинокі CD16+НК, $\times 225$; б – підвищений вміст, $\times 225$.

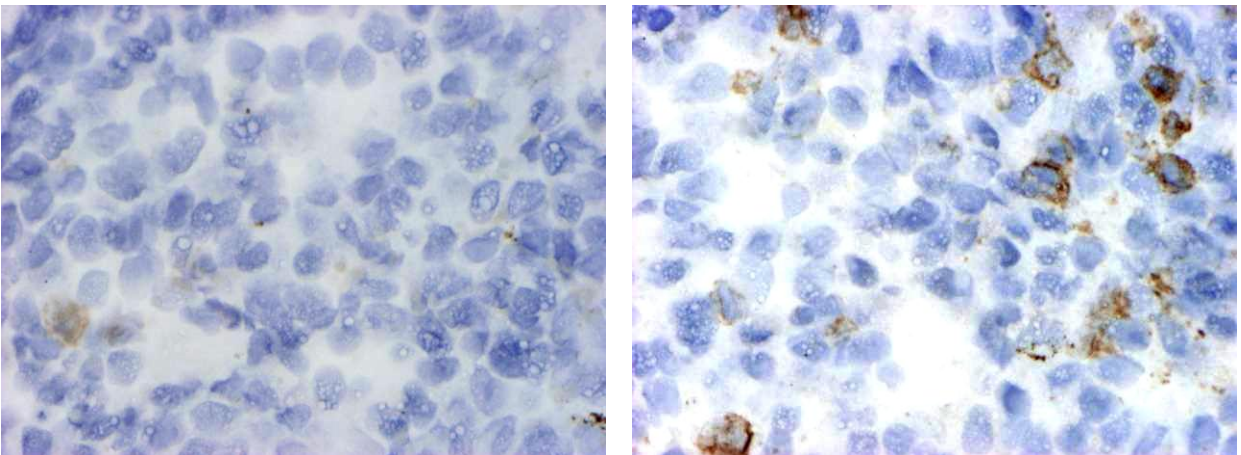


Рис. 5.19 CD45+ в стромі ендометрія без запальних і гіперпластичних процесів у пацієнток з невдалими спробами ДРТ на 22-й день МЦ. ІГХ з МАТ до CD45+: а – поодинокі CD45+, $\times 300$; б – підвищений вміст, $\times 300$.

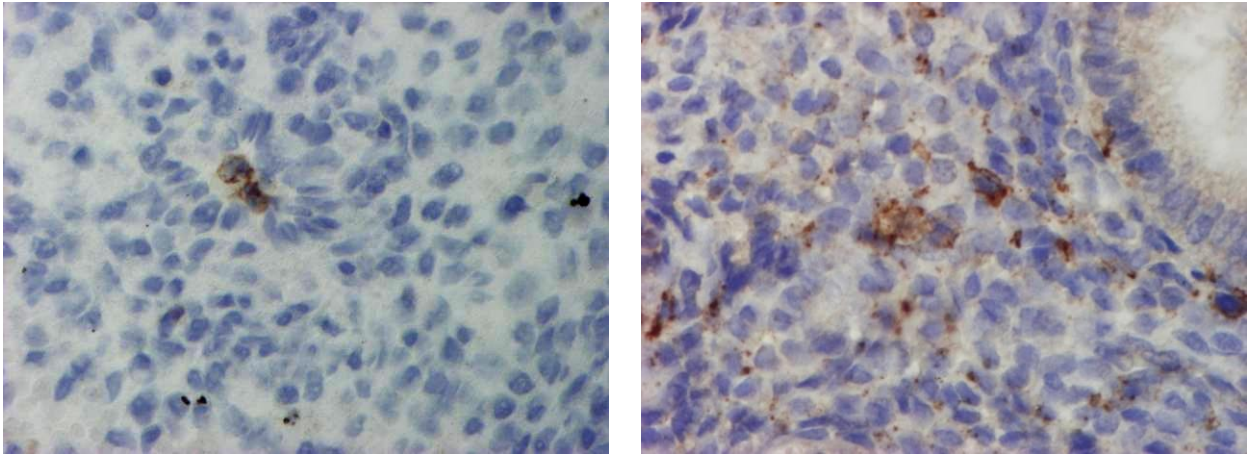


Рис. 5.20 CD56+НК в стромі ендометрія без запальних і гіперпластичних процесів у пацієток з невдалими спробами ДРТ на 22-й день МЦ. ІГХ з МАТ до CD56+: а – поодинокі CD56+НК, $\times 150$; б – підвищений вміст, $\times 150$.

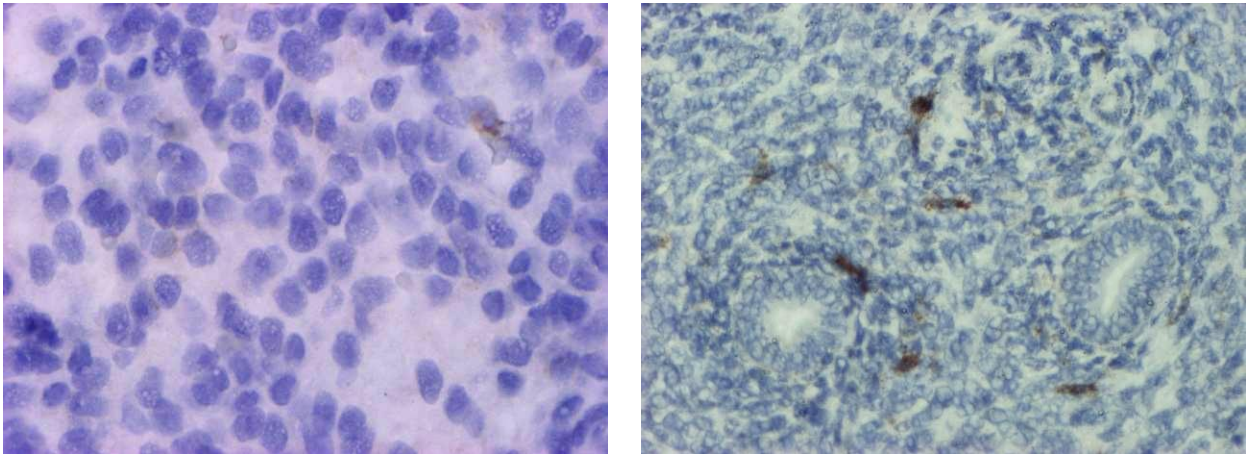


Рис. 5.21. CD16+НК в стромі ендометрія без запальних і гіперпластичних процесів у пацієток з невдалими спробами ДРТ на 22-й день МЦ. ІГХ з МАТ до CD16+: а – поодинокі CD16+НК, $\times 300$; б – підвищений вміст, $\times 150$.

Таким чином, при аналізі вмісту імунореактивних клітин в ендометрії у безплідних пацієток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі залежно від гістологічного діагнозу виявлена загальна тенденція до підвищення вмісту CD45+; CD16+НК; CD56+НК та CD16+/CD56+ як у пацієток з хронічним ендометритом, так і з гіперпластичними процесами і в ендометрії без явищ гіперпластичних і запальних. Досліджувані групи з різними гістологічними діагнозами стану ендометрія відрізняються між собою лише за експресією CD16+НК, рівень яких у групі з хронічним ендометритом перевищує такий у

жінок з гіперплазією ендометрія в 1,29 рази ($p < 0,02$) і в групі без гіперпластичних і запальних процесів – в 1,27 ($p < 0,05$). Вміст LCA та НК-клітин в ендометрії носить індивідуальний характер і може варіювати від слідів до підвищеного, у зв'язку з чим доцільно проводити при прегравідарній підготовці персоніфіковану імунокорекцію.

5.2.3. Вміст LCA та НК-клітин в ендометрії у пацієток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі в залежності від ефективності останньої спроби

Було проведено порівняння вмісту LCA та субпопуляцій НК-клітин в ендометрії у пацієток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі в період передбачуваного вікна імплантації в залежності від ефективності останньої спроби (табл. 5.5).

Таблиця 5.5

Вміст LCA та субпопуляцій НК-клітин в ендометрії у пацієток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі в період передбачуваного вікна імплантації в залежності від ефективності останньої спроби

Група	CD45+, ‰	CD56+НК, ‰	CD16+НК, ‰	CD16+/ CD56
ДРТ, n=140	114,47±4,88 ^К	76,50±4,16 ^К	41,68±1,98 ^К	0,60±0,02 ^К
Н, n=80	123,05±6,91 ^{К,В}	86,44±6,47 ^{К,В}	45,67±2,91 ^{К,В}	0,59±0,02 ^К
В, n=60	103,03±6,49 ^{К,Н}	63,25±3,88 ^{К,Н}	36,35±2,36 ^{К,Н}	0,60±0,03 ^К
К, n=30	32,03±1,14	6,06±0,36	1,47±0,15	0,25±0,03

Примітка. ^{К, Н, В} – статистична різниця з показниками груп К, Н, В, $p < 0,05$.

Для жінок з невдалими спробами ДРТ в анамнезі характерним було те, що у жінок з останньою невдалою спробою порівняно з жінками з останньою вдалою спробою спостерігався більш високий вміст в ендометрії LCA та субпопуляцій НК-клітин в стромі: рівень CD45+ в групі Н (123,05±6,91 ‰) перевищував такий в групі В (103,03±6,49 ‰) в 1,19 рази ($p < 0,04$); CD56+НК – в 1,26 (45,67±2,91 проти

36,35±2,36 %, p<0,01); CD16+HK– в 1,26 (45,67±2,91 проти 36,35±2,36 %, p<0,01); тоді як співвідношення CD16+/ CD56+ вірогідно не відрізнялося (0,59±0,02 проти 0,60±0,03).

Таким чином, для пацієток з невдалими імплантаціями в циклах ДРТ в анамнезі характерною рисою є те, що у жінок з останньою невдалою спробою порівняно з жінками з останньою вдалою спробою більша інфільтрація стромі ендометрія CD45+ в 1,19 рази (p<0,04); CD56+HK – в 1,26 (p<0,01); CD16+HK– в 1,26 (p<0,01), але співвідношення CD16+/ CD56+ вірогідно не відрізняється.

5.3. Імуногістохімічне визначення сіндекану-1 (CD138+) в ендометрії щодо діагностики хронічного ендометриту у пацієток з невдалими спробами ДРТ

При дослідженні зразків ендометрія в основній та контрольній групі лімфоїдні елементи зустрічалися в усіх випадках і реєструвалися в стромі у вигляді поодиноких, дифузно розташованих клітин або скупчень, але імунозabarвлення клітин інфільтрату МАТ до CD138+ зустрічалося тільки у пацієток з хронічним ендометритом (рис. 5.22). Імунореактивність до сіндекану-1 відмічалася на поверхні клітин в залозистому епітелії, особливо в базальному шарі, а також клітинній поверхні плазмоцитів (рис. 5.23). 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±0,96 %.

Цікавим є те, що у 13 (20,31 %) пацієток з хронічним ендометритом, у яких за даними результатів гістологічного дослідження зразків ендометрія, пофарбованих гематоксиліном та еозином, була зафіксована лише секреторна трансформація ендометрія і поодинокі лімфоїдні клітини або невеликі лімфоїдно-гістіоцитарні інфільтрати в стромі, при імуногістохімічному забарвленні виявлена наявність плазмоцитів в стромі (рис. 5.24).

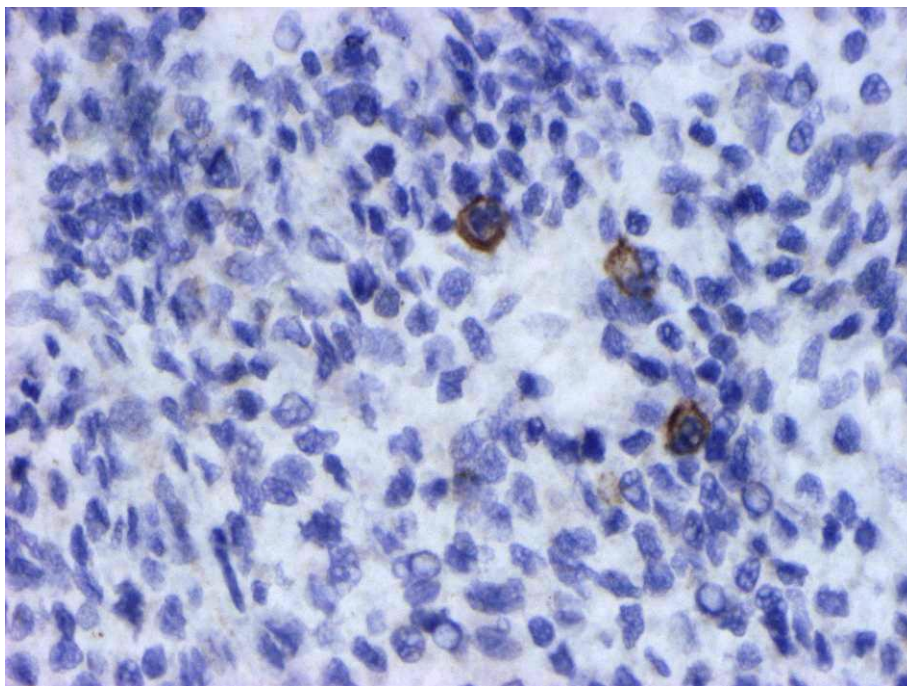


Рис. 5.22 Плазмоцити в лімфогістіоплазмочитарних інфільтратах в стромі ендометрія при хронічному ендометриті. ІГХ з МАТ до CD138+. $\times 225$.

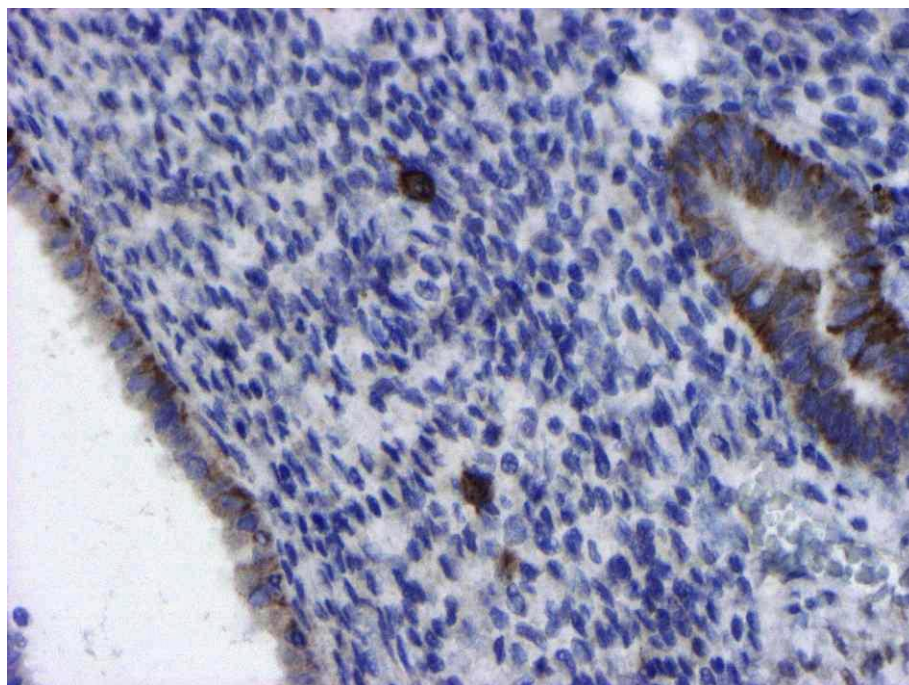


Рис. 5.23 Імунореактивність до сіндекану-1 в ендометрії відмічається на клітинній поверхні залозистого епітелію і плазмоцитів. ІГХ з МАТ до CD138+. $\times 150$.

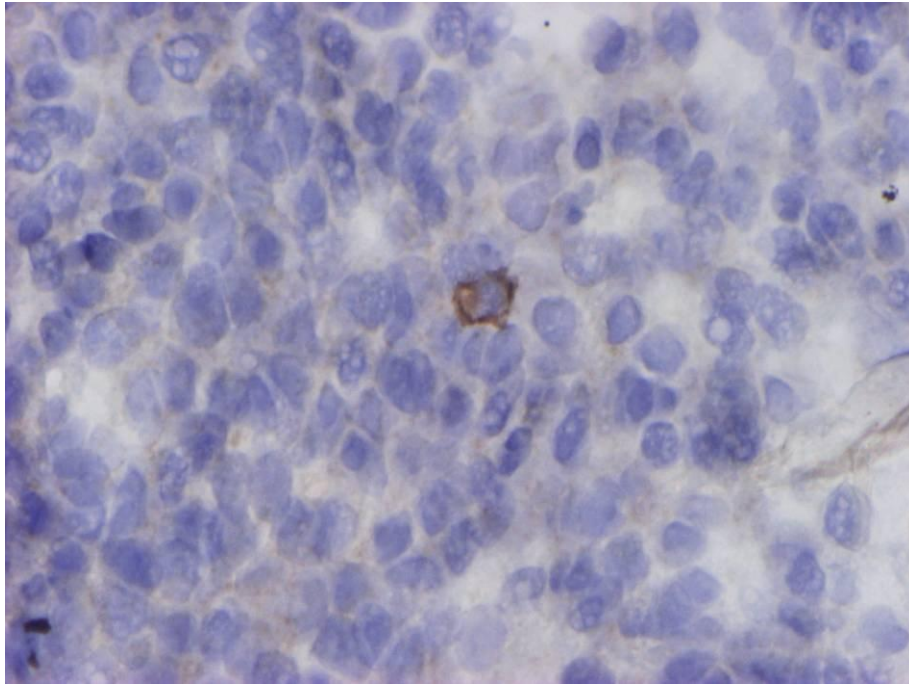


Рис. 5.24 Імунореактивність до сіндекану-1 в ендометрії відмічається на клітинній поверхні поодинокого плазмоциту. ІГХ з МАТ до CD138+. $\times 300$.

У групі ДРТ у жінок з останньою невдалою спробою порівняно з жінками з останньою вдалою спробою спостерігався більш високий вміст в ендометрії сіндекану-1: CD138+ в групі Н ($5,97 \pm 1,01$ %) перевищував такий в групі В ($3,99 \pm 0,84$ %) в 1,50 рази ($p < 0,05$).

Таким чином, використання імуногістохімічного дослідження наявності сіндекану-1 збільшує можливість виявлення плазмоцитів в зразках ендометрія. У випадках, коли не відмічається чітких ознак присутності плазмоцитів на зрізах, пофарбованих гематоксиліном та еозином, ІГХ з МАТ до CD138+ дозволяє виявити плазмоцити і відрізнити їх від плазмацитоїдних стромальних клітин. Серед пацієток з невдалими імплантаціями в циклах ДРТ у жінок з останньою невдалою спробою порівняно з жінками з останньою вдалою спробою спостерігається більший в 1,50 рази ($p < 0,05$) вміст в ендометрії сіндекану-1.

РОЗДІЛ 6

ОСОБЛИВОСТІ ПРОЦЕСІВ ПРОЛІФЕРАЦІЇ ТА АПОПТОЗУ В

ЕНДОМЕТРІЇ БЕЗПЛІДНИХ ПАЦІЄНТОК ГАРНИХ ВІДПОВІДАЧІВ З

НЕВДАЛИМИ СПРОБАМИ ДРТ В АНАМНЕЗИ

6.1. Особливості процесів проліферації та апоптозу в залежності від хронологічної відповідності ендометрія фази та дню МЦ

Був проведений аналіз кількості імунопозитивних клітин ендометрія в стані проліферації та апоптозу у жінок гарних відповідачів з невдалими спробами ДРТ в анамнезі в період вікна імплантації в залежності від хронологічної відповідності ендометрія фази та дню МЦ (табл. 6.1).

Таблиця 6.1

Кількість імунопозитивних клітин в стані проліферації та апоптозу на 22-й день МЦ в стромі ендометрія досліджуваних пацієнток в залежності від хронологічної відповідності його фази та дню МЦ (P±p, %)

Хронологічна відповідність ендометрія на 22-й день МЦ	Кількість імунопозитивних клітин при ПХ-забарвленні МАТ до Кі-67	Кількість клітин в стані апоптозу при застосуванні TUNEL-методу
Фазі проліферації (n=18)	5,59±0,25 ^к	0,70±0,17 ^к
Ранній фазі секреції (n=25)	6,13±0,28 ^к	2,17±0,23 ^к
Середній фазі секреції (n=62)	5,22±0,26 ^к	3,89±0,27 ^к
Пізній фазі секреції (n=10)	4,61±0,21 ^к	3,43±0,24 ^к
Змішаної будови (n=25)	6,22±0,33 ^к	3,60±0,14 ^к
Група К, n=30	0,26±0,07	4,67±0,27

Примітка. ^к – статистична різниця з показниками групи К, p<0,05.

У жінок контрольної групи кількість клітин в стані апоптозу в період передбачуваного вікна імплантації переважала над числом клітин в стані

проліферації (рис. 6.1, див. табл. 1), тоді як у досліджуваних безплідних пацієнток зареєстрована протилежна тенденція – кількість імунопозитивних клітин до Ki-67 в стромі ендометрія перевищувала число апоптотичних клітин.

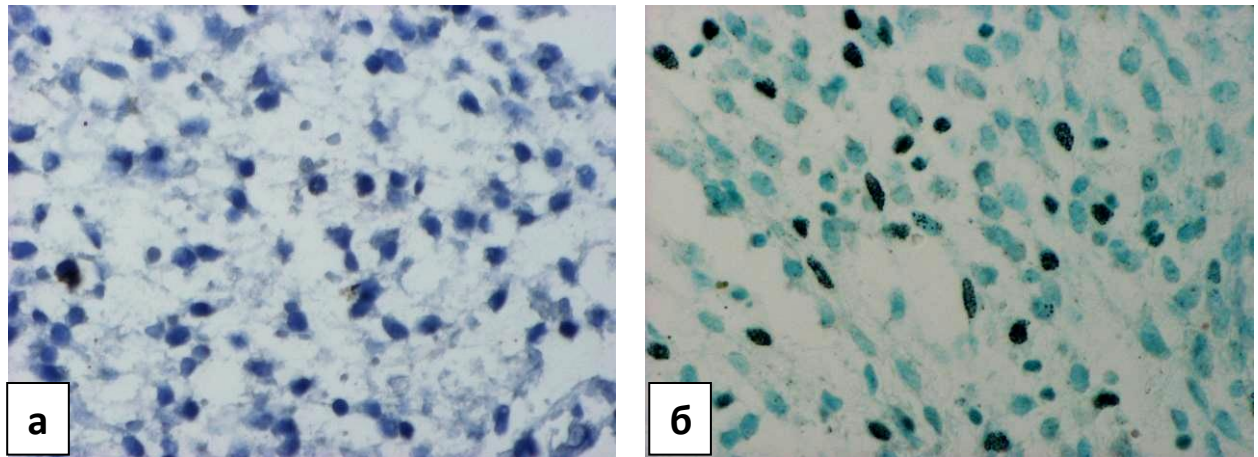


Рис. 6.1. Зразок ендометрія з відповідністю на 22-й день МЦ фази середньої секреції від фертильної пацієнтки контрольної групи : а – поодинокі клітини стромы, імунопозитивні до Ki-67; ІГХ-забарвлення з МАТ до Ki-67, $\times 300$; б – велика кількість апоптотичних клітин в стромі ендометрія; TUNEL-метод, $\times 300$.

Так, відсоток імунопозитивних клітин до Ki-67 в стромі у безплідних пацієнток з відповідністю ендометрія фази проліферації (рис. 6.1) 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 (рис. 6.2) – відповідно в 23,57 ($p < 0,01$) і в 2,19 ($p < 0,01$); середній фазі секреції (рис. 6.3) – в 20,09 ($p < 0,01$) і в 1,22 ($p < 0,01$); пізній фазі секреції (рис. 6.4) – в 17,48 ($p < 0,01$) і в 1,39 ($p < 0,01$); в ендометрії змішаної будови (рис. 6.5) – 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 пацієнток 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.

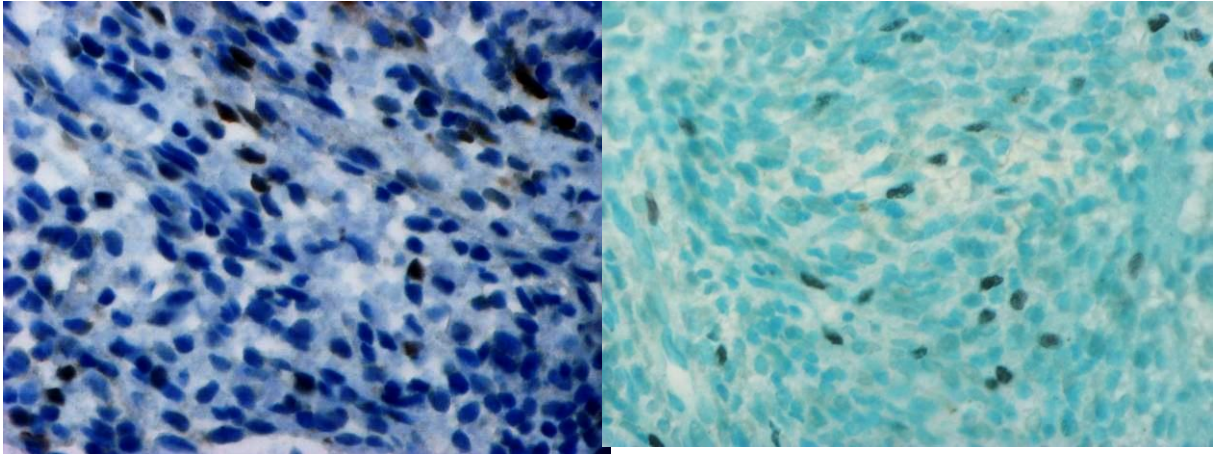


Рис. 6.2 Зразок ендометрія з відповідністю на 22-й день МЦ фази проліферації у пацієнтки з невдалими спробами ДРТ в анамнезі : а – підвищена кількість клітин, імунопозитивних до Ki-67; ІГХ-зabarвлення з МАТ до Ki-67, $\times 300$; б – зменшене число апоптотичних клітин в стромі ендометрія; TUNEL-метод, $\times 150$.

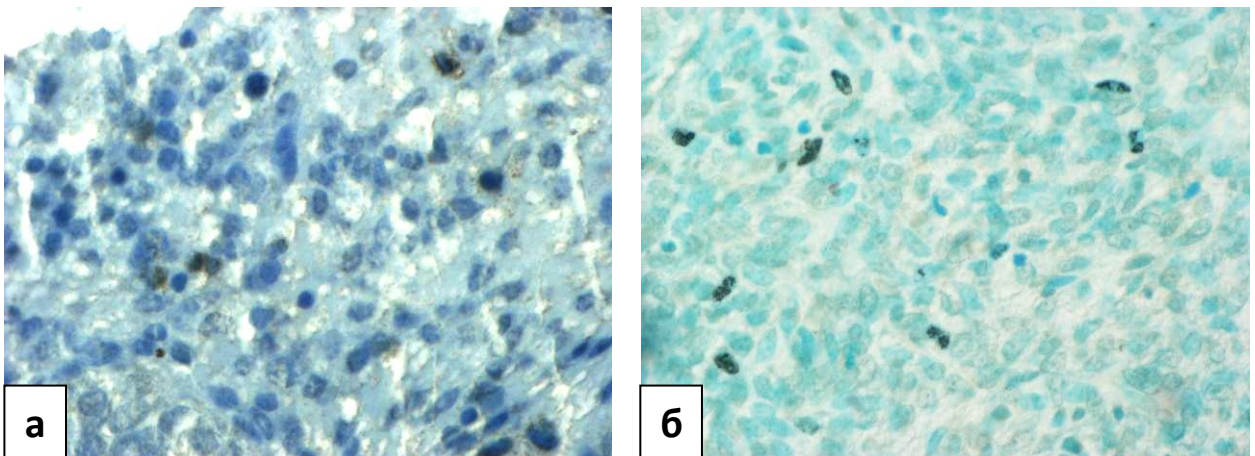


Рис. 6.3 Зразок ендометрія з відповідністю на 22-й день МЦ фази ранньої секреції у пацієнтки з невдалими спробами ДРТ в анамнезі : а – підвищена кількість клітин, імунопозитивних до Ki-67; ІГХ-зabarвлення з МАТ до Ki-67, $\times 300$; б – зменшене число апоптотичних клітин в стромі ендометрія; TUNEL-метод, $\times 150$.

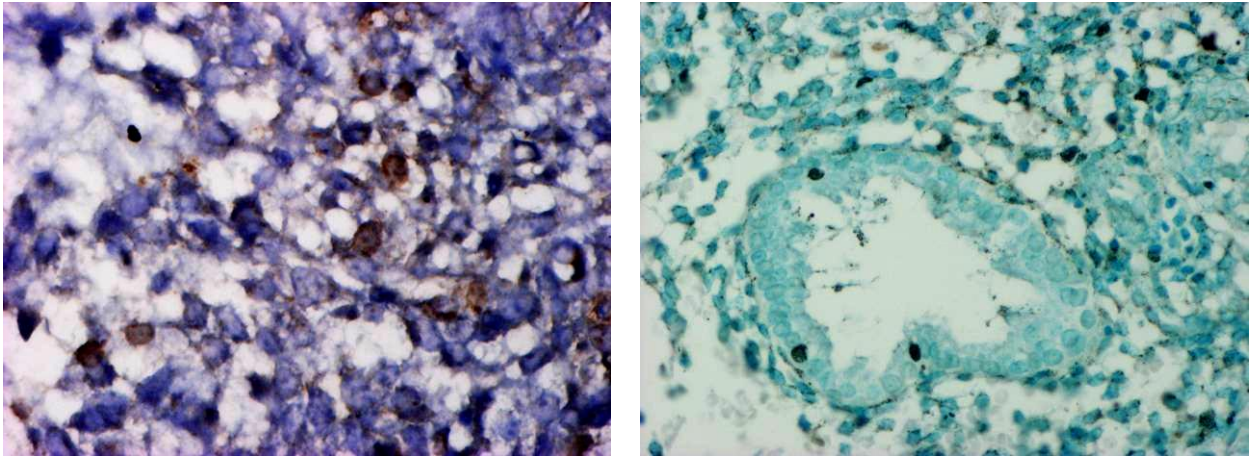


Рис. 6.4 Зразок ендометрія з відповідністю на 22-й день МЦ фазі середньої секреції у пацієнтки з невдалими спробами ДРТ в анамнезі : а – підвищена кількість клітин, імунопозитивних до Ki-67; ІГХ-зabarвлення з МАТ до Ki-67, $\times 300$; б – зменшене число апоптотичних клітин в стромі ендометрія; TUNEL-метод, $\times 150$.

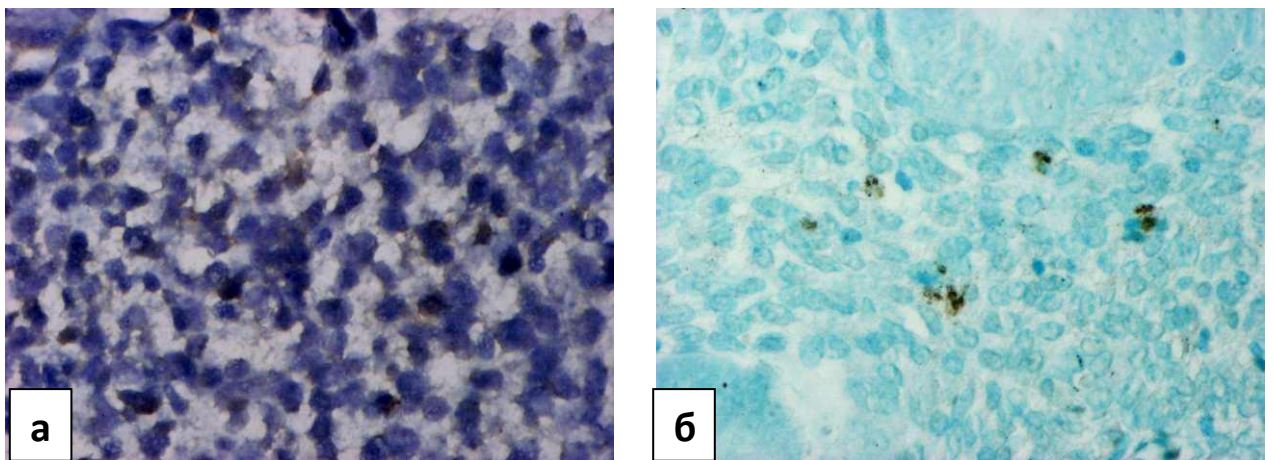


Рис. 6.5 Зразок ендометрія з відповідністю на 22-й день МЦ фазі пізньої секреції у пацієнтки з невдалими спробами ДРТ в анамнезі : а – підвищена кількість клітин, імунопозитивних до Ki-67; ІГХ-зabarвлення з МАТ до Ki-67, $\times 300$; б – зменшене число апоптотичних клітин в стромі ендометрія; TUNEL-метод, $\times 150$.

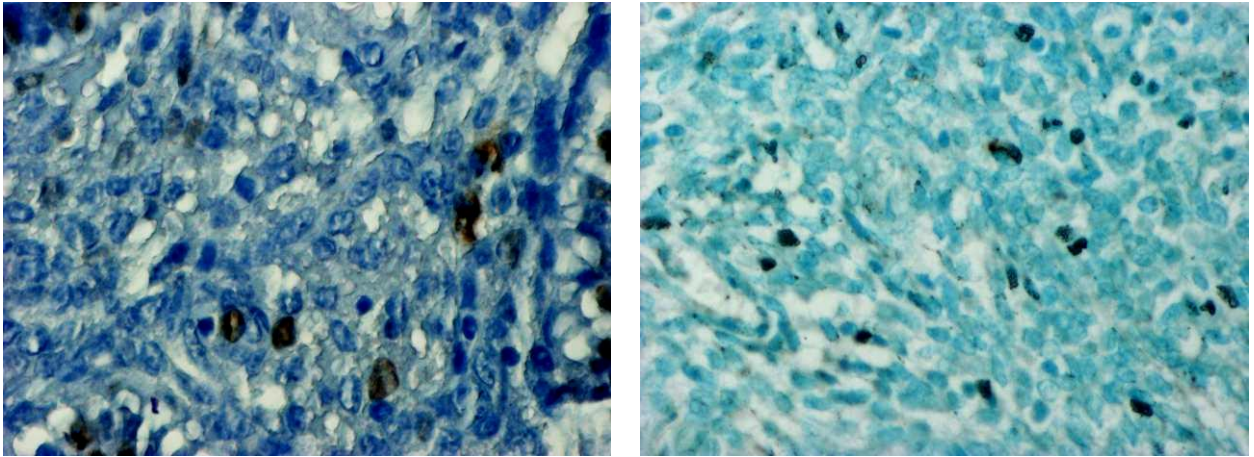


Рис. 6.6 Зразок ендометрія змішаної будови на 22-й день МЦ у пацієнтки з невдалими спробами ДРТ в анамнезі: а – підвищена кількість клітин, імунопозитивних до Ki-67; ІГХ-зabarвлення з МАТ до Ki-67, $\times 300$; б – зменшене число апоптотичних клітин в стромі ендометрія; TUNEL-метод, $\times 150$.

Таким чином, у жінок гарних відповідачів з невдалими спробами ДРТ в анамнезі спостерігається підвищена активність проліферації в стромі ендометрія на тлі зниження апоптозу в період вікна імплантації, при цьому активність обох процесів варіює в широких межах і залежить від хронологічної відповідності ендометрія фазі та дню МЦ: проліферативні процеси найактивніші при відповідності ендометрія фазі ранній секреції і змішаній його будові, а апоптозу, як і очікувалося, – при відповідності середній фазі секреції.

6.2. Вираженість проліферації та апоптозу в стромі ендометрія у досліджуваних пацієток з безпліддям в залежності від наявності хронічного ендометриту та гіперплазії

Проведено дослідження імунопозитивних клітин в стані проліферації та апоптозу на 22-й день МЦ в стромі ендометрія досліджуваних пацієток в залежності від наявності в ньому хронічного ендометриту та гіперплазії. Серед безплідних жінок гарних відповідачів з невдалими спробами ДРТ в анамнезі найбільш виражені процеси проліферації спостерігалися при наявності

гіперпластичних процесів ендометрія, а апоптозу – у пацієток без запальних та гіперпроліферативних процесів в ендометрії (табл. 6.2).

Таблиця 6.2

Кількість імунопозитивних клітин в стані проліферації та апоптозу на 22-й день МЦ в стромі ендометрія досліджуваних пацієток в залежності від наявності в ньому запальних та гіперпроліферативних процесів (P±p, %)

Наявність патологічних процесів в ендометрії	Кількість імунопозитивних клітин при ПХ-зabarвленні МАТ до Кі-67	Кількість клітин в стані апоптозу при застосуванні TUNEL-методу
Хронічний ендометрит (n=64)	5,63±0,35 ^{к,3}	3,15±0,26 ^к
Гіперпластичні процеси ендометрія (n=44)	6,00±0,22 ^{к,3}	3,49±0,68 ^к
Без гіперпластичних та запальних процесів (n=32)	4,36±0,45 ^{к,1,2}	3,65±0,59 ^к
Група К, n=30	0,26±0,07	4,67±0,27

Примітка. ^{к, 1, 2, 3} – статистична різниця з показниками групи К, групи з хронічним ендометритом, групи з гіперпластичними процесами, групи без гіперпластичних і запальних процесів, p<0,05.

Для ендометрія, в якому спостерігалися явища хронічного ендометриту (рис. 6.7), було характерне збільшення кількості імунопозитивних клітин до Кі-67 порівняно з аналогічними показниками контрольної групи в 21,32 рази (p<0,01); тоді як відсоток клітин в стані апоптозу за даними TUNEL-методу був менший в 1,48 рази (p<0,01). При гіперпластичних процесах ендометрія відмічалось підвищення відсотку імунопозитивних клітин до Кі-67 в 22,71 рази (p<0,01) і зменшення апоптотичних клітин в 1,34 (p<0,01) (рис. 6.8). У пацієток без явищ хронічного ендометриту та гіперпластичних процесів (рис. 6.9) реєструвалось підвищення відсотку імунопозитивних клітин до Кі-67 в 16,50 рази (p<0,01) на тлі зниження відсотку клітин в стані апоптозу в 1,28 рази (p<0,01).

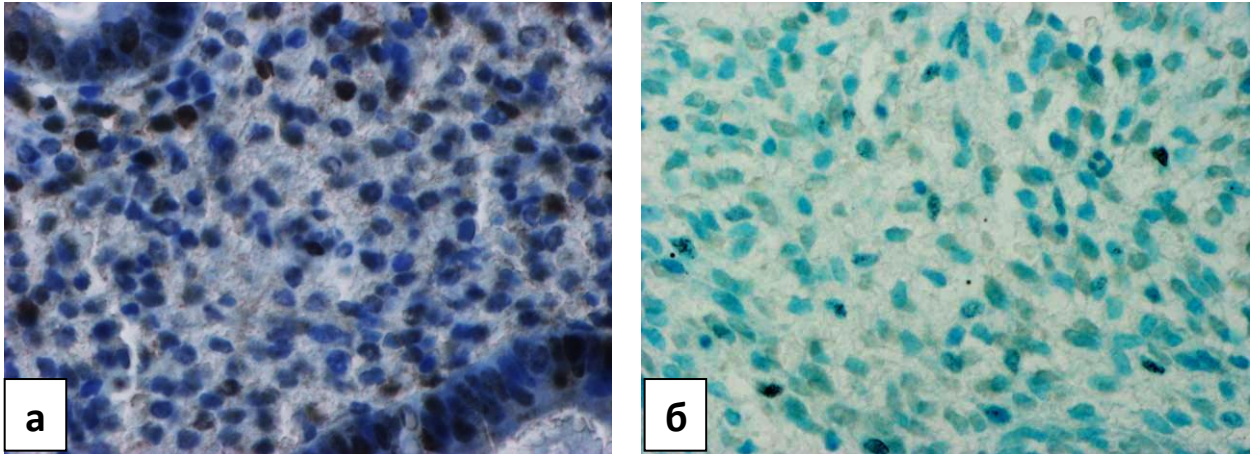


Рис. 6.7 Зразок ендометрія на 22-й день МЦ з хронічним запальним процесом у пацієнтки з невдалими спробами ДРТ в анамнезі : а – підвищена кількість клітин, імунопозитивних до Ki-67; ІГХ-зabarвлення з МАТ до Ki-67, $\times 150$; б – зменшене число апоптотичних клітин в стромі ендометрія; TUNEL-метод, $\times 150$.

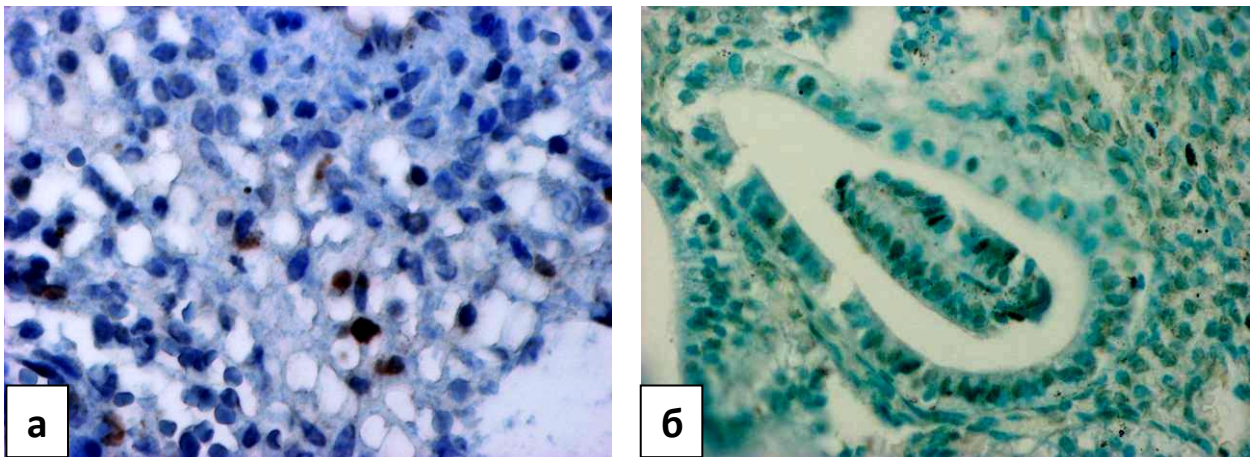


Рис. 6.8 Зразок ендометрія на 22-й день МЦ з гіперплазією ендометрія у пацієнтки з невдалими спробами ДРТ в анамнезі : а – підвищена кількість клітин, імунопозитивних до Ki-67; ІГХ-зabarвлення з МАТ до Ki-67, $\times 300$; б – зменшене число апоптотичних клітин в стромі та залозах ендометрія; TUNEL-метод, $\times 150$.

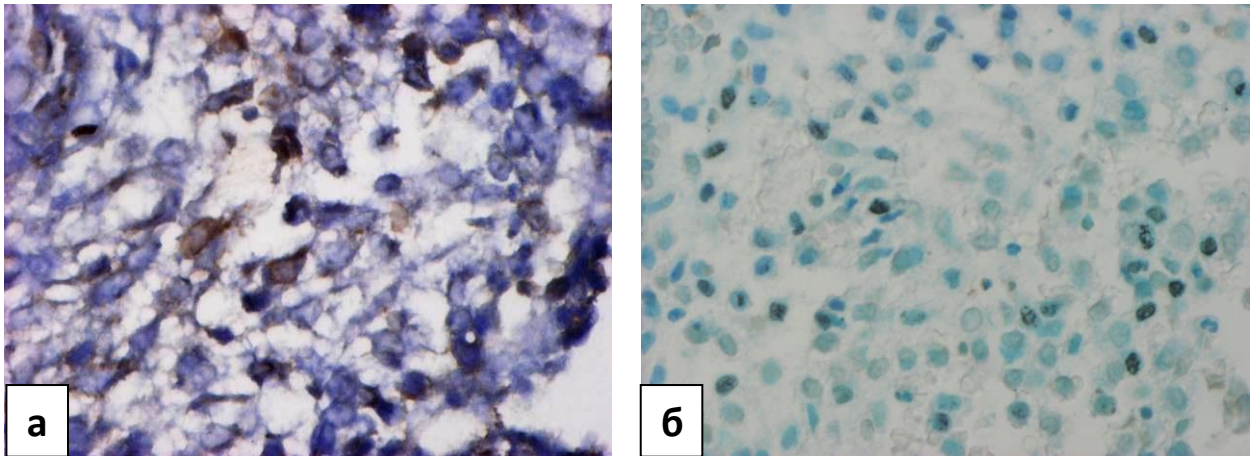


Рис. 6.9 Зразок ендометрія на 22-й день МЦ без гіперпластичних та запальних процесів у пацієнтки з невдалими спробами ДРТ в анамнезі : а – підвищена кількість клітин, імунопозитивних до Ki-67; ІГХ-забарвлення з МАТ до Ki-67, $\times 300$; б – зменшене число апоптотичних клітин в стромі ендометрія; TUNEL-метод, $\times 150$.

Активність процесів проліферації та апоптозу у безплідних пацієнток з хронічним ендометритом та гіперплазією ендометрія вірогідно поміж собою не відрізнялася. У той же час кількість імунопозитивних клітин у жінок з хронічним ендометритом і гіперплазією ендометрія перевищувала таку у пацієнток 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. Встановлена вірогідна пряма кореляційна 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 – $r = 0,31$ в залозах, $p < 0,02$.

Таким чином, у переважної більшості безплідних пацієнток-гарних відповідачів з невдалими спробами ДРТ в анамнезі спостерігається підвищена проліферативна активність і пригнічення процесів апоптозу в стромі ендометрія в період передбачуваного вікна імплантації. Існує пряма кореляційна 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 – $r = 0,31$ в залозах, $p < 0,02$.

6.3. Проліферація та апоптоз в стромі ендометрія у досліджуваних пацієнток в залежності від ефективності останньої спроби ДРТ

При аналізі особливостей процесів проліферації та апоптозу в стромі ендометрія у досліджуваних пацієнток в залежності від ефективності останньої спроби ДРТ (табл. 6.3) виявлено, що у жінок з останньою невдалою спробою порівняно з жінками з останньою вдалою спробою відмічається більша кількість імунопозитивних клітин при ІГХ-зabarвленні МАТ до Кі-67 в 1,69 рази ($p < 0,02$) та менша чисельність апоптотичних клітин в 1,32 ($p < 0,05$).

Таблиця 6.3

Кількість імунопозитивних клітин в стані проліферації та апоптозу на 22-й день МЦ в стромі ендометрія досліджуваних пацієнток в залежності від наявності в ньому запальних та гіперпроліферативних процесів ($P \pm p$, %)

Група	Кількість імунопозитивних клітин при ІГХ-зabarвленні МАТ до Кі-67	Кількість клітин в стані апоптозу при застосуванні TUNEL-методу
ДРТ, n=140	5,57±0,21 ^к	3,76±0,26 ^к
Н, n=80	6,75±0,26 ^{к,В}	3,31±0,31 ^{к,В}
В, n=60	3,99±0,21 ^{к,Н}	4,36±0,41 ^Н
К, n=30	0,26±0,07	4,67±0,27

Примітка. ^{к, Н, В} – вірогідна статистична різниця з показниками груп К, Н, В, $p < 0,05$.

Таким чином, для пацієнток з невдалими імплантаціями в циклах ДРТ в анамнезі характерною рисою є те, що у жінок з останньою невдалою спробою порівняно з жінками з останньою вдалою спробою в період передбачуваного вікна імплантації більш виражені процеси проліферації і знижені процеси апоптозу, що проявляється збільшенням імунопозитивних клітин до Кі-67 в 1,69 рази ($p < 0,02$) та зменшенням чисельності апоптотичних клітин в 1,32 ($p < 0,05$).

РОЗДІЛ 7

ЕФЕКТИВНІСТЬ ВПРОВАДЖЕННЯ РОЗРОБЛЕНОЇ СХЕМИ ДІАГНОСТИКИ ТА КОРЕКЦІЇ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ЕНДОМЕТРІЯ У ПАЦІЄНТОК З НЕВДАЛИМИ СПРОБАМИ ДРТ В АНАМНЕЗІ

7.1. Способи корекції порушень функціонального стану ендометрія у жінок досліджуваних груп

Пацієнтки групи НП отримали корекцію функціонального стану ендометрія відповідно способу [169], за яким проводили курс малооб'ємного мембранного плазмаферезу. При відсутності гіперпластичних процесів ендометрія призначали курс внутрішньовенних (в/в) інфузій озонованого фізіологічного розчину. Після закінчення курсу плазмаферезу з метою пригнічення цитотоксичних CD16+CD56+НК-клітин призначали десятиденний курс ін'єкцій препарату галавіт по 0,1 г в/м. Виявлене порушення експресії стероїдних рецепторів у ендометрії лікували призначенням курсу тріптореліну-3,75 п/к один раз в 28 днів три ін'єкції при підвищеній експресії; тримісячного циклічного курсу препаратів статевих гормонів (естрадіолу валерат 2 мг по 1 драже перорально 1-2 рази на добу з 3-го по 14-й день МЦ та мікронізований прогестерон інтравагінально по 200 мг тричі на добу – при зниженій експресії; тримісячного курсу комбінованого орального контрацептиву (КОК) з високим антипроліферативним індексом 0,03 мг етінілестрадіолу+0,15 мг дезогестрелу – при нормальній експресії. При діагностованій простій неатиповій гіперплазії ендометрія призначали на протязі шести місяців курс гестагенів та трьох місяців курс низькодозованого КОК з високим антипроліферативним індексом 0,03 мг етінілестрадіолу+0,15 мг дезогестрелу або тріптореліну-3,75 та індол-3-карбінол по 200 мг двічі на добу під час їжі. При встановленій морфофункціональній невідповідності ендометрія фазі МЦ призначали тримісячний циклічний курс гормонів – естрадіолу валерат

2 мг по 1 драже перорально 1-2 рази на добу з 3-го по 14-й день МЦ та мікронізований прогестерон інтравагінально по 200 мг тричі на добу.

Пацієнтки групи НО отримали корекцію функціонального стану ендометрія відповідно розробленому способу [170]. Після встановлення основних патогенетичних факторів, що спричиняли порушення функціонального стану ендометрія, для пацієнтки обирали 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 1 250 МО стрептодорнази, двічі на добу; вітамін Е перорально в капсулах по 200 мг 1 раз на добу з 15-го по 26-й день МЦ 3 місяці;

б) при хронічному ендометриті з явищами гіпотрофії: додатково до терапії за п. а) призначали циклічну гормональну терапію впродовж 3-6 місяців, яка включала прийом естрадіолу у вигляді 1 г 0,1 % гелю на шкіру 1-2 рази на добу з 3-го по 14-й день МЦ та мікронізований прогестерон у вагінальних таблетках по 100 мг тричі на добу з 15-го по 26-й день МЦ; фізіотерапевтичні процедури: в 1-й місяць терапії – електрофорез на низ живота з 2 %-ним розчином сульфату міді з 5-го по 14-й день МЦ, після цього з 15-го по 26-й день МЦ 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 призначали 3 курси 0,03 мг етінілестрадіолу+0,15 мг дезогестрелу з 5-го по 26-й день МЦ;

г) при порушенні імунної реактивності: усім пацієнткам призначали 10 в/м ін'єкцій 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 МЦ впродовж 3-х місяців;

д) при гіперпродукції CD16+CD56+МНК-клітин: проводили терапію, як описано в п. г) окрім того, в 2-й і 3-й місяці призначали 5-аміно-1,2,3,4-

тетрагідрофталазин-1,4-діонанатрієву сіль по 0,2 г в/м 1 раз на добу або ректально супозиторії галавит по 0,1 г двічі на добу з 15-го по 26-й день МЦ;

е) при гіпопродукції CD16+CD56+МНК-клітин: проводили терапію, як описано в п. з), але ін'єкції 5-аміно-1,2,3,4-тетрагідрофталазин-1,4-діонанатрієвої солі вводили в дозі по 0,1 г в/м 1 раз на добу, а супозиторії 5-аміно-1,2,3,4-тетрагідрофталазин-1,4-діонанатрієвої солі - по 0,1 г 1 раз на добу з 15-го по 26-й день МЦ;

ж) при морфофункціональній невідповідності ендометрія фазі МЦ в день очікуваного вікна імплантації без явищ запалення та гіперпроліферації: призначали циклічну гормональну терапію, як за п. б);

з) при морфофункціональній відповідності ендометрія фазі МЦ в день очікуваного вікна імплантації при підвищеній експресії стероїдних рецепторів ендометрія: призначали тріпторелін по 3,75 мг 1 раз в 28 днів, всього 3 ін'єкції. Причому, при зниженій експресії стероїдних рецепторів ендометрія додатково призначали циклічну гормональну терапію, як за п. б), а при нормальній експресії стероїдних рецепторів ендометрія призначали лікування КОК, який вміщує 0,03 мг етінілестрадіолу+0,15 мг дезогестрелу, як за п. в);

і) при гіперплазії ендометрія з наявністю стероїдних рецепторів після основного курсу гормонотерапії гестагенами призначали 3 курси 0,03 мг етінілестрадіолу+0,15 мг дезогестрелу з 5-го по 26-й день МЦ. Призначали також ректально супозиторії 5-аміно-1,2,3,4-тетрагідрофталазин-1,4-діонанатрієву сіль по 0,1 г на добу впродовж 5 днів, потім - по 0,1 г 1 раз в 2 дні, 5 разів;

ї) при гіперплазії ендометрія за відсутності стероїдних рецепторів: призначали тріпторелін п/ш по 3,75 мг 1 раз в 28 днів, всього 3 ін'єкції, або одноразово тріпторелін по 11,25 мг; ректально супозиторії 5-аміно-1,2,3,4-тетрагідрофталазин-1,4-діонанатрієву сіль по 0,1 г на добу впродовж 5 днів, потім - по 0,1 г 1 раз в 2 дні, 5 разів.

Усі перераховані препарати зареєстровані та допущені до застосування на Україні. Дози і режими прийому препаратів відповідали терапевтичним дозам і режимам, рекомендованим фірмами-виробниками.

7.2. Результати впровадження розробленої схеми корекції функціонального стану ендометрія у пацієток з невдалими спробами ДРТ

Після закінчення корекції функціонального стану ендометрія пацієтки груп НО і НП були додатково досліджені і включені у наступний цикл ВРТ.

Проведене лікування привело до вірогідного зниження рівнів гонадотропнів у периферичній крові пацієток груп НО і НП (табл. 7.1). Досліджувані групи не відрізнялися за рівнем ФСГ, а рівень ЛГ у групі НО був нижчий за такий у групі НП у 1,24 рази ($p < 0,01$).

Таблиця 7.1

Динаміка рівнів гонадотропних гормонів на 5-й день МЦ у периферичній крові після лікування в досліджуваних групах ($M \pm m$), у $\times 10^6/\text{л}$

Група	Час відносно лікування	ФСГ, мМО/мл	ЛГ, мМО/мл	ЛГ/ФСГ
НО, n=40	до	7,89 \pm 0,08 к	7,07 \pm 0,59 к	0,90 \pm 0,08 к
	після	4,88 \pm 0,37 ^д	4,74 \pm 0,20 ^{к,нп,д}	1,17 \pm 0,09 ^д
НП, n=40	до	7,76 \pm 0,07 к	7,53 \pm 0,38 к	0,97 \pm 0,05
	після	5,25 \pm 0,36 ^д	5,86 \pm 0,13 ^{к,но,д}	1,01 \pm 0,09 ^д
К, n=30		4,63 \pm 0,15	4,86 \pm 0,18	1,07 \pm 0,04

Примітки: 1. ^{к, но, нп} – статистична різниця відносно показників груп К, НО, НП, $p < 0,05$;

2. ^д – статистична різниця між показниками до та після лікування ($p < 0,05$).

Після проведення лікування рівень E_2 у пацієток 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 ($p<0,01$) (табл.7.2). Вірогідні відмінності вмісту статевих стероїдів у периферичній крові між досліджуваними групами спостерігалися лише за рівнем П, який у групі НО перевищував аналогічний у групі НП в 1,29 рази ($p<0,01$).

Таблиця 7.2

Динаміка вмісту статевих стероїдів у периферичній крові після лікування в досліджуваних групах на 22-й день МЦ, $M\pm m$

Група	Час відносно лікування	E_2 , пмоль/л	П, нмоль/л	ТВ, нг/мл
НО, n=40	до	$0,322\pm 0,013^k$	$20,38\pm 1,37^k$	$2,24\pm 0,18^k$
	після	$0,362\pm 0,012^{k,d}$	$35,57\pm 1,41^{k,np,d}$	$1,62\pm 0,09^{np,d}$
НП, n=40	до	$0,315\pm 0,012^k$	$23,35\pm 1,94^k$	$2,45\pm 0,15^k$
	після	$0,387\pm 0,012^{k,d}$	$27,68\pm 1,94^{k,no}$	$1,95\pm 0,13^{k,no,d}$
К, n=30		$0,451\pm 0,020$	$54,92\pm 1,32$	$1,57\pm 0,12$

Примітки: 1. k, no, np – статистична різниця відносно показників груп К, НО, НП, $p<0,05$;

2. d – статистична різниця між показниками до та після лікування ($p<0,05$).

Аналіз субпопуляційного складу НК-клітин у периферичній крові після лікування в досліджуваних групах показав вірогідне зниження в динаміці лікування у групі НО вмісту $CD56^{dim}CD16^+CD69^+$ в 2,16 рази ($p<0,01$), $CD56^{dim}CD16^+CD94^+$ – в 2,38 ($p<0,01$) і підвищення $CD56^{brigh}CD94^+$ в 1,14 ($p<0,01$), тоді як у групі НП вірогідно знизився вміст $CD56^{dim}CD16^+CD69^+$ в 1,16 рази ($p<0,02$) і $CD56^{dim}CD16^+CD94^+$ – в 1,23 ($p<0,01$) (табл. 7.3).

Після лікування досліджувані групи вірогідно відрізнялися за рівнями таких субпопуляцій НК-клітин, як $CD56^{dim}CD16^+CD69^+$ і $CD56^{dim}CD16^+CD94^+$, 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

CD56^{dim}CD16⁺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 (рис.7.1).

Таблиця 7.3

Динаміка субпопуляційного складу НК-клітин у периферичній крові після лікування в досліджуваних групах ($M \pm m$), у $\times 10^6/\text{л}$

Група	Час відносно лікування	CD56 ^{dim} CD16 ⁺ CD69 ⁺	CD56 ^{dim} CD16 ⁺ CD94 ⁺	CD56 ^{dim} CD16 ⁺	CD56 ^{bright} CD69 ⁺	CD56 ^{bright} CD94 ⁺
НО, n=40	до	1,60±0,06 ^к	136,15±4,88 ^к	215,24±7,71	0,30±0,01 ^к	15,96±0,57 ^к
	після	0,74±0,04 ^{нп,д}	57,21±3,64 ^{к,нп,д}	206,04±7,43	0,35±0,03 ^д	18,13±0,59 ^{к,д}
НП, n=40	до	1,64±0,07 ^к	140,20±5,62 ^к	221,65±8,89	0,30±0,01 ^к	16,44±0,66 ^к
	після	1,41±0,07 ^{к,но,д}	113,88±5,41 ^{к,но,д}	225,95±8,95	0,32±0,02 ^к	16,80±0,72 ^к
К, n=30		0,73±0,03	42,80±1,63	236,97±9,01	0,36±0,01	21,02±0,80

Примітки: 1. ^{к, но, нп} – статистична різниця відносно показників груп К, НО, НП, $p < 0,05$;
2. ^д – статистична різниця між показниками до та після лікування ($p < 0,05$).

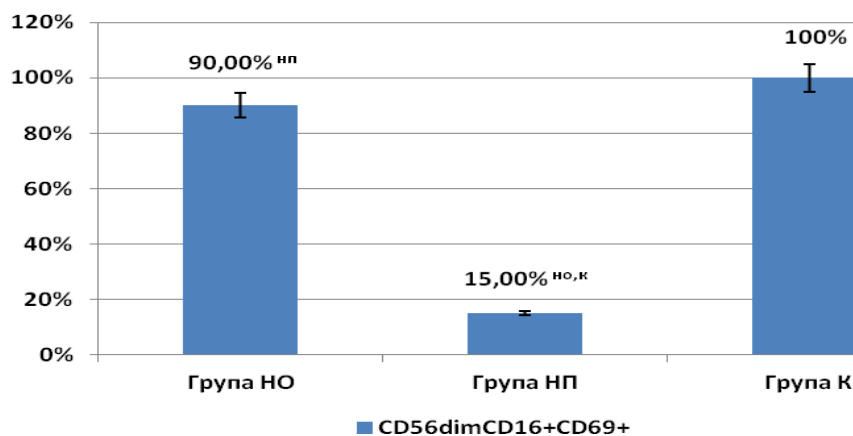


Рис. 7.1 Розподіл відсотка жінок в досліджуваних групах з рівнем CD56^{dim}CD16⁺CD69⁺ нижче за пороговий ($1,0 \times 10^6/\text{л}$).

Примітка. ^{к, но, нп} – статистична різниця відносно показників груп К, НО, НП, $p < 0,05$.

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

Як видно з табл. 7.4, під впливом лікування у групі НО зменшилося число жінок з піноподіями, які розвиваються, у 3,60 рази ($p < 0,01$), з ділянками відсутності піноподій – у 2,33 ($p < 0,01$), з різною формою піноподій – у 1,65 ($p < 0,01$) і з різними розмірами піноподій – у 2,00 ($p < 0,01$), а кількість пацієнток з розвинутими піноподіями збільшилася в 1,94 рази ($p < 0,01$). У групі НП в динаміці лікування вірогідно зменшилася лише чисельність жінок з піноподіями різних розмірів ($p < 0,04$).

Таблиця 7.4

Динаміка формування піноподій в ендометрії на L+8 день після лікування в досліджуваних групах, n(P±p, %)

Група	Час відносно лікування	Піноподії, що розвиваються	Розвинуті піноподії	Піноподії, що регресують	Ділянки відсутності піноподій	Різна форма піноподій	Різні розміри піноподій
НО (n=40)	до	18(45,00 ±1,07) ^к	16(40,00±1,01) ^к	6(15,00±0,62)	21(52,50 ±1,16) ^к	28(70,00 ±1,34) ^к	32(80,00 ±1,43) ^к
	після	5(12,50±0,57) ^{к,д}	31(77,50±1,40) ^{нп,д}	3(7,50 ±0,44)	9(22,50 ±0,76) ^{к,нп,д}	17(42,50 ±1,04) ^{к,нп,д}	16(40,00 ±1,01) ^{к,нп,д}
НП (n=40)	до	12(30,00 ±0,88) ^к	19(47,50±1,10) ^к	10(25,00 ±0,80)	21(52,50 ±1,16) ^к	34(85,00 ±1,47) ^к	34(85,00 ±1,47) ^к
	після	9(22,50±0,76) ^к	22(55,00±1,18) ^{к,но}	7(17,50±0,67)	18(45,00 ±0,76) ^{к,но}	28(70,00 ±1,34) ^{к,но}	26(65,00 ±1,29) ^{к,д}
К, n=30		27(90,00±0,00)	3(10,00±1,75)	0(0,00±0,00)	0(0,00±0,00)	0(0,00±0,00)	0(0,00±0,00)

- Примітки: 1. ^{к, но, нп} – різниця відносно показників груп К, НО, НП, $p < 0,05$;
 2. У однієї пацієнтки могли зустрічатися ділянки з піноподіями різних розмірів, форми і стадій розвитку;
 3. ^д – різниця між показниками до та після лікування, $p < 0,05$.

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 $65,00 \pm 1,29$, $p < 0,03$)

Аналіз динаміки формування мікрворсинок на піноподіях в ендометрії на L+8 день після лікування в досліджуваних групах показав вірогідне 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 у 2,11 рази ($p < 0,04$) (табл. 7.5).

Таблиця 7.5

Динаміка формування мікрворсинок на піноподіях в ендометрії на L+8 день після лікування в досліджуваних групах, n(P \pm p, %)

Група	Час відносно лікування	Рясні	Помірна кількість	Мала кількість
НО (n=40)	до	12(30,00 \pm 0,88) ^к	20(50,00 \pm 1,13) ^к	10(25,00 \pm 0,80) ^к
	після	7(17,50 \pm 0,67) ^к	14(35,00 \pm 0,95) ^к	19(47,50 \pm 1,10) ^{к,НП,Д}
НП (n=25)	до	12(30,00 \pm 0,88) ^к	22(55,00 \pm 1,18) ^к	8(20,00 \pm 0,72) ^к
	після	10(25,00 \pm 0,80) ^к	20(50,00 \pm 1,13) ^к	9(22,50 \pm 0,76) ^{к,НО}
К, n=30		0(0,00 \pm 0,00)	3(10,00 \pm 0,59)	27(90,00 \pm 1,75)

Примітки: 1. ^{к, нО, НП} – статистична різниця відносно показників груп К, НО, НП, $p < 0,05$;

2. У однієї пацієнтки могли зустрічатися ділянки з різною кількістю мікрворсинок;

3. ^д – вірогідна різниця між показниками до та після лікування ($p < 0,05$).

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 (табл. 7.6). 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 і перевищував аналогічний в групі НП в 1,21 рази ($p < 0,01$).

Таблиця 7.6

Динаміка імунореактивності стероїдних рецепторів (в ум.од.) в ендометрії на L+8 день після лікування в досліджуваних групах, (M±m)

Група	Час відносно лікування	IRS рецепторів естрогенів-α		IRS рецепторів П	
		залози	строма	залози	строма
НО (n=40)	до	72,54±8,31 ^к	69,05±8,09	102,32±9,11 ^к	107,59±7,53 ^к
	після	29,79±3,28 ^{к,нп,д}	62,53±5,47	37,53±2,20 ^{к,нп,д}	143,30±5,89 ^{нп,д}
НП (n=25)	до	76,46±8,66 ^к	66,12±7,70	101,51±8,76 ^к	111,74±7,53 ^к
	після	46,96±7,61 ^{к,но,д}	71,09±5,23	75,94±6,66 ^{к,но,д}	117,97±7,26 ^{к,но}
К, n=30		16,10±0,35	62,69±2,13	25,47±0,54	147,40±4,93

Примітки: 1. ^{к, но, нп} – статистична різниця відносно показників груп К, НО, НП, $p < 0,05$;

2. ^д – статистична різниця між показниками до та після лікування ($p < 0,05$).

Поліпшення рецептивності ендометрія у жінок групи НО в динаміці лікування супроводжувалося підвищенням експресії ЛІФ у 1,14 рази ($p < 0,01$) (табл. 7.7). Нscore ЛІФ у групі НО був більший за такий у групі НП у 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.

Таблиця 7.7

Динаміка імунореактивності ЛІФ та $\alpha V\beta_3$ -інтегринів (у %) в ендометрії на L+8 день після лікування в досліджуваних групах, (M \pm m)

Група	Hscore ЛІФ		Hscore $\alpha V\beta_3$ -інтегринів	
	до лікування	після лікування	до лікування	після лікування
НО, n=40	248,37 \pm 5,59 ^к	284,11 \pm 3,15 ^{нп,д}	291,60 \pm 4,30	295,19 \pm 3,20
НП, n=40	249,98 \pm 6,17 ^к	252,52 \pm 2,98 ^{к,но}	287,55 \pm 4,67	290,02 \pm 4,55
К, n=30	282,67 \pm 3,26		295,92 \pm 2,78	

Примітки: 1. ^{к, но, нп} – статистична різниця відносно показників груп К, НО, НП, $p < 0,05$;
2. ^д – статистична різниця між показниками до та після лікування ($p < 0,05$).

Динаміка спектру МНК-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 (табл. 7.8). 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 ($p < 0,01$)

Таблиця 7.8

Динаміка спектру МНК-клітин в стромі ендометрія на L+8 день після лікування в досліджуваних групах, (P \pm p, %)

Група	CD45+		CD56+		CD16+	
	до лікування	після лікування	до лікування	після лікування	до лікування	після лікування
НО, n=40	44,22 \pm 4,21 ^к	25,71 \pm 1,96 ^{к,нп,д}	81,00 \pm 8,85 ^к	42,63 \pm 4,13 ^{к,нп,д}	117,66 \pm 9,27 ^к	60,54 \pm 5,86 ^{к,нп,д}
НП, n=40	47,13 \pm 4,06 ^к	34,64 \pm 3,63 ^{к,но,д}	91,87 \pm 9,48 ^к	65,10 \pm 8,55 ^{к,но,д}	128,44 \pm 10,29 ^к	92,45 \pm 12,15 ^{к,но,д}
К, n=30	1,47 \pm 0,15		6,06 \pm 0,36		32,03 \pm 1,14	

Примітки: 1. ^{к, но, нп} – різниця відносно показників груп К, НО, НП, $p < 0,05$;
2. ^д – різниця між показниками до та після лікування ($p < 0,05$).

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 $2,49 \pm 0,66$ ‰ ($p < 0,04$) (рис. 7.2). 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 ($p < 0,01$).

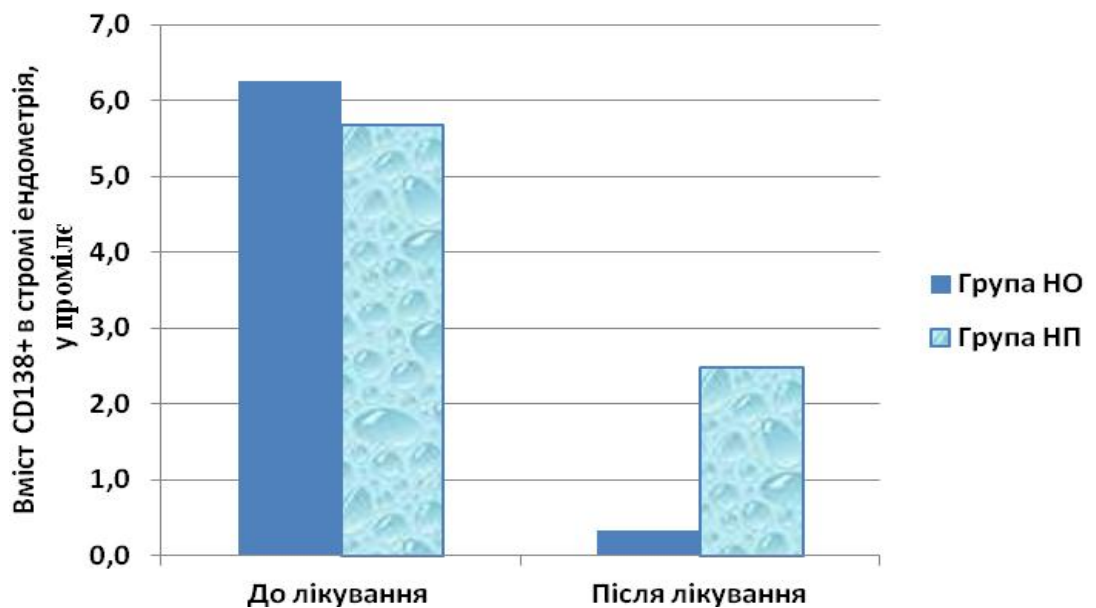


Рис. 7.2 Динаміка вмісту CD138+ на L+8 день після лікування в досліджуваних групах.

Аналіз динаміки кількості імунопозитивних клітин ендометрія в стані проліферації та апоптозу на L+8 день після лікування в досліджуваних групах показав зниження активності проліферативних процесів в залозах та стромі і активізацію апоптозу в стромі (табл. 7.9).

При цьому кількість клітин імунопозитивних клітин при ІГХ-зabarвленні МАТ до 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 при застосуванні TUNEL-методу у групі НО перевищувала таку у групі НП в 1,37 рази ($p < 0,04$), а в залозах вірогідно не відрізнялася.

Таблиця 7.9

Динаміка кількості імунопозитивних клітин ендометрія в стані проліферації та апоптозу на L+8 день після лікування в досліджуваних групах, (P±p, %)

Група	Час відносно лікування	Кількість імунопозитивних клітин при ІГХ-забарвленні МАТ до Ki-67		Кількість клітин в стані апоптозу при застосуванні TUNEL-методу	
		строма	залози	строма	залози
НО, n=40	до	6,59±0,45 ^к	9,22±1,59 ^к	3,25±0,34 ^к	1,40±0,30 ^к
	після	0,81±0,07 ^{к,нп,д}	0,08±0,03 ^{нп,д}	4,39±0,23 ^{нп,д}	2,17±0,27 ^д
НП, n=40	до	6,90±0,26 ^к	9,00±1,93 ^к	3,36±0,53 ^к	1,42±0,30 ^к
	після	1,10±0,10 ^{к,но,д}	0,19±0,06 ^{к,но,д}	3,57±0,33 ^{к,но}	1,58±0,24 ^к
К, n=30		0,26±0,07	0,03±0,02	4,67±0,27	2,46±0,24

Примітки: 1. ^{к, но, нп} – статистична різниця відносно показників груп К, НО, НП, p<0,05;

2. ^д – статистична різниця між показниками до та після лікування (p<0,05).

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 пологами відповідно у 30,00 % і 10,00 % жінок (табл. 7.10). Слід відмітити, що у групі НО у кожної сьомої жінки вагітність завершилася мимовільним перериванням, тоді як у групі НП – у кожної третьої.

Таблиця 7.10

Частота та характер відновлення репродуктивної функції у досліджуваних пацієток після проведення наступного циклу ВРТ, n (P±p, %)

Група	Настання вагітності	Пологи	Мимовільний аборт
НО, n=40	14(35,00±0,95) ^{нп}	12(30,00±0,88) ^{нп}	2(5,00±0,36)
НП, n=40	6(15,00±0,62) ^{но}	4(10,00±0,51) ^{но}	2(5,00±0,36)

Примітка: ^{но, нп} – статистична різниця відносно показників груп НО, НП, p<0,05

Таким чином, проведена корекція функціонального стану ендометрія за розробленим способом порівняно з існуючим привела до вірогідного зниження у периферичній крові рівня ЛГ на 5-й день МЦ у 1,24 рази ($p < 0,01$); підвищення рівня П на 22-й день МЦ в 1,29 ($p < 0,01$); зниження таких субпопуляцій НК-клітин, як $CD56^{dim}CD16^+CD69^+$ і $CD56^{dim}CD16^+CD94^+$ відповідно в 1,91 ($p < 0,01$) і в 1,99 рази ($p < 0,01$); збільшення числа жінок з наявністю в ендометрії в період передбачуваного вікна імплантації розвинутих піноподій в 1,41 рази ($p < 0,03$) та зменшення пацієток з ділянками відсутності піноподій в 2,00 ($p < 0,03$), з різною формою піноподій – в 1,65 ($p < 0,01$) і з різними розмірами піноподій – в 1,63 ($p < 0,03$); збільшення чисельності жінок з малою кількістю мікрворсинок у 2,11 рази ($p < 0,04$); зниження в залозах IRS PE α в 1,58 ($p < 0,05$) і РП в 2,02 ($p < 0,01$), підвищення IRS РП в стромі в 1,21 рази ($p < 0,01$); підвищенням експресії ЛІФ у 1,14 ($p < 0,01$); зниження в стромі ендометрія CD45+ в 1,35 рази ($p < 0,01$), CD56+ – в 1,53 ($p < 0,01$), CD16+ – в 1,53 ($p < 0,01$), CD138+ – в 7,55 рази ($p < 0,01$); зниження імунопозитивних клітин до Ki-67 в стромі в 1,36 рази ($p < 0,02$), в залозах – в 2,38 ($p < 0,02$) та збільшення кількості клітин в стані апоптозу в стромі ендометрія в 1,37 рази ($p < 0,04$).

Поліпшення функціональної активності ендометрія у пацієток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі і з корекцією функціонального стану ендометрія за розробленим способом порівняно з існуючим привело до збільшення настання вагітності в наступному циклі ДРТ в 2,33 рази ($p < 0,04$) та збільшення завершення вагітностей, що настали, пологами – в 3,00 ($p < 0,03$).

РОЗДІЛ 8

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Однією з можливих причин невдач в програмі ДРТ є порушення процесів нїдації та імплантації бластоцисти, що, безсумнівно, у жінок гарних відповідачів пов'язане з функціональним станом ендометрія. Вирішальною умовою настання і прогресування вагітності є синхронізація розвитку ембріона і його мікрооточення. Склад ендометріального секрету і властивості маткового епітелію визначають, чи зможе, вільна бластоциста вижити і імплантуватися або її зростання припиниться, а імплантація не наступить [171-174].

Тому метою проведеного дослідження стало підвищення ефективності лікування безпліддя в програмі ДРТ шляхом розробки та впровадження методів діагностики та корекції функціонального стану ендометрія у жінок гарних відповідачів. Для вирішення поставленої мети були виявлені особливості ендометріальних рецепторів до стероїдних гормонів у пацієток з невдалими спробами ДРТ; вивчений у них характер піноподій та секреції ендометрієм молекул імплантації; стан місцевого імунітету в ендометрії і взаємозв'язок його з синтезом рецепторів до стероїдних гормонів і секрецією молекул імплантації; оцінена доцільність імуногістохімічного визначення сіндекану-1 в ендометрії щодо діагностики хронічного ендометриту; визначені особливості процесів проліферації та апоптозу в ендометрії у пацієток з невдалими спробами ДРТ; розроблена та впроваджена схема діагностики та корекції функціонального стану ендометрія, оцінена її ефективність.

У процесі роботи були використані клініко-анамнестичні, загальносоматичні, гінекологічні, ланцюгової полімеразної реакції, ультразвукові, гістероскопічні, радіоімунологічні, імуноферментні, цитофлюорометричні, морфологічні, імуногістохімічні, скануючої електронної мікроскопії, статистичні методи дослідження.

На першому етапі дослідження під нагляд було взято 367 безплідних подружніх пар, яким було потрібно лікування за допомогою ДРТ. Після збору клініко-анамнестичних даних та обстеження 127 пацієток виключено з дослідження відповідно критеріям включення та виключення. 140 жінкам гарним відповідачам групи ДРТ, що ввійшли в дослідження, та 30 жінкам контрольної групи К були проведено комплексне дослідження ендометрія, гормонального та імунного статусу. Проведені цикли ДРТ усім пацієткам. В залежності від результатів ДРТ вони були розподілені на групи Н (n=80) з невдалими імплантаціями та В (n=60) – з вдалими.

Вік обстежених жінок коливався від 25 до 39 років і в середньому склав: у групі ДРТ – $33,91 \pm 0,39$ років, у тому числі, у групі Н – $33,88 \pm 0,53$, НО – $33,48 \pm 0,78$, НП – $34,28 \pm 0,71$, В – $33,97 \pm 0,60$, в контрольній групі – $34,13 \pm 0,87$ років, між групами вірогідно не відрізнявся.

Проведений аналіз клініко-анамнестичних та антропометричних даних; ехографічних розмірів яєчників, матки і М-ехо; рівнів в периферичній крові ФСГ, ЛГ, ПРЛ, E_2 і П, ТТГ, T_3 і T_4 ; субпопуляційного складу лімфоцитів розподілу хронологічної відповідності ендометрія фазі і дню МЦ за критеріями О.И. Топчиевой і R.W. Noyes та гістологічних діагнозів показав, що групи Н і В в основному і групи НО і НП були однорідні за вивчаємими показниками, що дозволило порівнювати результати подальших досліджень.

Безплідні пацієнтки-гарні відповідачі циклів ДРТ з останньою невдалою імплантацією мали порівняно з жінками з останньою вдалою імплантацією більший рівень T_v в 1,45 ($p < 0,01$) рази та ріст пушкового волосся в зоні верхньої губи в 2,38 рази ($p < 0,02$), плеча – в 3,87 ($p < 0,01$), задньої поверхні стегон – в 1,48 ($p < 0,01$) та попереку – в 2,40 ($p < 0,01$); у 2,91 рази ($p < 0,01$) 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 (3067 ± 34 проти 2545 ± 41 МО, $p < 0,01$) і в 1,12 рази (8655 ± 54 проти 7753 ± 61 пг/мл, $p < 0,01$).

Пацієток-гарних відповідачів циклів ДРТ з невдалими імплантаціями в анамнезі відрізняли від здорових фертильних жінок білатерально збільшені яєчники та потовщене М-ехо на 5-й день МЦ.

У пацієток-гарних відповідачів циклів ДРТ з невдалими імплантаціями в анамнезі у фолікулінову фазу МЦ базальний рівень ФСГ був підвищений відносно фертильних жінок групи К в 1,67 рази ($p < 0,01$), ЛГ – в 1,41 ($p < 0,01$), E_2 на 2-3-й день МЦ вищий у 1,30 рази ($p < 0,01$) і на 22-й день МЦ менший у 1,37 рази ($p < 0,01$); П на 22-й день МЦ менший у 2,18 рази ($p < 0,01$); Тв вищий у 1,38 рази ($p < 0,01$).

У пацієток групи ДРТ відмічали порівняно з жінками групи К зниження рівнів субпопуляцій лімфоцитів, таких як Т-лімфоцитів CD3+ на 15,28 % ($p < 0,01$); імунорегуляторної хелперної/індукторної субпопуляції Т-лімфоцитів CD4+ на 23,59 % ($p < 0,01$); супресорної/цитотоксичної субпопуляції Т-лімфоцитів CD8+ на 12,45 % ($p < 0,01$); натуральних кілерних клітин CD16+ на 22,56 % ($p < 0,01$) і підвищення долі активованих Т-лімфоцитів CD25+ на 12,46 % ($p < 0,01$).

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. Виділені основні відмінності та розроблена схема патогенезу арецептивності ендометрія.

У пацієток з невдалими спробами ДРТ в період передбачуваного вікна імплантації спостерігалися зміни експресії рецепторів стероїдних гормонів в ендометрії, загальною тенденцією яких було підвищення продукції РЕ α та РП в залозах, в стромі – зниження РП на тлі нормальної експресії РЕ α .

При відповідності ендометрія в день передбачуваного вікна імплантації фазі проліферації IRS РЕ α в залозах склав від аналогічних показників контрольної групи $421,43 \pm 84,17$ % ($p < 0,01$), IRS РП – $357,00 \pm 39,05$ % ($p < 0,01$), а в стромі

ендометрія – $133,50 \pm 22,57$ % ($p > 0,05$) і $67,05 \pm 8,67$ % ($p < 0,01$); при відповідності ранній фазі секреції – $406,07 \pm 62,72$ % ($p < 0,01$), $481,52 \pm 42,01$ % ($p < 0,01$) і $117,83 \pm 19,19$ % ($p > 0,05$), $83,20 \pm 5,46$ % ($p < 0,01$); середній фазі секреції – $372,10 \pm 37,07$ % ($p < 0,01$), $366,36 \pm 28,55$ % ($p < 0,01$), $86,92 \pm 6,89$ % ($p > 0,05$), $80,40 \pm 3,58$ % ($p < 0,01$); пізній фазі секреції – $286,94 \pm 87,11$ % ($p > 0,05$), $194,17 \pm 52,17$ % ($p > 0,05$) і $114,10 \pm 29,81$ % ($p > 0,05$), $78,51 \pm 11,35$ % ($p > 0,05$); в ендометрії змішаної будови – $266,55 \pm 26,41$ % ($p < 0,01$), $316,05 \pm 39,84$ % ($p < 0,01$) і $111,82 \pm 14,56$ % ($p < 0,01$), $61,69 \pm 5,12$ % ($p < 0,01$).

Так, при наявності хронічного ендометриту у пацієнок з невдалими спробами ДРТ IRS PE α ($49,19 \pm 3,82$ ум.од.) перевищував такий в контролі в 2,62 рази ($p < 0,01$), IRS до РП ($87,02 \pm 6,63$ ум.од.) – в 3,40 ($p < 0,01$); в стромі IRS до PE α ($49,45 \pm 2,50$ ум.од.) був нижчий в 1,27 рази ($p < 0,01$), IRS до РП ($92,29 \pm 4,30$ ум.од.) – в 1,60 ($p < 0,01$); при наявності гіперпластичних процесів ендометрія IRS PE α в залозах ($74,28 \pm 8,17$ ум.од.) був більше за такий в контролі в 4,61 рази ($p < 0,01$); IRS до РП ($111,36 \pm 7,99$ ум.од.) – в 4,37 ($p < 0,01$); в стромі IRS до PE α ($84,31 \pm 9,76$ ум.од.) був більший в 1,34 рази ($p < 0,04$), а IRS до РП ($122,58 \pm 7,18$ ум.од.) – менший в 1,20 ($p < 0,01$). У пацієнок з невдалими спробами ДРТ в анамнезі без явищ гіперпластичних та запальних процесів в ендометрії IRS PE α ($52,77 \pm 9,44$ ум.од.) перевищував такий в контролі в 3,28 рази ($p < 0,01$), IRS до РП ($78,94 \pm 10,06$ ум.од.) – в 3,14 ($p < 0,01$); а в стромі IRS до PE α ($72,66 \pm 8,83$ ум.од.) і IRS до РП ($135,09 \pm 7,42$ ум.од.) вірогідно не відрізнявся від контрольних показників.

Описані вище тенденції були загальними по групах, але для кожної пацієнтки з невдалими спробами ДРТ в анамнезі була характерною своя індивідуальна експресія рецепторів статевих гормонів. У пацієнок з хронічним ендометритом відсоток IRS PE α в залозах від аналогічних показників контрольної групи варіював від 94,41 % до 925,47 %, РП – від 56,54 % до 687,87 %, а в стромі ендометрія – відповідно від 34,93 % до 134,95 % і від 26,66 % до 103,53 %; з гіперпластичними процесами ендометрія – в залозах від 103,11 % до 1222,36 %, від 97,76 % до 764,04 %, в стромі від 15,63 % до 297,66 %, від 7,39 % до 114,79 %;

у жінок без запальних і гіперпластичних процесів в ендометрії – в залозах від 43,54 до 1154,04 %, від 40,83 до 771,89 %, в стромі від 17,87 до 253,63 %, від 36,91 % до 115,06 %.

Для пацієнток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі характерною рисою було те, що у жінок з останньою невдалою спробою порівняно з жінками з останньою вдалою спробою була більш виражена гіперекспресія PE α в залозах: середній відсоток імунореактивних клітин до МАТ до PE- α у групі Н (55,80 \pm 2,52 %) перевищував такий в групі В (35,03 \pm 2,11 %) в 1,59 рази (p<0,01). Співвідношення РП/PE 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 пацієнток групи В було \geq 1,50. Суттєвим фактом є той, що співвідношення експресії РП/PE 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).

У пацієнток з останньою невдалою спробою порівняно з жінками з останньою вдалою спробою спостерігався більш високий рівень IRS PE α (74,50 \pm 5,97 ум.од. проти 35,75 \pm 2,03 ум.од., p<0,01) та IRS РП (101,92 \pm 6,28 ум.од. проти 80,70 \pm 6,66 ум.од., p<0,02). IRS PE α та IRS РП в залозах у групі Н складав від аналогічних контрольних показників 462,74 \pm 37,06 % (p<0,01) і 400,14 \pm 24,65 % (p<0,01); у групі В – відповідно 222,03 \pm 12,61 і 316,83 \pm 26,14 %. IRS PE α і РП в групах Н і В вірогідно не відрізнявся між собою і з групою К.

Ступень порушення формування піноподій та їх мікроросинок в період передбачуваного вікна імплантації залежав, як і очікувалося, від хронологічної відповідності фазі та дню МЦ. Найчастіше розвинуті піноподії зустрічалися в групі пацієнток, у яких ендометрій на 22-й день МЦ відповідав середній фазі секреції (64,52 %), а найрідше – фазі проліферації (16,67 %).

При цьому при СЕМ для жінок з відповідністю морфофункціональних змін слизової матки на день LH+8 фазі проліферації найбільш характерною була візуалізація сканограми "до початку зростання піноподій" (66,67 %), рідкісні

піноподії, що розвиваються, з короткими товстими мікрворсинками або поля піноподій, що розвиваються (83,33 %), вкриті помірною кількістю товстих коротких мікрворсинок (61,11 %). У 77,78 % випадків піноподії були різної форми і у 83,33 % – різних розмірів. У кожної шостої з таких жінок зустрічалися поодинокі розвинуті піноподії. У 27,78 % жінок цієї групи на поверхневому просвітному епітелії спостерігалися рясні короткі, товсті мікрворсинки. У контрольній групі на день LH+8 піноподії, що розвиваються, при СЕМ не виявлялися; переважали випадки з малою кількістю коротких, товстих мікрворсинок на поверхневому просвітному епітелії.

При СЕМ у пацієток з ендометрієм, відповідним на день LH+8 фазі ранньої секреції, найчастіше зустрічали чергування ділянок відсутності піноподій (48,00 %) з ділянками піноподій, що розвиваються (80,00 %); наявність циліарних клітин або поля піноподій, що розвиваються, вкриті помірною кількістю товстих коротких мікрворсинок (60,00 %); мозаїцизм форми (56,00 %) та розмірів (64,00 %). Розвинуті піноподії візуалювалися у 20,00 % цієї групи. У 24,00 % жінок короткі, товсті мікрворсинки на поверхневому просвітному епітелії були рясними і у 24,00 % – нечисленими.

У жінок з відповідністю морфофункціональних змін ендометрія на день LH+8 фазі середньої секреції на скенограмах переважна кількість піноподій була розвинутими (64,52 %), але різних розмірів (80,65 %) і форми (88,71 %), вкриті помірною кількістю мікрворсинок (43,55 %), зустрічалися циліарні клітини або рідше візуалювалися поля розвинутих піноподій різних розмірів з малою кількістю мікрворсинок (29,03 %), наявність циліарних клітин. У 19,35 % випадків піноподії були на стадії таких, що розвиваються. Ділянки відсутності піноподій візуалювали у 54,84 % випадків. У 33,87 % жінок цієї групи на поверхневому просвітному епітелії спостерігалися рясні короткі, товсті мікрворсинки. У контрольній групі на день LH+8 розвинуті піноподії виявлялися у 90,00 % пацієток; найчастіше з малою кількістю мікрворсинок.

При СЕМ у пацієток з ендометрієм, відповідним на LH+8 день фази пізньої секретії, найчастіше реєстрували піноподії в стадії регресу (70,00 %) та багато циліарних клітин з великою (40,00 %) або помірною (40,00 %) кількістю мікрворсинок; а також поля піноподій в стадії регресу з малою кількістю коротких товстих мікрворсинок (20,00 %). Розвинуті піноподії візуалювалися лише у 20,00 % цієї групи. Був виражений мозаїцизм форми (80,00 %) та розмірів (80,00 %) піноподій. Ділянки відсутності піноподій спостерігали у 40,00 % випадків.

При СЕМ у пацієток з ендометрієм змішаної будови на LH+8 день практично з однакою частотою спостерігали розвинуті піноподії (40,00 %) та піноподії в стадії регресу (48,00 %), а піноподії, що розвиваються, – у 12,00 % жінок. У 100 % пацієток піноподії були різної форми та розмірів. Ділянки відсутності піноподій спостерігали у 52,00 % випадків. Просвітний поверхневий матковий епітелій мав у 24,00 % випадків рясні мікрворсинки, у 64,00 % – помірну їх кількість, у 12,00 % – малу.

Виявлено, що формування піноподій в ендометрії жінок гарних відповідей з невдалими спробами в анамнезі ДРТ залежить від наявності в ньому таких патологічних процесів, як хронічне запалення та гіперпроліферація. У 53,13 % жінок з хронічним ендометритом піноподії в день передбачуваного вікна імплантації були розвинутими; в 21,88 % – піноподіями, які розвиваються, та в 23,44 % – такими, які регресують. У 53,13 % жінок спостерігалися ділянки відсутності піноподій. Піноподії були різними за формою (90,63 %) та розмірами (90,63 %) у переважної кількості пацієток. 56,25 % жінок мали помірну кількість мікрворсинок на поверхневому просвітному матковому епітелії, 26,56 % – рясні мікрворсинки, 18,75 % – малу кількість. У пацієток з хронічним ендометритом число випадків наявності в ендометрії розвинутих піноподій було в 2,13 рази більше ($p < 0,01$), ніж у жінок з гіперпластичними процесами ендометрія, проте піноподій, що розвиваються, – в 2,70 рази менше ($p < 0,01$). У жінок з хронічним ендометритом порівняно з пацієтками без запальних та гіперпроліферативних

процесів в ендометрії, було більше число випадків наявності піноподій різної форми та розмірів – відповідно в 1,71 ($p<0,01$) і в 1,38 ($p<0,01$) рази.

Тільки в 25,00 % жінок з гіперпроліферативними процесами в ендометрії піноподії в день передбачуваного вікна імплантації були розвинутими; в 59,09 % – піноподіями, які розвиваються, та в 18,18 % – такими, які регресують. У 54,55 % жінок реєструвалися ділянки відсутності піноподій. Мозаїцизм форми (81,82 %) та розмірів (90,91 %) спостерігався у переважної кількості пацієнток. Практично у всіх жінок спостерігалися циліарні клітини, при цьому більш, ніж в половині випадків вони були численними. 50,00 % жінок мали помірну кількість мікроворсинок на поверхневому проясненому матковому епітелії, 29,55 % – рясні мікроворсинки, 29,55 % – малу кількість. У пацієнток з гіперпластичними процесами ендометрія число випадків наявності в ендометрії розвинутих піноподій було менше в 1,88 рази ($p<0,01$), ніж у жінок без запальних та гіперпроліферативних процесів в ендометрії, проте піноподій, що розвиваються, – в 1,89 рази більше ($p<0,01$). У жінок з гіперпластичними процесами ендометрія порівняно з пацієнтками без запальних та гіперпроліферативних процесів в ендометрії, частіше зустрічалися піноподії різної форми та розмірів – відповідно в 1,54 ($p<0,01$) і в 1,39 ($p<0,01$) рази.

Безплідні пацієнтки гарні відповідачі з невдалими спробами ДРТ в анамнезі без хронічних та запальних процесів в ендометрії, хоча й не мали перерахованої патології, але також вірогідно відрізнялися від жінок групи К за характером формування піноподій: розвинутих піноподій було в 1,92 рази менше ($p<0,01$), ніж у жінок контролю; проте піноподії, що розвиваються, спостерігалися у 31,25 % пацієнток, тоді як в контролі таких не було ($p<0,01$). У 53,13 % жінок реєструвалися ділянки відсутності піноподій. Піноподії були різними за формою у 53,13 жінок та за розмірами у 65,63 %. У контрольній групі не виявлені ділянки відсутності піноподій, варіабельність форми і розмірів піноподій. Біля половини жінок без хронічних та запальних процесів в ендометрії (46,88 %) мали помірну

кількість мікрворсинок на поверхневому проясвітному матковому епітелії, 37,50 % – рясні мікрворсинки, 21,88 % – малу кількість.

Аналіз особливостей формування піноподій та їх мікрворсинок в ендометрії в залежності від ефективності останньої спроби ДРТ показав, що в групі В в 2,05 рази ($p < 0,01$) рідше зустрічалися пацієнтки з піноподіями, що розвиваються, і в 1,52 ($p < 0,01$) частіше з розвинутими піноподіями; в 1,50 рази ($p < 0,04$) рідше зустрічалися жінки з ділянками відсутності піноподій в ендометрії; в 1,45 ($p < 0,01$) – з різною формою піноподій і в 1,24 ($p < 0,03$) – з різними розмірами піноподій. Групи Н і В вірогідно не розрізнялися за чисельністю жінок з рясними та з помірною кількістю мікрворсинок. У пацієток з останньою вдалою спробою ДРТ в 1,70 рази частіше ($p < 0,04$) зустрічалися жінки з малою кількістю мікрворсинок.

ЛІФ та $\alpha V\beta_3$ -інтегрини при ІГХ мали цитоплазматичний характер забарвлення, яке було найбільш виражене в апікальних і базальних відділах клітин. Імунореактивність ЛІФ в ендометрії пацієток контрольної групи варіювала від 206,90 до 302,20 ум.од., в середньому склала $282,67 \pm 3,26$ ум.од., $\alpha V\beta_3$ -інтегринів – від 244,29 до 323,12 ум. од., в середньому дорівнювала $295,92 \pm 2,78$ ум. од. У групі безплідних пацієток з невдалими спробами ДРТ HScore ЛІФ варіював в межах від 202,30 до 298,60 ум. од., в середньому склав $256,39 \pm 3,24$ ум. од., був менше порівняно з контролем в 1,10 рази ($p < 0,01$). Характерною була нерівномірна експресія ЛІФ. HScore $\alpha V\beta_3$ -інтегринів варіював від 216,17 до 341,50 ум. од., в середньому склав $290,60 \pm 2,37$ ум. од. і вірогідно від контрольних показників не відрізнявся.

Був проведений аналіз експресії ЛІФ і $\alpha V\beta_3$ -інтегринів в день передбачуваного вікна імплантації у безплідних пацієток гарних відповідей з невдалими спробами ДРТ залежно від відповідності морфофункціонального стану ендометрія дню і фазі МЦ. При морфофункціональній невідповідності ендометрія фазі і дню МЦ тенденції змін експресії ЛІФ і $\alpha V\beta_3$ -інтегринів в день передбачуваного вікна імплантації відповідали вище виявленим загальним: при

відповідності ендометрія фази проліферації HScore ЛІФ склав від аналогічних показників контрольної групи $84,21 \pm 2,79$ % ($p < 0,01$), HScore $\alpha V\beta_3$ -інтегринів – $92,76 \pm 2,22$ % ($p < 0,01$); при відповідності ранній фазі секреції – $86,44 \pm 2,96$ % ($p < 0,01$), $96,70 \pm 1,97$ % ($p > 0,05$); середній фазі секреції – $94,61 \pm 1,44$ % ($p < 0,01$), $101,09 \pm 1,24$ % ($p > 0,05$); пізній фазі секреції – $93,20 \pm 5,12$ % ($p < 0,01$), $93,43 \pm 1,68$ % ($p < 0,01$); при змішаній будові – $89,56 \pm 3,04$ % ($p < 0,01$), $99,49 \pm 1,12$ % ($p < 0,01$).

Була проаналізована експресія ЛІФ і $\alpha V\beta_3$ -інтегринів в день передбачуваного вікна імплантації у безплідних пацієнток гарних відповідей з невдалими спробами ДРТ в залежності від наявності запальних та гіперпластичних процесів в ендометрії. Для ендометрія, в якому спостерігалися явища хронічного ендометриту), було характерне зниження HScore ЛІФ, який склав від аналогічних показників контрольної групи $91,77 \pm 1,78$ % ($p < 0,01$); тоді як HScore $\alpha V\beta_3$ -інтегринів вірогідно не відрізнявся і дорівнював $102,10 \pm 0,98$ % ($p > 0,05$). При гіперпластичних процесах ендометрія була знижена як експресія ЛІФ ($88,96 \pm 1,97$ %, $p < 0,01$), так і $\alpha V\beta_3$ -інтегринів ($92,54 \pm 1,36$ %, $p < 0,01$). У пацієнток без явищ хронічного ендометриту та гіперпластичних процесів реєструвалося зменшення HScore ЛІФ, 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 ($98,19 \pm 1,67$ %, $p > 0,05$).

Для кожної хворої була характерна своя індивідуальна експресія молекул імплантації. У пацієнток з хронічним ендометритом відсоток HScore ЛІФ від аналогічних показників контрольної групи в ендометрії варіював від $73,68$ % до $107,88$ %, HScore $\alpha V\beta_3$ -інтегринів – від $83,00$ % до $109,62$ %; з гіперпластичними процесами ендометрія – від $74,59$ % до $84,19$ %; без явищ хронічних запальних і гіперпластичних процесів – від $75,74$ % до $107,10$ % і від $84,04$ % до $115,40$ %.

У жінок з останньою невдалою спробою порівняно з жінками з останньою вдалою спробою була знижена секреція ЛІФ в 1,07 рази ($p < 0,01$), тоді як секреція $\alpha V\beta_3$ -інтегринів вірогідно не відрізнялася.

Аналіз субпопуляції НК-клітин периферичної крові показав, що для жінок, які мали успішну вагітність, середнє значення абсолютної кількості $CD56^{dim}CD16+CD69+HK$ -клітин було $(0,58\pm 0,12)\times 10^6/л$. Для тих жінок, які не змогли досягти вагітності, середнє значення абсолютного числа $CD56^{dim}CD16+CD69+HK$ -клітин $(1,62\pm 0,52)\times 10^6/л$ було вище в 2,79 рази ($p<0,01$). Абсолютна кількість $CD94+$ і $CD16+$ експресії $CD56^{dim}HK$ -клітинами і $CD56^{bright}$ -НК-клітинами не мала суттєвої різниці між жінками з успішними і невдалими спробами ДРТ.

У роботі [113] було показано, що рівень $CD56^{dim}CD16+CD69+$ 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 $CD69+HK$ -клітин $< 1,0\times 10^6/л$, на групу II ($n=61$), де жінки мали число $CD69+>1,0\times 10^6/л$. При цьому не спостерігалось жодних відмінностей між групою I і II щодо віку, причин і тривалості безпліддя і базального рівня ФСГ.

Середнє число попередніх невдалих спроб ДРТ і середнє число попередніх викиднів були вище в 2,13 ($p<0,01$) рази і в 2,28 ($p<0,01$) в групі II порівняно з групою I. Не було ніякого істотного розходження між двома групами щодо кількості використаного гонадотропіну для стимуляції, рівня естрадіолу в день введення хоріонічного гонадотропіну людини, кількості зібраних овоцитів, частоти запліднення, кількості отриманих ембріонів для переносу. 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 вище, ніж в групі I в 5,90 рази ($p<0,05$).

При оцінці $CD56^{bright}CD69+$ клітин, субпопуляції НК-клітин, яка фенотипично схожа на маткові кілери, виявлено, що рівень периферичних клітин $CD56^{bright}CD69+HK$ достовірно не відрізнявся між вагітними і невагітними. Не виявлено ніякого зв'язку між абсолютним числом $CD56^{dim}CD16+CD94+HK$ -клітин і $CD56^{bright}CD94+HK$ -клітин з підсумками ДРТ.

Було проведено вивчення LCA та субпопуляцій НК-клітин в ендометрії досліджуваних жінок. Кількість імунопозитивних LCA в ендометрії на 22-й день МЦ варіювала від 16,32 до 250,90 ‰ і 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+НК в ендометрії жінок групи ДРТ був в межах від 9,97 до 213,28 ‰ і в середньому дорівнював $76,50 \pm 4,16\%$, що перевищувало такий вміст у пацієток групи К ($6,06 \pm 0,36\%$) в 12,62 рази ($p < 0,01$). Кількість імунопозитивних клітин до МАТ до CD16+НК в ендометрії жінок групи ДРТ була від 5,64 до 112,93 ‰, 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 пацієток групи ДРТ варіював від 0,11 до 1,26, в середньому сягав $0,60 \pm 0,02$, що було більше таких середніх показників контролю ($0,25 \pm 0,03$) відповідно в 2,40 ($p < 0,01$) рази.

При хронологічній невідповідності морфофункціонального стану ендометрія фазі і дню МЦ тенденції змін експресії CD45+, CD56+НК, CD16+НК і співвідношення CD16+/CD56+ в день передбачуваного вікна імплантації відповідали вище виявленим загальним тенденціям.

При відповідності ендометрія фазі проліферації вміст CD45+ в ньому вірогідно перевищував аналогічні показники контрольної групи в 3,61 рази; CD56+НК – в 9,00; CD16+НК – в 22,40; CD16+/CD56+ – в 2,33; при відповідності ранній фазі секреції – в 2,38 рази; в 20,19; в 47,28; в 2,65; при відповідності середній фазі секреції – в 3,97 рази; в 14,50; в 31,60; в 2,30; при відповідності пізній фазі секреції – в 6,08 рази; 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. З наведених даних видно, що найбільше збільшення експресії CD45+, CD56+НК і високоцитотоксичних CD16+НК спостерігалось при відповідності ендометрія пізній і середній фазі секреції, а найбільша диспропорція між їх вмістом – при відповідності фазі проліферації.

При аналізі імунореактивних клітин в ендометрії у безплідних пацієток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі залежно від гістологічного діагнозу

встановлено, що вірогідно у пацієток з хронічним ендометритом вміст CD45+ перевищував аналогічні показники контрольної групи в 3,58 рази; CD16+НК – в 32,27; CD56+НК – 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+НК, 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 НК в ендометрії у пацієток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі, ми також спостерігали випадки зниженого їх вмісту аж до слідів. Характерною рисою був нерівномірний вміст LCA і НК-клітин в одному полі зору і в різних ділянках препарату ендометрія. Так, у жінок з хронічним ендометритом вміст імунопозитивних CD45+ в ендометрії варіював від 45,55 до 250,90 %; CD56+ НК – від 42,13 до 203,00 %; CD16+НК – від 12,54 до 111,70 %; з гіперплазією ендометрія – від 24,70 до 201,23 %; від 9,97 до 179,78%; від 7,92 до 112,93 %; без явищ хронічних запальних і гіперпластичних процесів в ендометрії – від 16,32 до 250,52 %; від 12,94 до 213,28 %; від 5,64 до 81,43 %.

Було проведено порівняння вмісту LCA та субпопуляцій НК-клітин в ендометрії у пацієток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі в період передбачуваного вікна імплантації в залежності від ефективності останньої спроби. У жінок з останньою невдалою спробою порівняно з жінками з останньою вдалою спробою спостерігався більш високий вміст в ендометрії LCA та субпопуляцій НК-клітин в стромі: рівень CD45+ в групі Н ($123,05\pm 6,91$ %) перевищував такий в групі В ($103,03\pm 6,49$ %) в 1,19 рази ($p<0,04$); CD56+НК – в 1,26 ($45,67\pm 2,91$ проти $36,35\pm 2,36$ %, $p<0,01$); CD16+НК – в 1,26 ($45,67\pm 2,91$ проти $36,35\pm 2,36$ %, $p<0,01$); тоді як співвідношення CD16+/ CD56+ вірогідно не відрізнялося ($0,59\pm 0,02$ проти $0,60\pm 0,03$).

При дослідженні зразків ендометрія в основній та контрольній групі 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+ зустрічалося тільки у пацієток 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 13 (20,31 %) пацієток з хронічним ендометритом, у яких за даними результатів гістологічного дослідження зразків ендометрія, пофарбованих гематоксиліном та еозином, була зафіксована лише секреторна трансформація ендометрія і поодинокі лімфоїдні клітини або невеликі лімфоїдно-гістіоцитарні інфільтрати в стромі, при імуногістохімічному забарвленні виявлена наявність плазмоцитів в стромі. У групі ДРТ у жінок з останньою невдалою спробою порівняно з жінками з останньою вдалою спробою спостерігався більш високий вміст в ендометрії сіндекану-1: CD138+ в групі Н ($5,97 \pm 1,01\%$) перевищував такий в групі В ($3,99 \pm 0,84\%$) в 1,50 рази ($p < 0,05$).

При аналізі кількості імунопозитивних клітин ендометрія в стані проліферації та апоптозу 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 пацієток зареєстрована протилежна тенденція – кількість імунопозитивних клітин до Ki-67 в стромі ендометрія перевищувала число апоптотичних клітин.

Так відсоток імунопозитивних клітин до Ki-67 в стромі у безплідних пацієток 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.

Серед безплідних жінок гарних відповідачів з невдалими спробами ДРТ в анамнезі 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 кількості імунопозитивних клітин до Ki-67 порівняно з аналогічними показниками контрольної групи в 21,32 рази ($p<0,01$); тоді як відсоток клітин в стані апоптозу за даними TUNEL-методу був менший в 1,48 рази ($p<0,01$). При гіперпластичних процесах ендометрія відмічалось підвищення відсотку імунопозитивних клітин до 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 реєструвалось 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 – $r=0,28$ $p<0,01$; IRS РП – $r=0,21$ в залозах, $p<0,02$.

У жінок з останньою невдалою спробою порівняно з жінками з останньою вдалою спробою відмічається більша кількість імунопозитивних клітин при ІГХ-зabarвленні 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 та РП, формування піноподій та їх мікроворсинок, знижується секреція ЛФ, змінюється інфільтрація ендометрія LCA, eHK і CD138, посилюється проліферація та знижується апоптоз, що порушує функціональну активність ендометрія і приводить до розвитку його арецептивності, тобто несприйняття бластоцисти для імплантації (рис. 8.1).

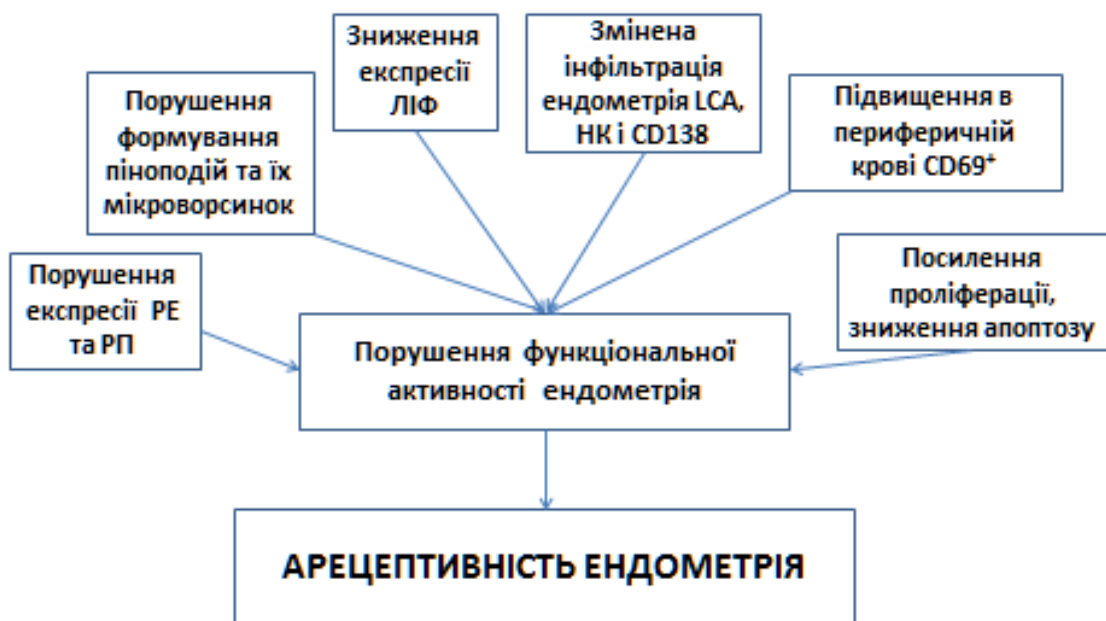


Рис. 8.1 Схема арецептивності ендометрія у пацієнок з невдалими спробами ДРТ в анамнезі

На третьому етапі дослідження на підставі схеми патогенезу арцептивності ендометрія розроблена персоніфікована схема відновлення функціонального стану ендометрія, яка була застосована у пацієток групи НО (n=40) [170] перед проведенням чергового циклу ДРТ. Пацієнтки групи НП (n=40) отримали традиційну підготовку до циклу ДРТ [169].

В основу розробленої схеми було поставлено задачу дослідження продукції CD69+CD56+-клітин в периферичній крові, встановлення різновидів порушень функціональної активності ендометрія на підставі проведення гістологічного дослідження зразків ендометрія в день передбачуваного вікна імплантації та завдяки цьому призначення додаткового персоніфікованого лікування кожного різновиду, що було повинно забезпечити підвищення точності вибору лікування й ефективності обраної терапії.

Поставлена задача вирішувалася тим, що у відомому способі [160] вибору лікування порушень ендометрія у жінок з невдалими спробами ДРТ в анамнезі встановлюють вид порушення гістологічним, імуногістохімічним та за допомогою СЕМ методами та його відповідність фазі МЦ в день передбачуваного вікна імплантації, порушення імунної реактивності та вибирають консервативне лікування в залежності від результатів дослідження.

Новим у способі є те, що при порушенні імунної реактивності ендометрія додатково визначали наявність гіпер- чи гіпопродукції CD69+CD56+-клітин в периферичній крові і CD16+CD56+eНК-клітин і в 1-й місяць терапії всім пацієткам призначали курс з 10 ін'єкцій плацентарних регуляторних пептидів та пероральний прийом вітаміну Е впродовж 3-х місяців з 15-го по 26 дні МЦ, в 2-й та 3-й місяці терапії призначають щоденні ін'єкції 5-аміно-1,2,3,4-тетрагідрофталазин-1,4-діонанатрієвої солі по 0,2 г або ректально супозиторії галавіт двічі на добу з 15-го по 25-й день МЦ в разі виявлення гіперпродукції CD69+CD56+-клітин в периферичній крові і CD16+CD56+eНК-клітин, а в разі виявлення гіпопродукції CD69+CD56+-клітин в периферичній крові і

CD16+CD56+eHK-клітин призначали ін'єкції 5-аміно-1,2,3,4-тетрагідрофталазин-1,4-діонанатрієвої солі по 0,1 г і супозиторії 1 раз на добу, додатково проводили диференційну діагностику різновидів гіперпластичних процесів ендометрія і при діагностованій простій неатиповій гіперплазії ендометрія з наявністю стероїдних рецепторів призначали курс гестагенотерапії та низькодозованого КОК з високим антипроліферативним індексом, 5-аміно-1,2,3,4-тетрагідрофталазин-1,4-діонанатрієвої солі ректально й ін'єкційно; при діагностованій простій неатиповій гіперплазії ендометрія з відсутністю стероїдних рецепторів – курс агоністів ГнРГ, 5-аміно-1,2,3,4-тетрагідрофталазин-1,4-діонанатрієвої солі ректально й ін'єкційно, при комплексній гіперплазії ендометрія призначали курс депо агоністів ГнРГ, при ефективності призначеної терапії курс повторювали.

У разі виявлення хронічного ендометриту призначали курс з 10 ін'єкцій плацентарних регуляторних пептидів, потім впродовж 9 днів ректально по 1 супозиторію, який вміщує 15 000 МО стрептокінази та 1 250 МО стрептодорнази, перорально вітамін Е по 200 мг 1 раз на добу з 15-го по 26-й день МЦ. При виявленні хронічного ендометриту з явищами склерозу та гіпотрофії призначали впродовж 3-6 місяців циклічну гормональну терапію препаратами Е₂ та мікронізованого П інтравагінально, одночасно впродовж 1-го місяця виконували електрофорез на низ живота з 2 % водним розчином сульфату міді з 5-го по 15-й день МЦ та з 2 % розчином сульфату цинку – з 16-го по 26-й день МЦ, впродовж 2-го та 3-го місяців проводили лікувальний курс з 10 процедур зональної декомпресії на низ живота з 2-го дня після місячного, після чого призначали санаторно-курортне лікування. При виявленні хронічного ендометриту з гіперпроліферацією призначали тримісячний прийом низькодозованого КОК з високим антипроліферативним індексом.

Ще однією суттєвою ознакою розробленого способу був вибір дослідним шляхом сучасних ощадливих для здоров'я пацієнтки гормональних, протизапальних, імуномодельюючих, вітамінних препаратів, доз та лікувальних схем. Суттєво підвищував ефективність розробленого способу проведення

гістологічного контролю стану ендометрія для корегування подальшого лікування та застосування фізіотерапевтичних і санаторних заходів при остаточному долікуванні патологічного фактора розвитку порушень рецептивності ендометрія. При порушенні імунної реактивності за відомим способом всім пацієнткам після операційного втручання з метою ліквідації цитотоксичності CD16+CD56+eHK-клітин виконують плазмаферез, інфузію озонованого фізіологічного розчину, а також курс ін'єкцій імунопротектора. На нашу думку, вибір лікування за таким способом є обмеженим і недиференційованим.

За розробленим способом проводили додаткову диференційну імунодіагностику гіпо- чи гіперпродукції імунокомпетентних CD69+CD56+HK-клітин периферичної крові і CD16+CD56+eHK-клітин. В залежності від результатів диференційної імунодіагностики обирали лікування: усім пацієнткам впродовж одного місяця призначали курс імуномодулятора плацентарних регуляторних пептидів та вітаміну Е впродовж 3-х місяців, а в 2-й та 3-й місяці проводили тільки диференційоване лікування: при гіперпродукції CD69+CD56+HK-клітин периферичної крові і CD16+CD56+eHK-клітин призначали ін'єкції імуномодулюючого та протизапального засобу 5-аміно-1,2,3,4-тетрагідрофталазин-1,4-діонанатрієвої солі по 0,2 г на добу, а при гіпопродукції – ін'єкції 5-аміно-1,2,3,4-тетрагідрофталазин-1,4-діонанатрієвої солі по 0,1 г або супозиторії з 15-го по 26 день МЦ відповідно двічі чи один раз на добу.

За відомим способом після діагностування гіперплазії ендометрія як патологічного фактора розвитку функціональної активності ендометрія призначають низькодозований КОК з високим антипроліферативним індексом або агоністи ГнРГ, індол-3-карбінол.

Відомо, що існують декілька різновидів гіперплазії ендометрія, кожен з яких вимагає окремої специфічної терапії. Необхідно визначати, який вид гіперплазії присутній у конкретної пацієнтки, й призначати лікування саме цього виду, що сприяє підвищенню ефективності лікування безпліддя: при

діагностованій простій неатиповій гіперплазії ендометрія з наявністю стероїдних рецепторів призначали курс гестагенотерапії та низькодозованого КОК з високим антипроліферативним індексом або агоністів ГнРГ, 5-аміно-1,2,3,4-тетрагідрофталазин-1,4-діонанатрієву сіль ректально та ін'єкційно; при діагностованій простої неатипової гіперплазії ендометрія з відсутністю стероїдних рецепторів – курс агоністів ГнРГ, 5-аміно-1,2,3,4-тетрагідрофталазин-1,4-діонанатрієву сіль ректально та ін'єкційно; при комплексній гіперплазії ендометрія призначали тримісячний курс депо агоністів ГнРГ, при ефективності, підтверженій гістологічно, повторювали курс.

За розробленим способом проводили додаткову диференційну діагностику хронічного ендометриту, бо вважали, що запалення ендометрія є також одним з патологічних факторів виникнення порушень рецептивності ендометрія. Лікування хронічного ендометриту обирали в залежності від висновків диференційної діагностики: а) хронічний ендометрит без явищ склерозу та гіпотрофії, б) хронічний ендометрит з явищами склерозу та гіпотрофії чи в) хронічний ендометрит з явищами гіперпроліферації. Відповідно призначали: а) ін'єкції плацентарних регуляторних пептидів, ректально супозиторії, які вміщують 15 000 МО стрептокінази та 1 250 МО стрептодорнази, вітамін Е; б) циклічну гормональну терапію, фізіотерапевтичні процедури чи в) низькодозований КОК з високим антипроліферативним індексом.

Ще одним недоліком відомого способу є відсутність реабілітаційного доліковування хронічного ендометриту, що вносить суттєвий вклад в підтримання безпліддя. За розробленим способом пропонували після курсу медикаментозної терапії хронічного ендометриту застосувати довготривалу (3 місяці) фізіотерапію: в 1-й місяць – 10 процедур електрофорезу на низ живота з розчином сульфату міді, потім 10 процедур з розчином сульфату цинку, в 2-й і 3-й місяці – курс зональної декомпресії на низ живота або гінекологічного масажу з 2-го дня після місячного, 10 процедур, потім санаторно-курортне лікування. Після закінчення корекції

функціонального стану ендометрія 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 пацієнток груп НО і НП. Досліджувані групи не відрізнялися за рівнем ФСГ, а рівень ЛГ у групі НО був нижчий за такий у групі НП у 1,24 рази ($p < 0,01$).

Після проведення лікування рівень E_2 у пацієнток 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 вмісту статевих стероїдів у периферичній крові між досліджуваними 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 лікування в досліджуваних групах показав вірогідне зниження в динаміці лікування у групі НО вмісту $CD56^{dim}CD16+CD69+$ в 2,16 рази ($p < 0,01$), $CD56^{dim}CD16+CD94+$ – в 2,38 ($p < 0,01$) і підвищення $CD56^{brigh}CD94+$ в 1,14 ($p < 0,01$), тоді як у групі НП вірогідно знизився вміст $CD56^{dim}CD16+CD69+$ в 1,16 рази ($p < 0,02$) і $CD56^{dim}CD16+CD94+$ – в 1,23 ($p < 0,01$). Після лікування досліджувані групи вірогідно відрізнялися за рівнями таких субпопуляцій НК-клітин, як $CD56^{dim}CD16+CD69+$ і $CD56^{dim}CD16+CD94+$, 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 $CD56^{dim}CD16+CD69+$ нижчим за пороговий ($1,0 \times 10^6/л$) складав 90,00 % і перевищував такий у групі НП (15,00 %) в 6,00 разів.

Після проведення лікування у всіх пацієнток 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 ($p < 0,01$), з ділянками відсутності піноподій – у 2,33 ($p < 0,01$), з різною формою піноподій – у 1,65 ($p < 0,01$) і з різними розмірами піноподій – у 2,00 ($p < 0,01$), а кількість пацієток з розвинутими піноподіями збільшилася в 1,94 рази ($p < 0,01$). У групі НП в динаміці лікування вірогідно зменшилася лише чисельність жінок з піноподіями різних розмірів ($p < 0,04$). 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 $65,00 \pm 1,29$, $p < 0,03$)

Аналіз динаміки формування мікрворсинок на піноподіях в ендометрії на L+8 день після лікування в досліджуваних групах показав вірогідне 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 у 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 і 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 ЛФ у 1,14 рази ($p < 0,01$). Hscore ЛФ у групі НО був більший за такий у групі НП у 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 спектру імунокompatентних 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 проліферативних процесів в залозах та стромі і активізацію апоптозу в стромі. При цьому кількість клітин імунопозитивних клітин при ІГХ-зabarвленні МАТ до 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 при застосуванні TUNEL-методу 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 пацієнток з невдалими спробами ДРТ в анамнезі привело до того, що після наступного циклу ВРТ завагітніло у групі НО 35,00 % пацієнток, а в групі НП – 15,00 % ($p<0,04$); вагітність закінчилася пологами відповідно у 30,00 % і 10,00 % жінок. Слід відмітити, що у групі НО у кожної сьомої жінки вагітність завершилася мимовільним перериванням, тоді як у групі НП – у кожної третьої.

Таким чином, запропонована методика оцінки та корекції функціонального стану ендометрія дозволяє здійснити персоніфіковану підготовку пацієнток до проведення наступного циклу ДРТ, сприяє підвищенню точності вибору лікування та зростанню ефективності обраної терапії, підвищує її результативність і може бути рекомендованою до широкого впровадження в клінічну практику.

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 пацієнток 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, $\epsilon \geq 1,50$.

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 пацієнток 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 пацієнток 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 пацієнток 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 пацієнток 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 секретії. 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 відповідачів 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 ранній секретії і змішаній його будові, а апоптозу – при відповідності середній фазі секретії. 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 лейкемію інгібуючого фактору в 1,14; зниження інфільтрації стромы 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+), синдекану-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 МЦ, 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. з) 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. з), 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);

і) 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 ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Юзько О.М. Використання допоміжних репродуктивних технологій при лікуванні безпліддя в Україні [Текст] / Юзько О.М., Юзько Т.А., Руденко Н.Г. // Зб. пр. Асоціації акушерів-гінекологів України. – к., 2014.– С. 321-324.
2. Камінський В.В. Прегравідарна підготовка, вагітність та пологи в жінок з герпесвірусною та цитомегаловірусною інфекцією після застосування допоміжних репродуктивних технологій [Текст] / В.В. Камінський, І.М. Шипко // Здоровье женщины. – 2013. – №2 (78). – С.153-155.
3. Грищенко М.Г. Патогенетичні основи вдосконалення допоміжних репродуктивних технологій у жінок, які перенесли хронічні запальні захворювання органів малого таза [Текст] : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.01.01 / М. Г. Грищенко. – Харків, 2011. – 34 с.
4. Бараш О.О. Оцінка якості сперматозоїдів за морфологічними та функціональними особливостями при екстракорпоральному заплідненні [Текст]: автореф. дис ... канд. біол. наук: 03.00.11 / Олексій Олександрович Бараш. – Київ, 2011. – 20 с.
5. Михайлишин Л.О. Причини і профілактика повторних негативних спроб запліднення IN VITRO [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.01 / Любов Олегівна Михайлишин. – Вінниця, 2013. – 20 с.
6. Гюльмамедова И.Д. Дифференцированный подход к диагностике и лечению бесплодного брака с применением вспомогательных репродуктивных технологий [Текст]: автореф. дисс... д-ра. мед. наук: 14.01.01 / Ирина Дмитриевна Гюльмамедова. – Донецк, 2009. – 41 с.
7. Судома І.О. Патогенетичні варіанти порушень фертильності та методи лікування безплідності у хворих на аденоміоз та зовнішньо-внутрішній ендометріоз [Текст]: автореф. дисс... д-ра мед. наук: 14.01.01 / Ірина Олександрівна Судома. – К., 2006. – 36 с.

8. Стероїдна рецептивність ендометрія у жінок з трубно-перитонеальним безпліддям запального генезу в період вікна імплантації [Текст] / Суслікова Л.В., Чайка В.К., Носенко О.М. [та ін.] // Медико-соціальні проблеми сім'ї. – 2010. – Т.15, № 2. – С.17-24.
9. Бесплодный брак: современные подходы к диагностике и лечению [Текст] : монография / под ред. Г.Т. Сухих, Т.А. Назаренко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 784 с.
10. MicroRNAs miR-30b, miR-30d, and miR-494 Regulate Human Endometrial Receptivity [Текст] / Altmäe S., Martinez-Conejero J.A., Esteban F.J. [et al.] // Reproductive Sciences. – 2013. – Vol. 20, N 3. – P. 308-317. doi:10.1177/1933719112453507
11. Рецептивність ендометрія у пациенток с бесплодием [Текст]: монография / В.К. Чайка, А.В. Чайка, Е.Н. Носенко [и др.]. – Донецк: Изд-во «Ноулидж» (донецкое отделение), 2011. – 243 с.
12. Leukemia inhibitory factor ligand-receptor signaling is important for uterine receptivity and implantation in golden hamsters (*Mesocricetus auratus*) [Текст] / Ding T., Song H., Wang X. [et al.] // Reproduction. – 2008. – Vol.135, № 1. – P.41-53.
13. Sokalska A. Correlation of the expression of integrin alphavbeta3 in endometrium and peripheral blood lymphocytes in infertile patients [Текст] / Sokalska A., Duleba A.J., Pawelczyk L.A. // Reprod. Sci. – 2010. – Vol. 17, № 5. – P. 487-493.
14. Функциональная активность эндометрия и результаты ЭКО: молекулярные механизмы регуляции фертильности [Текст] / Бурлев В.А., Кузьмичев Л.Н., Онищенко А.С. [и др.] // Проблемы репродукции. – 2010. – № 2. – С.41-52.
15. Бурлев В.А. Аутопаракринные нарушения регуляции ангиогенеза при пролиферативных формах заболеваний женской репродуктивной системы [Текст] / В.А. Бурлев // Акушерство и гинекология. – 2006. – № 3. – С.34-40.

16. Morphofunctional characteristics of impaired endometrialreceptivity in chronic endometritis [Текст] / Kazachkov E.L., Kazachkova E.A. Voropaeva E.E. [et al.] // Arkh. Patol. – 2014. – Vol. 76, № 3. – P. 53-58.

17. Decreased expression of aquaporin 2 is associated with impairedendometrial receptivity in controlled ovarian stimulation [Текст] / Zhang D., Xu G., Zhang R. [et al.] // Reprod. Fertil. Dev. – 2014 Sep 19. doi: 10.1071/RD13397.

18. Galliano D. MicroRNA and implantation [Текст] / Galliano D., Pellicer A. // Fertil Steril. – 2014. – Vol. 101, № 6. – P. 1531-1544. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.04.023.

19. Fatemi H.M. Implantation in assisted reproduction: a look at endometrialreceptivity / Fatemi H.M., Popovic-Todorovic B. // Reprod. Biomed. Online. – 2013. – Vol. 27, № 5. – P. 530-538. doi: 10.1016/j.rbmo.2013.05.018.

20. Хасаян О.В. Безплідний шлюб: причини розвитку, частота, структура, фактори ризику [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.01 / Олег Володимирович Хасаян. – К., 2008. – 23 с.

21. Юзько О.М. Використання допоміжних репродуктивних технологій при лікуванні безпліддя в Україні [Текст] / Юзько О.М., Юзько Т.А., Руденко Н.Г. // Зб. пр. Асоціації акушерів-гінекологів України. – к., 2014.– С. 321-324.

22. Айзикович Б.И. Патогенетические факторы бесплодия в браке как критерии прогноза эффективности вспомогательных репродуктивных технологий [Текст]: автореф. дис... докт. мед. наук: 14.00.16 / Борис Исаевич Айзикович. – Омск, 2008. – 35с.

23. Банніков В. І. Клініко-імунологічні особливості перебігу вагітності у жінок після екстракорпорального запліднення методом донації ооцитів [Текст]: автореф. дис... канд. мед. наук: 14.01.01 / Володимир Іванович Банніков. – К., 2008. – 19 с.

24. Стовбун Г. Б. Прогнозування ризику виникнення хромосомних аномалій ембріону та наступного невиношування у пацієток після

екстракорпорального запліднення [Текст]: Автореф. дис... канд. мед. наук : 14.01.01 / Ганна Борисівна Стовбун. – К., 2009. – 16 с.

25. Попова М.В. Прогнозування та рання діагностика безпліддя в шлюбі у жінок промислового регіону [Текст]: автореф. дис... канд. мед. наук : 14.01.01 / Марина Володимирівна Попова. – Донецьк: Б.в., 2004. – 20 с.

26. Ільїн І.Є. Профілактика синдрому гіперстимуляції яєчників при екстракорпоральному заплідненні [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.01 / Ігор Євгенійович Ільїн. – Київ, 2003. – 18 с.

27. Капустін Е. В. Підвищення ефективності протоколів контрольованої оваріальної гіперстимуляції в циклах екстракорпорального запліднення у жінок з ризиком формування слабкої оваріальної відповіді [Текст]: автореф. дис ... канд. мед. наук: 14.01.01 / Едуард Вікторович Капустін. – Одеса, 2006. – 18 с.

28. Чернишова Л.Є. Підвищення ефективності лікування безпліддя методом екстракорпорального запліднення з урахуванням імунологічних змін в організмі жінки [Текст]: автореф. дис... канд. мед. наук: 14.01.01 / Людмила Євгенівна Чернишова. – Донецьк, 2004 . – 20 с.

29. Маслій Ю.В. Етіопатогенетичні механізми та способи корекції синдрому слабкої відповіді яєчників в програмах екстракорпорального запліднення [Текст]: автореф. дис ... канд. мед. наук: 14.01.01 / Юлія Володимирівна Маслій. – К., 2007. – 20 с.

30. Чермак І.І. Безпліддя у жінок пізнього репродуктивного віку: діагностика і тактика лікування [Текст] : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.01.01 / Ігор Іванович Чермак. – К., 2012. – 32 с.

31. Сегедій Л.І. Прогнозування та профілактика невиношування при вагітності після запліднення *in vitro* та переносу ембріонів в порожнину матки [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.01 / Лідія Ігорівна Сегедій. – Львів, 2013. – 20 с.

32. Логінова О. О. Допплерометричні критерії стану яєчників в програмах екстракорпорального запліднення у жінок з синдромом слабкої відповіді [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.01 / Ольга Олександрівна Логінова. – Харків, 2013. – 20 с.
33. Бойчук О.Г. Проблема безпліддя в Україні: роль допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) та перебіг вагітності у жінок з тривалолікованим непліддям : (огляд літератури) [Текст] / О. Г. Бойчук, О. М. Макарчук // Прикарпат. вісн. НТШ. Сер. Пульс. – 2010. – № 4. – С. 83-93.
34. Палыга И. Е. Клинический анализ неудачных попыток вспомогательных репродуктивных технологий [Текст] / И. Е. Палыга // Здоровье женщины. – 2012. – № 7. – С. 180-181.
35. Сучасні аспекти імунології репродукції (імплантація ембріона: участь адгезивних молекул та імунних клітин. Ч. II) [Текст] / Т. П. Яремчук // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2012. – 75, № 2. – С. 109-114.
36. Онищук О.Д. Оптимізація підготовки жінок до програм запліднення *in vitro* після невдалих попередніх спроб [Текст] / О.Д. Онищук // Буковинський медичний вісник. – 2011. – Т. 15, № 3 (59). – С. 55-56.
37. Романова Н.В. Повторные неудачи имплантации и применение ПГД для оптимизации программ ВРТ (обзор литературы) [Текст] / Н.В. Романова, В.Ю. Смольникова, Л.Н. Кузьмичев // Пробл.репродукции. – 2010. – № 1. – С. 63-67.
38. Дюжева Е.В. Гормональная подготовка эндометрия у пациенток с неэффективными попытками ЭКО в анамнезе [Текст]: автореф. дисс... к. мед.н.: 14.01.01 / Елена Валерьевна Дюжева. – М., 2010. – 24 с.
39. Судома И.А., Маслий Ю.В. Алгоритм обследования и лечения пациентов с многократными неудачными программами ВРТ [Текст] / Судома И.А., Маслий Ю.В. // Репродуктивные технологии сегодня и завтра (Казань). – 2007. – С. 20-21.

40. Implantation failure in assisted reproduction technology and a critical approach to treatment [Текст] / Levi Setti P.E., Colombo G.V., Savasi V. [et al.] // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2004. – Vol.1034. – P.184-199.

41. Aghajanova L. Uterine Receptivity to Human Embryonic Implantation: Histology, Biomarkers, and Transcriptomics [Текст] / Aghajanova L., Hamilton A.E., Giudice L.C. // Semin Cell Dev Biol. – 2008. – Vol. 19, N 2. – P. 204–211. doi: 10.1016/j.semcd.2007.10.008

42. Controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization alters endometrial receptivity in humans: protocol effects [Текст] / Haouzi D, Assou S., Dechanet C. [et al.] // Biol. Reprod. – 2010. – Vol. 82, N 4. – P. 679-686. doi: 10.1095/biolreprod.109.081299.

43. Psychoyos A. Scanning electron microscopy of the surface of the rat uterine epithelium during delayed implantation [Текст] / A. Psychoyos, P. Mandon // J. Reprod. Fertil. – 1971. – Vol. 26. – P.137-138.

44. Endometrial NK cells are special immature cells that await pregnancy [Текст] / Manaster I., Mizrahi S., Goldman-Wohl D. [et al.] // The Journal of Immunology. – 2008. – Vol.181. – P.1869-1876.

45. How does variability of immune system genes affect placentation? [Текст] / Colucci F., Boulenouar S., Kieckbusch J. [et al.] // Placenta. – 2011. – Vol.32, № 8. – P.539-545.

46. Increased natural killer cells and decreased regulatory T cells are seen in complex atypical endometrial hyperplasia and well-differentiated carcinoma treated with progestins [Текст] / Witkiewicz A.K., McConnell T., Potoczek M. [et al.] // J.Hum Pathol. – 2009. – Sep 3.

47. Kwak-Kim J. Clinical implication of natural killer cells and reproduction [Текст] / Kwak-Kim J., Gilman-Sachs A. // Am. J. Reprod. Immunol. – 2008. – Vol. 59, № 5. – P.388-400.

48. Prognostic value of the measurement of uterine natural killer cells in the endometrium of women with recurrent miscarriage [Текст] / E. Tuckerman, S.M. Laird, A. Prakash [et al.] // Hum. Reprod. – 2007. – Vol. 22, № 8. – P. 2208-2213.

49. Sentman C.L. NK cell function in the human female reproductive tract [Текст] / Sentman C.L., Wira C.R., Eriksson M. // Am. J. Reprod. Immunol. – 2007. – Vol.57, № 2. – P.108-15.

50. Ming-Qing Li. Ovarian stimulation for in vitro fertilization alters the protein profile expression in endometrial secretion [Текст] / Ming-Qing Li, Li-Ping Jin // Int. J. Clin. Exp. Pathol. – 2013. – Vol. 6, N 10. – P.1964–1971.

51. Бессмертная В.С. Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика эндометрия при бесплодии [Текст]: автореф. дисс... канд. мед.наук: патологическая анатомия / Виктория Сергеевна Бессмертная. – М., 2009. – 28 с.

52. Endometrial morphology and modulation of hormone receptors during ovarian stimulation for assisted reproductive technology cycles [Текст] / Detti L., Saed G.M., Fletcher N.M. [et al.] // Fertil. Steril. 2011. – Vol. 95, № 3. – P. 1037-1041.

53. Expression of estrogen and progesterone receptors in the endometrium of fertile and infertile women [Текст] / Kostiuchek I.N., Vitkina O.A., Nikitin S.V. [et al.] // Arkh. Patol. – 2011. – Vol. 73, № 5. – P. 30-32.

54. Concentration of leukaemia inhibitory factor (LIF) in uterine flushing fluid is highly predictive of embryo implantation [Текст] / Lédée-Bataille N., Laprée-Delage G., Taupin J.L. [et al.] // Hum. Reprod. – 2002. – Vol.17, N 1. – P. 213-218.

55. Noyes R.W. Dating the endometrial biopsy [Текст] / Noyes R.W., Hertig A.T., Rock J. // Fertil. Steril. – 1950. – Vol. 1. – P. 3-17.

56. Топчиева О.И. Биопсии эндометрия [Текст] / О.И. Топчиева, В.А. Прянишникова, З.П. Жемкова. – М.: Медицина. – 1978. – 232 с.

57. Critical analysis of the accuracy, reproducibility, and clinical utility of histologic endometrial dating in fertile women / Murray M.J., Meyer W.R., Zaino R.J. [et al.] // *Fertil Steril.* – 2004. – Vol. 81, N 5. – P.1333-1343.

58. NICHD National Cooperative Reproductive Medicine Network. Histological dating of timed endometrial biopsy tissue is not related to fertility status [Текст] / Coutifaris C., Myers E.R., Guzick D.S. [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2004. – Vol. 82, N 5. – P.1264-1272.

59. Proteomic analysis of endometrium from fertile and infertile patients suggests a role for apolipoprotein A-I in embryo implantation failure and endometriosis [Текст] / [J. J. Brosens¹, A.Hodgetts, F.Feroze-Zaidi¹ et al.] // *Mol. Hum. Reprod.* – 2010. – Vol. 16, N 4. – P.273-285. doi: 10.1093/molehr/gap108.

60. Endometrial gene expression analysis at the time of embryo implantation in women with unexplained infertility [Текст] / Altmäe S., Martínez-Conejero J.A., Salumets A. [et al.] // *Mol. Hum. Reprod.* – 2010. – Vol. 16, N 3. – P.178-187. doi: 10.1093/molehr/gap102

61. Guidelines for the design, analysis and interpretation of ‘omics’ data: focus on human endometrium [Текст] / [Altmä S., Esteban F. J., Stavreus-Evers A. et al.] // *Hum. Reprod. Update.* – 2014. – Vol. 20, N 1. – P.12-28. doi: 10.1093/humupd/dmt048

62. Евдоченко И.И. Экспрессия рецепторов стероидных гормонов эндометрия и состояние локального иммунного статуса при эндокринном бесплодии у женщин [Текст]: автореф. дисс... канд. мед.наук: 14.00.01 / Инесса Ивановна Евдоченко. – Красноярск, 2004. –145 с.

63. Ковязин В.А. Иммуногистохимическое исследование пролиферативных, гиперпластических и неопластических процессов в эндометрии женщин [Текст]: автореф. дисс... канд. мед.наук: 03.00.25 / Владимир Анатольевич Ковязин. – М., 2005. – 18 с.

64. Михнина Е.А. Морфофункциональное состояние эндометрия у женщин с бесплодием и невынашиванием беременности [Текст]: автореф. дисс...

канд. мед.наук: 14.00.01, 14.00.36 / Елена Андреевна Михнина. – С.-Пб., 2009. – 40 с.

65. Диагностические критерии хронического эндометрита у женщин с нарушением репродуктивной функции [Текст] / Чайка В.К., Демина Т.Н., Гошкодеря И.Ю. [и др.] // Медико-соціальні проблеми сім'ї. – 2005. – Т. 10, № 2. – С. 65-71.

66. Mazur M. T. Diagnosis of endometrial biopsies and curettings: a practical approach [Текст] / M. T. Mazur, R.J. Kurman. – New York: Springer Science+Business Media, 2005. – 296 p.

67. The progesterone receptor in human term amniochorion and placenta is isoform C [Текст] / Taylor A.H., McParland P.C., Taylor D.J. [et al.] // Endocrinology. – 2006. – Vol. 147, N 2. – P. 687-693.

68. Halasz M. The role of progesterone in implantation and trophoblast invasion [Текст] / Halasz M., Szekeres-Bartho J. // J. Reprod. Immunol. – 2013. – Vol. 97, № 1. – P. 43-50.

69. Бессмертная В.С. Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика эндометрия при бесплодии [Текст]: автореф. дисс... канд. мед.наук: 14.00.15 – патологическая анатомия / Виктория Сергеевна Бессмертная. – М., 2009. – 28 с.

70. Gene expression profiles and structural/functional features of the peri-implantation endometrium in natural and gonadotropin-stimulated cycles [Текст] / Mirkin S., Nikas G., Hsiu J.G. [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2004. – Vol. 89, № 11. – P. 5742-5752.

71. Гошкодеря И.Ю. Діагностика і реабілітація порушень репродуктивної функції у жінок з хронічним ендометритом [Текст]: автореф. дисс... канд. мед. наук: 14.01.01 / Ирина Юріївна Гошкодеря. – Донецьк, 2005. – 21 с.

72. Экспрессия рецепторов эндометрия к эстрогенам и прогестерону при бесплодии, обусловленном хроническим эндометритом [Текст] / [А. Р. Котиков,

А. Э. Али-Риза, А. Н. Смирнов и др.] // Проблемы репродукции: ежеквартальный журнал. – 2006. – Т. 12, № 2. – С. 7-10.

73. ER, PR and Ki-67 expression status in granulomatous and chronic non-specific endometritis [Текст] / Mishra K., Wadhwa N., Guleria K. [et al.] // *Obstet Gynaecol Res.* – 2008. – Vol. 34, № 3. – P. 371-378.

74. Никитин С. В. О преимуществах сочетанного использования гормонзаместительных препаратов и иммуномодуляторов перед комбинированными оральными контрацептивами в циклах подготовки к ЭКО [Текст] / С. В. Никитин, Ю. С. Целух, С. П. Осипов // Проблемы репродукции : ежеквартальный журнал. – 2006. – Т.12, № 4. – С. 70-72.

75. Лазарев А.П.. Клиническое значение структурно-функционального состояния эндометрия в программе экстракорпорального оплодотворения [Текст]: автореф. дисс... к. мед.н.: 14.00.01 / Лазарев Александр Павлович. – М., 2006. – 104 с.

76. Correlation of pinopod development on uterine luminal epithelial surface with hormonal events and endometrial sensitivity in rat [Текст] / Singh M.M., Chauhan S.C., Trivedi R.N. [et al.] // *Eur. J. Endocrinol.* – 1996. – Vol. 135, N 1. – P.107-117.

77. Leukemia inhibitory factor ligand-receptor signaling is important for uterine receptivity and implantation in golden hamsters (*Mesocricetus auratus*) [Текст] / Ding T., Song H., Wang X. [et al.] // *Reproduction.* – 2008. – Vol. 135, N 1. – P. 41-53.

78. Achache H. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation [Текст] / Achache H., Revel A. // *Hum. Reprod. Update.* – 2006. – Vol. 12, N 6. – P.731-746.

79. Subcellular localization of L-selectin ligand in the endometrium implies a novel function for pinopodes in endometrial receptivity [Текст] / Nejatbakhsh R., Kabir-Salmani M., Dimitriadis E. [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2012. – Vol. 10. – P. 46.

80. Subcellular localization of L-selectin ligand in the endometrium implies a novel function for pinopodes in endometrial receptivity [Текст] / Nejatbakhsh R., Kabir-Salmani M., Dimitriadis E. [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2012. – Vol. 10. – P.46. doi: 10.1186/1477-7827-10-46.

81. Secretory role for human uterodomes (pinopods): secretion of LIF [Текст] / Kabir-Salmani M., Nikzad H., Shiokawa S. [et al.] // *Mol. Hum. Reprod.* – 2005. – Vol. 11, N 8. – P.553-559.

82. Quinn C.E. Pinopodes: a questionable role in endometrial receptivity [Текст] / Quinn C.E., Casper R.F. // *Hum. Reprod. Update.* – 2009. – Vol. 15, N 2. – P. 229-236.

83. The presence of pinopodes in the human endometrium does not delineate the implantation window [Текст] / Quinn C., Ryan E., Claessens E.A. [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2007. – Vol. 87, N 5. – P.1015-1021.

84. Formation of pinopodes in human endometrium is associated with the concentrations of progesterone and progesterone receptors [Текст] / Stavreus-Evers A., Nikas G., Sahlin L. [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2001. – Vol. 76, N 4. – P.782-791.

85. Ultrastructural and morphometrical study of preimplantation endometrium in superovulated mice treated with progesterone or Sildenafil [Текст] / Roshangar L., Soleimani-Rad J., Rashedee B. [et al.] // *Iran J. Reprod. Med.* – 2013. – Vol. 11, N 10. – P. 807-814.

86. Progesterone and ovarian stimulation control endometrial pinopode expression before implantation in mice [Текст] / Rashidi B., Rad J.S., Roshangar L. [et al.] // *Pathophysiology.* – 2012. – Vol. 19, N 2. – P.131-135.

87. Hormonal dependence of pinopode formation at the uterine luminal surface [Текст] / Martel D., Monier M.N., Roche D. [et al.] // *Hum. Reprod.* – 1991. – Vol. 6, N 4. – P.597-603.

88. Progesterone and ovarian stimulation control endometrial pinopode expression before implantation in mice / [Rashidi B., Rad J.S., Roshangar L., Miran R.A.] // *Pathophysiology*. – 2012. – Vol. 19, N 2. – P. 131-135.

89. Quinn C.E. Pinopodes are present in *Lif* null and *Hoxa10* null mice [Текст] / Quinn C.E., Detmar J., Casper R.F. // *Fertil. Steril.* – 2007. – Vol. 88, N 4 . – P.1021-1028.

90. Relationship between corpora lutea or fetal number and plasma concentrations of progesterone and testosterone in mice [Текст] / Humphreys E.M., Ghione R., Gosden R.G. [et al.] // *J. Reprod. Fertil.* – 1985. – Vol. 75, N 1. – P.7-15.

91. Androgen, estrogen and progesterone receptor expression in the human uterus during the menstrual cycle [Текст] / Mertens H.J., Heineman M.J., Theunissen P.H. [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2001. – Vol. 98, N 1. – P.58-65.

92. Low testosterone levels in women with diminished ovarian reserve impair embryo implantation rate: a retrospective case-control study [Текст] / Lu Q., Shen H., Li Y. [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2014. – Vol. 31, N 4. – P.485-491.

93. Testosterone decreases the expression of endometrial pinopode and L-selectin ligand (MECA-79) in adult female rats during uterine receptivity period. [Текст] / Mokhtar H.M., Giribabu N., Muniandy S. [et al.] // *In. J. Clin. Exp. Pathol.* – 2014. – Vol. 7, N 5. – P.1967-1976.

94. Effects of androgen on embryo implantation in the mouse delayed-implantation model / Diao H.L., Su R.W., Tan H.N. [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2008. – Vol. 90, N 4. – P.1376-1383.

95. Sudoma I. Optimization of cryocycles by using pinopode detection in patients with multiple implantation failure: preliminary report [Текст] / Sudoma I., Goncharova Y., Zukin V. // *Reprod Biomed Online*. – 2011. – Vol. 22, N 6. – P. 590-596. doi: 10.1016/j.rbmo.2011.02.004.

96. Pinopodes, leukemia inhibitory factor, integrin- β 3, and mucin-1 expression in the peri-implantation endometrium of women with unexplained recurrent pregnancy

loss [Текст] / Xu B., Sun X., Li L. [et al.] // Fertil. Steril. – 2012. – Vol. 98, N 2. – P. 389-395. doi: 10.1016/j.fertnstert. 2012.04.032.

97. Molecular and morphological aspects of endometrial receptivity disorders at chronic endometritis [Текст] / Kogan E.A., Demura T.A., Vodianoï Via. [et al.] // Arkh. Patol. – 2012. – Vol. 74, N 3. – P.15-17.

98. No correlation between pinopode formation and LIF and MMP2 expression in endometrium during implantation window [Текст] / Mikołajczyk M., Skrzypczak J., Wirstlein P. // Folia Histochem Cytobiol. – 2011. – Vol. 49, N 4. – P. 615-621.

99. Does local endometrial injury in the nontransfer cycle improve the IVF-ET outcome in the subsequent cycle in patients with previous unsuccessful IVF? A randomized controlled pilot study [Текст] / Narvekar S.A., Gupta N., Shetty N. [et al.] // J. Hum. Reprod. Sci. – 2010 . – Vol. 3, № 1. – P. 15-19.

100. Aghajanova L. Update on the role of leukemia inhibitory factor in assisted reproduction [Текст] / L. Aghajanova // Curr. Opin. Obstet. Gynecol. – 2010 . – Vol. 22, № 3. – P.213-219.

101. LIF and IL11 in trophoblast-endometrial interactions during the establishment of pregnancy [Текст] / Dimitriadis E., Menkhorst E., Salamonsen L.A. [et al.] // Placenta. – 2010. – Suppl. 31. – S. 99-104.

102. Boroujerdnia M.G. Beta3 integrin expression within uterine endometrium and its relationship with unexplained infertility [Текст] / Boroujerdnia M.G., Nikbakht R. // Pak. J. Biol. Sci. – 2008. – Vol. 11, № 21. – P. 2495-2499.

103. Difference in alpha(v)beta3 integrin expression in endometrial stromal cell in subgroups of women with unexplained infertility [Текст] / Ceydeli N., Kaleli S., Calay Z. [et al.] // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. – 2006. – Vol. 126, № 2. – P. 206-211.

104. Expression of alpha 1 and beta 3 integrins subunits in the endometrium of patients with tubal phimosis or hydrosalpinx [Текст] / Savaris R.F., Pedrini J.L., Flores R. [et al.] // Fertil. Steril. – 2006. – Vol. 85, № 1. – P. 188-192.

105. Expression of alphaVbeta3 integrin in rat endometrial epithelial cells and its functional role during implantation [Текст] / Srinivasan K.R., Blesson C.S., Fatima I. [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2009. – Vol. 160, № 2. – P. 124-133.

106. Interactions between galectin-3 and integrinbeta3 in regulating endometrial cell proliferation and adhesion [Текст] / Lei C.X., Zhang W., Zhou J.P. [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2009. – Vol. 24, № 11. – P. 2879-2889.

107. Physiopathology of human embryonic implantation: clinical incidences [Текст] / Merviel P., Lourdel E., Cabry R. [et al.] // *Folia Histochem. Cytobiol.* – 2009. – Vol. 47, № 5. – P. 25-34.

108. Singh H. Adhesion molecules in endometrial epithelium: tissue integrity and embryo implantation [Текст] / Singh H., Aplin J.D. // *J. Anat.* – 2009. – Vol. 215, № 1. – P. 3-13.

109. Osteopontin and alphavbeta3 integrin expression in the endometrium of infertile and fertile women / Casals G., Ordi J., Creus M. [et al.] // *J.Reprod Biomed Online.* – 2008. – Vol. 16, N 6. – P. 808-816.

110. Maghazachi A.A. Role of chemokines in the biology of natural killer cells [Текст] / A.A.Maghazachi // *Curr. Top Microbiol. Immunol.* – 2010. – Vol. 341. – P. 37-58. doi: 10.1007/82_2010_20.

111. Moffett-King AM. Natural killer cells and pregnancy / Moffett-King A.M. // *Nat. Rev. Immunol.* – 2002. – Vol. 2. – P. 656-663.

112. Robertson M.J. Biology and clinical relevance of human natural killer cells [Текст] / Robertson M.J., Ritz J. // *Blood.* – 1990. – Vol. 76. – P. 2421-2438.

113. Cooper M.A. The biology of human natural killer-cell subsets / Cooper M.A., Fehniger T.A., Caligiuri M.A // *Trends Immunol.* – 2001. – Vol. 22. – P. 633-640.

114. The balance between cytotoxic NK cells and regulatory NK cells in human pregnancy [Текст] / Saito S., Nakashima A., Myojo-Higuma S. [et al.] // *J. Reprod. Immunol.* – 2008. – Vol. 77. – P. 14-22.

115. Ravetch J.V. Alternative membrane forms of FcγRIII (CD16) on human natural killer cells and neutrophils cell type-specific expression of two genes that differ in single nucleotide substitutions [Текст] / Ravetch J.V., Perussia B.V. // *J. Exp. Med.* – 1989. – Vol. 170. – P. 481-497.

116. Structure and function of the CD94 C-type lectin receptor complex involved in recognition of HLA class I molecules [Текст] / Lopez-Botet M., Perez-Villar J.J., Carretero M. [et al.] // *Immunol Rev.* – 1997. – Vol. 155. – P. 165-174.

117. CD69 is a stimulatory receptor for natural killer cell and its cytotoxic effect is blocked by CD94 inhibitory receptor [Текст] / Borrego F., Robertson M.J., Ritz J. [et al.] // *Immunology.* – 1999. – Vol. 97. – P. 159-165.

118. Status of peripheral blood natural killer cells in women with recurrent spontaneous abortions and infertility of unknown aetiology [Текст] / Ntrivalas E.I., Kwak-Kim J.Y.H., Gilman-Sachs A. [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2001. – Vol. 16. – P. 855-861.

119. Coulam C. Correlation of NK cell activation and inhibition markers with NK cytotoxicity among women experiencing immunological implantation failure after in vitro fertilization and embryo transfer [Текст] / Coulam C., Roussev R. // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2003. – Vol. 20. – P. 58-62.

120. Immunophenotypic profiles of peripheral blood lymphocytes in women with recurrent pregnancy losses and infertile women with multiple failed in vitro fertilisation cycles [Текст] / Beer A.E., Kwak J.Y.H., Ruiz J.E. // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 1996. – Vol. 35. – P. 376-382

121. Natural killer cell subpopulations and cytotoxicity for infertile patients undergoing in vitro fertilisation [Текст] / Fukui A., Fujii S., Yamaguchi E. [et al.] // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 1996. – Vol. 41. – P. 413-422.

122. Correlation between natural cytotoxicity receptors and intracellular cytokine expression of peripheral blood NK cells in women with recurrent pregnancy losses and implantation failures [Текст] / Fukui A., Ntrivalas E., Fukuhara R. [et al.]

//Am. J. Reprod. Immunol. – 2009. – Vol. 62, № 6. – P. 371-80. doi: 10.1111/j.1600-0897.2009.00750.x.

123. Reprod Immunol. Enhancement of peripheral blood CD56(dim) cell and NK cell cytotoxicity in women with recurrent spontaneous abortion or in vitro fertilization failure [Текст] / Karami N., Boroujerdnia M.G., Nikbakht R. [et al.]. – 2012. – Vol. 95, № 1-2. – P. 87-92. doi: 10.1016/j.jri.2012.06.005.

124. Ziegler S.F. Molecular characterisation of the early activation antigen CD69: a type II membrane glycoprotein related to a family of natural killer cell activation antigens [Текст] / Ziegler S.F., Ramsdell F., Hjerrild K.A. // Eur. J. Immunol. – 1993. – Vol. 23. – P. 1643.

125. Yokoyama W.M. Natural Killer Cells [Текст] / Yokoyama W.M. // In Paul WE (ed) Fundamental Immunology, 4th edn. Lippincott-Raven, New York, 1999. – P. 575-603.

126. CD69-triggered ERK activation and functions are negatively regulated by CD94/NKG2-A inhibitory receptor [Текст] / Zingoni A., Palmieri G., Morrone S. [et al.] // Eur. J. Immunol. – 2000. – Vol. 30. – P. 644-651.

127. CD69 is a stimulatory receptor for natural killer cell and its cytotoxic effect is blocked by CD94 inhibitory receptor [Текст] / Borrego F., Robertson M.J., Ritz J. [et al.] // Immunology. – 1999. – Vol. 97. – P. 159-165.

128. Src-dependent Sky activation controls CD69-mediated signaling and function on human NK cells [Текст] / Pisegna S., Zingoni A., Pirozzi G. [et al.] // J. Immunol. – 2002. – Vol. 169, № 1. – P. 68-74.

129. Coulam C. Correlation of NK cell activation and inhibition markers with NK cytotoxicity among women experiencing immunological implantation failure after in vitro fertilization and embryo transfer [Текст] / Coulam C., Roussev R. // J. Assist. Reprod. Genet. – 2003. – Vol. 20. – P. 58-62.

130. Detailed analysis of peripheral blood natural killer cells in women with repeated IVF failure [Текст] / Sacks G., Yang Y., Gowen E. [et al.] // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2012. – Vol. 67, № 5. – P. 434-42. doi: 10.1111/j.1600-0897.2012.01105.x.

131. An increase in the absolute count of CD56dimCD16+CD69+ NK cells in the peripheral blood is associated with a poorer IVF treatment and pregnancy outcome [Текст] / Thum M.Y., Bhaskaran S., Abdalla H.I. [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2004. – Vol. 19, № 10. – P. 2395-400.

132. Baczkowski T.1. Immunophenotypic profiles of peripheral blood lymphocytes on the day of embryo transfer in women undergoing in vitro fertilization [Текст] / Baczkowski T.1., Kurzawa R. // *Folia Histochem Cytobiol.* 2007. – Vol. 45, Suppl 1. – P. 73-77.

133. Functions of human decidual NK cells [Текст] / [King A., Jokhi P.P., Burrows T.D. et al.] // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 1996. – Vol. 35. – P. 258–260.

134. CD56bright natural killer (NK) cells: an important NK cell subset [Текст] / Poli A., Michel T., Thérésine M. [et al.] // *Zimmer J.* – 2009. – Vol. 126, № 4. – P. 458-65. doi: 10.1111/j.1365-2567.2008.03027.x.

135. Innate and adaptive immunity at mucosal surfaces of the female reproductive tract: Stratification and integration of immune protection against the transmission of sexually transmitted infections [Текст] / Hickey D.K., Patel M.V., Fahey J.V. [et al.] // *J. Reprod. Immunol.* – 2011. – Vol. 88. – P. 185-194.

136. CD3-leukocytes present in the human uterus during early placentation: Phenotypic and morphologic characterization of the CD56⁺ population [Текст] / King A., Balendran N., Wooding P. [et al.] // *Dev. Immunol.* – 1991. – Vol. 1. – P. 169-190.

137. Pace D. Proliferative activity in endometrial stromal granulocytes throughout menstrual cycle and early pregnancy [Текст] / Pace D., Morrison L., Bulmer J. N. // *J. Clin. Pathol.* – 1989. – Vol. 42. – P.35-39.

138. Endometrial NK Cells Are Special Immature Cells That Await Pregnancy [Текст] / Manaster I., Mizrahi S., Goldman-Wohl y D. [et al.] // *The Journal of*

Immunology. – 2008. – Vol. 181, N 3. – P. 1869-1876. doi: 10.4049/jimmunol.181.3.1869

139. Lee J.Y. Role of endometrial immune cells in implantation [Текст] / Lee J.Y., Lee M., Lee S.K. // Clin. Exp. Reprod. Med. – 2011. – Vol. 38. – P. 119-125.

140. Role of the innate immunity in female reproductive tract / Amjadi F., Salehi E., Mehdizadeh M. [et al.] // Adv. Biomed. Res. – 2014. – Vol. 3. – P. 1. doi: 10.4103/2277-9175.124626.

141. Wira C.R. Innate and adaptive immunity in female genital tract: Cellular responses and interactions [Текст] / Wira C.R., Fahey J.V., Sentman C.L. // Immunol. Rev. – 2005. – Vol. 206. – P. 306-335.

142. Gerner W. Porcine T lymphocytes and NK cells-an update [Текст] / Gerner W., Käser T, Saalmüller A. // Dev. Comp. Immunol. – 2009. – Vol. 33, N 3. – P. 310-320.

143. Sex hormone regulation of innate immunity in the female reproductive tract: The role of epithelial cells in balancing reproductive potential with protection against sexually transmitted pathogens [Текст] / Wira C.R., Fahey J.V., Ghosh M. [et al.] // Am. J. Reprod Immunol. – 2010. – Vol. 63. – P. 544–565.

144. Innate Immunity in the Female Reproductive Tract: Role of Sex Hormones in Regulating Uterine Epithelial Cell Protection Against Pathogens [Текст] / Ochiel D.O., Fahey J.V., Ghosh M. [et al.] // Curr Womens Health Rev. – 2008. – Vol. 4, N 2. – P.102-117.

145. Manaster I. The unique properties of uterine NK cells [Текст] / Manaster I., Mandelboim O. // Am. J. Reprod. Immunol. – 2010. – Vol. 63. – P.434–444.

146. Prognostic value of the measurement of uterine natural killer cells in the endometrium of women with recurrent miscarriage [Текст] / E. Tuckerman, S.M. Laird, A. Prakash [et al.] // Hum. Reprod. – 2007. – Vol. 22, № 8. – P. 2208 - 2213.

147. Хронический эндометрит: от совершенствования диагностического подхода к оптимизации лечения [Текст] / Е. Б. Рудакова, С. И. Мозговой, М. А.

Пилипенко [и др.] [Электронный ресурс] // Лечащий врач. – 2008. – № 10. – Режим доступа: <http://www.rabotamedikam.ru/articles/1174/>.

148. Identification and treatment of endometritis [Текст] / Cravello L., Porcu G., D'Ercole C. [et al.] // *Contracept. Fertil. Sex.* – 1997. – Vol. 25, № 7-8. – P.585-586.

149. Морфологическое и микробиологическое исследование эндометрия при обследовании больных с трубно-перитонеальной формой бесплодия на этапе подготовки к ЭКО [Текст] / Корсак В.С., Бодюль А.С., Исакова Э.В. [и др.] // *Журнал акушерства и женских болезней.* – 1999. – № 3. – С.15-18.

150. Bayer-Garner I.B. Routine syndecan-1 immunohistochemistry aids in the diagnosis of chronic endometritis [Текст] / Bayer-Garner I.B., Nickell J.A., Korourian S. // *Arch. Pathol. Lab. Med.* – 2004. – Vol.128, № 9. – P.1000-1003.

151. Chronic endometritis: a combined histopathologic and clinical review of cases from 2002 to 2007 [Текст] / Smith M., Hagerty K.A., Skipper B. [et al.] // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2010. – Vol. 29, № 1. – P.44-50.

152. McCluggage W.G. My approach to the interpretation of endometrial biopsies and curettings [Текст] / W.G. McCluggage // *J. Clin. Pathol.* – 2006. – Vol.59, № 8. – P.801-812.

153. Gilmore H. Diagnosis of chronic endometritis in biopsies with stromal breakdown [Текст] / Gilmore H., Fleischhacker D., Hecht J.L. // *Hum. Pathol.* – 2007. – Vol. 38, № 4. – P.581-584.

154. Immunohistochemical characterisation of endometrial leucocytes in endometritis [Текст] / Disep B., Innes B. A., Cochrane H. R. [et al.] // *Histopathology.* – 2004. – P.45625–632.

155. Immunological localization of syndecan-1 in human endometrium throughout the menstrual cycle [Текст] / Lai T.H., King J.A., Shih Ie.M. [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2007. – Vol. 87, № 1. – P.121-126.

156. Лечение недостаточности лютеиновой фазы у женщин с невынашиванием беременности [Текст] [Текст] / Краснопольский В.И., Логутова

Л.С., Серова О.Ф. [и др.] // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2006. – № 3. – С. 66.

157. Ароян З.Г. Тактика подготовки эндометрия в программе ЭКО и ПЭ [Текст] / З.Г. Ароян // Мат-лы VII Российского Форума «Мать и дитя». – М., 2005. – С. 325.

158. Пат. 2281108 Российская Федерация, МПК А61К 35/48, А61К 31/67, А61К 31/7036, А61К 36/28 А61К 38/21, А61Р 15/00 А61В 17/00 А61F 13/20. Способ лечения трубно-перитонеальной формы бесплодия у женщин с хроническим эндометритом [Текст] / Цхай В. Б. (RU); Штода А. А. (RU); Николайчик Е. А. (RU); Баркова А. Ю. (RU); заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО «Красноярская государственная медицинская академия Министерства Здравоохранения РФ» (RU). – № 2005107156/14: заявл. 14.03.05; опубл. 10.08.06.

159. Шестакова К.Г. Реабилитация эндометрия после потери беременности [Текст] / К.Г. Шестакова // Гинекология. – 2009. – Т. 11, № 4. – С. 55-58.

160. Патент №53208, Україна, МПК А61В 17/00. Спосіб лікування трубно-перитонеального безпліддя [Текст] / Суслікова Л.В., Чайка В.К., Чайка А.В., Носенко О.М.; заявник і патентовласник ДонНМУ ім. М. Горького. – №u201004426; заявл. 16.04.10; опубл. 27.09.10, Бюл. №18.

161. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria [Текст] / Ferraretti A.P., La Marca A., Fauser B.C. [et al.] // ESHRE working group on Poor Ovarian Response Definition // Hum Reprod. – 2011. – Vol. 26, N 7. – P.1616-1624. doi: 10.1093/humrep/der092.

162. Про організацію амбулаторної акушерсько-гінекологічної допомоги в Україні [Електронний ресурс] : наказ МОЗ України від 15.07.2011 № 417. – Режим доступу: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20110715_417.html.

163. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen [Електронний ресурс]. – 2010.– Режим доступу: http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241547789_eng.pdf.
164. Deligeoroglou E. Menstrual disorders [Текст] / E. Deligeoroglou, G. Creatsas // *Endocrine development*. – 2012. – Vol. 22. – P. 160-170.
165. Індекс маси тіла [Електронний ресурс] / Режим доступу: <http://uk.wikipedia.org/wiki/>
166. Ferriman D. Clinical assessment of body hair growth in women [Текст] / Ferriman D., Gallwey I.D. // *JGEM*. – 1961. – Vol. 21, N 11. – P. 1440-1447.
167. Методи клінічних лабораторних досліджень [Текст] : монографія / под ред. проф. В.С. Камышнікова. 4 е изд. – М.: МЕДпрессин форм, 2011. – 752 с.
168. Стандартизована технологія «Дослідження субпопуляційного складу лімфоцитів периферическої крові з використанням проточних цитофлюориметрів-аналізаторів» (проект) [Текст] / Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В. [и др.] // *Медицинская иммунология*. – 2012. – Т. 14, № 3. – С. 255-26.
169. Суслікова Л.В. Вплив проведення комплексної післяопераційної реабілітації пацієнток з трубно-перитонеальним безпліддям запального генезу з урахуванням стану ендометрія на його основні морфофункціональні властивості під час вікна імплантації [Текст] / Суслікова Л.В. // *Медико-соціальні проблеми сім'ї*. – 2011. – Т.16, №1. – С. 68-79.
170. Патент на корисну модель UA № 70810 U МПК (2012.01) A61B 17/00. Спосіб вибору лікування порушення рецептивності ендометрія у жінок репродуктивного віку з безпліддям [Текст] / Носенко О.М. (UA), Саєнко А.І. (UA). Заявка № u201114626 від 09.12.2011. Опубл.: бюл. – 25.06.2012. – № 12.

171. Endometrial NK cells are special immature cells that await pregnancy [Текст] / Manaster I., Mizrahi S., Goldman-Wohl D. [et al.] // The Journal of Immunology. – 2008. – Vol.181. – P.1869-1876.

172. How does variability of immune system genes affect placentation? [Текст] / Colucci F., Boulenouar S., Kieckbusch J. [et al.] // Placenta. – 2011. – Vol.32, № 8. – P.539-545.

173. Kwak-Kim J. Clinical implication of natural killer cells and reproduction [Текст] / Kwak-Kim J., Gilman-Sachs A. // Am. J. Reprod. Immunol. – 2008. – Vol. 59, № 5. – P.388-400.

174. Sentman C.L. NK cell function in the human female reproductive tract [Текст] / Sentman C.L., Wira C.R., Eriksson M. // Am. J. Reprod. Immunol. – 2007. – Vol. 57, № 2. – P.108-15.