

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ОХРАНЫ
МАТЕРИНСТВА И МЛАДЕНЧЕСТВА

На правах рукописи

ЛЬВОВА АЛЁНА ВАЛЕРЬЕВНА

**КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД К ВОССТАНОВЛЕНИЮ РЕЦЕПТИВНОСТИ
ЭНДОМЕТРИЯ У ЖЕНЩИН С РЕПРОДУКТИВНЫМИ
НЕУДАЧАМИ**

14.01.01. Акушерство и гинекология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

кандидат медицинских наук

О.А. Мелкозёрова

Екатеринбург - 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4	
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР		
1.1. Проблема бесплодного брака. Маточный фактор бесплодия в генезе репродуктивных проблем	14	
1.2. Механизм имплантации человеческого эмбриона.....	15	
1.3. Нарушение рецептивности в «тонком» эндометрии.....	16	
1.4. Гормональная регуляция рецептивности.....	18	
1.5. Молекулярные маркёры паракринной регуляции рецептивности эндометрия.....	20	
1.6. Методы терапевтического воздействия на тонкий эндометрий.....	30	
1.7. Ультразвуковое кавитационное орошение полости матки в восстановлении эндометрия при лечении его заболеваний.....	34	
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ		
2.1. Дизайн исследования и группы наблюдения.....	39	
2.2. Методы исследования.....	42	
2.2.1. Лабораторные методы исследования.....	42	
2.2.2. Инструментальные методы: ультразвуковое исследование.....	43	
2.2.3. Гистологическое и иммуногистохимическое исследование.....	44	
2.2.4. Ультразвуковое исследование эндометрия.....	45	
2.2.5. Математические методы.....	47	
ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОК ГРУПП НАБЛЮДЕНИЯ.....		48
ГЛАВА 4. МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНО СОСТОЯНИЕ ЭНДОМЕТРИЯ У ПАЦИЕНТОК С РЕПРОДУКТИВНЫМИ НЕУДАЧАМИ, ОБСУСЛОВЛЕННЫЕ ГИПОПЛАЗИЕЙ ЭНДОМЕТРИЯ.....		62
4.1. Морфологическая картина эндометрия у пациенток с репродуктивными неудачами, обусловленными гипоплазией эндометрия.....	62	

4.2. Результаты ультраструктурного исследования эндометрия у пациенток с маточной формой бесплодия и привычным невынашиванием беременности.....	65
4.3 Результаты иммуногистохимического исследования эндометрия у пациенток обследуемых групп в предполагаемое «окно имплантации».....	66
ГЛАВА 5. ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСНОЙ ПРОШГРАММЫ ТЕРАПИИ «ТОНКОГО» ЭНДОМЕТРИЯ У ПАЦИЕНТОК С БЕСПЛОДИЕМ И ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ.....	75
5.1. Динамика клинической картины заболевания на фоне различных программ терапии нерецептивного эндометрия.....	76
5.2. Динамика ультразвуковой картины эндометрия на фоне программ терапии.....	80
5.3. Динамика морфологической структуры эндометрия на фоне проводимого лечения.....	84
5.4. Ультраструктурная характеристика эндометрия в динамике проведенной терапии.....	88
5.5. Иммуногистохимическая картина показателей рецептивности эндометрия в динамике комплексной программы терапии.....	92
5.6. Состояние микробиоты репродуктивного тракта после комплексной терапии.....	99
5.7. Репродуктивные исходы проведенного лечения у пациенток групп наблюдения.....	103
ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	108
ВЫВОДЫ.....	130
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	132
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	134
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	136

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Проблема бесплодия и невынашивания беременности является одной из наиболее актуальных в гинекологии, поскольку имеет не только медицинское, но большое социальное значение. Это связано с наметившейся в последние годы неблагоприятной демографической тенденцией к снижению рождаемости населения нашей страны [3,69]. По данным Всемирной организации здравоохранения частота бесплодных браков в России достигла критического уровня. Частота бесплодных браков составляет 10-15% (5,6 и др.) по обращаемости, а по некоторым данным достигает 30% с учетом активного выявления, в то время как уже 15% является критическим показателем в воспроизводстве населения. По мнению многих учёных в структуре бесплодия значительную долю занимает маточный фактор [2,38,164].

Среди всех ранних репродуктивных потерь невынашивание беременности занимает ведущее положение и является наиболее проблемной для гинекологов. К сожалению не всегда наступившая беременность завершается рождением ребёнка [76].

Неразвивающаяся беременность в структуре привычного невынашивания занимает основное место. Каждый случай неразвивающейся беременности ассоциирован с хроническим эндометритом и определяет неблагоприятный репродуктивный прогноз [48,76]. Потому в последнее десятилетие в рамках научного интереса находятся молекулярные исследования, посвященные изучению рецептивности эндометрия при патологии имплантации, связанной с бесплодием и привычным невынашиванием беременности. Основной причиной отсутствия имплантации при переносе эмбриона хорошего качества является «тонкий» эндометрий.

Несмотря на колоссальное развитие вспомогательных репродуктивных технологий вероятность родов при расчете на перенос одного эмбриона, даже в идеальных условиях не превышает 25-30%. По расчетам специалистов, на отсутствие имплантации приходится 70% причин неудач в программах ЭКО [33,64,112].

Наиболее существенной и до настоящего времени непреодолимой проблемой при лечении бесплодия являются нарушения процессов имплантации, ассоциированные с угнетением рецептивности эндометрия.

Мировой проблемой является отсутствие единых клинических алгоритмов лечения нерецептивного эндометрия. Описанные в литературе способы воздействия на рецептивности эндометрия разрозненны, имеют низкую доказательную базу. Гормонотерапия нерецептивного эндометрия недостаточно эффективна [2,72]. Это связано с отсутствием точки приложения для лечебного воздействия – отсутствием полноценного рецепторного аппарата эндометрия, низким уровнем синтеза рецепторных белков, молекул адгезии, структурными перестройками эндометриальных желез, с преобладанием стромального фиброза в эндометрии [41,47,72].

В этой связи наше внимание привлекла возможность использования для реабилитации нерецептивного эндометрия энергии низкочастотного ультразвука в кавитированных жидких средах.

При прохождении ультразвука через жидкостную среду в ней возникает целый ряд физических (кавитация, барботирование, тепловой и фонофоретический эффекты и др.) и биологических эффектов (бактерицидный, противовоспалительный, улучшение микроциркуляции, регенерации тканей, микромассаж). Бактерицидный эффект низкочастотного ультразвука объясняют кавитационным воздействием микрополостей озвученной среды на стенку бактерий, что приводит к ее тепловому и механическому повреждению. В многочисленных экспериментах показано, что низкочастотный ультразвук обладает потенциально важным эффектом воздействия на функциональную активность эпителиальных клеток, который может заметно влиять на восстановление тканей и процессы регенерации в естественных условиях [5,14,85].

В более поздних работах доказаны эффекты низкочастотного ультразвука в отношении восстановления рецепторного поля эндометрия после неразвивающейся беременности и при хроническом эндометрите [8].

В связи с этим срочно требуются исследования использования низкочастотного ультразвукового орошения полости матки в комплексном лечении с гормонотерапией для восстановления рецепторного поля эндометрия и увеличения его имплантационного потенциала.

Степень разработанности темы. В настоящее время активно изучается проблема «тонкого» эндометрия, предлагаются меры по восстановлению рецепторного аппарата, изучается период имплантации и факторы его определяющего, как основной причины неудач попыток ВРТ [3,15,72].

Трудности медикаментозного лечения больных с гипоплазией эндометрия обусловили поиск новых технологий и возможностей лечения данной патологии [50,72,73]. Низкая эффективность имеющихся на сегодняшний день лечебных мероприятий объясняется отсутствием понимания этиологических факторов и полное знание патогенетических механизмов. Имеются единичные исследования, посвященные изучению воздействия ультразвукового орошения на эндометрий у пациенток с неразвивающейся беременностью [8,9,60,61,62], при нарушении рецептивности эндометрия [27,28,75], в постабортной реабилитации [70], при лечении патологии шейки матки [67], послеродовом эндометрите [29].

Базовой терапией гипопластических процессов эндометрия является интенсивное назначение препаратов эстрогенов, в том числе и с применением альтернативных путей доставки (трансдермальный и вагинальный) [12,32,98,162]. В литературе есть данные о том, что аспирин в малых дозах (80 мг/сутки) может достоверно повышать частоту успешных имплантаций. Некоторые авторы указывают на увеличение маточного кровотока у пациенток с необъяснимым бесплодием при терапии 100 мг аспирина, начиная с 3 дня менструального цикла[3,22]. Для лечения пациенток с повторными импланационными неудачами использовали вагинальный силденафил цитрат. Предполагалось, что силденафил способен увеличить частоту имплантации за счет улучшения кровотока в эндометрии [52]. Имеются исследования об успешном внутриматочном применении растворов колониестимулирующих гранулоцитарных факторов (GCF). По имеющимся на сегодняшний день данным, Г-КСФ повышает концентрацию в эндометрии тромбоци-

тарного фактора роста эндотелиальных клеток, играющего ключевую роль в стимуляции ангиогенеза[115,174]. Работой Н. Г. Грищенко доказана эффективность внутривлагалищного введения оксида азота с целью оптимизации подготовки пациенток с ранее безуспешными программами ЭКО на фоне «тонкого» эндометрия [31].

Наше внимание привлекло использование кавитационного орошения полости матки ультразвуком низкой частоты, принимая во внимание большой спектр его биологического и физического лечебного воздействия. Метод основан на потенции ультразвуковых колебаний в жидкостных средах. Низкочастотный ультразвук обладает выраженным бактерицидным, противовоспалительным, фоноферетическим, заживляющим эффектом, а также улучшающего кровоснабжение [63,85].

Указанные эффекты низкочастотного ультразвука и накопленный опыт использования данного метода в хирургии, травматологии, ортопедии, стоматологии для лечения раневой инфекции и воспалительных процессов определил наш научный интерес в изучении возможностей применения энергии низкочастотного ультразвука с целью восстановления рецепторного аппарата у пациенток с бесплодием и привычным невынашиванием.

Цель исследования. Улучшение репродуктивных исходов у пациенток с бесплодием и невынашиванием беременности, обусловленными гипоплазией эндометрия на основании применения комплексной программы с использованием ультразвукового кавитационного орошения полости матки.

Задачи исследования:

1. Определить клинические предпосылки нарушения рецептивности эндометрия у женщин с маточной формой бесплодия и невынашиванием беременности, ассоциированными с гипоплазией эндометрия.

2. Изучить морфофункциональное состояние эндометрия у пациенток с репродуктивными неудачами, обусловленными «тонким» эндометрием.

3. Оценить эффективность применения комплексной программы терапии «тонкого» эндометрия у пациенток с бесплодием и невынашиванием беременности в отношении восстановления показателей рецептивности эндометрия.

4. Исследовать репродуктивные исходы применения комплексной программы терапии нарушения рецептивности эндометрия с применением ультразвукового кавитационного орошения полости матки у пациенток с репродуктивными неудачами.

Материалы и методология исследования. Проведено проспективное когортное рандомизированное контролируемое исследование. Пациентки были рандомизированы слепым методом. Для решения поставленных задач в нашем исследовании все женщины с бесплодием и привычным невынашиванием были разделены на две когорты. В первой когорте пациенткам применялось комплексное лечение, включающее циклическую гормональную терапию, элиминацию патогенной микрофлоры при выявлении возбудителей в диагностически значимом титре и ультразвуковое орошение полости матки. Во второй когорте использовалось стандартное лечение, включающее только циклическую гормональную терапию, без применения кавитационного орошения полости матки. В исследование было включено 144 пациентки, из них 90 пациенток с бесплодием и привычным невынашиванием, обусловленными гипоплазией эндометрия, которым применялось комплексное лечение с применением ультразвукового орошения полости матки. Первую группу составило 46 пациенток с бесплодием, вторую группу 44 пациентки с привычным невынашиванием беременности. В контрольную группу вошло 28 фертильных условно здоровых пациенток, имеющих в анамнезе срочные роды и отсутствие невынашивания беременности. Для оценки эффективности лечения была выделена ещё одна группа пациенток (26 женщин) с бесплодием и привычным невынашиванием беременности, обусловленными гипоплазией эндометрия, которым проводилась стандартная терапия гормональными препаратами без применения ультразвукового кавитационного орошения полости матки.

Исследование проводилось до лечения и через один месяц после окончания терапии. Для низкочастотного ультразвукового орошения полости матки исполь-

зовали аппарат «Фотек» АК 100-25 с усовершенствованным маточным наконечником АА 211. Орошение проводили на 7-9 день менструального цикла физиологическим раствором. Использовали три курса низкочастотного ультразвукового орошения полости матки ежемесячно.

С целью обоснования эффективности комплексного подхода к восстановлению рецептивности эндометрия использовались общенаучные и специальные методы исследования. Изучался соматический и акушерско-гинекологический анамнез. Из лабораторных методов использовали микробиологические исследования и метод иммуноферментного анализа до начала лечения. Всем пациенткам до и после лечения проводилось ультразвуковое исследование органов малого таза на 20-22 день менструального цикла. Аспирацию эндометрия проводили на 7 день после овуляции, определяемой по мочевому тесту, что соответствует 20-22 дню 28-дневного менструального цикла. Аспират, полученный методом пайпель-биопсии из полости матки исследовали при помощи морфологического метода, метода сканирующей электронной микроскопии, а также иммуногистохимического исследования.

Степень достоверности и апробация работы. Степень достоверности полученных результатов подтверждается соблюдением принципов доказательной медицины. Об этом свидетельствует большой объем выборки клинического материала, широкий спектр методов исследования, поэтапно выстроенный дизайн исследования, адекватное применение статистических методов обработки полученных данных.

Основные материалы и положения диссертации были доложены и обсуждены на научно-практической конференции с международным участием IV Конгресса акушеров-гинекологов Уральского Федерального округа (Екатеринбург, октябрь 2015г); на конференции «Бенедиктовские чтения» (Екатеринбург, ноябрь 2016); на международной конференции «Неклассическое ЭКО: пути решения» (Екатеринбург, февраль 2017; III Общероссийском научно-практическом семинаре «Репродуктивный потенциал России: уральские чтения» (Екатеринбург, март 2017); международном форуме университетской науки 2017 года «Мультидисци-

плинарный подход к репродуктивному здоровью женщин. Возрастные аспекты» (Москва, май 2017). Был представлен постерный доклад на II Малышевских чтениях, посвященные 100-летию присвоения статуса "Повивально-гинекологического института" (Екатеринбург, май 2016).

Диссертационная работа обсуждена на заседании Ученого Совета ФГБУ «Уральского НИИ Охраны материнства и младенчества» МЗ РФ 31 октября 2017 года.

Личный вклад автора.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах диссертационного исследования.

Основная идея, планирование научной работы, включая формулировку рабочей гипотезы, определение методологии и общей концепции диссертационного исследования проводились совместно с научным руководителем к.м.н. Мелкозёровой Оксаной Александровной при непосредственном участии Ученого Совета ФГБУ «НИИ ОММ» МЗ РФ.

Цель и задачи сформулированы совместно с научным руководителем к.м.н. Мелкозёровой О.А.

Дизайн исследования разработан лично диссертантом.

Анализ современной отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме проведен лично диссертантом.

Получение и интерпретация клинико-anamnestических данных осуществлялись совместно с

-инструментальные исследования совместно с (Отделение, организация, руководитель)

-лабораторные исследования совместно с (Отделение, организация, руководитель)

Получение и интерпретация клинико-anamnestических данных осуществлялись совместно с отделением гинекологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения Российской Федера-

ции, руководитель – доктор медицинских наук Михельсон Анна Алексеевна, лабораторные исследования – совместно с отделением биохимических методов исследования Федерального государственного бюджетного учреждения «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения Российской Федерации, руководитель - кандидат медицинских наук Пестряева Людмила Анатольевна, иммунологические исследования, морфологические и иммуногистохимические исследования – совместно с отделением иммунологии и микробиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения Российской Федерации, руководитель - доктор медицинских наук, профессор Чистякова Гузель Нуховна.

Статистическая обработка первичных данных, интерпретация и анализ полученных результатов, написание и оформление рукописи диссертации, представление результатов работы в научных публикациях и в виде докладов на конференциях осуществлялись соискателем лично.

Исследователь самостоятельно проводил поиск литературы и осуществлял анализ отечественных и иностранных источников. Диссертант лично курировал пациенток на стационарном этапе в гинекологическом отделении, проводил обследование женщин, изучение анамнеза жизни, акушерского и гинекологического анамнеза. Автор самостоятельно проводил забор аспириатов эндометрия методом пайпель-биопсии из полости матки до и после лечения у всех обследуемых пациенток. Диссертантом лично проводились курсы низкочастотного ультразвукового орошения полости матки. По полученным данным создана была статистическая карта, которая в дальнейшем использовалась для анализа. По результатам бактериологического, морфологического, ультразвукового и иммуногистохимического исследования автор самостоятельно обрабатывал полученные данные, интерпретировал и анализировал результаты исследования. Оформление текста научных публикаций, рукописи диссертации выполнялись лично аспирантом.

Положения, выносимые на защиту:

1. Клиническими особенностями пациенток с маточной формой бесплодия и невынашиванием беременности являются высокая частота травм эндометрия в результате медицинского аборта, неразвивающейся беременности, наличие хронического эндометрита, ранние репродуктивные потери, среди которых доминирует неразвивающаяся беременность с формированием вторичного бесплодия маточного генеза.
2. Морфологическими маркерами «тонкого» эндометрия являются дисхроноз созревания желёз эндометрия, обеднение его сосудистой сети, уплотнение стромального компонента; ультраструктурные маркеры: асинхронность и акселерация созревания пиноподий, нарушение межклеточных контактов, гладкая апикальная поверхность и атипичные клетки микроокружения; иммуногистохимические маркеры: снижение экспрессии LIF, LIF-R, CD34, VEGF A, увеличение экспрессии CD3+, CD20+, CD138+.
3. Применение в составе комплексной терапии ультразвукового низкочастотного орошения полости матки помогает снизить частоту верификации хронического эндометрита, нормализует функциональную активность клеток иммунной системы, восстанавливает морфологическую структуру эндометрия и показатели его рецептивности у пациенток с бесплодием и привычным невынашиванием, обусловленным гипоплазией эндометрия.
4. Комплексный подход с использованием ультразвукового кавитационного орошения полости матки позволяет улучшить репродуктивные исходы у пациенток с бесплодием и привычным невынашиванием беременности, обусловленными «тонким» эндометрием.

Научная новизна. Впервые определена ассоциация маркеров рецептивности эндометрия и ангиогенеза у пациенток с невынашиванием беременности и маточной формой бесплодия, обусловленными гипоплазией эндометрия.

Впервые определён эффект низкочастотного ультразвука в отношении восстановления рецептивности эндометрия у пациенток с репродуктивными неудачами, который заключается в увеличении уровня экспрессии маркеров ангиогене-

за, фактора, ингибирующего лейкемию, рецепторов к прогестерону в строме эндометрия и снижении маркёров хронического эндометрита, нормализации показателей локального иммунитета в эндометрии.

Установлена прямо пропорциональная зависимость имплантации эмбриона от количества пиноподий, фактора, ингибирующего лейкемию, маркёров ангиогенеза - CD34, VEGF A, при снижении вышеуказанных маркёров рецептивности эндометрия снижается его имплантационный потенциал.

Впервые разработан комплексный подход к восстановлению рецептивности эндометрия у пациенток с репродуктивными неудачами, обусловленные гипоплазией эндометрия, с использованием метода кавитационного орошения полости матки.

Теоритическая и практическая значимость работы. Разработан и научно обоснован комплексный подход к восстановлению рецептивности эндометрия у пациенток с репродуктивными неудачами, обусловленные гипоплазией эндометрия, который включает базовую терапию «тонкого» эндометрия гормональными препаратами и низкочастотное ультразвуковое орошение полости матки кавитированными растворами.

Внедрение результатов исследования в практику. Комплексный подход к восстановлению рецептивности эндометрия у пациенток с бесплодием и привычным невынашиванием, обусловленными гипоплазией эндометрия, с использованием низкочастотного ультразвукового орошения полости матки внедрён в работу гинекологического отделения ФГБУ «Уральский НИИ охраны материнства и младенчества» МЗ РФ, медицинского центра «Гармония», ЦОГ «Женская клиника», кафедра акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО УГМУ МЗ РФ, кафедра акушерства и гинекологии ФУВ ИПП.

Публикации. По результатам исследования опубликовано 4 научных статьи, все они напечатаны в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Российской Федерации для публикации материалов диссертации. Получено 3 патента на изобретение.

Структура и объём диссертации. Диссертация изложена на 1... страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, трёх глав собственного исследования, главы обсуждения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Полученные результаты иллюстрированы с помощью 44 таблиц и ... рисунков. Список литературы представлен 174 источниками, из которых 79 - зарубежных авторов.

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1. Проблема бесплодного брака. Маточный фактор бесплодия в генезе репродуктивных проблем

Несмотря на колоссальные успехи, достигнутые в последние десятилетия в области репродуктивной медицины, эмбриологии и генетики, проблема бесплодного брака еще далека от своего решения. Наметилась устойчивая тенденция к изменению лидирующего фактора бесплодия. С внедрением вспомогательных репродуктивных технологий доминирующее положение занимает маточный фактор, который составляет до 62% в структуре причин женского бесплодия в популяции российских женщин [4,33]. Нарушение полноценной имплантации человеческого эмбриона в связи с нерцептивным эндометрием является наиболее значимой причиной репродуктивных неудач ВРТ, занимая в их структуре до 70% [15,69]. Потому в последние годы в фокусе научного интереса находятся молекулярные исследования, посвященные изучению рецептивности эндометрия при патологии имплантации.

По данным литературы, описаны различные структурно-функциональные изменения в эндометрии, которые могут явиться причиной нарушения репродуктивной функции: несоответствие структуры эндометрия дню менструального цикла, нарушение маточного кровотока, склеротические и иммунологические изменения в эндометрии [45,51]. Одной из причин неудавшейся имплантации может служить истончение эндометрия и нарушение внутриматочной гемодинамики [22, 117].

Большинство исследователей субоптимальным в отношении наступления беременности считают толщину эндометрия менее 8 мм, а значения более 8 мм, как оптимальные для имплантации в программах ВРТ [33, 45].

Известно, что адекватная степень васкуляризации – главная предпосылка для нормальной функции эндометрия [117,160]. Исследования последних лет поз-

волили выявить тесную взаимосвязь между патологиями репродуктивной системы и нарушениями процессов ангиогенеза [53]. В настоящее время стали появляться работы, отражающие взаимосвязь между выраженностью гемодинамических нарушений и степенью истончения М-ЭХО [89,100,117]. У пациенток с исходным истончением эндометрия менее 8 мм выявлено значимое снижение визуализации мелких артериальных сосудов (базальных и спиральных артерий) и высокорезистентный кровоток в сосудах матки [17,22,23,89].

1.2. Механизмы имплантации человеческого эмбриона

Имплантация эмбриона – это процесс внедрение эмбриона в слизистую оболочку матки с участием большого числа клеточных и гуморальных факторов, успешность которых зависит и от исходного состояния эндометрия, и от качества эмбриона [33]. Циклические изменения эстрогенов и прогестерона обеспечивают рецептивность эндометрия, что способствует успешной имплантации бластоцисты [7,80]. Данные изменения происходят под влиянием гормонов, локальных аутокринных и паракринных факторов, а также эмбриональных сигналов, что приводит к синхронизации развития эмбриона и эндометрия [97,110].

Имплантация, или прикрепление эмбриона к эндометрию, обычно происходит на 6-7 сутки после оплодотворения яйцеклетки. Для успешного завершения данного процесса должно быть выполнено множество условий.

В первую очередь, эмбрион должен достичь определенной стадии развития – бластоцисты. И только после того, как бластоциста покинет свою оболочку, она будет готова приступить к прикреплению [102,173].

Однако, имплантация пройдет успешно при условии, что бластоциста попадет в полость матки в строго определенный период, когда эндометрий будет наиболее восприимчивым – это так называемое «окно имплантации» [18,102].

Факторы регулирующие молекулярный уровень прикрепления эмбриона к эпителию эндометрия с последующим его внедрением в строму долгое время был сферой интересов ученых и клиницистов, занимающихся вопросами репродукции

[36,53,172]. Успешное протекание беременности у человека зависит от рецептивности эндометрия, наличия функционально полноценного эмбриона в стадии бластоцисты, совместимости тканей матери и эмбриона, трансформации эндометрия в децидуальные оболочки и, наконец, от формирования четко выраженной плаценты [7,103].

1.3. Нарушение рецептивности в «тонком» эндометрии

Крайне тонкий атрофический эндометрий 5 мм толщиной может являться явной причиной отсутствия имплантации в программах ВРТ [22]. Причиной атрофического эндометрия чаще всего является наличие в полости матки синехий, крайней выраженностью чего может быть синдром Ашермана [57,140]. Сами спайки чаще всего образуются в результате выскабливаний полости матки, чаще неоднократных, а также произведенных при многоплодной беременности. Также присутствие атрофического эндометрия может быть связано с перенесенной лучевой и химиотерапией [22,45,54]. Наличие не отвечающего на стимуляцию эндометрия может быть связано с наличием аномалий развития матки [39,48]. Также в программах донации ооцитов у пациенток с синдромом Шершевского – Тернера встречается наличие резистентного эндометрия, не отвечающего на высокие дозы гормональной заместительной терапии. В литературе имеются упоминания, что причиной тонкого эндометрия может быть перенесенный эндометрит, однако современные исследования показали, что хронический эндометрит не может быть признан значимой причиной отсутствия имплантации в программе ЭКО [58,123].

Многочисленные исследования, посвященные изучению потенциальных маркеров восприимчивости эндометрия при наступлении беременности, определили клеточные и молекулярные механизмы имплантации (аппозиция, адгезия, инвазия) [26,66,96,112]. Тем не менее, использование даже наиболее изученных в настоящее время биомаркеров имплантации в клинической практике крайне ограничено. Большинство идентифицированных маркеров имплантации (пиноподии, интегрин $\alpha\beta_3$, LIF, E-катгерины, NOX гены и др.) регулируются путем прямого

или опосредованного влияния эстрадиола и прогестерона [108,116,118,137]. Однако, важен не столько уровень половых стероидов в организме, но сохранение всех путей реализации гормонального эффекта, в чем решающую роль играет количество функционально полноценных рецепторов ткани эндометрия к соответствующим стероидным гормонам [66,151,154].

Ведущее значение в процессе имплантации имеет рецептивность эндометрия - его способность воспринять бластоцисту и обеспечить необходимые этапы имплантации: ориентацию бластоцисты в полости матки относительно места будущей имплантации, адгезию на поверхности эндометрия и инвазию в полость матки. Рецептивность эндометрия – структурные и функциональные характеристики, определяющие его способность к имплантации [7,79,103,104]. С начала 90-х годов прошлого столетия понятие «рецептивность эндометрия» обретает современное значение как процесс сложной интеграции и многоуровневого «диалога» между эндометрием и эмбрионом в специфический период - «окно имплантации» [17,22]. В этой связи определено понятие «окна имплантации» - короткого периода времени, не превышающего 48 часов, в течение которого человеческая бластоциста способна имплантироваться в полость матки с развитием беременности. В любое другое время эндометрий не является рецептивным, т.е. успешная имплантация эмбриона невозможна [103].

В последние годы интерес к проблеме рецептивности эндометрия неуклонно растет. Внимание исследователей сконцентрировалось на поиске объективных маркеров окна имплантации. Остановимся еще на некоторых важных маркерах рецептивности эндометрия.

1.4. Гормональная регуляция рецептивности эндометрия

Эстрадиол, связываясь с ядерным рецептором α , запускает экспрессию уникального набора генов в преимплантационной эндометрии, которые берут на себя управление процессами имплантации. Экспрессия эстрогеновых рецепторов (ER) определяет действие эстрогенов на пролиферацию клеток матки и/или их дифференцировку во время имплантации [7,54,151]. После овуляции эндометрий под влиянием прогестерона трансформируется в специализированную секреторную структуру. Клеточные эффекты прогестерона опосредуются внутриклеточными прогестероновыми рецепторами (PR), которые представляют собой хорошо изученные регуляторы функций генов [7, 53]. Доказано, что прогестероновые рецепторы, связанные с гормоном, запускают экспрессию специфических генных сетей в различных типах клеток матки, а продукты этих генов - медиаторы действия гормонов на ранних сроках беременности [71,79,151].

Кроме системной гормональной и паракринной регуляции имплантации существенную роль играет влияние эмбриона, индуцирующее реципрокное эмбрионально-маточное взаимодействие, постоянно видоизменяющееся в процессе имплантации. Преимплантационный эмбрион во время своего развития синтезирует несколько факторов, сигнализирующих материнскому организму о своем присутствии [104,110,144]. Адекватное взаимодействие между преимплантационным эмбрионом и эндометрием контролируется, по крайней мере частично, паракринно цитокинами [20,93]. Цитокины и другие факторы роста, а также их рецепторы были обнаружены на уровне мРНК в бластомерах и преимплантационных эмбрионах разных видов животных, равно как и в эндометрии человека на всем протяжении менструального цикла [49,87,93,161].

В настоящее время у большинства видов эндометрий признан важнейшим местом образования цитокинов и рецепторов к ним. Клеточное происхождение цитокинов различно, но большинство из них продуцируются в маточном железистом или поверхностном эпителии, или в децидуализированных стромальных клетках [7,173]. Цитокины и факторы роста — создаваемые клетками полипептиды и белки, обладающие способностью связываться со специфическими рецепторами клеточных поверхностей и выступать в качестве потенциальных внутрикле-

точных сигналов, регулирующих функции клеток эндометрия. Они регулируют клеточную пролиферацию, дифференцировку и апоптоз посредством аутокринных, паракринных и эндокринных механизмов [11,13,87]. Цитокины, синтезируемые слизистой оболочкой матки и эмбрионом, могут играть роль во взаимодействии комплекса «материнский организм — эмбрион», усиливая рецептивность эндометрия за счет регуляции экспрессии проадгезивных и контрадгезивных протеинов [20,102,163].

Хорионический гонадотропин человека. По последним сведениям, ХГЧ, кроме хорошо известного эндокринного влияния на желтое тело, может также выступать в качестве фактора роста и дифференцировки во время беременности[93]. Назначение ХГЧ может значительно повлиять на паракринные параметры дифференцировки и имплантации. ХГЧ стимулирует синтез сосудисто-эндотелиального фактора роста, представляющего исключительное значение для неоангиогенеза, что предполагает роль ХГЧ как регулятора васкуляризации эндометрия и плацентации. Повышение системного содержания ХГЧ вызывает очень быстрый подъем концентрации сывороточного прогестерона, отражающий функцию желтого тела. Судя по всему, у ХГЧ существует множество локальных и системных функций как внутри микросреды эмбрионально-эндометриального комплекса, так и за ее пределами.требующий участия различных эндокринных, паракринных и аутокринных механизмов на гормональном, клеточном и молекулярном уровнях, в результате которых происходит адекватный рост и дифференцировка эндометрия, адгезия и инвазия бластоцисты и образование нормальной плаценты[93,103,104,144].

Успех имплантации зависит от качества эмбриона, наличия рецепторного эндометрия и нормально функционирующей иммунной системы для реализации адекватного диалога между бластоцистой и эндометрием. Цитокины и факторы роста играют важную роль в процессе имплантации. Дисбаланс синтеза или механизма действия этих молекул приводит к частичному или полному нарушению процесса имплантации и плацентации. Цитокин LIF, факторы роста GM-CSF,

TGF- β и VEGF являются одними из наиболее значимых факторов, участвующих в процессе имплантации [50,93,173,174].

1.6. Молекулярные маркёры паракринной регуляции рецептивности эндометрия

Огромное количество ученых разных стран пытаются найти факторы, которые бы позволили максимально достоверно прогнозировать результат вспомогательных репродуктивных технологий, для того, чтобы найти ключ к решению проблемы неэффективного лечения бесплодия [45,144,161]. Факторы роста, цитокины, молекулы клеточной адгезии, рецептивность и пиноподии являются наиболее изученными маркерами «имплантационного окна» [20,87,93].

Пиноподии – гладкие выпячивания, образующиеся на поверхности эпителиальных клеток эндометрия. Пик образования этих структур совпадает с периодом максимальной рецептивности, т.е. восприимчивости эндометрия, что и позволяет использовать пиноподии в качестве достоверного маркера «окна имплантации» [1,95].

В строении эндометриального эпителия происходят изменения, характеризующиеся появлением выпячиваний мембраны — пиноподии [53,61]. Максимальная рецептивность эндометрия, как полагают, бывает с 20-го по 24-й дни цикла и проявляется экспрессией пептидов и белков, которые могут служить биомаркерами рецептивности матки [7]. В последнее время накапливаются дополнительные данные по циклам ВРТ, когда проводят изучение имплантационного окна путем пересадки эмбриона в разное время после пика ЛГ [71]. Было показано, что частота успешных беременностей существенно выше при имплантации эмбрионов между 22-м и 24-м днями цикла (8-10-й день после овуляции) по сравнению с имплантацией в сроки 11 дней и более после овуляции [24,61,71]. Кроме того, чем позже время имплантации, тем выше риск раннего прерывания беременности: от 13% для эмбрионов, имплантированных на 9-й день, до 52% — на 11-й день, 82% — после 11-го дня. В исследовании одного и того же биоптата была показана

связь появления пиноподии и других изменений, свидетельствующих о рецептивности эндометрия, а именно с утратой стероидных рецепторов, максимальной экспрессией $\alpha\beta$ -интегрина, остеопонтина, лейкоemia-ингибирующего фактора (ЛИФ) и рецептора к нему [34,169,171].

С помощью метода сканирующей электронной микроскопии установлено, что максимальное развитие пиноподий на поверхности мембран желез эндометрия приходится на период окна имплантации [1,13,95,141]. Физиологическое значение развития пиноподий до конца не определено, однако есть ряд доказательств, что именно на поверхности пиноподий происходят начальные этапы адгезии бластоцисты к рецептивному эндометрию [68,95,102]. Так в экспериментах *in vivo* бластоцисты преимущественно прикреплялись к зонам эпителия, покрытым пиноподиями [147]. Для успешной имплантации необходимо, чтобы как минимум 50% поверхности эпителия были покрыты пиноподиями [1,16,125].

Были изучены особенности формирования пиноподий у пациенток в различных клинических ситуациях. Выяснилось, что в естественном цикле, образование пиноподий начинается с пятого дня после овуляции и достигает максимума на седьмой день, после чего пиноподии исчезают. При овариальной стимуляции образование пиноподий начинается на четвёртый день после назначения ХГЧ и пика достигает на шестые сутки, после чего количество пиноподий резко падает [152]. В циклах гормональной заместительной терапии, применяемой в программах переноса замороженных эмбрионов и в программах донации ооцитов, пиноподии появляются на седьмой день после назначения прогестерона и их количество прогрессивно возрастает на восьмой день после чего их количество резко падает. Эти данные говорят о смещении «окна имплантации» в некоторых циклах с овариальной стимуляцией, что может уменьшать вероятность имплантации по сравнению с естественными циклами или циклами с применением гормональной заместительной терапии [46,147]. Однако стоит отметить, что попытки внедрить исследование пиноподий в клиническую практику не во всех случаях было удачным, это связано с коротким периодом времени их жизни и относительной дороговизной их изучения [35,130].

Динамика формирования пиноподий может нарушаться. «Окно имплантации» может сдвигаться по времени, т.е. появляться несколько раньше или позже. Данная ситуация, дисхроноз развития пиноподий, определяет репродуктивные неудачи, аномалии имплантации, невынашивание беременности, нарушение плацентации и может вызывать поздние осложнения гестации [16,18].

«Окно имплантации» также может быть неполноценным, т.е. количество эндометриальных пиноподий будет недостаточным для имплантации. Это может быть вызвано различными причинами: гормональным дисбалансом, наличием острых или хронических инфекций половой сферы, предыдущими хирургическими вмешательствами [95,97,119].

Морфология пиноподий меняется по мере прогрессирования секреторной фазы менструального цикла. Диаметр пиноподий у человека составляет порядка 6 микрон. Продолжительность существования пиноподий является предметом спора [1]. По некоторым данным они существуют менее 48 часов на протяжении средней лютеиновой фазы менструального цикла, в то время как по другим данным пиноподии появляются вскоре после овуляции и сохраняются до конца лютеиновой фазы [162].

Другая важная функция пиноподий заключается в высвобождении везикул, заполненных фактором, ингибирующим лейкемию (LIF) в полость матки [55,149]. Формирование и регресс пиноподий тесно связаны с увеличением и уменьшением концентрации прогестерона в сыворотке крови соответственно. При этом, при развитии пиноподий, уровень рецепторов прогестерона типа А и В в железистом и поверхностном эпителии падает. Было отмечено, что концентрация эстрогенов в сыворотке и уровень рецепторов эстрогена (α , β) в эпителии не коррелирует с процессом формирования пиноподий [7,151]. Было показано, что эстрадиол также влияет на образование пиноподий, причем его действие зависит от времени введения. Так, если вводить высокие дозы эстрадиола одновременно с прогестероном, то пиноподии не образуются [12]. При исследовании биопсийного материала было продемонстрировано, что при наличии однородного эндометрия в позднюю лютеиновую фазу, количество пиноподий было существенно меньше, чем у паци-

енток с трехслойным эндометрием [13,39]. Предполагается, что снижение количества пиноподий может играть роль в нарушении имплантации. Показано, что количество пиноподий снижается при наличии хронического эндометрита [123].

Другим маркером имплантации считается появление на поверхности эндометрия белков клеточной адгезии, в частности интегринов, которые способствуют прикреплению бластоцисты к поверхности эндометрия [146,155]. Было показано, что экспрессия интегрин $\alpha\upsilon\beta 3$ начинается в естественном цикле на седьмой день после пика ЛГ, тогда как в циклах с применением овариальной стимуляции экспрессия этого фактора адгезии начинается с пятого дня после назначения ХГЧ, что может говорить о смещении «окна имплантации» при применении стимуляции яичников [130]. Кроме того, было выяснено, что вначале секреторной фазы цикла (на 16 день менструального цикла в 28 дней) в клетках эпителия и стромы эндометрия наблюдается большое количество рецепторов эстрогенов и прогестерона. К 20-22 дню цикла, которое считается временем имплантации бластоцисты, эти рецепторы в клетках эпителия полностью исчезают, а их количество в клетках стромы остается крайне высоким [7]. Интересно отметить, что исчезновение рецепторов в клетках эпителия совпадает с самыми высокими уровнями эстрадиола и прогестерона в крови женщины в течение менструального цикла [32,126]. Исследователи считают, что именно резкое падение рецепторов к эстрогенам и прогестерону в клетках эпителия вызывает появление на поверхности этих клеток белков клеточной адгезии (интегринов), а также увеличивает чувствительность к факторам роста, выделяемых клетками стромы эндометрия [34]. Это позволяет переключить регуляцию сложного многоуровневого процесса имплантации с системного на более тонкий, паракриновый уровень.

Цитокины и факторы роста — создаваемые клетками полипептиды и белки, обладающие способностью связываться со специфическими рецепторами клеточных поверхностей и выступать в качестве потенциальных внутриклеточных сигналов, регулирующих функции клеток эндометрия. Они регулируют клеточную пролиферацию, дифференцировку и апоптоз посредством аутокринных, паракринных и эндокринных механизмов [20,93,87].

Цитокины, синтезируемые слизистой оболочкой матки и эмбрионом, могут играть роль во взаимодействии комплекса «материнский организм — эмбрион», усиливая рецептивность эндометрия за счет регуляции экспрессии проадгезивных и контрадгезивных протеинов [13].

Есть доказательства того, что система ИЛ-1 играет важную роль в сигнальном взаимодействии эндометрия и эмбриона в процессе имплантации у человека. Рецептор к ИЛ-1 экспрессируется в эндометрии многих видов. Антагонистическое воздействие на биологические эффекты ИЛ-1 приводит к нарушению имплантации у мышей. Это, скорее всего, обусловлено нарушениями со стороны эндометрия, нежели эмбриона. Вероятно, ИЛ-1 оказывает влияние и на другие системы, участвующие в имплантации эмбриона, в том числе инвазию и ангиогенез, что предполагает роль цитокинов этого семейства в раннем эмбриональном развитии [17,121].

Простагландины, имеющие как материнское, так и эмбриональное происхождение, предположительно принимают участие в начальных стадиях имплантации. Их главная роль — запуск слабо выраженной воспалительной реакции и повышение проницаемости сосудов эндометрия во время имплантации [15,105]. Простагландины, участвующие в этих процессах, и механизмы их действия до сих пор не установлены [34].

Гипоксия индуцибельный фактор (Hypoxia-inducible factor – HIF) – важный медиатор васкуляризации плаценты и дифференциации трофобласта. В первом триместре вневорсинчатый трофобласт внедряется в децидуальную оболочку, пережимая тем самым спиральные маточные артерии. Это приводит к снижению кровотока в межворсинчатом пространстве, низкой концентрации кислорода, что необходимо для развития плаценты и эмбриона [22,107]. Низкое напряжение кислорода – ключевой фактор в развитии плаценты, инвазии трофобласта и становлении беременности. Несмотря на то, что низкая концентрация кислорода физиологична, ее принято называть гипоксией. По последним данным, HIF активируется не только гипоксией, но и другими механизмами, такие как ренин-

ангиотензиновая система, факторы роста и иммуногенетические цитокины, которые также играют роль в развитии плаценты и созревании плода [16,22,107].

HIF представляет собой гетеродимерную молекулу, состоящую из двух субъединиц, HIF α и арил-гидрокарбонового рецептора (также именуемого HIF-1 β). HIF-1 β экспрессируется постоянно, в то время как экспрессия HIF- α зависит от концентрации кислорода в клетке [16]. HIF связывается с элементами ответа на гипоксию на ДНК и тем самым регулирует более 200 генов, включая гены белков, участвующих в процессе ангиогенеза, осуществляющих вазомоторный контроль, энергетический метаболизм, эритропоэз и апоптоз [13,93]. Стоит отметить, что HIF-1 играет важнейшую роль в становлении гомеостаза, индуцируя транскрипцию ключевых генов, таких как сосудистый эндотелиальный фактор роста (Vascularendothelialgrowthfactor -VEGF) и эритропоэтин [107].

Регуляция HIF может быть кислород-зависимой и кислород-независимой. В условиях нормальной концентрации кислорода HIF-1 α сразу же разрушается. Наиболее интересным является кислород-независимый механизм регуляции HIF. К веществам, способным влиять на экспрессию HIF относятся ангиотензин (II), ИЛ-1, фактор некроза опухоли факторы роста, инсулиноподобный фактор роста. Интересно, что многие из этих способов регуляции HIF неблагоприятно сказываются на развитии плаценты и гестации [16].

Есть данные о том, что увеличение продукции HIF в эндометрии приводит к снижению его рецептивности[102]. При этом, работ, посвященных изучению влияния HIF на развитие «тонкого» эндометрия на сегодняшний день нет, однако схожесть функционирования данного фактора в условиях гипоксии в разных органах и тканях наталкивает на мысль о том, что и в эндометрии HIF поведет себя так же [45].

Фактор, ингибирующий лейкемию (Leukemia inhibitory factor - LIF) – провоспалительный фактор, принадлежит к семейству интерлейкина-6 (ИЛ-6) и играет важную роль в имплантации бластоцисты [107,121]. LIF экспрессируется железистым и поверхностным эпителием эндометрия: в пролиферативную фазу менструального цикла его концентрация невелика, а максимальная экспрессия приходится

на "окно имплантации" [127]. Есть предположение, что экспрессия LIF в эндометрии не зависит от "качества" эмбриона, а по большей части определяется уровнем стероидных гормонов матери [71,138]. По данным Hambartsoumian E. et al. у фертильных пациенток в пролиферативную фазу секреция LIF была в 2,2 раза выше, чем в секреторную. По другим данным, продукция LIF начинается на 3-5 день имплантации в железах эндометрия под действием эстрогенов. Повышение его концентрации способствует имплантации эмбриона. LIF также экспрессируется в строме эндометрия и клетками трофобласта [4,55,135].

На поверхности клеток LIF связывается со своим индивидуальными рецепторами (Leukemia-inhibitory factor receptor – LIFR). Связывание LIF с LIFR приводит к гетеродимеризации GP130 (гликопротеин-130) и формированию высокоаффинного рецепторного комплекса, активирующего многие сигнальные пути. LIFR активирует JAK/Stat, MAP киназный и PI3- киназный путь, а GP130 активирует транскрипцию STAT-1, STAT-3 и STAT-5b. Эффекты LIF определяются концентрацией GP130 [4,55,135,149]. Стоит отметить, что процесс взаимодействия эмбриона и эндометрия двусторонний: эмбрион продуцирует LIF, а в эндометрии после имплантации возрастает функциональная активность LIFR и экспрессируется GP130. Когда эмбрион проникает в эпителий и достигает стромы эндометрия, он начинает синтезировать несколько видов цитокинов, такие как ИЛ-1, TNF и TGF- β , которые индуцируют дальнейшую секрецию LIF стромальными клетками [110,171].

В эндометрии LIF выполняет несколько функций: контролирует количество и соотношение иммунных клеток во время имплантации; влияет на взаимодействие лейкоцитов децидуальной оболочки и внедряющегося трофобласта посредством LIFR [4,127,138]. В дальнейшем эмбрион продуцирует LIF самостоятельно и тем самым регулирует рецептивность эндометрия [110,142].

Огромное количество молекул способно влиять на содержание LIF. К факторам, увеличивающим экспрессию LIF, относятся: ИЛ-1, ФНО α , TGF- β и другие; к ингибиторам – интерферон- α . Бельгийскими учеными было показано, что TGF- β 1, TGF- β 2 и TGF- β 3 индуцировали увеличение продукции LIF в эпителиальных

клетках эндометрия и снижение секреции ИЛ-6 прямо пропорционально концентрации TGF- β [118,129,165].

Несмотря на то, что LIF максимально экспрессируется в секреторную фазу, когда велико влияние прогестерона, связь его продукции с концентрацией стероидных гормонов еще не доказана [71,142]. С другой стороны, лечение антагонистами прогестерона (мифепристоном), уменьшает экспрессию LIF железистым эндометрием во время ожидаемой имплантации [169].

Было проведено иммуногистохимическое исследование, по результатам которого было выявлено, что уровни ИЛ-6 и GP130 в пролиферативную фазу у пациенток с бесплодием и фертильных женщин одинаковые, а уровень LIF у пациенток с бесплодием намного ниже. Эти данные позволили предположить, что низкий уровень экспрессии LIF в пролиферативную фазу может быть потенциальной причиной множественных неудачных имплантаций [36,55,138]. Снижение концентрации LIF в эндометрии женщин с множественными имплантационными потерями в циклах ВРТ было подтверждено и другими исследователями [45,51,86].

Появилось мнение, что к снижению биологической активности LIF в эндометрии и, как следствие, к имплантационным потерям, могут приводить мутации в гене LIF, но здесь требуются дальнейшие исследования [4,118]. Существует предположение, что терапия рекомбинантным LIF может быть эффективной у пациенток с бесплодием неясного генеза [55,149].

Ангиогенез играет критическую роль в различных процессах женской репродукции, таких как развитие доминантного фолликула, формирование желтого тела, рост эндометрия. В эндометрии ангиогенез необходим для поддержания роста эндометрия после менструации и обеспечения васкуляризации рецептивного эндометрия для имплантации. Большинство работ, посвященных регуляции ангиогенеза в эндометрии, сфокусированы на определении сосудистого эндотелиального фактора свертывания (VEGF) [109,120,133].

В попытке найти патофизиологические признаки «тонкого» эндометрия было установлено, что «тонкий» эндометрий характеризуется бедным ростом желе-

зистого эпителия, высоким сопротивлением в маточных артериях, уменьшением экспрессии VEGF и бедным образованием сосудов. Высокое сопротивление кровотока в радиальных артериях может быть триггером, неблагоприятно влияющим на рост железистого эпителия и, как результат, на снижение уровня VEGF в эндометрии [22,107]. Низкий VEGF приводит к бедному сосудодообразованию, которое в дальнейшем еще более уменьшает сосудистый кровоток в эндометрии [36]. Данный порочный круг приводит к формированию «тонкого» эндометрия, который в свою очередь пагубно влияет на рецептивность [42]. Есть данные о том, что высокое сопротивление в кровотоке радиальных артерий в начале менструального цикла может являться предиктором «тонкого» эндометрия, несмотря на то, что причина высокого сопротивления в них у пациенток с «тонким» эндометрием еще не изучена [25,117].

CD34 – маркер клеток эндотелия сосудов, который позволяет оценить уровень ангиогенеза. Его изучают как в опухолях, так и при хронических заболеваниях, таких как эндометриоз. Примечательно, что CD34 может вывляться не только во вновь образованных сосудах, но и в нормальных сосудах, недавно "захваченных" опухолью [17,160].

В экспериментах на мышах, испытывались различные методы терапии бесплодия. В ходе исследования было показано, что повышение экспрессии CD34 сопровождалось увеличением частоты наступления беременности [51].

Однако, несмотря на сообщения об успешном использовании определения интегринов, как маркеров имплантации у человека, не все исследователи сообщили о клинической применимости данных методов [110].

Интерлейкины. Есть доказательства того, что система ИЛ-1 играет важную роль в сигнальном взаимодействии эндометрия и эмбриона в процессе имплантации у человека. Рецептор к ИЛ-1 экспрессируется в эндометрии многих видов. Антагонистическое воздействие на биологические эффекты ИЛ-1 приводит к нарушению имплантации у мышей. Это, скорее всего, обусловлено нарушениями со стороны эндометрия, нежели эмбриона. Вероятно, ИЛ-1 оказывает влияние и на другие системы, участвующие в имплантации эмбриона, в том числе инвазию и

ангиогенез, что предполагает роль цитокинов этого семейства в раннем эмбриональном развитии [17,87].

Простагландины. Простагландины, имеющие как материнское, так и эмбриональное происхождение, предположительно принимают участие в начальных стадиях имплантации. Их главная роль — запуск слабо выраженной воспалительной реакции и повышение проницаемости сосудов эндометрия во время имплантации [7,121]. Лимитирующим фактором синтеза простагландинов служит фермент циклооксигеназа (Cox), существующий в двух изоформах: Cox1 и Cox2. Мыши с дефицитом Cox-1 фертильны, а в случае отсутствия Cox2 — бесплодны вследствие ановуляции и нарушения имплантации. Простагландины, участвующие в этих процессах, и механизмы их действия до сих пор не установлены [34]. В экспериментах на мышах с отсутствием Cox2 было установлено, что простаглицлин, синтезируемый с ее помощью, служит важнейшим простагландином для имплантации и децидуализации. Путем иммунофлюоресцентного окрашивания Cox-1 было установлено, что она присутствует главным образом в железистом и поверхностном эпителии. Cox2 была обнаружена в поверхностном эпителии и периваскулярных клетках. Применение мифепристона существенно снижало экспрессию Cox1 в железистом эпителии и Cox2 в поверхностном эпителии, а также уменьшало количество иммунной 15-гидроксипростагландин-дегидрогеназы в железах эндометрия [93,173].

В последние годы определенный научный интерес связан с изучением экспрессии определенных генов при различной патологии, и сравнение уровня экспрессии генов с характером биосинтеза транскрипотируемых этими генами белков (геномика). Было показано, что в период «окна имплантации», в середине лютеиновой фазы цикла, отмечается повышение экспрессии ряда генов, чья функция связана с метаболизмом клеток, секрецией желез эндометрия, дифференцировкой клеток, межклеточным взаимодействием, врожденным иммунным ответом, механизмами репарации, адгезии и протеолиза [134,146,148]. На основании этих данных был создан микрочип, включающий исследование уровня экспрессии 238 генов, выбранных путем тщательного анализа. Данный метод получил название

EndometrialReceptivityArray (ERA) - исследование рецептивности эндометрия. Он основан на изучении экспрессии массива генов. Метод позволяет определить уровень рецептивности в конкретном образце эндометрия со специфичностью 0,88 и чувствительностью 0,99 [101]. Дальнейшие исследования должны определить клиническую значимость данного метода.

1.6. Методы терапевтического воздействия на «тонкий» эндометрий

Причинно-следственная связь между наличием «тонкого» эндометрия и снижением частоты имплантаций в настоящее время до конца не ясна[22]. Есть мнение, что при уменьшении толщины эндометрия бластоциста в процессе имплантации близко подходит к спиральным артериям и попадает в зону высокой концентрации кислорода, а ведь известно, что выживаемость бластоцист выше в среде с пониженной концентрацией кислорода[102]. Исходя из имеющихся данных, предложены несколько методов лечения, которые могут повысить вероятность имплантации при «тонком» эндометрии[3]. В частности, есть мнение, что наличие «тонкого» эндометрия должно служить показанием к заморозке всех эмбрионов с целью переноса их после подготовки в ходе циклов, где толщина эндометрия будет больше [22,52]. Как же можно подготовить «тонкий» эндометрий к имплантации?

За последние годы были предложены ряд подходов, направленных на восстановление рецептивности эндометрия. Предложенные подходы включают интенсивное назначение препаратов эстрогенов, в том числе и с применением альтернативных путей доставки (трансдермальный и вагинальный) [32].

Минимальный период, за который рецептивный эндометрий может вырасти составляет 5-7 дней и продолжительность назначения эстрадиола в 10-14 дней не является абсолютно необходимой. Если эндометрий не достигает нужных параметров за короткий период, назначение препаратов эстрадиола может быть продолжено[98,162].

Пероральное назначение эстрадиола хорошо переносится пациентками, однако следует отметить, что после перорального введения, эстрадиол (E2) активно метаболизируется в слизистой оболочке кишечника и в печени. При этом E2 легко преобразуется в эстрон (E1) и эстрон-сульфат (E1S), с уровнем в крови E1 в три-шесть раз выше, чем E2. Эстрон является слабым эстрогеном с низким сродством для обоих α и β рецепторов эстрогенов. Таким образом, так называемый первый пассаж через печень, значительно снижает активность эстрадиола, что заставило искать альтернативные пути доставки препарата [12].

При наиболее часто применяемом пероральном пути применения эстрадиола наблюдается высокое соотношение E1/E2, и для обеспечения высокого уровня эстрадиола в сосудах, снабжающих матку, и непосредственно в эндометрии необходимо назначать высокие дозы перорального эстрадиола. В то же время трансдермальный путь обеспечивает устойчивый уровень эстрадиола и обходит первый пассаж через печень [98].

Было показано, что трансдермальный эстрадиол может вызывать адекватный рост эндометрия, несмотря на более низкую концентрацию эстрадиола в крови, по сравнению с пероральным путем. Более того было показано, что трансдермальное применение эстрадиола благотворно влияет на рецептивность эндометрия [12,32].

Другой альтернативой пероральному пути доставки эстрадиола является вагинальное применение. Этот путь обеспечивает высокий уровень эстрадиола в ткани эндометрия, при низком уровне соотношения E1/E2. Более того, при этом отмечается более высокое соотношение концентрации эстрадиола в крови к концентрации в эндометрии, чем наблюдается при овариальной стимуляции или при пероральном назначении [37,114]. Также были сравнены показатели толщины эндометрия, маточного кровотока и сократительной активности матки у пациенток с применением вагинального или перорального эстрадиола [52]. Было показано, что при вагинальном использовании статистически выше была толщина эндометрия, среднее PI маточной артерии, процент васкуляризации матки и число маточных сокращений в минуту [37,160].

Некоторые авторы показывают, что аспирин в малых дозах (80 мг/сутки) может достоверно повышать частоту успешных имплантаций, но не влияет на толщину эндометрия. Другие указывают на улучшение маточного кровотока у пациенток с необъяснимым бесплодием при терапии 100 мг аспирина, начиная с 3 дня менструального цикла [3,22,50].

Для лечения пациенток с повторными импланационными неудачами использовали вагинальный силденафил цитрат. Предполагалось, что силденафил способен увеличить частоту имплантации за счет улучшения кровотока в эндометрии [52]. Силденафил цитрат, ингибитор фосфодиэстеразы-5, потенцирует эффект вазодилатации благодаря нативному оксиду азота. Вагинальные суппозитории с силденафил цитратом способствуют увеличению толщины эндометрия и наступлению беременности у пациенток с «тонким» эндометрием [48]. Недавно Zingeretal описал успешное наступление беременности у двух инфертильных пациенток с синдромом Ашермана после лечения вагинальными суппозиториями с силденафил цитратом в дозе 25 мг 4 раза в сутки с 6 по 14 день менструального цикла [57,81,140].

Появились данные об успешном внутриматочном применении растворов колониестимулирующих гранулоцитарных факторов (GCF). За 20 лет накоплен большой опыт по применению данных препаратов при лечении заболеваний, связанных с лейкопенией, после лучевой и химиотерапии при онкологических заболеваниях, при СПИДе, некоторых аутоиммунных заболеваниях. Gleicher N. с соавторами впервые опубликовали данные о четырех пациентках с тонким эндометрием, полость матки которых была обработана GCF. Во всех случаях удалось добиться беременности в данном цикле, причем у одной пациентки наблюдалась двойня [115]. По имеющимся на сегодняшний день данным, Г-КСФ повышает концентрацию в эндометрии тромбоцитарного фактора роста эндотелиальных клеток, играющего ключевую роль в стимуляции ангиогенеза. Stamenov K. сообщает о 149 пациентках с повторяющимися неудачами имплантации, которым в программе ЭКО на пятый день после овуляции полость матки была промыта раствором Г-КСФ. Отмечено достоверное увеличение экспрессии лейкемии ингиби-

рующего фактора (ЛИФ, LIF), и уменьшение соотношения CD16-CD56dim/CD16-CD56bright[63]. Okitsu O. с соавторами отмечает, что внутриматочное введение мононуклеарных клеток аутологической периферической крови повышает частоту клинической беременности у пациенток с многочисленными неудачами имплантации в программах заморозки/разморозки эмбрионов [144,174].

В литературе имеются данные о высокой эффективности использования экзогенного оксида азота в комплексном лечении хронического эндометрита. Доказано, что NO-терапия нормализует нарушенную микроциркуляцию, снижает микробную обсемененность, активирует фагоцитоз и функцию макрофагов, усиливает рост фибробластов, сосудов. Работой Н. Г. Грищенко доказана эффективность внутривлагалищного введения оксида азота с целью оптимизации подготовки пациенток с ранее безуспешными программами ЭКО на фоне «тонкого» эндометрия [11].

Некоторыми авторами с целью увеличения толщины эндометрия при низком уровне VEGF в сыворотке крови предложено в состав комплексной предгравидарной подготовки вводить метилпреднизолон в дозировке 8 мг в сутки с 1-го по 25-й день менструального цикла, что ведет к увеличению уровня VEGF и соответственно толщины эндометрия [92].

Широко изучаются возможности клеточной терапии в восстановлении морфофункциональной активности эндометрия. Одними из наиболее перспективных источников стволовых клеток являются мезенхимальные стволовые клетки, происходящие из костного мозга, пуповинной крови, жировой ткани. Описан новый источник таких клеток — менструальная кровь. Среди преимуществ их использования: доступность, неинвазивный способ получения исходного материала, а также отсутствие иммунных реакций при аллогенном применении. Отсутствие спонтанной трансформации при длительном культивировании клеток — важный фактор, подтверждающий безопасность использования метода [106,166].

Появляются работы, посвященные применению эндометриальных мезенхимальных стволовых клеток в лечении синдрома Ашермана [57]. После их введения наблюдалась неоваскуляризация стенки матки, сопровождающаяся утолще-

нием эндометрия, достаточным для успешной имплантации и вынашивания беременности. В случаях отсутствия ответа эндометрия на гормональную терапию внутриматочное введение мезенхимальных стволовых клеток в начале менструального цикла непосредственно после кюретажа может решить задачу роста эндометрия и в последующем способствовать наступлению беременности в программе ЭКО. Подобные публикации пока носят характер описания единичных случаев. Тем не менее следует признать высокий потенциал клеточных технологий в преодолении невосприимчивости тонкого эндометрия и связанных с ней бесплодия и невынашивания беременности [106].

Включение методов физиотерапии в лечение и реабилитацию пациенток с заболеваниями матки и эндометрия, сопровождающимися нарушением его рецептивности, повышает частоту наступления и благополучного вынашивания беременности, оказывает позитивное влияние на состояние рецепторного аппарата эндометрия, маточную гемодинамику [3].

У больных с гипопластическими процессами эндометрия на фоне хронического эндометрита была доказана высокая клиническая эффективность электроимпульсной терапии [76,82]. Отмечались позитивные эхографические изменения, усиление регионарного кровообращения, снижение концентрации VEGF, нормализация соотношения его рецепторов и как следствие восстановление репродуктивной функции[3,82,113].

1.7. Ультразвуковое кавитационное орошение полости матки в восстановлении эндометрия при его заболеваниях

Перспективным методом восстановления рецепторного аппарата эндометрия представляется метод кавитационного орошения полости матки физиологическим раствором, предварительно озвученным ультразвуком низкой частоты. В многочисленных экспериментах показано, что низкочастотный ультразвук обладает потенциально важным эффектом воздействия на функциональную активность эпителиальных клеток, который может заметно влиять на восстановление

тканей и процессы регенерации в естественных условиях. Низкочастотный ультразвук вызывает расширение кровеносных сосудов и увеличение регионарного кровотока в 2-3 раза, инициирует благоприятные изменения в микроциркуляторном русле и адвентиции сосудов, развитие коллатерального кровотока [62,63,74].

Доказаны эффекты низкочастотного ультразвука в отношении восстановления рецепторного поля эндометрия после неразвивающейся беременности и при хроническом эндометрите [61,62,67]. Выявлена потенция кавитированных жидких сред в восстановлении уровня экспрессии ER α преимущественно в железах эндометрия и PR в железах и строме эндометрия до уровня, сопоставимого с контрольными значениями. [8,9,28,151,154]. После проведенной реабилитации рецепторный фенотип женщин был достоверно неотличим от контроля.

Под воздействием ультразвука низкой частоты в жидкости возникает ряд физических и биологических эффектов [27,129,131,143].

К физическим эффектам относятся: А) Кавитация - образование в жидкости микрополостей, наполненных газом и/или паром. Разрывы пузырьков на границе с раневой поверхностью ведут к удалению налета, механическому разрушению бактерий, микромассажу подлежащих тканей. Б) Кавитационное барботирование - это процесс перемешивания жидкости в какой-либо полости волнами кавитационных пузырьков, перемещающихся в пространстве с большой скоростью. При схлопывании кавитационных пузырьков, в жидкости возникают участки с большим давлением, образуется ударная волна, в результате этого происходит эффективное очищение раневой поверхности от некротических тканей, усиливается импрегнация лекарственных растворов в ткань. При кавитационном барботировании создается большая поверхность взаимодействия на границе «жидкость, обогащенная газом - стенки полости», что способствует интенсификации физико-химических и обменных процессов. В) Тепловой эффект - возникает при контактном воздействии ультразвукового наконечника на ткань. Энергия механических колебаний превращается в тепловую и вызывает на малой мощности расширение сосудов микроциркуляторного русла, на большой мощности - коагуляцию тканей, вплоть до карбонизации. Г) Фрагментация – дробление, дезинтеграция тка-

ней, изменение структуры, перевод в коллоидное состояние. Фрагментация мягких тканей происходит за счёт прямого контакта наконечника с тканью, вибрации жидкости, волн повышенного и отрицательного давления, а также эффекта кавитации. Д) Распад молекул воды – под воздействием ультразвуковых волн происходит образование перекиси водорода и короткоживущих свободных радикалов - ионов водорода и кислорода [5,9,27,28,60,75].

Биологический эффект ультразвука зависит от интенсивности механических колебаний, которая пропорциональна потоку энергии, переносимой через единицу площади излучающей поверхности инструмента [60,70,75].

К биологическим эффектам относятся: А) Бактерицидный эффект ультразвука большинство авторов объясняет эффектом ультразвуковой кавитации, возникающей при прохождении ультразвуковой волны большой интенсивности через жидкостную среду. При этом в полости, заполненной жидкостью, возникают микрополости, заполненные паром и/или газом. Воздействие этих микрополостей на стенку бактерий приводит к ее тепловому и механическому повреждению. Возможности бактерицидного эффекта ограничены мощностью воздействия. Недостаточность бактерицидного эффекта в случае использования маломощного воздействия удастся нивелировать увеличением продолжительности и кратности воздействия. Доказан бактерицидный эффект для большинства возбудителей раневой инфекции [14,27,28,75,84]. Собственный бактерицидный эффект ультразвука большинством авторов рекомендовано потенцировать сочетанием с антисептическими растворами [5,9,29,62]. Б) Фонофоретический эффект. Наряду с прямым бактериостатическим воздействием на возбудителей раневой инфекции низкочастотный ультразвук позволяет осуществлять введение лекарственных веществ в глубину ткани. Глубина проникновения зависит от функционального состояния ткани, вида ткани, экспозиции и мощности ультразвукового воздействия. П.И. Младенцев и соавторы установили, что на интактные ткани ультразвук действует повреждающее, вызывая лейкоцитарную инфильтрацию [75]. В условиях воспаления низкочастотный ультразвук обеспечивает проникновение антибиотика в ткань на глубину до 9 мм. Эти же исследователи показали, что при кавитацион-

ном барботировании в полости, заполненной раствором антибиотиков, гибель микробов происходит при меньших концентрациях антибиотиков, при этом накопление антибиотика тканях пропорционально времени ультразвукового воздействия [5,14,27,28,29,75,84]. В) Противовоспалительный эффект низкочастотного ультразвука известен с 70-х годов прошлого века и объясняется подавлением роста микрофлоры, быстрым очищением раны и нормализацией микроциркуляторных нарушений в очаге воспаления [75]. Г) Стимулирующий эффект. В многочисленных экспериментах показано, что низкочастотный ультразвук обладает потенциально важным эффектом воздействия на функциональную активность соединительных клеток, который может заметно влиять на восстановление тканей и процессы регенерации в естественных условиях [75,84]. При этом, по мнению В.С.Котлярова, оптимальная интенсивность низкочастотного ультразвука для стимуляции регенерации составляет 0,6 Вт/см². Воздействие низкочастотного УЗ на ткани приводит к активации синтеза протеинов фибробластами и факторов роста макрофагами [5,9,29]. Д) Воздействие на микроциркуляцию. Низкочастотный ультразвук вызывает расширение кровеносных сосудов и увеличение регионарного кровотока в 2-3 раза, инициирует благоприятные изменения в микроциркуляторном русле и адвентиции сосудов, развитие коллатерального кровотока [75]. Одним из механизмов улучшения тканевой перфузии при действии низкочастотного ультразвука является увеличение продукции NO эндотелиальными клетками в очаге ишемии [60,62,75]. История использования энергии низкочастотного ультразвука в акушерстве и гинекологии насчитывает не одно десятилетие.

Широкое применение лекарственных растворов, кавитированных низкочастотным ультразвуком, в лечении вагинальных инфекций, патологии шейки матки описано многими авторами. На базе кафедры «Акушерства и гинекологии» Уральского Федерального медицинского Университета изданы практические рекомендации для врачей по использованию метода кавитационного орошения полости матки в лечении воспалительных заболеваний нижнего отдела репродуктивного тракта, а также в лечении послеродовых гнойно-септических заболеваний

[8,98,165]. Рекомендации нашли широкое применение во многих ведущих клиниках нашей страны.

Резюме. Таким образом, важнейшей проблемой является отсутствие мер воздействия на нерцептивный эндометрий. Имеющиеся методы лечения действуют разрозненно на отдельные звенья патогенеза гипопластичного эндометрия, что даёт низкую эффективность. Для успешной имплантации необходимо, чтобы эндометрий в период «окна имплантации» на 20-22 день менструального цикла был максимально рецептивным. На сегодняшний день нет четкого понимания и критериев диагностики маркёров рецептивности эндометрия. Известные на сегодняшний день меры воздействия на «тонкий» эндометрий дают низкую эффективность как в естественных циклах, так и в протоколах ВРТ. Для более результативного ответа эндометрия на лечение необходимо воздействовать не только медикаментозными средствами, но и включать аппаратные методы лечения с использованием эффектов ультразвука.

В современной литературе исследования, посвященные эффективности внутриматочного использования низкочастотного ультразвукового излучения с целью восстановления рецептивности эндометрия немногочисленны.

Представленные в главе данные были опубликованы:

1. Мелкозерова О.А., Башмакова Н.В., Есарева А.В. Проблемы коммуникации эмбриона и эндометрия: маркёры нарушений и механизмы влияния. Российский вестник акушера-гинеколога. 2016;5;29-36.

2.1. Дизайн исследования и группы наблюдения

В соответствии с поставленными задачами проведен анализ результатов клинического и лабораторного обследования 144 женщин, наблюдавшихся в консультативно-диагностическом отделении и проходивших лечение на базе гинекологического отделения ФГБУ МЗ РФ «НИИ ОММ» Минздрава России с 2015 по 2017 г. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России. В соответствии с положениями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации последнего пересмотра, у всех женщин, планирующих беременность, до момента включения в исследование было получено информированное согласие на использование биологического материала.

В исследование были включены 144 пациентки с репродуктивными неудачами, обусловленными гипоплазией эндометрия, которые сформировали три когорты наблюдения. Первую когорту составили 90 пациенток с бесплодием и привычным невынашиванием беременности, обусловленных «тонким» эндометрием, в лечении которых использовали комплексную программу, включающую циклическую гормональную терапию, элиминацию патогенной микрофлоры по чувствительности при выявлении её в диагностически значимом титре и применение ультразвукового орошения полости матки кавитированными растворами. Из них 46 пациенток с бесплодием, обусловленным гипоплазией эндометрия, они составили 1 основную группу и 44 пациентки с невынашиванием беременности, обусловленным гипоплазией эндометрия, которые составили 2 основную группу. Всем пациенткам была назначена циклическая гормональная терапия. На фоне приёма гормональной терапии в первую фазу цикла, начиная с 7-9 дня менструального цикла, всем пациенткам основных групп проводилось низкочастотное ультразвуковое кавитационное орошение полости матки курсом №3.

Вторую когорту составили 26 пациенток с бесплодием и привычным невынашиванием беременности, обусловленных «тонким» эндометрием, в лечении ко-

торых использовалось стандартное лечение, включающее циклическую гормональную терапию, элиминацию патогенной микрофлоры при выявлении её в диагностически значимом титре. Лечение проводилось на амбулаторном этапе.

В группу контроля вошли 28 условно здоровых женщин с мужским фактором бесплодия. Пациентки третьей группы имели в анамнезе срочные роды. Пациенткам этой группы не проводилось лечения.

Критерии включения в основные группы исследования:

- Женщины репродуктивного возраста 18-45 лет
- Невынашивание беременности в анамнезе (один и более самопроизвольный выкидыш, и регрессирующая беременность)
- Маточная форма бесплодия, связанная с гипоплазией эндометрия
- Гипоплазия эндометрия: М-ЭХО на 20-22 день менструального цикла менее 8 мм.

Критерии исключения:

- Возраст более 45 лет
- Онкологические заболевания
- Тяжёлая экстрагенитальная патология
- Бесплодие и невынашивание, не ассоциированное с гипоплазией эндометрия.

Низкочастотное ультразвуковое кавитационное орошение полости матки начинали в первую фазу цикла на 7-9 день менструального цикла курсом из 5 процедур продолжительностью 3–5 минут, с мощностью воздействия 25 кГц, скоростью потока лекарственного средства 100-150 мл/мин.

Дизайн исследования

Основная группа		Группа контроля	Группа сравнения
<u>I группа:</u> Женщины с бесплодием, ассоциированным гипоплазией эндометрия	<u>II группа:</u> Женщины с привычным невынашиванием и гипоплазией эндометрия.		



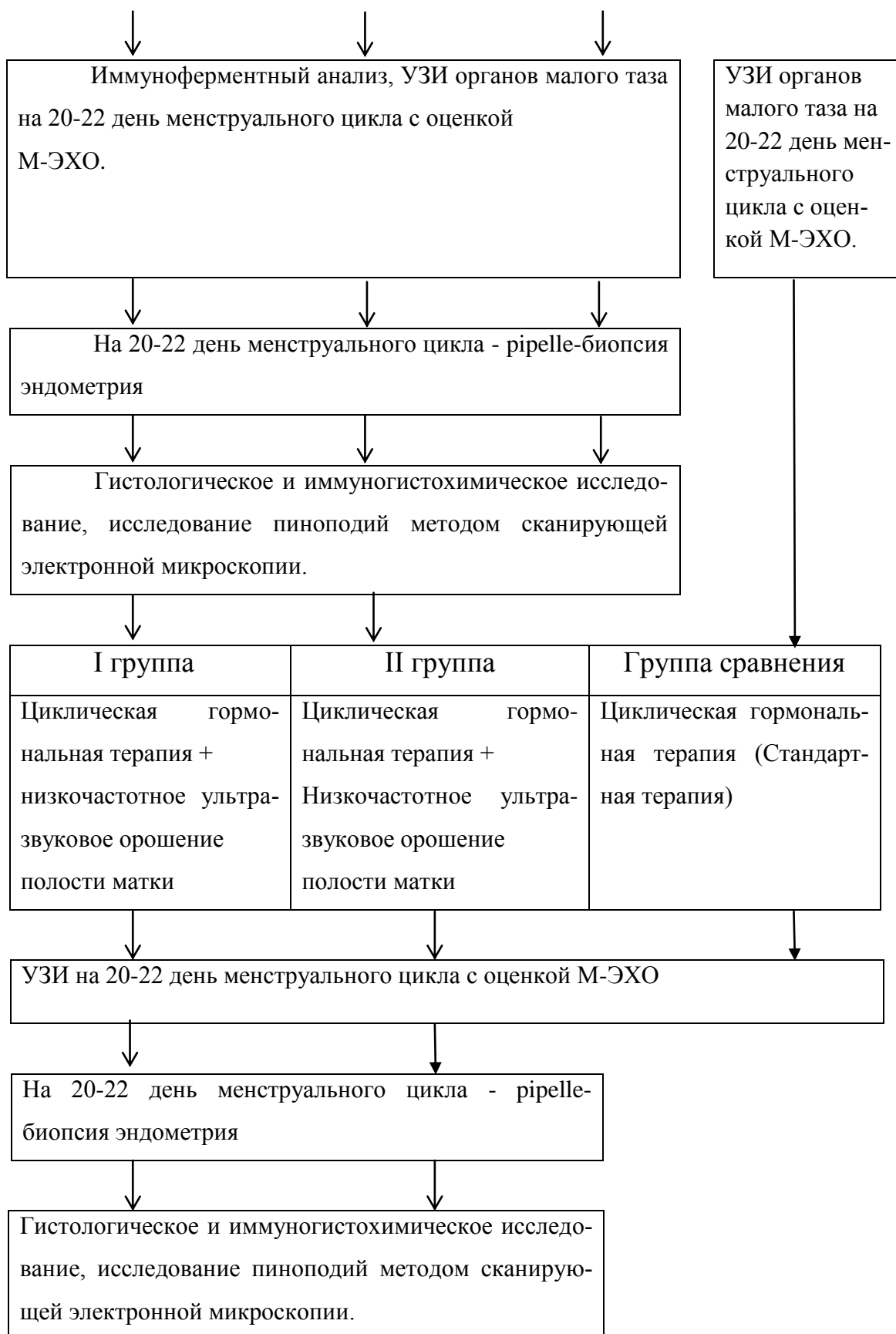


Рисунок 1 - Дизайн исследования

Циклическая гормональная терапия проводилась по схеме: с 3 по 25 день м.ц. назначались препараты эстрадиола 17-β в дозе 1-4 мг в сутки, с 14 по 25 день дидрогестерон в дозе 20 мг в сутки.

Санация патогенной микрофлоры проводилась до орошения полости матки с использованием антибиотиков при выявлении патогенной микрофлоры при бактериологическом исследовании отделяемого из цервикального канала в диагностическом значимом титре по чувствительности микроорганизмов.

Низкочастотное ультразвуковое орошение проводилось в первую фазу цикла курсом №3. «Озвученной» средой являлся физиологический раствор.

Для проведения кавитационного орошения использовался аппарат «Фотек» АК 100-25 с усовершенствованным маточным наконечником АА 211.

2.2. Методы исследования

Обследование пациенток с «тонким» эндометрием проводилось по стандартной схеме: изучение анамнеза жизни и заболевания, соматического анамнеза, акушерско-гинекологического анамнеза, количества и частоты внутриматочных вмешательств, характера менструальной функции.

2.2.1 Лабораторные методы

1. Бактериологическое исследование отделяемого женских половых органов проводилось на базе бактериологической лаборатории с использованием коммерческих тест-систем PLIVA (Lachema Diagnostica, Чехия) на приборе «Микроб-автомат» с определением чувствительности к антибактериальным препаратам.

2. Иммуноферментный анализ

Содержание маркеров функционального состояния эндотелия и регуляторов ангиогенеза в сыворотке крови оценивали методом иммуноферментного анализа (ИФА) в соответствии с рекомендациями производителей наборов реагентов. Детекцию проводили на иммуноферментных анализаторах «Wallac 1420 (Victor2)» фирмы «PerkinElmer» (Финляндия) и «Multiskan MCC/340» фирмы Labsystems (Финляндия). Уровень васкуло-эндотелиального фактора роста (VEGF-A) опреде-

ляли с помощью коммерческих тест-систем «BenderMedsystems» (Австрия). Определение эндотелина-1 проводилось на аппарате «Multiskan MCC/340» фирмы «Labsystems» (Финляндия) с помощью наборов «Biomedica» (Австрия) в соответствии с инструкциями производителя. Результаты оценивались по величине отклонения исследуемого образца от стандартного значения в мкмоль/л.

Исследование уровней общего и эндотелиального оксида азота выполнялось с использованием наборов реагентов фирмы «R&D Systems» (США/Канада) на аппарате Tecan (Sunrise, Австралия). Концентрированный раствор нитрат редуктазы разводился деионизированной или дистиллированной водой при комнатной температуре до объема 300мл. Все исследуемые образцы и стандартные растворы дублировались. Показатели оптической плотности исследуемых образцов сравнивались со стандартными кривыми в дубликате. Результаты оценивались по величине отклонения исследуемого образца от стандартного значения в мкмоль/л.

2.2.2. Инструментальный метод: ультразвуковое исследование.

Ультразвуковое исследование проводилось на аппарате Hawk 2102 EXL Ultrasound Scanner (Denmark) с использованием мультичастичного абдоминального датчика с частотой 3,5-5 МГц 3,5 и 5МГц и вагинального датчика 7 МГц. При исследовании оценивались размеры матки и придатков, однородность эндометрия, отсутствие патологических включений и синехий в полости матки. Определялась толщина М-ЭХО, трёхслойность структуры эндометрия. Исследование проводилось на 20-22 день менструального цикла.

2.2.3. Гистологические и иммуногистохимические исследования.

Гистологическое исследование аспирата эндометрия, взятого на 20-22 день менструального цикла методом pipelle-биопсия:

Материалы биоптатов эндометрия для гистологического исследования фиксировали в 10% нейтральном формалине, заключали в парафин, делали срезы толщиной 5 мкм и окрашивали гематоксилином и эозином.

На гистологических препаратах оценивалась структура эндометрия (состояние стромы, железистого аппарата, соответствие эндометрия фазе менструального цикла, развитие сосудов стромы эндометрия). В ворсинчатом хорионе анализировались морфологические особенности стромы ворсин, трофобластического эпителия и элементы эмбрионально-ворсинчатого кровотока. Использовалась методика, описанная Кузнецовой Р.А., 2009 г «Морфологические параметры дифференциальной диагностики эндометриальной и плацентарной недостаточности при ранних самопроизвольных абортах». Диагностировались воспалительные изменения, острые нарушения кровообращения и дистрофические изменения в исследуемых структурах.

Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование эндометрия:

Эндометрий для исследования был взят на 8-10 и 20-22 день менструального цикла. Определялось состояние рецепторного аппарата, локального иммунитета, пролиферативной активности, апоптоза, ангиогенеза, лимфоангиогенеза, рецептивности эндометрия.

Для ИГХ-исследования использовали двухэтапный стрептавидин-биотин-пероксидазный метод с демаскировкой антигена и применением стандартных наборов моноклональных и поликлональных антител фирмы «Bond RTU Primary» и «ДАКО», США. На парафиновых срезах по стандартной методике с предварительной демаскировкой антигенов в СВЧ-печи с использованием соответствующих стандартных антител выявляли следующие маркеры:

Проявление реакции осуществлялось системой визуализации «DakoCytomation». Для визуализации первичных антител использовали безбиотинную систему детекции SuperSensitivePolymer-HRP DetectionSystem (Biogenex).

Для иммуногистохимического исследования использовали серийные парафиновые срезы. Результаты реакции рецепторов к эстрогенам и прогестеронам идентифицировались по ядерному или мембранному окрашиванию клеток для соответствующих маркеров с оценкой процента окрашенных клеток и интенсивностью окраски клеток. Экспрессию рецепторов к эстрогенам и прогестеронам оценивали по 3-балльной шкале (слабая, средняя и выраженная степени).

Экспрессию CD3 **клоны вставляю**, CD20, CD138 оценивали путем подсчета позитивных клеток в поле зрения при увеличении 400 при подсчете не менее 10 полей зрения.

Экспрессию CD34 и VEGF определяли в эпителии, строме эндометрия и эндотелии сосудов. Активность проявлялась в виде окрашивания мембраны и цитоплазмы эпителиальных и эндотелиальных клеток.

Экспрессию LIF, LIFR определяли на мембранах клеток поверхностного эпителия желез эндометрия путем подсчета количества окрашенных клеток в поле зрения при увеличении 400, при этом изучали не менее 10 полей зрения.

Для анализа результатов ИГХ реакций использовали метод гистологического счета H-score по формуле: $HS = 1a + 2b + 3c$, где a – % слабо окрашенных клеток, b – % умеренно окрашенных клеток, c – % сильно окрашенных клеток, 1, 2, 3 – интенсивность окрашивания, выраженная в баллах.

Определялось состояние рецепторного аппарата и пролиферативной активности эндометрия (CD3, CD20, рецепторы к эстрогенам и прогестерону). Исследование проводилось в отделение патоморфологии.

Для ИГХ реакций парафиновые срезы обрабатывали по стандартной методике с использованием мышинных моноклональных антител к эстрогеновым рецепторам- α (клон 1D5 «ДАКО»), прогестероновым рецепторам (клон 636 «ДАКО»), а также к антигенам лимфоцитов CD3+, CD20+.

2.2.4. Ультроструктурное исследование эндометрия

Исследовали образцы эндометрия, взятые методом pipelle-biopsia в период предполагаемого «окна имплантации» (ЛГ+7), соответствующего 20-22 дню 28-дневного менструального цикла.

Материал помещали в контейнер Эппендорфа с фосфатным буфером 1,0 мл и транспортировали при t 37.0°C в лабораторию.

Для исследования в трансмиссионном электронном микроскопе эндометрий в течение 30 мин при 37°C центрифугировали с 2.5% раствором глутарового альдегида на 0.1М фосфатном буфере (pH7.2). Глутаровый альдегид добавляли в соотношении 20:1. Центрифугирование проводили в течение 15 мин при 1000

об\мин. Супернатант удаляли, к осадку добавляли 1-2 мл глутарового альдегида. Фиксация продолжалась от 60 мин до 7 суток (Holstein, Roosen-Runge, 1981).

Далее материал промывали фосфатным буфером, фиксировали 1% осмиевой кислотой на фосфатном буфере, обезвоживали в серии спиртов (50° - 5 мин, насыщенный раствор уранилацетата в 70° спирте - 12-14 час, 96° спирт - 1 час, 100° - 1 час, абсолютный ацетон - 30 мин). Заливку производили в смесь эпон-аралдит (Mollenhauer, 1964) после предварительной пропитки в 3 смесях эпоксидной смолы и ацетона (1:2, 1:1, 2:1) по 1 часу при 20°С. Полимеризацию осуществляли 24 час при 37°С и 24 час при 56°С. Ультратонкие срезы получали на ультрамикротоме UltraCut11, окрашивали цитратом свинца (MiHonig, 1961) и изучали в электронном микроскопе JEM 100S. Для исследования в сканирующем электронном микроскопе часть материала после обезвоживания высушивали в критической точке возгонки углекислоты и просматривали в растровом электронном микроскопе «Hitachi-S350», Япония.

Оценивались наличие пиноподий, плотность их распространения, степень их развития в соответствии с фазой менструального цикла, акселерация или гипоплазия пиноподий, наличие гетероморфности секреторных клеток, морфология ресничных клеток, плотность межклеточных контактов.

Ультраструктурное исследование эндометрия проводилось совместно с «Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова», НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского (директор – академик РАН Скулачев В.П.)

2.2.5. Математические методы

Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием пакетов прикладных программ «MicrosoftExcel» (2007) и «StatisticaforWindows 6.0» (StatSoft, США), а также при помощи программы IBM SPSS Statistics 22. В случае подчинения распределения признака закону нормального распределения данные представляли в виде средней величины (M) и стандартной ошибки средней (m). Проверку статистических гипотез об отсутствии межгрупповых различий количественных признаков в независимых группах осу-

ществляли с использованием процедуры однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). При отклонении распределения признака от закона нормального распределения, данные представляли в виде медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (25-го и 75-го процентилей, P25-P75). Проверку статистических гипотез об отсутствии межгрупповых различий количественных признаков осуществляли с помощью непараметрического критерия Краскела-Уоллиса (Kruskel-Wallis), при отклонении нулевой гипотезы в ходе анализа проводили попарное сравнение групп. Проверку статистических гипотез об отсутствии межгрупповых различий количественных признаков в зависимых группах (до и после лечения) осуществляли с помощью непараметрического критерия Вилкоксона.

Для показателей, характеризующих качественные признаки, указывали абсолютное значение и относительную величину в процентах, проверку статистических гипотез осуществляли с использованием критерия хи-квадрат (χ^2). Критический уровень значимости различий (p), при котором нулевая гипотеза об отсутствии различий отвергалась и принималась альтернативная, устанавливали равным 0,025 (критерий Краскела-Уоллиса) и $p < 0,05$ (критерий Вилкоксона).

ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ ГРУПП НАБЛЮДЕНИЯ

При изучении анамнеза обследованных групп женщин были выявлены следующие особенности.

Возраст пациенток в группах наблюдения составил в первой основной группе $33,11 \pm 1,43$ лет, во второй группе $32,52 \pm 1,37$ лет, в контрольной группе $33,79 \pm 2,06$ лет. Группы сопоставимы по возрасту (таблица 1).

Таблица 1 - Средний возраст женщин в группах наблюдения, $M \pm m$

Показатели	Основная группа с бесплодием (n=46)	Основная группа с невынашиванием (n=44)	Контроль (n=28)	Уровень значимости различий, p
Возраст, лет	$33,11 \pm 1,43$	$32,52 \pm 1,37$	$33,79 \pm 2,06$	-

Антропометрические показатели женщин с бесплодием и привычным невынашиванием, обусловленных гипоплазией эндометрия представлены в таблице 3.2. Во всех группах наблюдения пациентки среднего роста, не страдающие избыточной массой тела или ожирением. Индекс массы тела во всех группах в пределах нормы. Норма ИМТ по данным ВОЗ находится в пределах 18,5—24,99. Следовательно пациентки обследуемых групп не имеют проблем с лишним весом и не отличаются от группы контроля (таблица 2).

Таблица 2 – Антропометрические показатели женщин, страдающих бесплодием и привычным невынашиванием, обусловленные гипоплазией эндометрия, $M \pm m$

Показатели	Основная группа с бесплодием (n=46)	Основная группа с невынашиванием (n=44)	Контроль (n=28)	Уровень значимости различий, p
	1	2	3	4
Вес, кг	$62,61 \pm 3,78$	$62,80 \pm 4,55$	$59,96 \pm 5,06$	-
Рост, см	$165 \pm 0,02$	$163 \pm 0,02$	$162 \pm 0,02$	$p_{1-3} = 0,028$
ИМТ кг/см ²	$22,96 \pm 1,35$	$23,85 \pm 1,74$	$23,04 \pm 1,86$	-

Большая часть пациенток в основных группах состоит в браке. В группе с бесплодием 95,65%, в группе с невынашиванием 100% пациенток имеют зарегистрированный брак. В группе контроля лишь 84,14 состоят в официальном браке. Пациентки основных групп наблюдения почти все имеют высшее образование и

работают. В группе контроля лишь 60,70% пациенток имеют высшее образование. Из чего можно сделать вывод, что женщины с высшим образованием и занятые трудом, занимающиеся собственной карьерой чаще страдают бесплодием и привычным невынашиванием (таблица 3).

Таблица 3 - Социальный статус пациенток, %

Показатели	Основная группа с бесплодием (n=46)	Основная группа с невынашиванием (n=44)	Контроль (n=28)	Уровень значимости различий, p
	1	2	3	
Состоит в браке (%)	44(95,65%)	44(100%)	23(84,14%)	-
Высшее Образование (%)	40(86,96%)	41(93,18%)	17(60,70%)	p ₁₋₃ =0,009 p ₂₋₃ =0,001

Большинство пациенток групп наблюдения родились доношенными с нормальной массой тела при рождении. В первой и вторых группах 97,82 и 97,73 процента соответственно (таблица 4).

Таблица 4 - Масса тела при рождении и процент пациенток, рожденных от срочных родов, M±m

Показатели	Основная группа с бесплодием (n=46)	Основная группа с невынашиванием (n=44)	Контроль (n=28)	Уровень значимости различий, p
	1	2	3	
Вес при Рождении	3303,23±147,97	3254,55±139,66	3417,14±148,22	-
Доношенная (%)	45 (97,82%)	43 (97,73%)	28 (100%)	-
Курение (%)	1(2,17)	5(11,36%)	7 (25%)	p ₁₋₃ =0,002

Возраст менархе и продолжительность менструального цикла в группах наблюдения не имели достоверного различия (таблица 5). Длительность менструаций была достоверно меньше в основных группах наблюдения, что объясняется наличием у них гипоменструального синдрома. В группе контроля, напротив продолжительность менструации больше, 5,04±0,29 и менструации чаще носили

обильный характер. Основные группы характеризуются скудными менструациями и короткой продолжительностью. Скудный характер менструации в первой группе 21(45,65%), во второй группе 13(29,55%). У женщин из основных групп наблюдения отмечаются чаще нарушения ритма менструаций (в первой группе 23,91%, во второй – 18,18%). И чаще отмечено использование КОК и ВМС в анамнезе (таблица 5).

Таблица 5 - Характеристика менструальной функции у обследованных групп, $M \pm m$

Показатели	Основная группа с бесплодием (n=46)	Основная группа с невынашиванием (n=44)	Контроль (n=28)	Уровень значимости различий, p
	1	2	3	4
Менархе	13,39±0,45	13,23±0,33	13,04±0,42	-
Продолжительность м.ц.	29,61±1,60	28,32±0,56	28,18±0,44	-
Длительность менструации	3,8±0,37	4,18±0,30	5,04±0,29	p ₂₋₃ =0,006
Болезненность	7(15,22%)	13(29,55%)	14 (50%)	p ₁₋₃ =0,001 p ₂₋₃ =0,059
Скудный характер менструаций	21(45,65%)	13(29,55%)	0	p ₁₋₃ =0,000 p ₂₋₃ =0,002
Н.м.ц.	11(23,91%)	8(18,18%)	2 (7,14%)	-
КОК в анамнезе	10(21,74%)	25(56,8%)	8 (28,57%)	p ₁₋₂ =0,000 p ₂₋₃ =0,015
ВМС в анамнезе	2(4,35%)	0	0	-

Среди соматической патологии достоверно чаще у пациенток первой и второй группы встречаются такие заболевания как гипотиреоз, гиперпролактинэмия и генетическая тромбофилия. Межгрупповые отличия в частоте данной патологии достоверно не выражены (таблица 6). Нарушения в системе гемостаза при наличии мутаций в генах, отвечающих за свёртываемость крови, достоверно чаще отмечались у женщин в группах наблюдения. Из чего следует, что нарушения процессов ангиогенеза и кровоснабжения эндометрия приводит к гипоплазии эндо-

метрия, чем и обусловлено бесплодие и привычное невынашивание у пациенток основных групп наблюдения (таблица 6).

Таблица 6 - Структура соматической патологии у групп обследуемых пациенток, %

Показатели	Основная группа с бесплодием (n=46)		Основная группа с невынашиванием (n=44)		Контроль (n=28)		Уровень значимости различий, p
	1		2		3		
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	p
ВИЧ (B20), Гепатиты B, C (B18)	3	6,52	3	6,82	3	10,71	-
Туберкулёз в анамнезе (A15-A19)	1	2,17	1	2,27	0	0,0	-
Сердечно-сосудистые заболевания	5	10,87	2	4,55	2	7,14	-
Гипотиреоз	7	15,22	5	11,36	0	0,0	p ₁₋₃ =0,030
Генетическая Тромбофилия (O28.0)	5	10,87	16	36,4	1	3,57	p ₁₋₂ =0,007 p ₂₋₃ =0,002
Гиперпролактинэмия	4	8,69	1	2,72	0	0,0	-
Заболевания ЖКТ	10	21,74	7	15,9	9	32,14	-
Заболевания МВС	3	6,52	4	9,3	2	7,14	-
Заболевания молочной железы (N60-N64)	2	4,35	0	0,0	0	0,0	-

Акушерский анамнез обследованных женщин представлен в таблице 3.7. У пациенток с бесплодием и привычным невынашиванием достоверно чаще имелись данные о наличии в анамнезе абортов, самопроизвольных выкидышей и неразвивающихся беременностей. Неразвивающиеся беременности доминируют в структуре ранних репродуктивных потерь у женщин основных групп наблюдения. Преждевременные роды в первой группе 2 (4,35%), во второй группе 5 (11,36%) и не наблюдаются в группе контроля. Срочные роды достоверно чаще отмечены в паритете контрольной 24 (85,71%), тогда как в первой группе 9 (19,56%), во второй группе 13 (29,55%). Наличие абортов, выкидышей и неразвивающейся бере-

менности объясняет хронический эндометрит у этих женщин, который и приводит к образованию неоднородной структуры эндометрия, нарушению рецептивности эндометрия, формированию синехий полости матки и гипоплазии эндометрия (таблица 7).

Таблица 7 - Акушерский анамнез обследованных женщин, М±m

Показатели	Основная группа с бесплодием (n=46)		Основная группа с невынашиванием (n=44)		Контроль (n=28)		Уровень значимости различий, p
	1		2		3		
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	p
Мед.аборты (O04)	18	39,13	10	22,73	3	10,71	p ₁₋₃ =0,009
Сам.выкидыш (O03)	4	8,69	17	39,53	2	7,14	p ₁₋₂ =0,001 p ₂₋₃ =0,004
Неразвивающаяся беременность	19	41,30	38	86,36	2	7,14	p ₁₋₂ =0,000 p ₁₋₃ =0,002 p ₂₋₃ =0,000
Внематочная Беременность (O00.1)	3	6,52	8	18,18	1	3,57	-
Срочные роды	9	19,56	13	29,55	24	85,71	p ₁₋₃ =0,000 p ₂₋₃ =0,000
Кесарево сечение в анамнезе	2	4,35	4	9,09	6	21,43	p ₁₋₃ =0,022
Преждевременные роды	2	4,35	5	11,36	0	0,0	-

При исследовании структуры бесплодия следует отметить, что в группах наблюдения преобладает вторичное бесплодие (в первой группе вторичное бесплодие встречается в 80,43% случаях, во второй – 50%), в то время как в структуре гинекологических заболеваний не отмечено межгрупповых отличий и достоверных различий с группой контроля. Первичное бесплодие встречается с частотой 32,61% в первой группе и 9,09% во второй соответственно. Следует отметить, что первичное бесплодие редко встречается у пациенток с привычным невынашиванием и чаще в группе маточного бесплодия. У 15,21%, женщин в первой группе и 6,82% во второй группе первичное бесплодие после репродуктивных неудач переходит во вторичное бесплодие. У 19,57% в первой группе и 18,18% во второй

группе бесплодие, преодоленное с помощью вспомогательных репродуктивных технологий, заканчивается ранними репродуктивными потерями. У 2,17% в первой группе и 50% во второй группе невынашивание беременности на фоне длительного течения хронического эндометрита приводит к развитию вторичного бесплодия (таблица 8).

Таблица 8 - Структура бесплодия (N97.0), %

Показатели	Основная группа с бесплодием (n=46)		Основная группа с невынашиванием (n=44)		Контроль (n=28)		Уровень значимости различий, p
	1		2		3		
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	p
Бесплодие первичное	15	32,61	4	9,09	0	0,0	p ₁₋₂ =0,007 p ₁₋₃ =0,001
Бесплодие вторичное	37	80,43	22	50	0	0,0	p ₁₋₂ =0,004 p ₁₋₃ =0,000 p ₂₋₃ =0,000
Первичное бесплодие перешло во вторичное	7	15,21	3	6,82	0	0,0	p ₁₋₃ =0,030
Репродуктивные потери после ВРТ	9	19,57	8	18,18	0	0,0	p ₁₋₃ =0,013 p ₂₋₃ =0,017
Вторичное бесплодие на фоне привычного невынашивания	1	2,17	22	50	0	0,0	p ₁₋₂ =0,000 p ₂₋₃ =0,000

Лечение бесплодия с помощью применения вспомогательных репродуктивных технологий достоверно чаще используется в первой группе обследуемых женщин, соответственно у пациенток, имеющих проблемы с зачатием, ЭКО в анамнезе в первой группе составило 26 (56,52%), p₁₋₂=0,023.

Но и среди пациенток, имеющих проблемы с вынашиванием беременности, есть женщины с бесплодием в анамнезе. Частота ЭКО во второй группе 14 (31,82%). Показатели применения ЭКО и процент его эффективности представлены в таблице 9. Среди пациенток, страдающих бесплодием, обусловленным гипоплазией эндометрия, чаще встречается увеличение попыток ЭКО, две и более попытки в 17 случаях наблюдения (36,96%), что можно объяснить именно наруше-

ние имплантации эмбриона как причиной отсутствия наступления беременности в программах ЭКО (таблица 9).

Таблица 9 - Показатели применения ЭКО и процент его эффективности, %

Показатели	Основная группа с бесплодием (n=46)		Основная группа с невынашиванием (n=44)		Контроль (n=28)		Уровень значимости различий, р
	1		2		3		
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	р
ЭКО в анамнезе	26	56,52	14	31,82	0	0,0	$p_{1-2}=0,023$
Одна попытка ЭКО	9	19,57	5	11,36	0	0,0	-
Две попытки и более	17	36,96	9	20,45	0	0,0	-
Эффективность (наступила беременность)	8	17,39	9	19,56	0	0,0	-

В структуре гинекологических заболеваний не отмечено межгрупповых отличий и достоверных различий с группой контроля. Хронический эндометрит достоверно чаще встречается у пациенток основных групп наблюдения, в первой группе 67,39%, во второй группе 66,4%, в группе контроля лишь 7,14%. Воспалительные заболевания органов малого таза и инфекции передающиеся половым путём чаще встречались среди пациенток первой и второй групп, что также могло послужить фактором риска в патогенезе развития бесплодия и привычного невынашивания, обусловившего развитие «тонкого» эндометрия. Полипы полости матки в группе с бесплодием наблюдались в 6,67% случаях, а в группе с привычным невынашиванием в 6,82% и не встречаются в контрольной группе (таблица 10).

Таблица 10 - Гинекологический анамнез у пациенток исследуемых групп, %

Показатели	Основная группа с бесплодием (n=46)		Основная группа с невынашиванием (n=44)		Контроль (n=28)		Уровень значимости различий, р
	1		2		3		
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	р
Хр. Аднексит (N70.1)	13	28,2	15	34,02	2	7,14	$p_{1-3}=0,028$ $p_{2-3}=0,007$
Хр. Эндометрит (N71.1)	31	67,39	28	66,4	2	7,14	$p_{1-3}=0,000$ $p_{2-3}=0,000$

Синехии полости Матки (N85.6)	11	23,9	8	18,18	0	0,0	$p_{1-3}=0,005$ $p_{2-3}=0,015$
ВЗОМТ (N70-N77)	26	56,52	24	54,55	6	21,43	$p_{1-3}=0,003$ $p_{2-3}=0,007$
Аденомиоз (N80.0)	2	4,35	5	11,36	3	10,71	-
Эндометриоз яичников (N80.1)	2	4,35	4	9,09	2	7,14	-
Другие кисты яичников (N83.2)	2	4,35	6	13,64	3	10,71	-
Полипы полости матки (N84.0)	3	6,67	3	6,82	0	0,0	-
Дисплазия шейки Матки (N87.0)	2	4,35	2	4,55	0	0,0	-
Миома матки	5	10,87	4	9,09	3	10,71	-
ИППП	14	30,43	11	25	2	7,14	$p_{1-3}=0,018$

Выявлена высокая частота гинекологических операций во всех группах наблюдения. У пациенток, обследуемых и проходивших лечение по поводу бесплодия и привычного невынашивания беременности, чаще наблюдаются такие гинекологические операции как сальпингоовариолизис, кистэктомия, миомэктомия, тубэктомия, полипэктомия, гистерорезектоскопия и рассечение синехий полости матки. Так гистерорезектоскопия с рассечением синехий полости матки достоверно чаще встречается в основных группах, в первой группе 11(23,9%), во второй группе 8(8,18), в группе контроля 0%. Сальпингоовариолизис, тубэктомия, кистэктомия, резекция и дреллинг яичников встречается в единичных случаях, что позволяет исключить другие формы бесплодия в группах наблюдения (таблица 11).

Таблица 11 - Частота и структура гинекологических операций у пациенток исследуемых групп, %

Показатели	Основная группа с бесплодием (n=46)		Основная группа с невынашиванием (n=44)		Контроль (n=28)		Уровень значимости различий, p
	1		2		3		
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	p
Диагностическая лапароскопия	5	10,86	2	4,55	1	3,57	-

Гистерорезектоскопия, рассечение синехий	11	23,9	8	18,18	0	0,0	$p_{1-3}=0,005$ $p_{2-3}=0,015$
Гистероскопия	31	67,39	19	43,18	0	0,0	$p_{1-2}=0,027$ $p_{1-3}=0,000$ $p_{2-3}=0,001$
Полипэтомия	6	13,04	2	4,55	0	0,0	$p_{1-3}=0,046$
Иссечение очагов эндометриоза	2	4,35	0	0,0	0	0,0	-
Сальпингоовариолизис	8	17,39	1	2,27	0	0,0	$p_{1-2}=0,018$ $p_{1-3}=0,019$
Консервативная миомэтомия	2	4,35	1	2,27	0	0,0	-
Кистэктомия	2	4,35	7	15,09	1	3,57	-
Тубэктомия	8	17,39	8	18,18	1	3,57	-
Резекция яичников	0	0,0	2	4,55	0	0,0	-
Дриллинг яичников	3	6,52	1	2,72	0	0,0	-

По результатам ультразвукового исследования левого и правого яичников не получено достоверных различий в их размерах, длина, толщина и ширина яичников сопоставима с размерами яичников в группе контроля. Данные ультразвукового обследования левого яичника представлены в таблице 12, правого яичника – в таблице 13.

Таблица 12 - Данные ультразвукового обследования левого яичника, $M \pm m$

Показатели	Основная группа с бесплодием (n=46)	Основная группа с невынашиванием (n=44)	Контроль (n=28)	Уровень значимости различий, p
Длина, мм	28,39±1,64	29,34±1,73	28,54±2,16	-
Ширина, мм	22,0±1,29	21,93±1,56	22,36±1,74	-
Толщина, мм	20,61±1,38	21,18±1,47	20,96±1,76	-

Таблица 13 - Данные ультразвукового обследования правого яичника, $M \pm m$

Показатели	Основная группа с бесплодием (n=46)	Основная группа с невынашиванием (n=44)	Контроль (n=28)	Уровень значимости различий, p
Длина, мм	28,76±1,70	27,32±1,32	27,18±1,68	-
Ширина, мм	22,80±1,33	23,68±1,44	24,54±1,77	-
Толщина, мм	21,37±1,33	21,59±1,38	22,32±1,77	-

Размеры матки по ультразвуковому исследованию не отличаются в группах наблюдения и сопоставимы с группой контроля. Данные ультразвукового обследования матки и показатели М-ЭХО представлены в таблице 14. Из этой таблицы мы видим, что в основных группах обследуемых женщин достоверно различимы толщина М-ЭХО эндометрия, в первой группе у пациенток с бесплодием 5,59±0,68, во второй группе у пациенток с привычным невынашиванием 5,02±0,34, в группе контроля 10,17±0,45, $p_{1-3}=0,000^{1-2}$, $p_{2-3}=0,000^{1-2}$.

Таким образом мы подтверждаем, что толщина М-ЭХО эндометрия и его структура может рассматриваться основным критерием гипоплазии эндометрия, что обуславливает бесплодие и привычное невынашивание беременности в группах наблюдения.

Таблица 14 - Данные ультразвукового обследования матки, показатели М-ЭХО, М±m

Показатели	Основная группа с бесплодием (n=46)	Основная группа с невынашиванием (n=44)	Контроль (n=28)	Уровень значимости различий, p
	1	2	3	
Длина, мм	44,63±2,46	46,89±1,56	45,82±2,15	-
Ширина, мм	40,04±1,76	39,32±1,79	38,92±2,25	-
Толщина, мм	43,88±1,71	45,66±1,73	44,60±2,32	-
М-ЭХО	5,59±0,68	5,02±0,34	10,17±0,45	$p_{1-3}=0,000^{1-2}$ $p_{2-3}=0,000^{1-2}$

Частота овуляторных циклов в группах наблюдения достоверно не различима. Неоднородность структуры эндометрия достоверно чаще встречается в ос-

новных группах наблюдения, в первой группе 16 (34,78%), а во второй группе 10 (22,73%) соответственно, $p_{1-3}=0,000$, $p_{2-3}=0,006$. Синехии полости матки, образующиеся на фоне хронического эндометрита в результате травматического воздействия на эндометрий, встречаются исключительно в первой и второй группе и нет ни одного случая в группе контроля. Показатели структуры эндометрия представлены в таблице 15.

Таблица 15 - Показатели структуры эндометрия и наличие овуляции, %

Показатели	Основная группа с бесплодием (n=46)		Основная группа с невынашиванием (n=44)		Контроль (n=28)		Уровень значимости различий, p
	1		2		3		
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	p
Овуляция	32	69,57	30	68,18	20	71,43	-
Неоднородность эндометрия	16	34,78	10	22,73	0	0,0	$p_{1-3}=0,000$ $p_{2-3}=0,006$
Синехии полости матки	5	10,87	2	4,76	0	0,0	-

При исследовании функции эндотелиальной системы и факторов ангиогенеза у пациенток групп наблюдения выявлено достоверное повышение уровня сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF-A) в сыворотке крови в группе пациенток с привычным невынашиванием беременности в сравнении с группой фертильных условно здоровых женщин: в основной второй группе VEGF-A составил 703, 1 (266,8-1016,45) нг/мл, в группе контроля 297,9 (175,65-451,5) нг/мл, $p=0,002$.

При исследовании показателей VEGF-г в крови пациенток выявлены достоверные различия как в группе с бесплодием, так и с привычным невынашиванием беременности. В первой группе с бесплодием показатель VEGF-г составил 0,31 (0,21-0,46) пг/мл, во второй группе 0,34 (0,20-0,39) пг/мл, а в группе фертильных женщин 1,56 (1,52-1,79) пг/мл, $p_{1-3}=0,000$, $p_{2-3}=0,000$.

У женщин с привычным невынашиванием беременности, обусловленным гипоплазией эндометрия отмечались более низкие значения фактора вазоко-

нстрикции эндотелина-1 – 0,32 (0,17-0,90) фмоль/мл, против 0,47 (0,18-1,56) фмоль/мл в контрольной группе, достоверных различий не получено. Выявлено достоверно значимое повышение концентрации общего оксида азота (II) – NO₂ в периферической крови в группе пациенток с бесплодием, обусловленным гипоплазией эндометрия – 13,90 (11,23-19,69) мкмоль/мл, в контрольной группе – 10,84 (7,90-14,44) мкмоль/мл, p₁₋₃=0,048. В этой же группе пациенток отмечено статистически значимое снижение концентрации метаболита оксида азота NO₃ - в группе пациенток с бесплодием показатель составил 13,27 (9,93-19,05) мкмоль/л, против 17,25 (15,77-18,45) мкмоль/л в контрольной группе. По результатам исследования уровня эндогенного NO₂ в периферической крови у женщин исследуемых групп достоверных отличий не получено.

Концентрация ангиогенина в периферической крови достоверно снижена в группе пациенток с невынашиванием беременности – 1156,25 (883,22-1398,88) пг/мл, тогда как в контрольной группе этот показатель составил 1329,3 (1167,37-1466,85) пг/мл, p₂₋₃=0,008 (таблица 16).

Таблица 16 - Показатели функционального состояния эндотелия у женщин исследуемых групп, МЕ (P25-P75).

Показатели	Основная группа с бесплодием (n=46)	Основная группа с невынашиванием (n=44)	Контроль (n=28)	Уровень значимости различий, p
	1	2	3	
NO ₂ общий, мкмоль/л	13,90 (11,23-19,67)	16,72 (8,82-30,80)	10,84 (7,90-14,44)	p ₁₋₃ =0,048
NO ₂ эндогенный, мкмоль/л	0,517 (0,06-0,74)	0,52 (0,39-0,94)	0,69 (0,24-1,39)	-
NO ₃ , мкмоль/л	13,27 (9,93-19,05)	15,77 (7,73-29,93)	17,25 (15,77-18,45)	p ₁₋₃ =0,008
Эндотелин-1, фмоль/мл	0,45 (0,13-0,68)	0,32 (0,17-0,90)	0,47 (0,18-1,56)	-
Ангиогенин, пг/мл	1222 (932,57-1445,9)	1156,25 (883,22-1398,88)	1329,3 (1167,37-1466,85)	p ₂₋₃ =0,008

VEGF A, пг/мл	484,5 (300,55-698,42)	703,1 (266,8-1016,45)	297,9 (175,65-451,5)	$p_{2-3}=0,002$
VEGF-R1, пг/мл	0,31 (0,21-0,46)	0,34 (0,20-0,39)	1,56 (1,52-1,79)	$p_{1-3}=0,000$ $p_{2-3}=0,000$

Резюме. Таким образом, анализируя данные анамнестической характеристики обследованных групп женщин, можно сделать следующие выводы: пациентки всех групп наблюдения сопоставимы по возрасту, среднего роста и имеют нормальные показатели индекса массы тела. Большая часть женщин основных групп имеют зарегистрированный брак, высшее образование, служащие. Возраст менархе и продолжительность менструального цикла в группах наблюдения не имеют достоверных различий. Длительность менструации значительно меньше у пациенток с гипоплазией эндометрия, характер менструации у этих женщин скудный, что объясняет наличие гипоменструального синдрома. В структуре соматической патологии достоверно чаще у пациенток первой и второй группы встречаются гипотиреоз, гиперпролактинемия и генетическая тромбофилия. Пациентки первой и второй группы чаще начинали свою репродуктивную функцию с медицинских аборт, во второй группе в анамнезе соответственно две и более неразвивающихся беременности, самопроизвольные выкидыши. Доминирует в структуре репродуктивных потерь неразвивающаяся беременность. Среди гинекологических заболеваний основное место занимают воспалительные заболевания органов малого таза, хронический эндометрит, инфекции, передающиеся половым путём, полипы эндометрия в анамнезе, синехии полости матки. Большая часть обследуемых женщин имели в анамнезе различные вмешательства в полость матки, чем и обусловлено формирование хронического эндометрита и нарушение рецептивности эндометрия. 56,52 % в первой группе и 31,82% женщин во второй группе прибегали к лечению бесплодия с помощью вспомогательных репродуктивных технологий, при этом у 36,96% в первой группе и 20,45% во второй группе отмечаются повторяющиеся неудачи вспомогательных репродуктивных технологий. В связи с гипоплазией эндометрия причиной отсутствия наступления беременности являлось нарушение процесса имплантации эмбриона в полость матки. Размеры

матки и яичников в группах наблюдения достоверно не различимы. Но по данным ультразвукового исследования у пациенток с бесплодием и привычным невынашиванием достоверно меньше толщина М-ЭХО и чаще наблюдается неоднородность структуры эндометрия и синехии полости матки.

Результаты приведенных исследований опубликованы:

1. О.А. Мелкозёрова, Н.В. Башмакова, А.В. Есарева. Современные технологии подготовки пациенток с патологией эндометрия вирусной этиологии к программам ВРТ. Российский вестник акушера-гинеколога. 2017:6;

ГЛАВА 4. МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЭНДОМЕТРИЯ У ПАЦИЕНТОК С РЕПРОДУКТИВНЫМИ НЕУДАЧАМИ, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ ГИПОПЛАЗИЕЙ ЭНДОМЕТРИЯ

Все женщины в исследуемых группах были сопоставимы по возрасту. Средний возраст пациенток в группах наблюдения составил в первой основной группе $33,11 \pm 1,43$ лет, во второй основной группе $32,52 \pm 1,37$ лет, в контрольной группе $33,79 \pm 2,06$ лет, $p > 0,05$.

4.1. Морфологическая картина эндометрия у пациенток с репродуктивными неудачами, обусловленными гипоплазией эндометрия

В данной работе были проанализированы результаты морфологического исследования эндометрия, взятого методом пайпель-биопсии в фазу секреции на 20-22 день 28-дневного менструального цикла, в предполагаемое «окно имплантации», в динамике лечения в группах наблюдения.

Гистологическая картина образцов эндометрия в основных группах наблюдения до лечения, т.е. у женщин с бесплодием и привычным невынашиванием в сравнении с группой контроля, условно здоровых фертильных женщин, характеризовалась наличием признаков хронического эндометрита, которые выражались в очаговом скоплении лимфоцитов по типу «лимфоидных фолликулов», плазматических клеток, очагами фиброза в строме и стенке сосудов, склеротическими изменениями стенок спиральных артерий эндометрия. В первой группе у пациенток с бесплодием признаки хронического эндометрита наблюдались в 33,33%, во второй группе у пациенток с привычным невынашиванием в анамнезе в 29,63%, тогда как в контрольной группе лишь в 7,40%.

При исследовании аспириатов эндометрия было выявлено, что почти во всех полученных образцах эндометрий соответствует фазе цикла, в первой группе в 80,65%, во второй группе в 59,26%, в группе контроля в 81,48%, однако наблюдается и относительный дисхронизм, встречались в образцах железы в стадию поздней пролиферации и железы в фазу поздней секреции. Железы в фазе средней секреции, что соответствует ЛГ+7, в дни, когда происходил забор материала при 28-дневном менструальном цикле, в первой группе наблюдались в 73,33%, во второй группе 51,85%, $p_{1-2}=0,051$. Отмечается неравномерное распределение желез в эндометрии в сравнении с группой контроля, в первой группе железы распределены равномерно в 48,39%, во второй группе в 48,15, в контрольной группе 81,48%, $p<0,05$.

Нарушение архитектоники эндометрия характеризуется плотностью стромального компонента. Строма рыхлая описана лишь в 24,14% в первой группе у пациенток с бесплодием и в 22,22% во второй группе у пациенток с привычным невынашиванием, тогда как в контрольной группе рыхлая строма наблюдалась в 85,18%, $p < 0,05$. Показатели встречаемости плотной стромы в группах наблюдения обратно пропорциональны частоте рыхлой стромы. В первой группе плотная строма представлена в образцах эндометрия при морфологическом исследовании в 73,33%, во второй основной группе 81,48%, а в контрольной группе у женщин условно фертильных 22,22%, $p < 0,05$.

У пациенток с бесплодием и привычным невынашиванием в отличие от условно здоровых фертильных женщин значительно чаще наблюдается сужение просвета сосудов стромального компонента эндометрия, что говорит нам о склеротическом изменении стенок спиральных артерий эндометрия. В первой группе до лечения сосуды стромы сужены в 28,0%, во второй группе в 18,52%, в группе контроля 7,40%. Сосудистый компонент стромы по результатам полученных исследований до лечения более выражен в группе фертильных женщин. В первой группе выраженность сосудистого рисунка в 48,0%, во второй группе в 37,0%, в группе контроля в 62,96% случаях.

Почти в половине случаев у пациенток в группе с бесплодием при световой микроскопии определялись пиноподии (46,43%), тогда как во второй группе их было значительно меньше 29,63%, в группе контроля 62,96%. При морфологическом исследовании эндометрия методом световой микроскопии с увеличением $\times 400$ определяются микрополипы, которые не видны при ультразвуковом исследовании и при проведении гистероскопии. В первой группе микрополипы обнаружены в 23,33%, во второй основной группе в 44,44%, а в группе контроля наблюдалось лишь в 18,52% (таблица 17).

Таблица 17 - Морфологическая структура эндометрия в группах наблюдения до лечения на 20-22 день менструального цикла, %

Показатели	Основная группа с бесплодием (n=46)		Основная группа с невынашиванием (n=44)		Контроль (n=28)		Уровень значимости различий, p
	1		2		3		
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	p
Эндометрий соответствует фазе цикла	25	80,65	16	59,26	22	81,48	-
Равномерность распределения желёз	15	48,39	13	48,15	22	81,48	p ₁₋₃ =0,009 p ₂₋₃ =0,010
Железы в стадии поздней пролиферации	3	10,0	4	14,81	2	7,40	-
Железы в фазе ранней секреции	9	30,0	14	51,85	8	29,63	-
Железы в фазе средней секреции	22	73,33	13	48,15	18	66,66	p ₁₋₂ =0,051
Железы в фазе поздней секреции	6	20,0	2	7,41	2	7,40	-
Строма рыхлая	7	24,14	6	22,22	23	85,18	p ₁₋₃ =0,000 p ₂₋₃ =0,000
Строма плотная	22	73,33	22	81,48	6	22,22	p ₁₋₃ =0,000 p ₂₋₃ =0,000
Сосуды стромы сужены	7	28,0	5	18,52	2	7,40	p ₁₋₃ =0,05
Выраженность сосудистого компонента стромы	12	48,0	10	37,04	17	62,96	p ₂₋₃ =0,057
Пиноподии	13	46,43	8	29,63	17	62,96	p ₂₋₃ =0,014
Полипы	7	23,33	12	44,44	5	18,52	p ₂₋₃ =0,040
Признаки хронического эндометрита	10	33,33	8	29,63	2	7,40	p ₁₋₃ =0,017 p ₂₋₃ =0,036

4.2. Результаты ультраструктурного исследования эндометрия у пациенток с маточной формой бесплодия и привычным невынашиванием беременности

Исследуя аспираты эндометрия основных групп наблюдения до проведенного курса лечения и образцы контрольной группы была получена разница в показателях. Зона «спокойного» эпителия (рисунок 2) чаще встречается у пациенток в группе с бесплодием 67,37%, в группе с привычным невынашиванием также достаточно высокий показатель 42,22 %, тогда как в контрольной группе лишь в 14,28%, $p_{1-3}=0,0001$. Гетероморфные секреторные клетки (рисунок 3) до лечения встречаются лишь в группе с бесплодием и составляет 15,22% и в 1 случае в группе с привычным невынашиванием 2,22%. Зрелых пиноподий (рисунок 3) в сравнении с созревающими значительно меньше у пациенток с бесплодием, в первой группе зрелые пиноподии 37,76%, созревающие – 82,62%, во второй группе зрелые пиноподии в 55,94%, созревающие в 66,68%, в контрольной группе зрелые пиноподии 71,42%, созревающие пиноподии 21,42%.

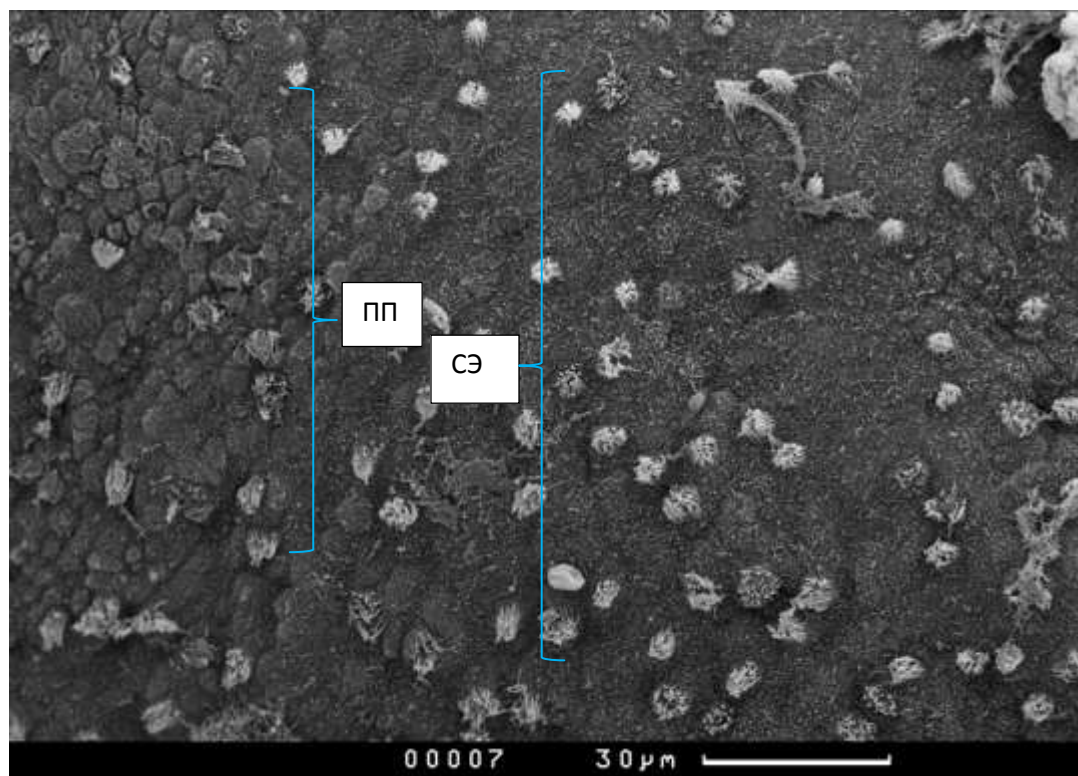


Рисунок 2 - Зона «спокойного» эпителия (СЭ) и зона клеток в стадии подготовки к формированию пиноподий (ПП)

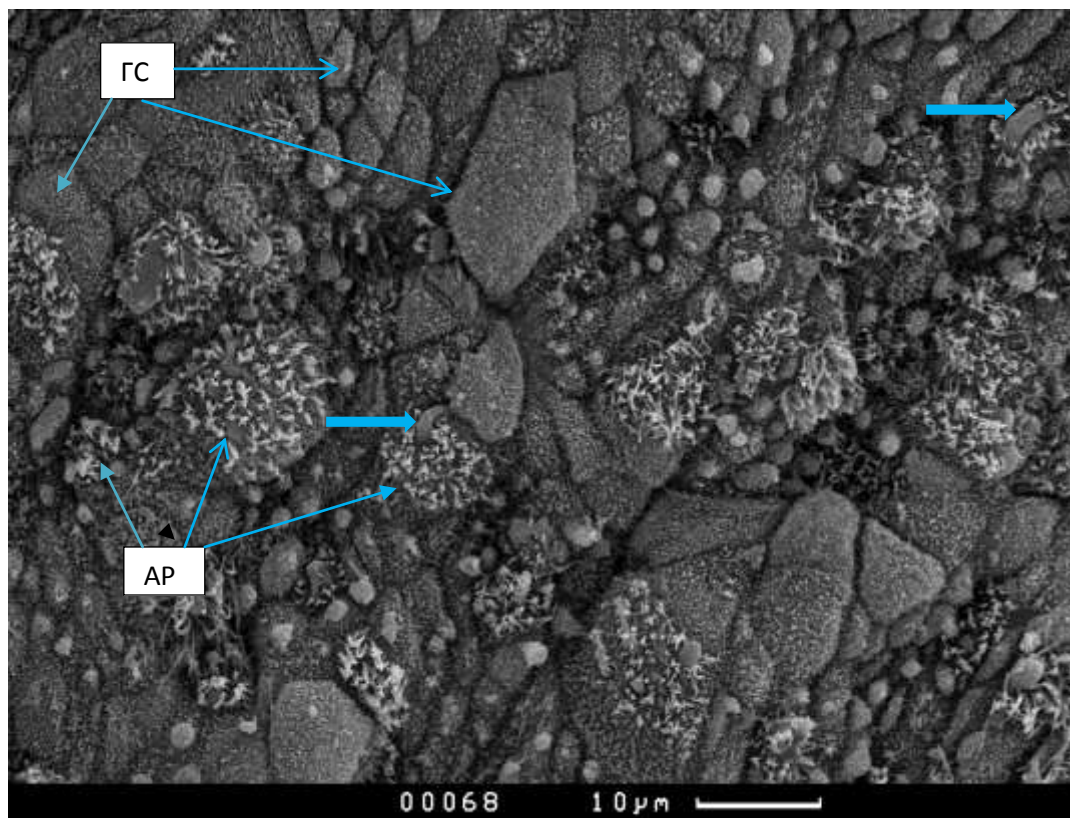
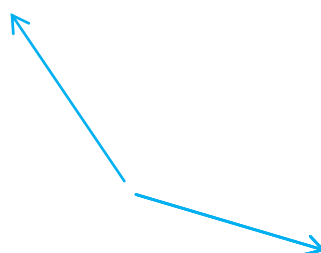


Рисунок 3 - Гетероморфные секреторные клетки (ГС) и атипичные ресничные клетки (АР). Стрелки – утолщенные атипичные реснички



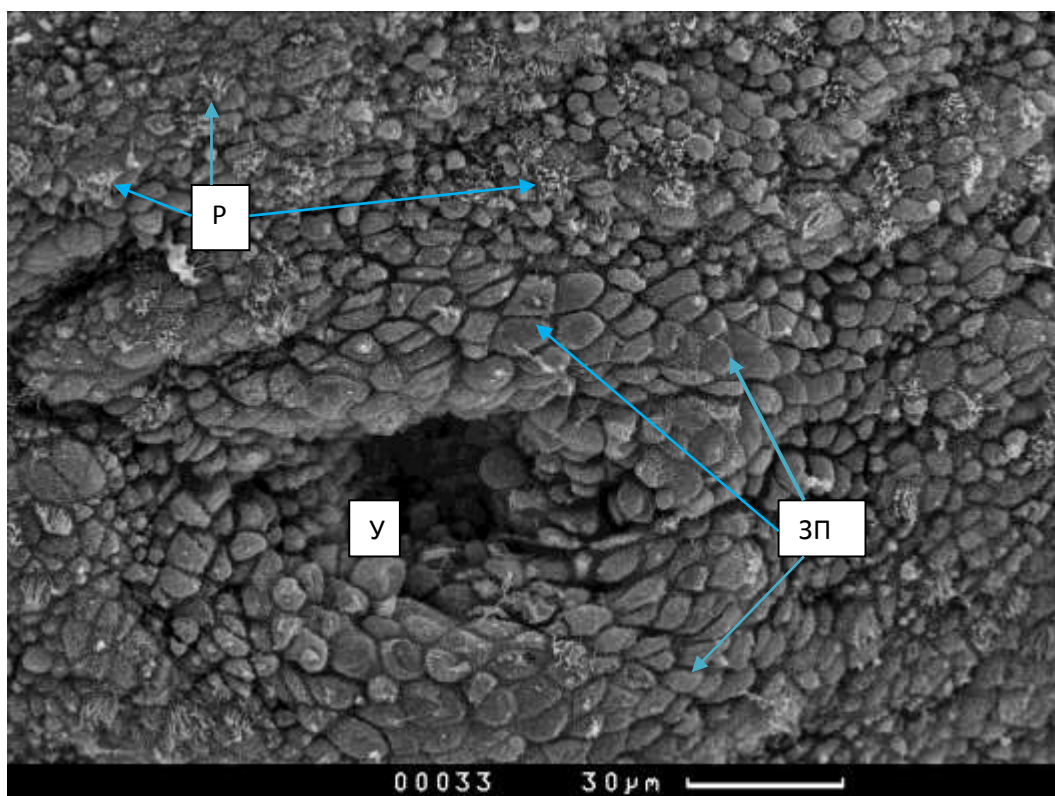


Рисунок 4 - Зрелые пиноподии (ЗП) в устье маточной железы (У). Р – ресничные клетки.

Атипичные ресничные клетки в образцах эндометрия у пациенток с бесплодием встречаются с частотой 50,0%, в группе с привычным невынашиванием – 13,33%, в контрольной группе – 7,14%. Зона интенсивной секреции менее выражена в первой группе обследуемых женщин 23,91%, во второй группе 35,29%, в третьей группе 92,85%. Нарушение межклеточных контактов в первой группе наблюдается в 69,23%, во второй группе встречается чаще в 84,35%, в группе контроля 7,14% (Таблица 18).

Таблица 18 - Результаты исследования пиноподий, %

Показатели	Основная группа с бесплодием (n=46)		Основная группа с невынашиванием (n=44)		Контроль (n=28)		Уровень значимости различий, p	
	1		2		3			4
	абс.	%	абс.	%	абс.	%		p
Гипоплазия пиноподий	24	52,17	17	37,79	4	14,28	$p_{1-3}=0,001$	

(гладкая апикальная поверхность)							
Зона «спокойного» эпителия	31	67,37	19	42,22	4	14,28	$p_{1-3}=0,0001$
Атипичные ресничные клетки	23	50,00	13	13,33	2	7,14	$p_{1-3}=0,0001$
Гетероморфные секреторные клетки	7	15,22	1	2,22	0	0,0	$p_{1-3}=0,030$
Асинхронность созревания пиноподий	8	17,38	21	46,67	4	14,28	-
Нарушение межклеточных контактов	32	69,23	38	84,35	2	7,14	$p_{1-3}=0,0001$
Зрелые пиноподии	16	37,76	25	55,94	20	71,42	$p_{1-3}=0,0022$
Созревающие пиноподии	38	82,62	30	66,68	6	21,42	$p_{1-3}=0,0001$
Зона интенсивной секреции	11	23,91	16	35,29	26	92,85	$p_{1-3}=0,0001$

4.3 Результаты иммуногистохимического исследования эндометрия у пациенток обследуемых групп в предполагаемое «окно имплантации»

Исследование иммуногистохимических показателей проводилось на образцах эндометрия, забранных методом пайпель-биопсии в предполагаемое «окно имплантации» на 20-22 день менструального цикла.

Экспрессия рецепторов к половым стероидам в эндометрии оценивалась в нашем исследовании отдельно в группе пациенток с бесплодием, в группе с привычным невынашиванием и в контрольной группе.

Исходно до лечения в сравнении с фертильными женщинами картина представлялась следующим образом. Экспрессия рецепторов к эстрадиолу альфа (ER α) в строме и в железах у пациенток основных групп наблюдения была выше в сравнении с группой контроля. ER α в строме первой группы составили $117,18 \pm 10,05$, во второй группе $129,12 \pm 10,96$, в контрольной группе $95,56 \pm 15,30$. Такие же результаты были получены в отношении экспрессии рецепторов к эстрогену α в железах эндометрия. Достоверно значимым оказался результат экспрессии к эстрадиолу альфа в первой группе у пациенток с бесплодием в сравне-

нии с контрольной группой, $p_{1-3} = 0,044$ У пациенток первой группы в $231,12 \pm 8,77$, у пациенток второй группы $213,15 \pm 10,92$, в контрольной группе также меньше и оставило $198,49 \pm 18,69$, $p_{1-3} = 0,044$.

В отношении экспрессии рецепторов к прогестерону в эндометрии обследуемых пациенток наоборот были получены результаты, говорящие об отсутствии пика уровня прогестерона в секреторную фазу. Уровень экспрессии рецепторов к прогестерону в основных группах обследуемых женщин несколько ниже уровня прогестероновых рецепторов в группе контроля как в строме эндометрия, так и в железах, и большая разница имеется в группе с бесплодием. В первой группе у пациенток с бесплодием в строме эндометрия экспрессия PR $265,48 \pm 5,14$, в железах $214,71 \pm 13,02$, во второй группе у пациенток с привычным невынашиванием экспрессия PR в строме $247,97 \pm 10,16$, в железах $233,50 \pm 13,02$, у пациенток в контрольной группе экспрессия PR в строме эндометрия $263,47 \pm 17,15$, в железах $231,21 \pm 24,44$. Но достоверно значимых отличий не выявлено.

Соотношение экспрессии прогестероновых рецепторов к рецепторам эстрадиола альфа в норме при рецептивном эндометрии методом гистологического счёта H-score должно стремиться к 2-4. По данным нашего исследования нарушено соотношение рецепторов к половым стероидам в сравнении с группой контроля и более выражено это нарушение наблюдается в железах эндометрия. Достоверно значимым оказалось соотношение экспрессии половых стероидов в группе привычного невынашивания в сравнении с контрольной группой, $p_{2-3} = 0,040$. Соотношение PR/ ER α в строме в группе у пациенток с бесплодием составило $2,26 \pm 0,04$, в группе с привычным невынашиванием беременности составило $1,92 \pm 0,34$, в контрольной группе у фертильных женщин $2,76 \pm 0,06$. Эти же показатели в железах эндометрия более различимы и составили в первой группе $0,92 \pm 0,08$, во второй группе $1,09 \pm 0,48$, в контрольной группе $1,16 \pm 0,29$, $p_{2-3} = 0,040$ (таблица 19).

Таблица 19 - Показатели иммуногистохимического исследования экспрессии рецепторов к половым стероидам в эндометрии (H-score, $M \pm m$, p)

Показатели	Основная группа с бесплодием (n=46)	Основная группа с невынашиванием (n=44)	Контроль (n=28)	Уровень значимости различий, p
	1	2	3	4
ER α в строме	117,18 \pm 10,05	129,12 \pm 10,96	95,56 \pm 15,30	-
PR в строме	265,48 \pm 5,14	247,97 \pm 10,16	263,47 \pm 17,15	-
ER α в железах	231,12 \pm 8,77	213,15 \pm 10,92	198,49 \pm 18,69	p ₁₋₃ = 0,044
PR в железах	214,71 \pm 13,02	233,50 \pm 13,02	231,21 \pm 24,44	-
PR/ ER α в строме	2,26 \pm 0,04	1,92 \pm 0,34	2,76 \pm 0,06	-
PR/ ER α В железах	0,92 \pm 0,08	1,09 \pm 0,48	1,16 \pm 0,29	p ₂₋₃ = 0,040

По проведенному исследованию в данной работе среди всех групп обследуемых женщин было выявлено несколько достоверно значимых различий в показателях клеточного и гуморального звена иммунного ответа, а также среди маркеров воспалительного процесса в эндометрии.

Достоверно значимо отмечено резкое повышение экспрессии CD3+ рецепторов в строме эндометрия, отвечающего за клеточное звено иммунного ответа, на 20-22 день менструального цикла и составило в первой группе 78,18 \pm 6,88, во второй группе 75,76 \pm 4,26 в сравнении с группой контроля 3,01 \pm 1,51, где уровень экспрессии данного маркера значительно ниже, p₁₋₃ = 0,001, p₂₋₃ = 0,001. Уровень экспрессии CD3+ в железах эндометрия также оказались достоверно различимы с группой фертильных женщин, хотя имеют уровень экспрессии несколько ниже, чем в стромальном компоненте эндометрия. В группе пациенток с бесплодием уровень экспрессии CD3+ в железах эндометрия составил 50,57 \pm 4,62, у пациенток в группе с невынашиванием беременности 39,10 \pm 2,21 в сравнении с контрольной группой 11,01 \pm 1,54, p₁₋₃ = 0,015, p₁₋₃ = 0,015.

Было выявлено, что уровень экспрессии CD20+, являющегося показателем гуморального звена иммунного ответа, именно в стромальном компоненте эндометрия статистически более высок у пациенток с бесплодием и привычным невынашиванием в отличие от фертильных женщин и является достоверно значимым. Так высокий уровень экспрессии CD20+ в первой основной группе составил в среднем $25,72 \pm 5,42$, во второй основной группе $20,39 \pm 4,94$ в сравнении с низким его уровнем в контрольной группе $0,80 \pm 0,41$ $p_{1-3} = 0,015$, $p_{2-3} = 0,032$. Достоверно значимых различий в уровне экспрессии CD20+ в железах эндометрия не выявлено.

В уровне экспрессии натурального киллера CD56+ как в строме, так и в железах отмечалась определённая закономерность. Экспрессия маркера клеточной адгезии CD56+ в сравнении с группой контроля было ниже у женщин с бесплодием и выше у пациенток с привычным невынашиванием беременности. Статистически достоверно более значим этот признак в железах эндометрия: в первой группе экспрессия CD56+ составила в среднем $7,33 \pm 1,13$, в группе контроля $14,58 \pm 2,15$ и ещё более высок показатель во второй основной группе $14,58 \pm 2,15$, $p_{1-3} = 0,035$, $p_{2-3} = 0,021$.

У пациенток с бесплодием и привычным невынашиванием в строме эндометрия выявлена достаточно высокая экспрессия плазматических клеток CD138+, в первой группе $21,84 \pm 3,43$, во второй группе ещё выше и составил $75,77 \pm 4,17$. В группе контроля, у условно фертильных женщин, плазматические клетки не определялись (таблица 20).

Таблица 20 - Показатели иммуногистохимического исследования экспрессии клеточного и гуморального звена иммунной системы и воспалительного ответа в эндометрии женщин обследованных групп в период «окна имплантации» ($M \pm m$, p)

Показатели	Основная группа с бесплодием (n=46)	Основная группа с невынашиванием (n=44)	Контроль (n=28)	Уровень значимости различий, p
	1	2	3	4
Маркёр CD3+ в строме	78,18±6,88	75,76±4,26	3,01±1,51	p ₁₋₃ = 0,001 p ₂₋₃ = 0,001
Маркёр CD3+ в железах	50,57±4,62	39,10±2,27	11,01±1,54	p ₁₋₃ = 0,015 p ₂₋₃ = 0,011
Маркёр CD20+ в строме	25,72±5,42	20,39±4,94	0,80±0,41	p ₁₋₃ = 0,015 p ₂₋₃ = 0,032
Маркёр CD20+ в железах	6,14±1,31	9,45±1,22	3,12±1,46	-
Маркёр CD56+ в строме	35,31±2,16	77,89±1,25	47,9±2,21	-
Маркёр CD56+ в железах	7,33±1,13	28,75±1,17	14,58±2,15	p ₁₋₃ = 0,035 p ₂₋₃ = 0,021
Маркёр CD138+ в строме	21,84±3,43	75,77±4,17	0	-

По данным нашего исследования в секреторную фазу эндометрия на 20-22 день менструального цикла в образцах эндометрия пациенток основных групп наблюдения отмечается достоверное снижение фактора, ингибирующего лейкемию (LIF) в сравнении с нормальным его уровнем в контрольной группе. У пациенток в группе с бесплодием уровень экспрессии LIF составил 120,25±5,93. У пациенток в группе с привычным невынашиванием беременности экспрессия LIF

находится ещё более на низком уровне и является достоверно значимым в сравнении с контрольной группой $132,32 \pm 10,29$, $p_{2-3} = 0,023$.

Соответственно снижению экспрессии фактора, ингибирующего лейкемию, прямо пропорционально отмечено снижение в основных группах наблюдения и рецепторов к LIF (LIF-R). Эта закономерность прослеживается с достоверной значимостью. Как в строме, так и в железах эндометрия в период «окна имплантации» у пациенток в группе с бесплодием в строме достоверно более снижен уровень рецепции к фактору, ингибирующего лейкемию и составляет $67,75 \pm 10,12$ в сравнении с контрольной группой $85,54 \pm 19,30$, $p_{1-3} = 0,022$. Экспрессия LIF-R в железах эндометрия с одинаковой достоверностью снижена как в группе с бесплодием, так и в группе с невынашиванием беременности. В первой группе LIF-R $123,53 \pm 12,00$, во второй группе $126,63 \pm 10,88$ в сравнение в более высокими показателями в контрольной группе $165,54 \pm 23,14$, $p_{1-3} = 0,043$, $p_{2-3} = 0,043$ (таблица 21).

Таблица 21 – Показатели иммуногистохимического исследования экспрессии сигнальных молекул у женщин обследованных групп в период «окна имплантации» (H-score, $M \pm m$, p)

Показатели	Основная группа с бесплодием (n=46)	Основная группа с невынашиванием (n=44)	Контроль (n=28)	Уровень значимости различий, p
	1	2	3	
LIF	$120,25 \pm 5,93$	$107,70 \pm 5,75$	$132,32 \pm 10,29$	$p_{2-3} = 0,023$
LIF-R в строме	$67,75 \pm 10,12$	$64,68 \pm 8,59$	$85,54 \pm 19,30$	$p_{1-3} = 0,022$
LIF-R в железах	$123,53 \pm 12,00$	$126,63 \pm 10,88$	$165,54 \pm 23,14$	$p_{1-3} = 0,043$ $p_{2-3} = 0,043$

В образцах эндометрия в основных группах наблюдения в среднюю стадию фазы секреции, в предполагаемое «окно имплантации», по результатам исследования достоверно снижена экспрессия маркера ангиогенеза CD 34. У пациенток в группе с бесплодием значительно снижена экспрессия CD 34 до $20,90 \pm 0,78$ в сравнении с группой фертильных женщин $37,97 \pm 1,22$, $p_{1-3} = 0,026$. Это говорит о нарушении процессов ангиогенеза в большей степени у пациенток с бесплодием.

При иммуногистохимическом исследовании аспириатов эндометрия отмечено достоверное снижение в основных группах экспрессии сосудисто-эндотелиального фактора роста А (VEGF-A) в фазу, когда непосредственно происходит имплантация эмбриона к эндометрию, что является предиктором бедного сосудодообразования и нарушению процессов ангиогенеза. У пациенток в группе с бесплодием экспрессия VEGF-A снижена в среднем до $216,20 \pm 9,06$, в группе с привычным невынашиванием показатели чуть выше $240,87 \pm 8,17$, тогда как в контрольной группе экспрессия VEGF-A достигает $268,12 \pm 10,34$, $p_{1-3} = 0,018$, $p_{2-3} = 0,003$ (таблица 22).

Таблица 22 - Показатели иммуногистохимического исследования экспрессии регулятора ангиогенеза и сосудисто-эндотелиального фактора роста в эндометрии женщин обследованных групп ($M \pm m$, p)

Показатели	Основная группа с бесплодием (n=46)	Основная группа с невынашиванием (n=44)	Контроль (n=28)	Уровень значимости различий, p
	1	2	3	
CD 34 в эндотелии стромы	$20,90 \pm 0,78$	$27,90 \pm 3,15$	$37,97 \pm 1,22$	$p_{1-3} = 0,026$
VEGF-A	$216,20 \pm 9,06$	$240,87 \pm 8,17$	$268,12 \pm 10,34$	$p_{1-3} = 0,018$ $p_{2-3} = 0,003$

Резюме. Таким образом, при исследовании образцов аспирата эндометрия в период «окна имплантации» на 20-22 день менструального цикла до проведенного курса терапии были получены достоверные различия в морфологической структуре и рецепторном аппарате в основных группах наблюдения в сравнении с контрольной группой.

При гистологическом исследовании образцов эндометрия у пациенток в группе с бесплодием и в группе с привычным невынашиванием достоверно чаще встречались признаки хронического эндометрита, такие как очаговое скопление лимфоцитов по типу «лимфоидных фолликулов», плазматические клетки, очаги фиброза в строме и стенке сосудов и склеротические изменения стенок спиральных артерий эндометрия. Наблюдается относительный дисхронизм по фазам цикла, встречаются образцы эндометрия в раннюю стадию секреции и в позднюю стадию фазы секреции. В основных группах обследуемых женщин выражено нарушена архитектоника эндометрия, зачастую весь эндометрий представлен плотной стромой, тогда как в контрольной группе у условно здоровых женщин строма рыхлая. При морфологическом исследовании также выявлено снижение частоты встречаемости пиноподии в период имплантации эмбриона в сравнении с контрольной группой.

Изучая ультраструктурные показатели «окна имплантации» было выявлено, что в первых двух основных группах нарушен процесс созревания пиноподий, достоверно чаще встречается зона «спокойного» эпителия, гладкая апикальная поверхность, нарушение межклеточных контактов, что говорит о сниженном имплантационном потенциале у пациенток в группах с бесплодием и привычным невынашиванием беременности.

При иммуногистохимическом исследовании получены данные о том, что в основных группах наблюдения в сравнении с контрольной группой повышена экспрессия ER α и наоборот снижена экспрессия PR, отсутствует пик прогестероновых рецепторов в секреторную фазу менструального цикла. По данным проведенного исследования нарушено соотношение рецепторов к половым стероидам в

сравнении с контрольной группой и более выражено это нарушение наблюдается в железах эндометрия.

Против контрольной группы с основных группах наблюдения достоверно повышена экспрессия маркёра клеточного звена иммунного ответа CD3+ как в строме, так и в железах, повышен уровень экспрессии маркёра гуморального звена иммунного ответа CD20+ в строме эндометрия и увеличена экспрессия в железах эндометрия маркёра CD56+. Маркёр воспалительного ответа CD138+ экспрессируется только у пациенток с бесплодием и привычным невынашиванием.

В эндометрии пациенток с бесплодием и привычным невынашиванием снижена экспрессия фактора, ингибирующего лейкемию (LIF) и соответственно отмечено достоверное снижение рецепторов к нему (LIF-R). Также в основных группах наблюдения в сравнении с контрольной группой достоверно снижена экспрессия маркёра ангиогенеза CD 34 и сосудисто-эндотелиального фактора роста А (VEGF-A), что говорит о нарушении у этих пациенток процессов ангиогенеза и сниженном сосудодообразовании.

Результаты приведенных исследований опубликованы:

1. Мелкозёрова О.А., Башмакова Н.В., Чистякова Г.Н, Есарева А.В. Тканевые и молекулярные эффекты кавитированных растворов в восстановлении показателей рецептивности эндометрия у пациенток с маточной формой бесплодия. Проблемы репродукции. №6. 2016 (готовится в печать)
2. Мелкозёрова О.А., Башмакова Н.В., Чистякова Г.Н, Есарева А.В. Уральский медицинский журнал. (готовится в печать)
3. О.А. Мелкозёрова, Н.В, Башмакова, А.В. Есарева. Современные технологии подготовки пациенток с патологией эндометрия вирусной этиологии к программам ВРТ. Российский вестник акушера-гинеколога. 2017:6;

ГЛАВА 5. ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСНОЙ ПРОГРАММЫ ТЕРАПИИ «ТОНКОГО» ЭНДОМЕТРИЯ У ПАЦИЕНТОК С БЕСПЛОДИЕМ И ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

Все пациентки с бесплодием и привычным невынашиванием беременности, обусловленные гипоплазией эндометрия, получали стандартную терапию, включающую циклическую гормональную терапию. 26 пациенток получали только стандартную терапию. Пациентки основных групп наблюдения (46 пациенток с бесплодием и 44 пациентки с привычным невынашиванием) получали комплексную терапию, включающую помимо стандартной терапии ещё и низкочастотное ультразвуковое орошение полости матки.

Сравнение стандартной и комплексной терапии мы оценивали по клинической картине, ультразвуковым показателям картины «тонкого» эндометрия и эффективности лечения в плане наступления беременности.

Оценка эффективности проводимой комплексной терапии (циклическая гормональная терапия + низкочастотное ультразвуковое орошение полости матки) проводилась путём забора аспирата эндометрия на 20-22 день менструального цикла в предполагаемое «окно имплантации» методом пайпель-биопсии до начала лечения и по окончании курса терапии. После завершения курса лечения эндометрия забирался повторно из полости матки также на 20-22 день 28-дневного менструального цикла. До и после лечения образцы исследовались морфологическим методом, иммуногистохимическим, методом сканирующей электронной микроскопии. Отделяемое цервикального канала исследовалось микробиологическим способом. Толщина эндометрия и другие его показатели исследовались также в динамике ультразвуковым методом, вагинальным датчиком.

5.1. Динамика клинической картины заболевания на фоне различных программ терапии нерецептивного эндометрия

При клиническом обследовании пациенток первой основной группы с бесплодием, обусловленным гипоплазией эндометрия, в динамике проведенного комплексного лечения были выявлены достоверно значимые показатели до и после лечения в сравнении со стандартной терапией. Изучение катамнеза женщин обследуемых групп в течении года после лечения показало, что у них уменьшилось количество и частота предъявляемых исходно жалоб и улучшилась менструальная функция. На фоне проводимого лечения у пациенток с бесплодием достоверно значимо увеличилась продолжительность менструации, выражаемая в днях, так до лечения продолжительность составляла $3,8 \pm 0,37$, а после лечения $5,65 \pm 0,15$, что даже чуть больше, чем в контрольной группе $5,04 \pm 0,29$, $p_{1-2}=0,006$, $p_{1-3}=0,035$. Хотя продолжительность самого цикла до и после лечения, а также в сравнении с контрольной группой не изменилась. До лечения продолжительность цикла составила $29,61 \pm 1,60$, после лечения $28,45 \pm 1,24$. После проведенного лечения почти не наблюдалось нарушения менструального цикла в группе у пациенток с бесплодием, 2,17% после лечения в сравнении с исходными данными 23,91%, $p_{1-2}=0,001$. На фоне проводимой комплексной терапии достоверно значимо, примерно в 5 раз, уменьшился болевой синдром при менструации, до лечения 15,22%, после лечения лишь в 4,34%, $p_{1-2}=0,022$. Изменился также сам характер менструальной функции, объём менструальных выделений. Гипоолигоменорея после лечения наблюдалась в 10 раз реже у 4,34% пациенток, против исходных данных 45,65%, что оказалось достоверно значимо, $p_{1-2}=0,001$. Изменилась в положительную сторону динамика синдрома хронических тазовых болей. После лечения достоверно значимо отмечалось снижения частоты встречаемости этого синдрома, до лечения 45,65%, после лечения 8,69%, $p_{1-2}=0,001$. Достоверно значимо уменьшились патологические выделения из половых путей после проведения курсов кавитационного орошения полости матки. До лечения у пациенток

первой основной группы с бесплодием отмечались в 56,53% случаев, после проведенного лечения лишь в 2,17%, $p_{1-2}=0,000$ (таблица 23).

Таблица 23 - Данные клинического обследования пациенток первой основной группы с бесплодием и гипоплазией эндометрия в динамике комплексной терапии

Показатели		Основная группа № 1 (n=46)		Контроль- ная группа (n=28)	χ^2 & <i>Mc Nemar's</i> <i>test</i>	Уровень значи- мости, p
		До лечения	После ле- чения			
		1	2	3	4	5
Продолжитель- ность цикла, сутки	M±m	29,61±1,60	28,45±1,24	28,18±0,44		NS
Продолжитель- ность менструации, сутки	M±m	3,8±0,37	5,65±0,15	5,04±0,29		$p_{1-2}=0,006$ $p_{1-3}=0,035$
Нарушение ритма менструаций	%	23,91	2,17	0	$\chi^2_{1-2}=137,11$	$p_{1-2}=0,001$
	абс.	11	1	0		
Альгодисменорея	%	15,22	4,34	3,57	$\chi^2_{1-2}=4,64$ $\chi^2_{1-3}=7,98$	$p_{1-2}=0,022$ $p_{1-3}=0,035$
	абс.	7	2	1		
Гипоолигомено- рея	%	45,65	4,34	3,57	$\chi^2_{1-2}=63,76$ $\chi^2_{1-3}=12,24$	$p_{1-2}=0,001$ $p_{1-3}=0,015$
	абс.	21	2	1		
Хронические та- зовые боли	%	45,65	8,69	0	$\chi^2_{1-2}=58,62$	$p_{1-2}=0,001$
	абс.	21	4	0		
Патологические выделения из по- ловых путей (бе- ли)	%	56,53	2,17	3,57	$\chi^2_{1-2}=118,8$ $\chi^2_{1-3}=26,73$	$p_{1-2}=0,000$ $p_{1-3}=0,001$
	абс.	26	1	1		

При обследовании данных клинического наблюдения второй группы женщин с привычным невынашиванием беременности, обусловленным гипоплазией эндометрия, выявлена положительная динамика в исчезновении жалоб, уменьшении болевого синдрома, патологических выделений из половых путей и нормализация менструальной функции.

Увеличилась продолжительность менструальных выделений, в среднем на 1,47, что достоверно значимо, в группе с привычным невынашиванием до лечения

4,18, после курса терапии составило 5,65, $p_{1-2}=0,000$. Значительно реже отмечено после лечения нарушение менструального цикла, до лечения наблюдалось в 18,18% случаях, после лечения лишь в 1,13%, $p_{1-2}=0,013$. Альгодисменорея стала беспокоить пациенток почти в 3 раза меньше, до лечения наблюдалась у 29,55% пациенток, после лечения только у 11,36%, $p_{1-2}=0,034$, $p_{1-3}=0,017$. После лечения увеличилась не только продолжительность менструальных выделений, но и их объём. Пациентки достоверно чаще стали отмечать, что менструация стала более обильной и продолжительной, что говорит об отторжении пышного эндометрия. Гипоолигоменорея уменьшилась в этой группе женщин с 29,55% до 4,54%, $p_{1-2}=0,012$, $p_{1-3}=0,015$. На фоне лечения в 5 раз уменьшилась частота встречаемости хронической тазовой боли, что говорит о положительном эффекте комплексной терапии. До лечения этот синдром наблюдался у 45,65% женщин, после лечения у 9,09% пациенток, $p_{1-2}=0,001$. После проведенного лечения значительно улучшились показатели патологических выделений из половых путей, с 56,53% снизилось до 2,27%, что является достоверно значимо и сопоставимо с контрольной группой (3,57%), $p_{1-2}=0,000$, $p_{1-3}=0,001$ (таблица 24).

Таблица 24 - Данные клинического обследования пациенток первой основной группы с невынашиванием беременности и гипоплазией эндометрия в динамике комплексной терапии (%)

Показатели		Основная группа № 2 (n=44)		Контроль- ная группа (n=28)	χ^2 & <i>Mc Nemar's</i> <i>test</i>	Уровень значи- мости, p
		До лечения	После ле- чения			
		1	2			
Продолжитель- ность цикла, сутки	M±m	28,32±0,56	28,45±1,24	28,18±0,44	-	NS
Продолжитель- ность менструации, сутки	M±m	4,18±0,30	5,65±0,15	5,04±0,29	-	$p_{1-2}=0,011$
Нарушение ритма менструаций	%	18,18	1,13	0	$\chi^2_{1-2}=16,39$	$p_{1-2}=0,013$
	абс.	8	1	0		
Альгодисменорея	%	29,55	11,36	3,57	$\chi^2_{1-2}=4,24$ $\chi^2_{1-3}=7,35$	$p_{1-2}=0,034$ $p_{1-3}=0,017$
	абс.	13	5	1		

Гипоолигоменорея	%	29,55	4,54	3,57	$\chi^2_{1-2}=14,82$ $\chi^2_{1-3}=13,74$	$p_{1-2}=0,012$ $p_{1-3}=0,015$
	абс.	13	2	1		
Хронические тазовые боли	%	45,65	9,09	0	$\chi^2_{1-2}=55,62$	$p_{1-2}=0,001$
	абс.	21	4	0		
Патологические выделения из половых путей (бели)	%	56,53	2,27	3,57	$\chi^2_{1-2}=116,82$ $\chi^2_{1-3}=106,73$	$p_{1-2}=0,000$ $p_{1-3}=0,001$
	абс.	26	1	1		

При клиническом исследовании пациенток, применявших исключительно стандартную терапию, которая включала циклическую гормональную терапию, было выявлено более низкая эффективность лечения. При применении стандартной терапии по-прежнему пациентки предъявляли жалобы на болезненный характер менструации 23,08% против 3,57% в контрольной группе, остался высок процент патологических выделений из половых путей, после лечения 34,62% в сравнении с контрольной группой 3,57%. Не эффективным такой способ лечения оказался и в отношении синдрома хронических тазовых болей. На фоне стандартной терапии нет достоверно значимого снижения частоты встречаемости данного синдрома. Характер менструальной функции значительно не изменился. Отмечено небольшое снижение продолжительности менструации с $4,81 \pm 0,37$ суток до $4,13 \pm 0,15$ после лечения. Единственно достоверно значимым положительным эффектом от стандартной терапии оказалось увеличение объема менструальных выделений. Гипоолигоменорея до лечения наблюдалась у 42,31% женщин, после гормональной терапии 15,38%, $p < 0,05$.

Таким образом действие стандартной схемы лечения оказывает лишь эффект на характер менструальной функции, снижается частота встречаемости гипоолигоменореи, но не меняется клиническая симптоматика пациенток (таблица 25).

Таблица 25 - Данные клинического обследования пациенток, применявших только стандартное лечение (%)

Показатели		Стандартная программа (n=26)	
		До лечения	После лечения
		1	2
Продолжительность цикла, сутки	M±m	28,44±0,66	29,52±0,21
Продолжительность менструации, сутки	M±m	4,81±0,37	4,13±0,15
Нарушение ритма менструаций	%	19,23	11,53
	абс.	5	3
Альгодисменорея	%	26,92	23,08
	абс.	7	6
Гипо-олигоменорея	%	42,31	15,38*
	абс.	11	4
Хронические тазовые боли	%	38,46	23,08
	абс.	10	6
Патологические выделения из половых путей (бели)	%	57,69	34,62
	абс.	15	9

*Уровень значимости $p < 0,05$

5.2. Динамика ультразвуковой картины эндометрия на фоне программ терапии

Ультразвуковая картина эндометрия также отслеживалась в период «окна имплантации» на 20-22 день менструального цикла до и после курса проведенной стандартной и комплексной терапии. Эхографически в основных группах, применявших комплексную терапию, достоверно значимо выявлено увеличение показателей толщины эндометрия на фоне лечения и результаты стремятся к контрольным значениям. Толщина М-ЭХО составляет в среднем после лечения в обеих основных группах более 8 мм, $p_{1-2}=0,000$, $p_{3-4}=0,000$. По результатам исследования на фоне лечения мы видим положительную динамику в толщине М-ЭХО, ко-

торая выражается в приросте эндометрия. В первой группе пациенток с бесплодием прирост составил в среднем $3,55 \pm 0,45$, в группе с привычным невынашиванием беременности $3,60 \pm 0,46$, что является хорошим результатом, показателем эффективности лечения. В 5 раз улучшились показатели неоднородной структуры эндометрия, в первой группе у пациенток с бесплодием неоднородность эндометрия снизилась с 34,78% до 6,5%, во второй группе у пациенток с привычным невынашиванием с 22,73% до 4,55%, $p_{1-2}=0,000$, $p_{3-4}=0,021$.

В норме для успешной имплантации эмбриона в фазу секреции эндометрий должен эхографически иметь трёхслойную структуру. Исходно до лечения у большинства пациенток, особенно в группе с бесплодием отсутствовала трёхслойная структура эндометрия. В динамике проводимой терапии можно наблюдать, что этот показатель у пациенток с бесплодием снизился в 3 раза с 60,87% до 21,74%, в группе с невынашиванием беременности снизился в 2 раза с 43,18% до 25%, $p_{1-2}=0,000$, $p_{3-4}=0,05$. На фоне течения хронического эндометрита после различных инструментальных вмешательств в полость матки у значительно числа пациенток были сформированы синехии полости матки, различной толщины и структуры. Грубые и толстые синехии разрушались при помощи гистерорезектоскопии. В динамике проведенного комплексного лечения достоверно значимо снизилась частота определения по ультразвуковой картине синехий в полости матки. И более выражено это проявилось в группе у пациенток с бесплодием, частота обнаружения синехий уменьшилась в 5 раз, до лечения синехии полости матки имели место в 10,87% случаях, после лечения лишь в 2,17%, $p_{1-2}=0,046$ (таблица 26).

Таблица 26 - Ультразвуковая картина эндометрия у обследованных групп пациенток в динамике лечения (II фаза цикла), (%)

Показатели	Бесплодие (n=46)		Невынашивание беременности (n=44)		Контрольная группа (n=28)	Уровень значимости, p	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения			
	1	2	3	4			5
Толщина М-ЭХО,	M±m	5,3±0,39	8,85±0,53	5,06±0,34	8,71±0,51	10,17±0,45	$p_{1-2}=0,000$ $p_{1-5}=0,000$

мм							$p_{2-5}=0,001$ $p_{3-4}=0,000$ $p_{4-5}=0,001$
Средний прирост М-ЭХО в динамике лечения, мм	M±m	-	3,55±0,45	-	3,60±0,46	-	-
Неоднородный характер эхоструктуры эндометрия	%	34,78	6,5	22,73	4,55	0	$p_{1-2}=0,000$ $p_{1-5}=0,000$ $p_{3-4}=0,021$ $p_{3-5}=0,007$
	абс.	16	3	10	2	0	
Отсутствие трехслойной структуры эндометрия во II фазу цикла	%	60,87	21,74	43,18	25	3	$p_{1-2}=0,000$ $p_{1-5}=0,000$ $p_{3-4}=0,05$ $p_{3-5}=0,004$
	абс.	28	10	19	11	10,71	
УЗИ-признаки синехий в полости матки	%	10,87	2,17	4,76	0	0	$p_{1-2}=0,046$
	абс.	5	1	2	0	0	

При использовании только стандартной терапии у пациенток с «тонким» эндометрием по ультразвуковой картине эндометрия мы можем отметить уменьшения неоднородности эхо-структуры с 29,07% до 19,23%, но в сравнении с показателями первой группы 6,5% и второй группы 4,55% после комплексной терапии эффективность значительно ниже. В два раза отмечено снижение признаков синехий полости матки и микрополипов эндометрия.

На фоне стандартной терапии отмечен рост М-ЭХО до $6,89 \pm 0,15$ мм, что меньше уровня толщины М-ЭХО, принятого за норму (7-8 мм). Средний прирост эндометрия на фоне применения только циклической гормональной терапии составил $1,43 \pm 0,12$ мм, что меньше прироста эндометрия на фоне комплексной терапии эндометрия. В первой основной группе прирост составил $3,55 \pm 0,45$ мм, во второй основной группе $3,60 \pm 0,46$ мм, что в два раза выше, чем при применении стандартной терапии (таблица 27).

Таблица 27 - Ультразвуковая картина эндометрия у обследованных групп пациенток в динамике при применении стандартной терапии (II фаза цикла), (%)

Показатели		Стандартная программа (n=26)	
		До лечения	После лечения
1		2	3
Толщина М-ЭХО, мм	M±m	$5,34 \pm 0,27$	$6,89 \pm 0,15$
Средний прирост М-ЭХО в динамике лечения, мм	M±m		$1,43 \pm 0,12^*$
Неоднородный характер эхо-структуры эндометрия	%	29,07	19,23
	абс.	6	5
УЗИ-признаки синехий в полости матки	%	7,69	3,85
	абс.	2	1
Полипы эндометрия	%	7,69	3,85
	абс.	2	1

5.3. Динамика морфологической структуры эндометрия на фоне проводимого лечения

При повторном гистологическом исследовании аспирантов эндометрия у пациенток в группе с бесплодием в период «окна имплантации» на фоне проведенного лечения отмечено улучшение морфологических показателей эндометрия, значительно сократились признаки хронического эндометрита и увеличился его имплантационный потенциал. Железы в эндометрии приобрели более равномерное распределение, до лечения этот показатель наблюдался у 48,39%, после лечения в 82,5% случаях, $p_{1-2}=0,021$, что является статистически значимо в плане эффективности проводимой терапии. Эндометрий, как и до лечения, в большинстве образцов соответствует фазе цикла, здесь достоверных различий не получено. Преобладают железы в фазе средней секреции, 82,5% после лечения. Результаты гистологического исследования эндометрия после завершения курса лечения выявили улучшение структурных показателей плотности стромального компонента эндометрия. После лечения строма достоверно значимо стала более рыхлой, уменьшился значительно процент плотных участков эндометрия. Исходно рыхлая строма наблюдалась лишь в 24,14%, тогда как после лечения показатель улучшился до 77,5%, $p_{1-2}=0,001$. Соответственно увеличению процента рыхлой стромы обратно пропорционально уменьшилось число образцов эндометрия с плотным стромальным компонентом, что также оказалось статистически значимо. До лечения плотная строма выявлена у 73,33% женщин, после лечения сократилось до 25,0%, $p_{1-2}=0,002$.

На фоне проводимой комплексной терапии, включающей ультразвуковое орошение полости матки, увеличилась частота выявления выраженности сосудистого рисунка в сравнении с результатами до лечения и стали близки к контрольным значениям, хотя и не получили статистически значимого подтверждения. После лечения выраженность сосудистого компонента эндометрия увеличилась до 70%. Снижение количества сосудов с сужением просвета до 7,5% говорит об уменьшении склероза сосудов эндометрия на фоне лечения.

В плане эффективности лечения на тканевом уровне в период «окна имплантации» комплексное лечение, включающее низкочастотное ультразвуковое орошение полости матки, оказалось весьма эффективным, так как на фоне лечения в 2 раза возросло количество пиноподий в эндометрии, а как известно именно к ним на 20-22 день менструального цикла прикрепляется бластоциста. До лечения у пациенток в группе с бесплодием частота пиноподий была лишь в 43,46% случаях, после лечения этот показатель улучшился до 85,0 %, что является статистически значимо $p_{1-2}=0,003$.

После проведенного лечения у пациенток в группе с бесплодием достоверно значимо сократилось число образцов эндометрия с признаками хронического эндометрита. С 33,33% доля хронического эндометрита сократилась до 7,5%, $p_{1-2}=0,020$ (таблица 28). И по результатам исследования, это лишь остаточные признаки хронического эндометрита, в меньшей степени отмечена лимфоидная инфильтрация, фиброз стромы и склеротические изменения стенок спиральных артерий.

Таблица 28 - Динамика морфологической картины эндометрия в период «окна имплантации» на фоне лечения в первой группе у пациенток с бесплодием, обусловленным гипоплазией эндометрия (%)

Показатели	Первая группа (пациентки с бесплодием, n=46)				Группа контроля n=28		Уровень значимости раз- личий, p
	до лечения		после лечения		3		
	1		2				
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Эндометрий соответ- ствует фазе цикла	25	80,65	36	90,0	22	81,48	-
Равномерность рас- пределения желёз	15	48,39	33	82,5	22	81,48	$p_{1-2}=0,021$ $p_{1-3}=0,009$
Железы в стадии поздней пролифера- ции	3	10,0	0	0,0	2	7,40	-
Железы в фазе ран- ней секреции	9	30,0	7	17,5	8	29,63	-
Железы в фазе сред-	22	73,33	33	82,5	18	66,66	-

ней секреции							
Железы в фазе поздней секреции	6	20,0	4	10,0	2	7,40	-
Строма рыхлая	7	24,14	31	77,5	23	85,18	$p_{1-2}=0,001$ $p_{1-3}=0,000$
Строма плотная	22	73,33	10	25,0	6	22,22	$p_{1-2}=0,002$ $p_{1-3}=0,000$
Сосуды стромы сужены	7	28,0	3	7,5	2	7,40	$p_{1-3}=0,05$
Выраженность сосудистого компонента стромы	12	48,0	28	70,0	17	62,96	-
Пиноподии	13	46,43	34	85,0	17	62,96	$p_{1-2}=0,003$ $p_{2-3}=0,038$
Полипы	7	23,33	3	7,5	5	18,52	
Эндометрит	10	33,33	3	7,5	2	7,40	$p_{1-2}=0,020$ $p_{1-3}=0,017$

После завершения комплексной терапии у пациенток в группе с привычным невынашиванием беременности гистологическая картина эндометрия существенно изменилась в лучшую сторону. Статистически значимо стало больше образцов, где эндометрия стал соответствовать фазе цикла, до лечения это наблюдалось в 59,26% случаях, после лечения в 90,0% образцах, $p_{1-2}=0,035$. Железы после лечения стали распределяться в эндометрии более равномерно (86,67%), $p_{1-2}=0,021$. Уменьшилось частота встречаемости образцов с железами в стадии поздней пролиферации с 14,81 до 3,33%, а также достоверно значимо сократилось число образцов с железами в стадию ранней секреции с 51,85% до 16,67%, $p_{1-2}=0,008$. И соответственно увеличилась доля образцов с железами в среднюю стадию фазы секреции после лечения и составило 83,33%, $p_{1-2}=0,035$.

Действие ультразвука низкой частоты сказалось положительно на плотности стромального компонента эндометрия. Как это и должно быть в норме достоверно значимо увеличился показатель рыхлой стромы в эндометрии, до лечения он составлял 22,22%, после лечения почти у каждой 4 женщины строма в эндо-

метрии стала более рыхлая 80,0%, $p_{1-2}=0,003$. Соответственно увеличению рыхлой структуры эндометрия значительно снизилось количество аспиринов с плотным стромальным компонентом, с 81,48% до 23,33%, $p_{1-2}=0,002$.

Одним из эффектов орошений полости матки ультразвуком низкой частоты является стимуляция неоангиогенеза, что мы и наблюдаем в группе пациенток с привычным невынашиванием после лечения. Стало значительно меньше визуализироваться суженых сосудов стромы эндометрия, достоверно значимо увеличилась выраженность сосудистого компонента стромы, до лечения наблюдалась у 37,04% пациенток, после лечения увеличилось до 66,67%, $p_{1-2}=0,013$.

В эндометрии пациенток с привычным невынашиванием беременности число пиноподий на 20-22 день менструального цикла выросло в 3 раза по сравнению с исходными показателями, что говорит о повышении его имплантационного потенциала. До лечения пиноподии определялись при световой микроскопии лишь у 29,63% пациенток, после же лечения увеличилось до 83,33%, $p_{1-2}=0,003$.

После проведенного курса лечения в 4 раза сократилось число выявленного хронического эндометрита. До лечения этот показатель был 29,63%, после же лечения число пациенток с признаками хронического эндометрита сократилось в 4 раза (6,67%), что является важным эффектом в лечении. Статистически значимо в 4 раза сократилось число выявляемых микрополипов в эндометрии пациенток после терапии, до лечения наблюдались микрополипы в 44,44% случаях, после лечения лишь у 10,0%, $p_{1-2}=0,035$ (таблица 29).

Таблица 29 - Динамика морфологической картины эндометрия в период «окна имплантации» на фоне лечения во второй группе у пациенток с привычным невынашиванием, обусловленным гипоплазией эндометрия (%)

Показатели	Вторая группа (пациентки с привычным невынашиванием, n=44)				Группа контроля n=28		p
	до лечения		после лечения		3		
	1		2				
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Эндометрий соответствует фазе цикла	16	59,26	27	90,0	22	81,48	$p_{1-2}=0,035$
Равномерность рас-	13	48,15	26	86,67	22	81,48	$p_{1-2}=0,021$

пределения желёз							$p_{1-3}=0,010$
Железы в стадии поздней пролиферации	4	14,81	1	3,33	2	7,40	-
Железы в фазе ранней секреции	14	51,85	5	16,67	8	29,63	$p_{1-2}=0,008$
Железы в фазе средней секреции	13	48,15	25	83,33	18	66,66	$p_{1-2}=0,035$
Железы в фазе поздней секреции	2	7,41	3	10,0	2	7,40	-
Строма рыхлая	6	22,22	24	80,0	23	85,18	$p_{1-2}=0,003$ $p_{1-3}=0,000$
Строма плотная	22	81,48	7	23,33	6	22,22	$p_{1-2}=0,002$ $p_{1-3}=0,000$
Сосуды стромы сужены	5	18,52	4	13,33	2	7,40	
Выраженность сосудистого компонента стромы	10	37,04	20	66,67	17	62,96	$p_{1-2}=0,013$ $p_{1-3}=0,057$
Пиноподии	8	29,63	25	83,33	17	62,96	$p_{1-2}=0,003$ $p_{1-3}=0,014$
Полипы	12	44,44	3	10,0	5	18,52	$p_{1-2}=0,035$ $p_{1-3}=0,040$
Эндометрит	8	29,63	2	6,67	2	7,40	$p_{1-3}=0,036$

5.4. Ультразвуковая характеристика эндометрия в динамике проведенной терапии

Ультразвуковая поверхность эндометрия после проведенного комплексного лечения также исследовалась методом сканирующей электронной микроскопии на 20-22 день менструального цикла.

В группе пациенток с бесплодием после лечения достоверно значимо сократился процент зоны «спокойного» эпителия, что говорит о стимулирующем эффекте ультразвука низкой частоты. Исходно у пациенток с «тонким» эндометрием зона «спокойного» эпителия наблюдалась в 67,37% случаях, после лечения сокра-

тилась до 37,77%, $p_{1-2}=0,0017$. Наличие гладкой апикальной поверхности в эндометрии женщин с бесплодием также уменьшилось до 36,95%.

Атипичные ресничные клетки стали наблюдаться в 2 раза реже на фоне комплексного лечения и с 50,0% снизились до 26,09%, $p_{1-2}=0,016$. Уменьшилось после лечения в образцах эндометрия количество гетероморфных секреторных клеток.

Нарушенные межклеточные контакты, которые по нашему предположению нарушают механизм прикрепления бластоцисты к пиноподиям, на фоне лечения с применением орошения полости матки ультразвуком низкой частоты также снизились с 69,23% до 36,96%, что является достоверно значимо, хотя показатели ещё далеки от контрольных значений 7,14%, $p_{1-2}=0,0017$, $p_{2-3}=0,004$.

В группе пациенток с бесплодием в эндометрии при ультраструктурном исследовании увеличилась зона интенсивной секреции до 73,92%, $p_{1-3}=0,0001$. На апикальной поверхности мембран эндометрия увеличилось значительно после лечения количество «зрелых» пиноподий с 37,76% до 60,88%, $p_{1-2}=0,012$. А как известно именно наличие зрелых пиноподии в период «окна имплантации определяет рецептивность эндометрия. Созревающих пиноподий по-прежнему остаётся много 60,88%, хотя и имеется тенденция их снижению после лечения, $p_{1-2}=0,021$ (таблица 30).

Таблица 30 - Динамика ультраструктурных показателей эндометрия на фоне лечения в группе с бесплодием (%)

Показатели	Первая группа (пациентки с бесплодием, n=46)				Группа контроля n=28		Уровень значимости различий, p
	до лечения		после лечения		3		
	1		2				
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Гипоплазия пиноподий (гладкая апикальная поверхность)	24	52,17	17	36,95	4	14,28	$p_{1-3}=0,001$ $p_{2-3}=0,036$
«Спокойный» эпителий	31	67,37	16	37,77	4	14,28	$p_{1-2}=0,0017$ $p_{1-3}=0,0001$ $p_{2-3}=0,054$
Атипичные ресничные клетки	23	50,00	12	26,09	2	7,14	$p_{1-2}=0,016$ $p_{1-3}=0,0001$

							$p_{2-3}=0,044$
Гетероморфные секреторные клетки	7	15,22	3	6,53	0	0,0	$p_{1-3}=0,0001$
Асинхронность созревания пиноподий	8	17,38	8	17,38	4	14,28	-
Нарушение межклеточных контактов	32	69,23	17	36,96	2	7,14	$p_{1-2}=0,0017$ $p_{1-3}=0,0001$ $p_{2-3}=0,004$
Зрелые пиноподии	16	37,76	28	60,88	20	71,42	$p_{1-2}=0,012$ $p_{1-3}=0,0022$
Созревающие пиноподии	38	82,62	28	60,88	6	21,42	$p_{1-2}=0,021$ $p_{1-3}=0,0001$ $p_{2-3}=0,009$
Зона интенсивной секреции	11	23,91	34	73,92	26	92,85	$p_{1-3}=0,0001$ $p_{2-3}=0,0436$

При изучении ультраструктурной поверхности эндометрия пациенток второй группы с привычным невынашиванием беременности на фоне лечения отмечено улучшение показателей рецептивности эндометрия, количества зрелых пиноподий и зоны интенсивной секреции, что говорит о повышении имплантационного потенциала.

В динамике комплексного лечения уменьшилось число атипичных ресничных клеток до 29,99%. В сравнении с группой бесплодия во второй группе на фоне лечения полностью исчезли гетероморфные секреторные клетки. Стало значительно меньше участков «спокойного» эпителия, до лечения 42,22%, после лечения 29,99%. В значительной степени по сравнению с группой бесплодия в этой группе после лечения уменьшилось асинхронность и акселерация созревания пиноподий, до лечения 46,67%, после лечения 28,87%, хотя и не имеет статистического значения.

Достоверно значимо снизилось в 2 раза частота нарушенных межклеточных контактов в эндометрии пациенток второй группы, до лечения наблюдались у 84,35% пациенток, после лечения лишь у 42,24%, $p_{1-2}=0,008$.

На апикальной поверхности мембран эндометрия после лечения у пациенток с привычным невынашиванием количество зрелых пиноподий возросло в меньшей степени, чем у пациенток с бесплодием и составило после лечения

73,35%. Хотя этот показатель и стал немного даже выше чем в контрольной группе 71,42%, но является статистически незначимым. Зато на фоне лечения снизилось число созревающих пиноподий до 40,10%, $p_{1-2}=0,011$. Зона интенсивной секреции после гормональной терапии и ультразвукового орошения полости матки увеличилась во второй группе с 35,29% до 57,77%, $p_{1-2}=0,034$ (таблица 31).

Таблица 31 - Динамика ультраструктурных показателей эндометрия на фоне лечения в группе с привычным невынашиванием беременности (%)

Показатели	Вторая группа (пациентки с привычным невынашиванием, n=44)				Группа контроля n=28		Уровень значимости различий, p
	до лечения		после лечения		3		
	1		2				
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Гипоплазия пиноподий (гладкая апикальная поверхность)	17	37,79	12	26,68	4	14,28	$p_{1-3}=0,031$
«Спокойный» эпителий	19	42,22	13	29,99	4	14,28	$p_{1-3}=0,012$
Атипичные ресничные клетки	13	13,33	6	13,35	2	7,14	$p_{1-3}=0,025$
Гетероморфные секреторные клетки	1	2,22	0	0,0	0	0,0	$p_{1-3}=0,004$
Асинхронность созревания пиноподий	21	46,67	13	28,87	4	14,28	-
Нарушение межклеточных контактов	38	84,35	19	42,24	2	7,14	$p_{1-2}=0,008$ $p_{1-3}=0,0001$ $p_{2-3}=0,001$
Зрелые пиноподии	25	55,94	33	73,35	20	71,42	-
Созревающие пиноподии	30	66,68	18	40,10	6	21,42	$p_{1-2}=0,011$ $p_{1-3}=0,0001$
Зона интенсивной секреции	16	35,29	26	57,77	26	92,85	$p_{1-2}=0,034$ $p_{1-3}=0,007$ $p_{2-3}=0,001$

5.5. Иммуногистохимическая картина показателей рецептивности эндометрия в динамике комплексной терапии

При исследовании образцов эндометрия в имплантационный период в динамике проведенного лечения в первой группе пациенток с бесплодием не было выявлено достоверно значимых изменений в уровне экспрессии половых стероидов и соотношении PR/ ER α как в строме, так и в железах эндометрия. Однако, несмотря на выше изложенное, экспрессия рецепторов к эстрадиолу альфа (ER α) в строме эндометрия стала меньше после проведенного курса лечения и снизилась с показателя $117,18 \pm 10,05$ до $101,56 \pm 18,75$, что стремится к уровню экспрессии в контрольной группе $95,56 \pm 15,30$. По отношению экспрессии прогестероновых рецепторов в строме эндометрия результаты остались прежними, тогда как в уровне экспрессии PR в железах получены положительные результаты, показатели после лечения возросли и сравнялись со значениями группы фертильных женщин, после лечения в группе с бесплодием экспрессия PR в железах составила $231,12 \pm 21,16$, а в контрольной группе $231,21 \pm 24,44$. После проведения комплексной терапии, включающую ультразвуковое орошение полости матки, в группе у пациенток с бесплодием улучшились показатели соотношения PR/ ER α как в строме, так и в железах. Показатели соотношения экспрессии PR/ ER α в строме увеличились до $2,63 \pm 0,07$, что близко к контрольным значениям $2,76 \pm 0,06$, в железах до $1,04 \pm 0,46$ в сравнении с контрольными значениями $1,16 \pm 0,29$ (таблица 32).

Таблица 32 - Показатели иммуногистохимического исследования экспрессии рецепторов к половым стероидам в эндометрии пациенток с бесплодием в динамике лечения (H-score, M \pm m, p)

Показатели	Первая группа (пациентки с бесплодием, n=46)		Группа контроля n=28	Уровень значимости различий, p
	до лечения	после лечения		
	1	2	3	
ER α в строме	$117,18 \pm 10,05$	$101,56 \pm 18,75$	$95,56 \pm 15,30$	-

PR в строме	265,48±5,14	266,68±7,42	263,47±17,15	-
ERα в железах	231,12±8,77	222,76±14,23	198,49±18,69	-
PR в железах	214,71±13,02	231,12±21,16	231,21±24,44	-
PR/ ERα в строме	2,26±0,04	2,63±0,07	2,76±0,06	-
PR/ ERα В железах	0,92±0,08	1,04±0,46	1,16±0,29	-

После проведения низкочастотного ультразвукового орошения полости матки, при повтором заборе материала у пациенток с привычным невынашиванием беременности не было выявлено достоверно значимого изменения уровня экспрессии рецепторов к эстрадиолу альфа и прогестероновых рецепторов в железах эндометрия. Зато в стромальном компоненте значительно снизилась экспрессия рецепторов к ERα с 129,12±10,96 до 99,0±6,28, что близко к контрольным показателям 95,56±15,30. После комплексного лечения пациенток с привычным невынашиванием достоверно значимо увеличилась экспрессия PR в строме, до лечения 247,97±10,16, после лечения составило 284,00±4,96, что даже выше, чем в контрольной группе 263,47±17,15, $p_{1-2}=0,023$. Также в стромальном компоненте эндометрия достоверно значимо возросло и стало в пределах нормы соотношение PR/ ERα, до лечения показатель был меньше 2 и составил 1,92±0,34, после лечения 2,87±0,03, $p_{1-2}=0,042$ (таблица 33).

Таблица 33 - Показатели иммуногистохимического исследования экспрессии рецепторов к половым стероидам в эндометрии пациенток с привычным невынашиванием в динамике лечения (H-score, M±m, p)

Показатели	Вторая группа (пациентки с привычным невынашиванием, n=44)		Группа контроля n=28	Уровень значимости различий, p
	до лечения	после лечения		
	1	2	3	
ERα в строме	129,12±10,96	99,0±6,28	95,56±15,30	-
PR в строме	247,97±10,16	284,00±4,96	263,47±17,15	$p_{1-2}=0,023$

ER α в железах	213,15 \pm 10,92	204,43 \pm 12,47	198,49 \pm 18,69	-
PR в железах	233,50 \pm 13,02	234,86 \pm 23,96	231,21 \pm 24,44	-
PR/ ER α в строме	1,92 \pm 0,34	2,87 \pm 0,03	2,76 \pm 0,06	p ₁₋₂ =0,042 p ₁₋₃ =0,040
PR/ ER α В железах	1,09 \pm 0,48	1,15 \pm 0,06	1,16 \pm 0,29	-

На фоне лечения с применением циклической гормональной терапии и низкочастотного ультразвукового орошения полости матки достоверно значимо улучшились показатели клеточного и гуморального звена иммунного ответа в эндометрии, что свидетельствует об уменьшении воспалительных процессов в тканях эндометрия. Экспрессия маркера клеточного звена CD3⁺ в эндометрии пациенток с бесплодием достоверно значимо снизился как в строме, так и в железах. В строме эндометрия экспрессия CD3⁺ до лечения CD3⁺, после лечения 23,84 \pm 3,64, p₁₋₂=0,004, в железах эндометрия до лечения 50,57 \pm 4,62, после лечения 13,23 \pm 1,28, p₁₋₂=0,021. Уровень экспрессии маркера гуморального звена иммунного ответа CD20⁺ достоверно значимо снизился лишь в стромальном компоненте эндометрия, до лечения 25,72 \pm 5,42, после лечения 2,75 \pm 0,25, p₁₋₂=0,031.

Экспрессия натурального киллера CD56⁺ возросла как в строме эндометрия у женщин с бесплодием, так и в железах, но оказалось достоверно не различима. Достоверно значимо после лечения уменьшилась экспрессия плазматических клеток, свидетельствующих о наличии хронического эндометрита. До лечения уровень экспрессии CD138⁺ был 21,84 \pm 3,43, после лечения снизился до 7,24 \pm 2,81, p₁₋₂=0,035 (таблица 34).

Таблица 34 - Показатели иммуногистохимического исследования экспрессии клеточного и гуморального звена иммунной системы и воспалительного ответа в эндометрии женщин с бесплодием в динамике лечения (M \pm m)

Показатели	Первая группа (пациентки с бесплодием, n=46)		Группа контроля n=28	Уровень значимости различий, p
	до лечения	после лечения		
	1	2	3	4
Маркер CD3 ⁺ в	78,18 \pm 6,88	23,84 \pm 3,64	3,01 \pm 1,51	p ₁₋₂ =0,004 p ₁₋₃ =0,001

строме				
Маркёр CD3+ в железах	50,57±4,62	13,23±1,28	11,01±1,54	p ₁₋₂ =0,021 p ₁₋₃ =0,015
Маркёр CD20+ в строме	25,72±5,42	2,75±0,25	0,80±0,41	p ₁₋₂ =0,031 p ₁₋₃ =0,015
Маркёр CD20+ в железах	6,14±1,31	2,12±0,30	3,12±1,46	-
Маркёр CD56+ в строме	35,31±2,16	45,76±3,20	47,9±2,21	-
Маркёр CD56+ в железах	7,33±1,13	17,28±2,34	14,58±2,15	p ₁₋₃ =0,035
Маркёр CD138+ в строме	21,84±3,43	7,24±2,81	0	p ₁₋₂ =0,035

В группе с привычным невынашиванием после лечения, направленного на улучшение рецептивности эндометрия, значительно снизились показатели иммунного и воспалительного ответа. Выявлена положительная динамика в снижении экспрессии всех показателей. Достоверно значимо на фоне лечения упал уровень экспрессии CD3+ и в железах, и в строме. После лечения экспрессия маркера CD3+ в строме эндометрия составила 14,50±0,60, p₁₋₂=0,003, в железах эндометрия снизилась до 4,55±0,14, что даже ниже чем в контрольной группе 11,01±1,54, p₁₋₂=0,003. Экспрессия CD20+ снизилась после лечения в 2 раза в строме эндометрия, p₁₋₂=0,042.

После проведенной комплексной терапии достоверно значимо в группе с привычным невынашиванием у пациенток снизился до контрольных значений уровень экспрессии CD56+ как в строме, так и в железах эндометрия. Исходно до лечения в сравнении с группой бесплодия экспрессия данного маркера наоборот превышала контрольные значения. В динамике проведенного лечения экспрессия натурального киллера снизилась в строме с показателя 77,89±1,25 до 43,76±2,80, что стало сопоставимо с уровнем экспрессии у фертильных женщин 47,9±2,21, p₁₋₂=0,032. В железах эндометрия также достоверно значимо отмечено уменьшение экспрессии CD56+ в 2 раза, p₁₋₂=0,034. В отношении экспрессии плазматических

клеток также на фоне лечения зарегистрирован положительный эффект и уровень экспрессии маркера хронического воспаления CD138+ снизился в 9 раз, с показателя $75,77 \pm 4,17$ до $8,34 \pm 0,07$, $p_{1-2} = 0,009$ (таблица 35).

Таблица 35 - Показатели иммуногистохимического исследования экспрессии клеточного и гуморального звена иммунной системы и воспалительного ответа в эндометрии женщин с привычным невынашиванием в динамике лечения ($M \pm m$)

Показатели	Вторая группа (пациентки с привычным невынашиванием, n=44)		Группа контроля n=28	Уровень значимости различий, p
	до лечения	после лечения		
	1	2		
Маркер CD3+ в строме	$75,76 \pm 4,26$	$14,50 \pm 0,60$	$3,01 \pm 1,51$	$p_{1-2} = 0,003$ $p_{1-3} = 0,001$
Маркер CD3+ в железах	$39,10 \pm 2,27$	$4,55 \pm 0,14$	$11,01 \pm 1,54$	$p_{1-2} = 0,003$ $p_{1-3} = 0,011$
Маркер CD20+ в строме	$20,39 \pm 4,94$	$8,54 \pm 2,04$	$0,80 \pm 0,41$	$p_{1-2} = 0,042$ $p_{1-3} = 0,032$
Маркер CD20+ в железах	$9,45 \pm 1,22$	$4,05 \pm 0,12$	$3,12 \pm 1,46$	-
Маркер CD56+ в строме	$77,89 \pm 1,25$	$43,76 \pm 2,80$	$47,9 \pm 2,21$	$p_{1-2} = 0,032$
Маркер CD56+ в железах	$28,75 \pm 1,17$	$13,39 \pm 0,06$	$14,58 \pm 2,15$	$p_{1-2} = 0,034$ $p_{1-3} = 0,021$
Маркер CD138+ в строме	$75,77 \pm 4,17$	$8,34 \pm 0,07$	0	$p_{1-2} = 0,009$

В эндометрии женщин первой группы с бесплодием после проведенного лечения статистически значимо возрос показатель сигнальных молекул LIF и уровень рецепции к ним (LIF-R), более выражено это проявилось в строме эндометрия. Достоверно значимо увеличилась экспрессия фактора, ингибирующего лейкемию (LIF) и стало даже чуть выше контрольных значений. До лечения экспрессия LIF составила $120,25 \pm 5,93$, после лечения $144,34 \pm 6,32$, $p_{1-2} = 0,047$.

В период предполагаемого «окна имплантации» увеличился на фоне лечения именно более значимо в стромальном компоненте уровень рецепторов к LIF. Экспрессия LIF-R в строме эндометрия достоверно возросла в группе с бесплодием с $67,75 \pm 10,12$ до $103,73 \pm 8,50$, $p_{1-2} = 0,001$ (таблица 36).

Таблица 36 - Показатели иммуногистохимического исследования экспрессии сигнальных молекул у женщин с бесплодием в динамике комплексной терапии (H-score, $M \pm m$, p)

Показатели	Первая группа (пациентки с бесплодием, n=46)		Группа контроля n=28	Уровень значи- мости различий, p
	до лечения	после лече- ния		
	1	2		
LIF	$120,25 \pm 5,93$	$144,34 \pm 6,32$	$132,32 \pm 10,29$	$p_{1-2} = 0,047$
LIF-R в строме	$67,75 \pm 10,12$	$103,73 \pm 8,50$	$85,54 \pm 19,30$	$p_{1-2} = 0,001$ $p_{1-3} = 0,022$
LIF-R в желе- зах	$123,53 \pm 12,00$	$140,40 \pm 17,09$	$165,54 \pm 23,14$	$p_{1-3} = 0,043$

У пациенток в группе с привычным невынашиванием беременности в динамике проведённого лечения статистически значимо увеличилась экспрессия сигнальных молекул LIF и по результату эффективного лечения данные стали сопоставимы с уровнем экспрессии у фертильных женщин. До лечения экспрессия LIF составила $107,70 \pm 5,75$, после лечения $127,16 \pm 8,76$, в контрольной группе $132,32 \pm 10,29$, $p_{1-2} = 0,042$. Уровень рецепции к LIF в имплантационный период как в строме, так и в железах значительно не улучшился (таблица 37).

Таблица 37 - Показатели иммуногистохимического исследования экспрессии сигнальных молекул у женщин с привычным невынашиванием в динамике комплексной терапии (H-score, $M \pm m$, p)

Показатели	Вторая группа (пациентки с привычным невына- шиванием, n=44)		Группа контроля n=28	Уровень значи- мости различий, p
	до лечения	после лече- ния		
	1	2		
LIF	$107,70 \pm 5,75$	$127,16 \pm 8,76$	$132,32 \pm 10,29$	$p_{1-2} = 0,042$
LIF-R в строме	$64,68 \pm 8,59$	$70,50 \pm 15,34$	$85,54 \pm 19,30$	-

LIF-R в железах	126,63±10,88	135,60±17,46	165,54±23,14	p ₁₋₃ =0,043
-----------------	--------------	--------------	--------------	-------------------------

В аспиратах эндометрия, взятых во вторую фазу менструального цикла, после комплексной терапии в группе у женщин с бесплодием статистически значимо в строме эндометрия увеличилась экспрессия маркера ангиогенеза CD 34, что говорит о положительном влиянии ультразвука низкой частоты на процессы сосудобразования и кровоснабжения эндометрия в период «окна имплантации». Исходно до лечения уровень экспрессии CD 34 был низок и составлял 20,90±0,78, после комплексного лечения он повысился до 33,84±3,64, что близко к значения экспрессии данного маркера у фертильных женщин 37,97±1,22, p₁₋₂=0,035 (таблица 38).

Таблица 38 - Показатели иммуногистохимического исследования экспрессии регулятора ангиогенеза и сосудисто-эндотелиального фактора роста в эндометрии женщин с бесплодием в динамике комплексного лечения (M±m, p)

Показатели	Первая группа (пациентки с бесплодием, n=46)		Группа контроля n=28	Уровень значимости различий, p
	до лечения	после лечения		
	1	2	3	4
CD 34 в эндотелии стромы	20,90±0,78	33,84±3,64	37,97±1,22	p ₁₋₂ =0,035 p ₁₋₃ =0,026
VEGF-A	216,20±9,06	231,66±14,66	268,12±10,34	p ₁₋₃ =0,018

Среди пациенток с привычным невынашиванием беременности эффект от лечения сказался больше на таком маркере ангиогенеза, как сосудисто-эндотелиальном факторе роста А, что говорит об улучшении в этой группе процессов ангиогенеза после лечения. Экспрессия VEGF-A до лечения находилась в пределах 240,87±8,17, после лечения достоверно значимо улучшились показатели до 276,55±12,84, что стало даже выше контрольных значений 268,12±10,34, p₁₋₂=0,039. Экспрессия маркера ангиогенеза CD 34 наоборот стала несколько ниже, чем до лечения, p₁₋₂=0,042 (таблица 39).

Таблица 39 - Показатели иммуногистохимического исследования экспрессии регулятора ангиогенеза и сосудисто-эндотелиального фактора роста в эндо-

метрии женщин с привычным невынашиванием в динамике комплексного лечения ($M \pm m$)

Показатели	Вторая группа (пациентки с привычным невынашиванием, n=44)		Группа контроля n=28	Уровень значимости различий, р
	до лечения	после лечения		
	1	2	3	4
CD 34 в эндотелии стромы	27,90±3,15	24,85±1,66	37,97±1,22	p ₁₋₂ =0,042
VEGF-A	240,87±8,17	276,55±12,84	268,12±10,34	p ₁₋₂ =0,039 p ₁₋₃ =0,003

5.6. Состояние микробиоты репродуктивного тракта после комплексной терапии

Всем пациенткам до лечения были забраны бактериологические посевы отделяемого из цервикального канала. После проведения курса лечения, повторно проводился забор материала и исследование его бактериологическим методом.

Среди всех обследуемых пациенток нормальная микрофлора, а именно *Lactobacillus spp.* достоверно чаще обнаружены в группе контроля (53,57%). В основных группах чаще встречается дисбиоз влагалища. Патологическая флора по результатам обследования весьма разнообразна и всю патогенную флору мы объединили в две группы, группу условно-патогенной микрофлоры и группу облигатной микрофлоры. Условно-патогенная флора: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*. Облигатно-патогенная флора: *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus haemolyticus*. Нарушение микрофлоры влагалища может приводить к воспалительным заболеваниям органов малого таза, стать источником хронического эндометрита и привести в конечном итоге к нарушению рецепторного аппарата эндометрия.

Среди микрофлоры в основных группах на исходном этапе до лечения преобладала облигатно-патогенная микрофлора. В группе у пациенток с бесплодием доля интенсивности колонизации влагалища облигатно-патогенными микроорга-

низмов составила 26,08%, в группе с привычным невынашиванием 25,0%, в контрольной группе также встречалось нарушение микрофлоры, но лишь в 14,28 %. Количество стерильных бактериологических посевов не отличалось от контрольной группы, зато доля *Lactobacillus* spp. в 2 раза была ниже в группе пациенток с бесплодием (26,08%), в 4 раза ниже в группе с привычным невынашиванием (13,64%) в сравнении с данными контрольной группы 53,57%, $p_{1-3}=0,017$, $p_{2-3}=0,000$ (таблица 40).

Таблица 40 - Характер урогенитальной инфекции у женщин обследуемых групп до лечения (%)

Показатели	Основная группа с бесплодием (n=46)		Основная группа с невынашиванием (n=44)		Контроль (n=28)		Уровень значимости различий, p
	1		2		3		
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	p
Роста микрофлоры не обнаружено	20	43,48	22	50	13	46,43	-
<i>Lactobacillus</i> spp.	12	26,08	6	13,64	15	53,57	$p_{1-3}=0,017$ $p_{2-3}=0,000$
Условно-патогенная флора	6	13,04	7	15,91	4	14,28	-
Облигатная флора	12	26,08	11	25,0	4	14,28	$p_{1-3}=0,051$

Escherichia coli преобладала почти в два раза в сравнении с контрольной группой у пациенток в группе с бесплодием. *Enterococcus faecalis* достоверно чаще обнаруживался в первой основной группе у пациенток с бесплодием в сравнении с группой фертильных женщин, 19,57% против 3,57% в контрольной группе, $p_{1-3}=0,05$. *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus haemolyticus* напротив чаще колонизировали влагалище женщин с привычным невынашиванием беременности. Структуру распределения патогеной микрофлоры в группах обследуемых женщин можно наглядно увидеть на рисунке 2.

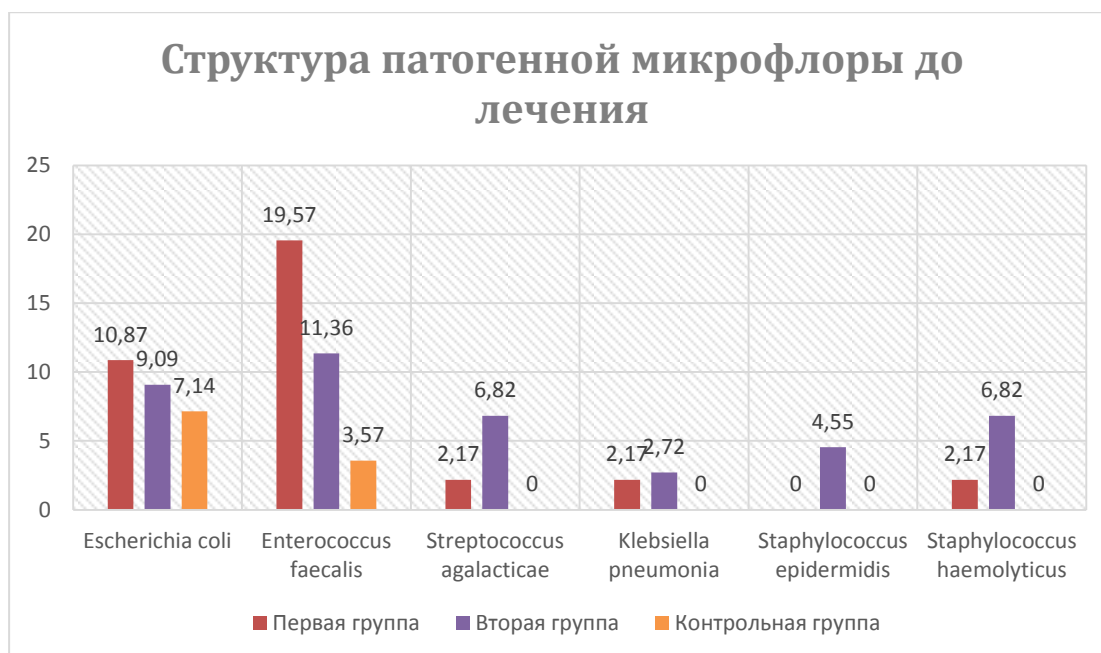


Рисунок 2 - Структура патогенной микрофлоры у пациенток в группах наблюдения до лечения (%)

После проведения курса комплексной терапии, включающей гормонотерапию и орошение полости матки ультразвуком низкой частоты, в основных группах наблюдения были получены достоверно значимые результаты, уменьшилась частота колонизации влагалища как облигатно-патогенными микроорганизмами, так и условно-патогенными. Увеличился рост нормальной микрофлоры, что стало сопоставимо с контрольной группой обследуемых женщин.

У пациенток в первой группе с бесплодием доля *Lactobacillus* spp. возросла с 26,08% до 54,35% что является достоверно значимо, $p_{1-2}=0,001$. Условно-патогенная микрофлора после лечения не была обнаружена, $p_{1-2}=0,014$. Также положительно лечение сказалось и на облигатно-патогенной микрофлоре, до лечения в группе с бесплодием 26,08, после лечения не высевалась ни у одной пациентки, $p_{1-2}=0,001$ (таблица 41).

Таблица 41 - Динамика микробиологического состава влагалища в динамике лечения в группе пациенток с бесплодием на фоне лечения (%)

Показатели	Первая группа (пациентки с бесплодием, n=46)				Группа контроля n=28		Уровень значи- мости различий, p
	до лечения		после лечения				
	1		2		3		
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Роста микрофлоры не обнаружено	20	43,48	21	45,65	13	46,43	-
<i>Lactobacillus</i> spp.	12	26,08	25	54,35	15	53,57	p ₁₋₃ =0,017 p ₁₋₂ =0,001
Условно- патогенная флора	6	13,04	0	0,0	4	14,28	p ₁₋₂ =0,014 p ₂₋₃ =0,008
Облигатная флора	12	26,08	0	0,0	4	14,28	p ₁₋₂ =0,001 p ₁₋₃ =0,051 p ₂₋₃ =0,008

Среди пациенток с привычным невынашиванием беременности после лечения наблюдался значительный рост *Lactobacillus* spp. с 13,64% до 43,18%, p₁₋₂=0,000. Доля колонизации условно-патогенной микрофлоры влагалища пациенток с привычным невынашиванием сократилось в 7 раз, p₁₋₂=0,014. Также лечение оказалось абсолютно эффективным в отношении облигатно-патогенной микрофлоры, после лечения высево не обнаружено, p₁₋₂=0,001 (таблица 42).

Таблица 42 - Динамика микробиологического состава влагалища в группе пациенток с привычным невынашиванием на фоне лечения (%)

Показатели	Вторая группа (пациентки с привычным невы- нашиванием, n=44)				Группа контроля n=28		Уровень значимости различий, p
	до лечения		после лечения				
	1		2		3		
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Роста микрофлоры не обнаружено	22	50	24	54,55	13	46,43	-
<i>Lactobacillus</i> spp.	6	13,64	19	43,18	15	53,57	p ₁₋₂ =0,000 p ₁₋₃ =0,000
Условно- патогенная флора	7	15,91	1	2,27	4	14,28	p ₁₋₂ =0,014 p ₂₋₃ =0,051
Облигатная флора	11	25,0	0	0,0	4	14,28	p ₁₋₂ =0,001 p ₂₋₃ =0,010

На фоне исходно облигатно-патогенной микрофлоры во влагалище после санации и проведения комплексной терапии, включающей ультразвуковое орошение полости матки, беременность наступила в первой группе 23,91% случаях, во второй группе в 22,73% случаях. На фоне исходно условно-патогенной микро-

флоры эти показатели чуть ниже и составили в первой группе 10,87%, во второй группе 13,64% (таблица 43).

Таблица 43 – Частота наступления беременности в зависимости от исходной микрофлоры влагалища (%)

Показатели	Основная группа с бесплодием (n=46)		Основная группа с невынашиванием (n=44)	
	1		2	
	абс.	%	абс.	%
Наступила беременность	34	73,91	35	79,55
Беременность на фоне стерильных бак.посевов	13	28,26	17	38,64
Беременность на фоне <i>Lactobacillus spp.</i>	9	19,56	4	9,09
Беременность на фоне исходно условно-патогенной микрофлоры	5	10,87	6	13,64
Беременность на фоне исходно облигатной микрофлоры	11	23,91	10	22,73

5.7. Репродуктивные исходы проведенного лечения у пациенток групп наблюдения

После проведения комплексной терапии у пациенток первой группы с бесплодием в анамнезе, из которых 32,61% составило первичное бесплодие, в течении первого года после лечения, направленного на восстановление рецептивности эндометрия, беременность наступила в 34 (73,91%) случаях. Среди пациенток в группе с привычным невынашиванием беременности, из которых 50 % страдали вторичным бесплодием, беременность наступила в 35 (79,55%) случаях (рисунок 2).

После лечения стандартным методом, включающую только циклическую гормональную терапия, по сравнению с комплексным лечением в первой группе (73,91%) и второй группе (79,55%), беременность на фоне стандартного лечения

наступила только в 34,62 % случаях, что является статистически значимо $p_{1-3}=0,001$, $p_{2-3}=0,000$.

При сравнении со стандартной терапией при комплексном лечении беременность естественным путём наступала значительно чаще, в первой группе в 76,47%, во второй группе 80,0% против 55,56% в группе сравнения. Отмечено, что при применении стандартной терапии пациенткам чаще приходилось применять вспомогательные репродуктивные технологии и в результате ВРТ беременность наступила в 44,44% случаях в структуре всех наступивших беременностей (9), что значительно больше чем в первой группе 23,53% и во второй группе 20,0%.

Среди наступивших беременностей тем или иным способом после проведения комплексного лечения достоверно значимо больше было срочных родов. Срочные роды в первой группе составили 88,24%, во второй группе 85,71% в отличие от группы сравнения, где срочные роды были реже в 2 раза и составили 44,44%, $p_{1-3}=0,004$, $p_{2-3}=0,008$. Преждевременными родами при использовании комплексного лечения беременности завершились в группе с бесплодием лишь в 5,88% случаях, во второй группе 5,71% против группы сравнения 22,22%.

Самопроизвольные выкидыши статистически значимо наблюдались при использовании только стандартного лечения 11,11%, $p_{1-3}=0,049$, $p_{2-3}=0,046$.

При применении комплексного лечения неразвивающаяся беременность наблюдалась в группе пациенток с привычным невынашиванием, в том числе из них одна по причине генетической патологии (синдром Дауна). После стандартного лечения также в 2 случаях (22,22%) беременности завершились её регрессом, что достоверно значимо по сравнению с отсутствием неразвивающихся беременностей в группе бесплодия на фоне комплексного лечения, $p_{1-3}=0,005$ (рисунок 3), (таблица 44).

Таблица 44 – Эффективность лечения в плане наступления беременности и её исходов в сравнении комплексной и стандартной терапии (%)

Показатели	Комплексная терапия				Стандартная терапия (группа сравнения) n=26		Уровень значимости раз- личий, p
	Первая группа (бесплодие) n=46		Вторая группа (привычное невынашивание) n=44				
	1		2		3		
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Наступила бере- менность	34	73,91	35	79,55	9	34,62	p ₁₋₃ =0,001 p ₂₋₃ =0,000
Беременность спонтанная	26	76,47	28	80,0	6	66,67	-
Беременность в результате ВРТ	8	23,53	7	20,0	3	33,33	-
Из них:							
Срочные роды	30	88,24	30	85,71	4	44,44	p ₁₋₃ =0,004 p ₂₋₃ =0,008
Преждевременные роды	2	5,88	2	5,71	2	22,22	-
Самопроизвольный выкидыш	0	0	0	0	1	11,11	p ₁₋₃ =0,049 p ₂₋₃ =0,046
Неразвивающаяся беременность	0	0	3	8,57	2	22,22	p ₁₋₃ =0,005



Рисунок 3 – Сравнение исходов лечения между стандартной и комплексной терапией (%)

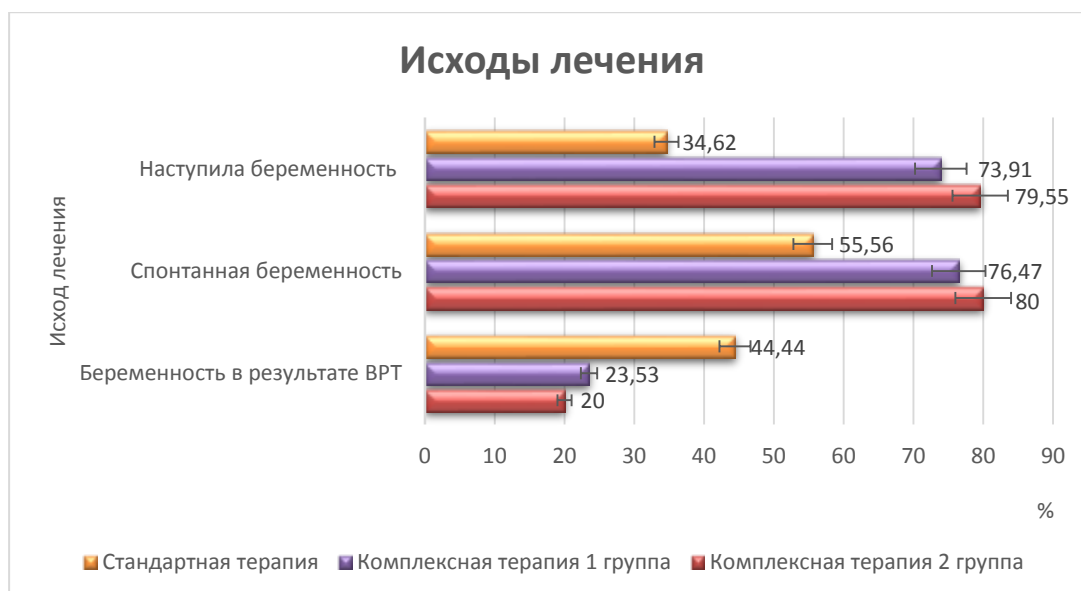


Рисунок 4 – Структура репродуктивных исходов при сравнении стандартного и комплексного лечения (%)

Таким образом, комплексная терапия, включающая низкочастотное ультразвуковое орошение полости матки, по сравнению со стандартной терапией способствовала статистически значимому регрессу клинической симптоматики и нормализации менструального цикла у пациенток с гипоплазией эндометрия. Достоверно значимо увеличилась толщина М-ЭХО у пациенток при использовании комплексной терапии, прирост эндометрия в обеих основных группах составил >3 мм.

По итогу использования ультразвукового низкочастотного орошения полости матки в динамике мы видим у пациенток с бесплодием и привычным невынашиванием улучшение гистологической картины эндометрия, снижения числа пациенток с признаками хронического эндометрита, восстановление цитоархитектоники эндометрия, нормализации процесса синхронного созревания желёз. Количество пиноподий при световой микроскопии в первой группе увеличилось до 85,0%, во второй группе до 83,33%. У пациенток с привычным невынашиванием достоверно больше усилилась выраженность сосудистого компонента эндометрия до 66,67%.

При сравнении эффективности лечения по ультраструктурным характеристикам рецептивности эндометрия у пациенток с бесплодием статистически зна-

чимо отмечено уменьшение атрофии эндометрия, снижение зон «спокойного» эпителия, нормализация функции клеток микроокружения и увеличения в период «окна имплантации» зрелых пиноподий. Среди пациенток с привычным невынашиванием статистически значимо в 2 раза снизилась картина нарушенных межклеточных контактов до 42,24% и увеличилась до 57,77% зона интенсивной секреции в эндометрии.

Имуногистохимическое исследование образцов эндометрия у пациенток после комплексного лечения зафиксировало в обеих группах нормализацию уровня экспрессии рецепторов к половым гормонам, увеличение экспрессии маркёров ангиогенеза и значительное снижение число плазматических клеток.

Оценивая эффективность лечения в течение года после лечения по числу наступивших беременностей, получили такие результаты: в группе пациенток с бесплодием беременность наступила у 73,91% (34) пациенток, в группе с привычным невынашиванием у 79,55% (35).

Результаты приведенных исследований опубликованы:

1. О.А. Мелкозёрова, Н.В. Башмакова, А.В. Есарева. Современные технологии подготовки пациенток с патологией эндометрия вирусной этиологии к программам ВРТ. Российский вестник акушера-гинеколога. 2017:6;

ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проблема репродуктивных неудач, бесплодного брака, ранних репродуктивных потерь является актуальной проблемой акушерства и гинекологии, поскольку имеет не только медицинское, но и социальное значение. По данным Всемирной организации здравоохранения в Российской Федерации количество бесплодных пар достигло критического уровня [38,164]. В России за период 1995 по 2013 г. показатель бесплодных супружеских пар увеличился в 1,9 раза в абсолютных числах (с 48 до 78 тыс.) [40,69]. Это приводит к снижению демографических показателей рождаемости в нашей стране, что негативно сказывается на социально-экономическом положении.

Несмотря на значительные успехи, достигнутые в последние десятилетия в области репродуктивной медицины, эмбриологии и генетики, проблема бесплодного брака еще далека от своего решения [2,6]. По подсчётам многих учёных в структуре бесплодия основную долю занимает маточный фактор [15]. Эффективность метода ЭКО по данным мировой статистики не превышает 40% и число неудач ЭКО не снижается [99]. Отсутствие полноценной имплантации человеческого эмбриона в связи с нарушением рецептивности эндометрия является наиболее значимой причиной репродуктивных неудач ВРТ, занимая в их структуре до 70% [15,69].

Среди всех зарегистрированных репродуктивных потерь половина приходится на привычные потери беременности [40]. Неразвивающаяся беременность в структуре привычного невынашивания является преобладающим звеном, определяя не только масштабы репродуктивных потерь, но и неблагоприятный репродуктивный прогноз [76]. Потому в последние годы в рамках научного интереса находятся молекулярные исследования, посвященные изучению рецептивности эндометрия при патологии имплантации, связанной с бесплодием и привычным

невынашиванием беременности. Одной из причин отсутствия имплантации может являться именно «тонкий» эндометрий [24].

Несомненно, успех переноса эмбриона в циклах ЭКО определяется качеством «диалога» между бластоцистой и рецепторным аппаратом эндометрия в период «окна имплантации» [99]. В литературе описаны различные макро- и микроскопические изменения в эндометрии, которые могут явиться причиной нарушения имплантации бластоцисты: несоответствие структуры эндометрия дню менструального цикла, нарушение гемодинамики в сосудах матки, склеротические и иммунологические изменения в эндометрии [45,51]. Половые (эстрогены и прогестерон) и другие гормоны, простагландины, интегрин, молекулы адгезии, ростовые факторы обеспечивают адекватную поддержку процесса имплантации [99].

По мнению многих исследователей субоптимальной толщиной эндометрия в период «окна имплантации» в программах ВРТ для наступления беременности считается толщина эндометрия не менее 8 мм [33,45].

Исследования последних лет позволили выявить тесную взаимосвязь между патологиями репродуктивной системы и нарушениями процессов ангиогенеза [53,128,160]. У пациенток с исходным истончением эндометрия менее 8 мм выявлено значимое снижение визуализации мелких артериальных сосудов (базальных и спиральных артерий) и высокорезистентный кровоток в сосудах матки [17,22,25]. Известно, что толщина М-ЭХО более 8 мм и трёхслойная структура эндометрия – основные ультразвуковые маркёры рецептивности эндометрия, а показатель васкуляризации – прогностический признак в отношении имплантации в программах ЭКО [158].

Нет четкого определения понятию «тонкий» эндометрия, гипоплазии эндометрия, такой нозологии нет в МКБ-10. Но говоря о гипоплазии эндометрия, мы подразумеваем структурные и функциональные его нарушения, которые и приводят к нарушению рецептивности эндометрия. Понятие рецептивности эндометрия неразрывно связано с «окном имплантации», именно в этот короткий период, длящийся не более 48 часов, эндометрий становится максимально рецептивным

[131]. Этот период для успешной имплантации синхронно должен совпасть с развитием эмбриона до стадии бластоцисты [7,10,102].

На протяжении последнего десятилетия учёные пытались разобраться в механизмах процесса имплантации. Множество исследований посвящено описанию структурной трансформации эндометрия по фазам менструального цикла, последовательным изменениям эндометрия в секреторную фазу. Но лишь морфологического исследования для оценки рецептивности эндометрия оказалось недостаточно [21,49]. Далее исследования начались на генетическом, тканевом и клеточном уровнях. Было изучено большое количество маркёров рецептивного эндометрия, однако нет чёткого единого алгоритма обследования пациенток и методов лечения «тонкого» эндометрия, направленного именно на восстановление рецептивного аппарата [18,150].

Гипоплазия эндометрия может возникать по причине перенесенных воспалительных заболеваний органов малого таза, изменений гормонального гомеостаза, врачебных манипуляций и операций, связанных с механической травмой базального слоя эндометрия. В следствии чего возникает нарушение межклеточных взаимодействий, склероз стромы вокруг сосудов, изменения ангиоархитектоники тканей и ишемия [94,83]. Длительная и часто бессимптомная персистенция инфекционных агентов в эндометрии приводит к выраженным изменениям в тканевой структуре, препятствуя нормальной имплантации и плацентации, формируя патологический ответ на беременность, а также вызывая нарушения пролиферации и нормальной циклической трансформации эндометрия [19,122,159].

Имеется несколько подходов к терапии недостаточности секреторной активности эндометрия с целью создания благоприятных условий для развития беременности и её вынашивания. При выявлении инфекционного агента применяются антибиотики или противовирусные средства, а также применяются иммуномодулирующие препараты, гормоны, средства, улучшающие микроциркуляцию в тканях [10,48]. В течение последних лет было предложено множество подходов, направленных на увеличение толщины и улучшение структуры эндометрия, но ни

один из них не может полностью решить проблему восстановления нормальной функции эндометрия. На первый взгляд, самым простым и доступным, казался метод гормональной терапии, основанный на зависимости роста и функций эндометрия от уровня овариальных гормонов. К сожалению, применение эстрогенов не принесло ожидаемых результатов, так как зачастую они назначаются без понимания механизма формирования нарушения рецептивности эндометрия и применяются в неоправданно больших дозировках [44,88].

В литературе за последние пару лет имеются работы, посвященных медикаментозной терапии нарушений маточной гемодинамики и состояния эндометрия [153,156]. Использование физических методов лечения с целью прегравидарной подготовки эндометрия у женщин с репродуктивными неудачами, оказывает эффективное влияние на маточную гемодинамику и процессы регенерации, что приводит к увеличению частоты наступления и вынашивания беременности [78,83,84].

Все вышеизложенное и определило цель данной работы: разработать комплексный подход к восстановлению рецепторного аппарата у пациенток с репродуктивными неудачами в анамнезе.

Для реализации поставленной задачи в ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства Здравоохранения РФ было обследовано 144 пациентки репродуктивного возраста на базе консультативно-диагностического и гинекологического отделений. Из них 116 пациенток с бесплодием и привычным невынашиванием обусловленным гипоплазией эндометрия, толщина эндометрия этих пациенток в период «окна имплантации» не превышала 8 мм по данным ультразвукового исследования.

Исследование было открытым проспективным рандомизированным контролируемым.

Все женщины методом простой рандомизации с неравномерным распределением были по группам разделены на две когорты: первая когорта включила 2 основных группы, включившая 90 пациенток, которым проводили комплексное лечение с применением циклической гормональной терапии и трёх курсов низко-

частотного ультразвукового орошения полости матки. 1 группа включила 46 пациенток с бесплодием, обусловленным гипоплазией эндометрия, 2 группа включила 44 пациентки с привычным невынашиванием, обусловленным гипоплазией эндометрия. Вторая когорта составила 26 пациенток, которые получали стандартное лечение, включающее только применение циклической гормональной терапии (эстрогены в первую фазу цикла, препараты прогестерона во вторую фазу менструального цикла).

Контрольную группу составили 28 фертильных женщин репродуктивного возраста, которые не имели гинекологических заболеваний, обследовались по поводу мужского бесплодия и готовились в программу ВРТ. Этой группе пациенток не применялось ни одно из видов лечения.

С целью изучения поставленной проблемы были использованы такие методы как лабораторные, инструментальные, морфологические и методы статистической обработки, о которых подробно изложено во второй главе диссертации.

Пациентки основных групп наблюдения почти все имеют высшее образование и работают. В группе контроля лишь 60,70% пациенток имеют высшее образование. Из чего можно сделать вывод, что социальный статус работающих пациенток, занимающихся собственной карьерой мог явиться предпосылкой к развитию бесплодия и привычного невынашивания.

При выяснении анамнеза женщин основных групп было отмечено, что частота встречаемости соматической патологии у обследованных пациенток не отличалась от популяционных значений (контрольная группа). Однако достоверно чаще у пациенток первой и второй группы наблюдения встречаются такие заболевания как гипотиреоз, гиперпролактинемия и генетическая тромбофилия. У этих пациенток чаще наблюдались нарушения в системе гемостаза при наличии мутаций в генах, отвечающих за свёртываемость крови. Из чего следует, что нарушения процессов ангиогенеза и кровоснабжения эндометрия приводит к гипоплазии эндометрия, чем и может быть обусловлено бесплодие и привычное невынашивание у пациенток основных групп наблюдения.

Среди пациенток с гипоплазией эндометрия достоверно чаще наблюдался гипоменструальный синдром, альгодисменорея. Менструация была скудной и непродолжительной, на несколько дней меньше в сравнении с группой фертильных здоровых женщин, что подтверждает наличие «тонкого» эндометрия.

В группе с бесплодием часть женщин использовали с целью контрацепции внутриматочные спирали, что могло служить фактором риска в формировании хронического эндометрита, повреждении базального слоя эндометрия и как исход формирования его гипоплазии. А длительное использование внутриматочных контрацептивов приводит к появлению участков застойного полнокровия, сопровождающихся скоплением плазматических клеток и повышением степени проницаемости сосудистой стенки [42,43].

При изучении гинекологического анамнез выявлено, что выскабливание полости матки по поводу медицинского аборта в прошлом имели 18 (39,13%) пациенток из группы с бесплодием, что почти в два раза больше, чем в группе с привычным невынашиванием беременности 10 (22,73%). Большая часть пациенток с бесплодием начинали свою репродуктивную функцию с прерывания беременности по собственному желанию, что могло явиться ключевым звеном в патогенезе бесплодия. Выскабливание полости матки в связи с самопроизвольным выкидышем в первой группе было у 4(8,69%) пациенток, во второй группе у 17 (39,53%), по поводу неразвивающейся беременности у 19 (41,30%) в 1 группе и у 38 (86,36%) во второй группе соответственно. Давно известен тот факт, что выскабливание полости матки приводит к повреждению базального слоя эндометрия и по всей видимости лежит в основе формирования «тонкого» эндометрия, а также повторные инструментальные вмешательства в полость матки неминуемо приводят к развитию хронического эндометрита [72,77].

Изучая акушерский анамнез обследуемых женщин мы пришли к выводу, что в основных группах в сравнении с контрольной достоверно реже наблюдались срочные роды в анамнезе, в первой группе у 9 (19,56%) пациенток, во второй группе у 13 (29,55%) пациенток. Зато превалировало над контрольной группой

число преждевременных родов, в 4,35% случаях в первой группе и в 11,36% во второй группе у пациенток с привычным невынашиванием.

По данным нашего исследования зафиксировано, что после нескольких репродуктивных потерь в анамнезе в группе пациенток с привычным невынашиванием в половине случаев (50%) в итоге сформировалось вторичное бесплодие. Среди пациенток в первой группе вторичное бесплодие встречается достоверно чаще и преобладает над первичным бесплодием в этой же группе и составляет 80,43%. Это говорит о том, что многие пациентки в репродуктивном возрасте уже имели роды или одну раннюю репродуктивную потерю, а многие начинали путь с медицинского аборта. При этом у 15,21% пациенток первичное бесплодие перешло во вторичное. Многие пациентки перепробовав многие методы лечения прибегали к применению вспомогательных репродуктивных технологий, но и этот метод оказался неэффективным в плане наступления и вынашивания беременности, так как толщина эндометрия при пересадке эмбриона была не более 7 мм. Но и в тех единичных случаях где произошла имплантация, беременность завершилась ранней потерей, в первой группе у 9 (19,57%), во второй группе у 8 (18,18%) пациенток.

А в целом применяли вспомогательные репродуктивные технологии 26 (56,52%) пациенток из группы с бесплодием и 14 (31,82%) пациенток в группе с привычным невынашиванием. При наличии исходно «тонкого» эндометрия даже после проведения стимуляции эффективность программ была весьма низкой, беременность наступила в первой группе в 17,39% случаях, а во второй группе в 19,56%. И большая часть этих беременностей завершилась ещё в первом триместре. К двум попыткам ЭКО и более среди обследуемых пациенток прибегали чаще в первой группе - 17 пациенток и почти в два раза меньше во второй группе – 9 пациенток, что также указывает на низкую эффективность программ при наличии «тонкого» эндометрия и связано это в первую очередь с отсутствием имплантации.

Из вышеизложенного можно сделать выводы, что пациентки в первой группе с бесплодием женщины в браке, имеющие высшее образование. Доминирую-

щее положение занимает вторичное бесплодие (80,43%), у пациенток этой группы чаще дебют репродуктивной функции заканчивался медицинским абортom (39,13%). В сравнении с группой привычного невынашивания пациентки этой группы чаще применяли ВРТ с целью лечения бесплодия, а также именно в этой группе пациентки использовали 2 попытки ЭКО и более (36,96%). Пациентки с привычным невынашиванием также социально адаптированы, успешные женщины, преимущественно с высшим образованием. В этой группе высока частота самопроизвольных выкидышей (39,53%), внематочных беременностей (18,18%), а также неразвивающихся беременностей (86,36%), что в два раза больше, чем в первой группе. Вторичное бесплодие в данной группе развивается в 50% случаях. Эффективность ВРТ не высока, что связано в первую очередь с отсутствием имплантации, а во-вторых высокой частотой ранних репродуктивных потерь после ВРТ (18,18%).

Анализ анамнестических данных выявил у женщин основных групп высокую частоту хронических воспалительных заболеваний гениталий: хронический аднексит – 28,2% и 34,02%, хронический эндометрит – 67,39% и 66,4%, инфекции, передающиеся половым путём – 30,43% и 25%, соответственно в 1 и 2 группах. Таким образом, можно предположить, что наличие урогенитальной инфекции приводит к воспалительным заболеваниям органов малого таза и как завершающим этапом к гипоплазии эндометрия у этих женщин.

При исследовании частоты оперативных вмешательств в группах наблюдения достоверно чаще у пациенток с бесплодием и привычным невынашиванием проводились такие операции как сальпингоовариолизис, тубэктомии, иссечение внутриматочных синехий, полипэктомия. У большинства пациенток показанием к оперативному вмешательству послужило именно бесплодие.

При ультразвуковом исследовании пациенток до проведения терапии достоверных различий по параметрам матки и придатков в группах наблюдения выявлено не было. Однако закономерно, что в обеих группах наблюдения толщина М-ЭХО достоверно отличалась от контрольной группы, что ещё больше подтверждает наличие «тонкого» эндометрия. У пациенток с маточной формой бесплодия

достоверно чаще встречалась неоднородность структуры эндометрия (34,78%) и синехии полости матки (10,87%). Это свидетельствует о более глубоких нарушениях в эндометрии в этой группе пациенток, переход на следующую стадию с формированием атрофических изменений в эндометрии и замещением «травмированной» ткани грубыми соединительно-ткаными тяжами.

Исходя из вышеизложенного, можно предположить, что этиологическим фактором «тонкого» эндометрия является механическое его повреждение и воспалительные процессы в органах малого таза.

При изучении анамнеза пациентки первой группы указывали на наличие хронического эндометрита в 67,39% случаях, во второй группе 66,4%. По данным проведённого морфологического исследования признаки хронического эндометрита, сопровождающиеся наличием лимфоидных инфильтратов, плазматических клеток, фиброзом стромы и склерозом стенок спиральных артерий, были выявлены в первой группе в 33,33%, во второй группе 29,63%, что достоверно значимо в сравнении с контрольной группой. На меньший процент диагностики хронического эндометрита указывает то, что лучше он верифицируется при исследовании в 1 фазу менструального цикла, тогда как с целью изучения рецептивности эндометрия мы брали анализ на 20-22 день менструального цикла.

Обращает внимание, что в 2-3 раза превалирует число стерильных посевов отделяемого женских половых органов над числом лактофлоры, что может свидетельствовать о хроническом процессе, так как не смотря на отсутствие патогенной микрофлоры нет колонизации полезной лактофлоры. При бактериологическом исследовании отделяемого женских половых органов помимо отсутствия микрофлоры (стерильные посева) и наличия *Lactobacillus spp.* была выявлена в диагностическом значимом титре условно-патогенная микрофлора (в первой группе 13,04%, во второй - 15,91%) и облигатно-патогенная (первая группа - 26,08, вторая – 25,0%). *Escherichia coli* и *Enterococcus faecalis* достоверно чаще высевались в первой основной группе у пациенток с бесплодием в сравнении с группой фертильных женщин. *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus haemolyticus* напротив чаще колонизировали у женщин с привыч-

ным невынашиванием беременности. В целом, результаты микробиологического исследования согласуются с работами других авторов и подтверждают ведущее значение инфекционного фактора в генезе неразвивающейся беременности и бесплодия [30,56,91,167,170]. По данным литературы, наличие бактериальной колонизации женских половых органов является, как правило, следствием неспособности иммунной системы и неспецифических защитных сил организма (системы комплемента, фагоцитоза) полностью элиминировать инфекционный агент, что приводит к персистенции микроорганизмов, характеризующейся привлечением в очаг хронического воспаления мононуклеарных фагоцитов, естественных киллеров, синтезирующих провоспалительные цитокины [20,31,87,145].

Вне зависимости от того, что инфекционные агенты рассматриваются в качестве основного этиологического фактора эндометрита, по данным многих авторов только в 40-75% случаев удается выявить возбудитель инфекционного процесса [90,139].

Проведенное морфологическое исследование образцов эндометрия у пациенток с бесплодием и привычным невынашиванием, обусловленным гипоплазией эндометрия, позволило установить, что «тонкий» эндометрий характеризуется выраженным дисхронозом в созревании желез эндометрия. В период «имплантационного» окна в образцах эндометрия встречаются железы на стадии поздней пролиферации, а также в стадию поздней секреции, что говорит о нарушении синхронности созревания желез, сдвига «окна имплантации» и к моменту попадания бластоцисты в полость матки эндометрий ещё не готов принять её или, наоборот, к тому времени период имплантационного окна уже завершён. До лечения железы эндометрия у пациенток основных групп наблюдения в большинстве случаев (48,39% и 48,15% соответственно в 1 и 2 группах) были распределены неравномерно, была нарушена цитоархитектоника стромального комплекса эндометрия, строма зачастую была представлена плотным каркасом. «Плотные» участки стромы «тонкого» эндометрия с обеднением его сосудистой сети встречались у пациенток с бесплодием и привычным невынашиванием беременности почти в 4 раза чаще. Это может лежать в основе затруднения инвазии цитотро-

фобласта в спиральные артерии матки [65,95]. Плотная строма является важным диагностическим признаком «тонкого» эндометрия.

У пациенток с «тонким» эндометрием нарушена сосудистая сеть, просветы сосудов преимущественно сужены, наблюдается склерозирование спиральных артерий. Среди пациенток с бесплодием выраженность сосудистого рисунка наблюдалось в 48,0%, в группе с привычным невынашиванием в 37,0%, в группе контроля в 62,96% случаях. Аналогичные результаты получены и группой японских ученых, которые продемонстрировали, что толщина эндометрия прямо коррелирует с количеством сосудов в нем [111,160]. Пиноподии при световой микроскопии определялись в первой группе у 46,23%, а во второй группе встречались реже - в 29,63%, тогда как в контроле этот показатель составил - 62,96.

Есть предположения, что для успешной имплантации необходимо, чтобы как минимум 50% апикальной поверхности эндометрия были покрыты пиноподиями [1,16]. При помощи метода сканирующей электронной микроскопии было установлено, что максимальное развитие пиноподий на поверхности мембран желез эндометрия приходится на период «окна имплантации» [1,13,95,141]. Поэтому с целью более углубленного изучения развития пиноподий и трансформации эндометрия в период имплантации мы использовали метод СЭМ и исследовали образцы эндометрия, взятые на 20-22 день менструального цикла. В нашем исследовании было выявлено, что в период предполагаемой имплантации в гипопластичном эндометрии обследуемых пациенток в сравнении с фертильными женщинами имеются нарушения межклеточных контактов, асинхронность и акселерация созревания пиноподий, атипичные ресничные клетки, которые являются клетками окружения и способствуют адгезии бластоцисты на поверхности пиноподий. Отмечено, что именно в группе пациенток с бесплодием встречаются гетероморфные секреторные клетки (15,22%), атипичные ресничные клетки (50%), больше образцов с атрофичным эндометрием, о котором нам говорит наличие зон «спокойного» эпителий, другими словами «лысого».

Зрелые пиноподии в период окна имплантации отмечены в 71,42% образцов эндометрия фертильных здоровых женщин. Не каждый цикл в норме является

овуляторным. В основных группах наблюдения зрелые пиноподии закономерно чаще отмечались в образцах эндометрия пациенток с привычным невынашиванием беременности (55,94%), тогда как у пациенток с бесплодием зрелые пиноподии были обнаружены только в 37,76%. Зрелые пиноподии у женщин с привычным невынашиванием встречаются чаще, так как беременность у них всё же наступает, несмотря на нарушения в механизмах имплантации, что в дальнейшем приводит к её невынашиванию. Было также отмечено большое число созревающих пиноподий при наличии зрелых пиноподий, что говорит о нарушении синхронности процессов в «тонком» эндометрии (дисхроноз). Зона интенсивной секреции также менее выражена в группе с бесплодием (23,91%). Дисхроноз развития пиноподий приводит к репродуктивным неудачам, нарушением имплантации, невынашивании беременности, аномалии плацентации и может вызывать поздние осложнения гестации [16,47]. И именно у пациенток с привычным невынашиванием дисхроноз созревания пиноподий встречается чаще, что и указывает на одно из патогенетических звеньев невынашивания беременности, так как пиноподии в имплантационный период присутствуют в этой группе в достаточном количестве, но находятся на разных этапах созревания.

Для изучения молекулярно-биологических механизмов нарушения рецептивности эндометрия проведено иммуногистохимическое исследование его параметров в период «имплантационного окна».

В качестве маркера хронического эндометрита было исследовано наличие плазматических клеток в строме эндометрия (CD138+). Экспрессия маркера CD138+ у пациенток с бесплодием выявлена в образцах эндометрия в 3 раза реже, чем у пациенток с привычным невынашиванием беременности, а у фертильных женщин этот маркер вовсе не экспрессировался. Это может указывать на то, что именно у женщин с привычным невынашиванием по причине более частых инструментальных вмешательств в полость матки более развит процесс хронического воспаления в полости матки. Хронический эндометрит – наиболее частая причина невынашивания беременности у пациенток с «тонким» эндометрием. У пациенток с бесплодием в основе нарушения рецептивности эндометрия лежат ис-

ходы хронического воспалительного процесса, которые выражаются в виде формирования регенераторно-пластической недостаточности, и поэтому экспрессия CD138+ выражена в меньшем числе наблюдений.

В нашем исследовании выявлено статистически значимое преобладание, как в строме, так и в железах экспрессии рецепторов к эстрадиолу альфа над прогестероновыми рецепторами. Снижение экспрессии рецепторов к PR в пролиферативную фазу и отсутствие пика PR в лютеиновую фазу совпадает с потерей других маркеров рецептивности. Наименее благоприятным вариантом для наступления беременности является отсутствие снижения экспрессии ER- α в среднюю фазу секреции [157,168]. Учеными отмечено, что концентрация эстрогенов в сыворотке и уровень рецепторов эстрогена (α , β) в эпителии не коррелирует с процессом формирования пиноподий [7,151]. Но мы можем предположить, что именно высокие дозы эстрогена в крови и уровня экспрессии рецепторов к ER α в период «окна имплантации» могут привести к подавлению рецептивных свойств эндометрия. Так по данным Берестовой О.А., если вводить высокие дозы эстрадиола одновременно с прогестероном, пиноподии не образуются [12]. Соответственно, в имплантационном эндометрии пациенток с бесплодием и невынашиванием беременности, обусловленным его гипоплазией, нарушено соотношение прогестероновых рецепторов и рецепторов к эстрадиолу альфа. В нашем исследовании соотношение PR/ ER α по подсчётам H-score у пациенток в группах с бесплодием и с привычным невынашиванием беременности достоверно ниже контрольных значений. Это соответствует данным других исследователей о низком индексе PR/ ER α у пациенток с «тонким» эндометрием [35,44].

В нашей работе было выявлено в группах наблюдения несколько достоверно значимых различий популяционного состава лимфоцитов в эндометрии. Экспрессия маркера CD3+ и в строме, и в железах, а также экспрессия CD20+ в строме эндометрия статистически была выше в первых двух группах наблюдения, чем в контрольной группе. Однако в группе с бесплодием экспрессия CD3+ и CD20+ была более выражена, чем в группе с привычным невынашиванием беременности. Это может указывать на развитие у этих женщин аутоиммунного воспаления. В

показателях экспрессии натурального киллера CD56+ отмечена определённая закономерность. Экспрессия натуральных маточных киллеров в сравнении с группой контроля было достоверно ниже у женщин с бесплодием и статистически значимо превышало контрольные значения у пациенток с привычным невынашиванием беременности. Различия в экспрессии CD56+ связано со стадийностью процессов в эндометрии пациенток разных групп, у пациенток с бесплодием экспрессия снижена в связи с обширно распространённым плотным стромальным компонентом эндометрия.

В период «окна имплантации» достоверно значимо снижен уровень экспрессии к фактору, ингибирующего лейкемию (LIF) в первой и второй группах, а также снижена экспрессия рецепторов к нему (LIF-R). Другими авторами была показана связь появления пиноподии и других изменений при исследовании одного и того же биоптата, свидетельствующих о рецептивности эндометрия, а именно с утратой стероидных рецепторов, максимальной экспрессией $\alpha\beta 3$ -интегрин и лейкемия-ингибирующего фактора (ЛИФ) и рецептора к нему [34,127,142]. Как правило, экспрессия LIF в эндометрии не зависит от "качества" эмбриона, а по большей части определяется уровнем стероидных гормонов женщины [71,171]. В эндометрии LIF контролирует количество и соотношение иммунных клеток во время имплантации; влияет на взаимодействия лейкоцитов децидуальной оболочки и внедряющегося трофобласта посредством LIFR [4,55,173]. После завершения имплантации эмбрион продуцирует LIF самостоятельно и таким образом регулирует рецептивность эндометрия [110,142]. Dimitriadis E. и Mariee N было доказано, что содержание в период «окна» имплантации в эндометрии LIF было значимо снижено у женщин с необъяснимым бесплодием и множественными неудачными попытками ЭКО, а также что содержание LIF коррелирует с рецепторами к PR, что совпадает и с нашими исследованиями [111,136].

При исследовании маркёров неоангиогенеза было отмечено достоверное их снижение в основных группах наблюдения в сравнении с фертильными пациентками. Снижение экспрессии маркёра ангиогенеза CD 34 и сосудисто-эндотелиального фактора роста А (VEGF-A) более выражено в группе у пациен-

ток с бесплодием. Это свидетельствует о более глубоких нарушениях в строении эндометрия пациенток с бесплодием, так как у этих женщин более плотный стромальный компонент с обедненной сосудистой сетью. В эндометрии неоангиогенез обеспечивает поддержание роста слизистой полости матки после менструации и обеспечения васкуляризации эндометрия в период имплантации и инвазии трофобласта [109,120,133]. Снижение уровня VEGF приводит к бедному сосудобразованию, которое в дальнейшем еще более уменьшает сосудистый кровоток в эндометрии [36,107]. Образуется порочный круг, который приводит к формированию гипоплазии эндометрия, который в свою очередь пагубно влияет на его рецептивность [22].

Проблема «тонкого» эндометрия не решена на мировом уровне, так как отсутствуют клинические рекомендации по ведению пациенток с гипоплазией эндометрия, а имеющиеся сведения разноречивы и имеют низкую доказательную базу. Это диктует необходимость разработки методов воздействия на нерцептивный эндометрий с целью повышения его имплантационного потенциала.

Нами в данном исследовании был разработан комплексный подход к восстановлению рецептивности эндометрия у пациенток с репродуктивными неудачами. Комплексный метод лечения гипопластичного эндометрия включает применение циклической гормональной терапии и реабилитацию эндометрия с применением орошения полости матки кавитированными низкочастотным ультразвуком растворами.

По данным имеющимся в настоящее время отечественным *guide-lines* базовой терапией при «тонком» эндометрии является циклическая гормональная терапия препаратами эстрогена и прогестерона (уровень доказательности C) [72,73].

С целью оценки эффективности предложенного метода была дополнительно в исследование включена группа сравнения, куда вошло 26 пациенток с бесплодием и привычным невынашиванием, обусловленным гипоплазией эндометрия. В этой группе пациенткам применялось стандартное лечение, которое включало использование только циклической гормональной терапии. Это было сделано для

того, чтобы оценить эффект низкочастотного ультразвука на восстановление рецептивности эндометрия.

По результатам клинического обследования женщин после курсов лечения отмечено преобладание эффективности комплексной терапии в сравнении со стандартной в плане уменьшения жалоб у пациенток, нормализации менструального цикла, уменьшения синдрома тазовых болей, патологических выделений из половых путей и увеличения объёма и продолжительности менструации. После применения комплексной терапии гипоолигоменорея у пациенток с бесплодием наблюдалась в 10 раз реже и длительность менструации в днях увеличилась до контрольных значений, а у пациенток с привычным невынашиванием беременности гипоолигоменорея уменьшилась с 29,55% до 4,54%, длительность менструации достоверно значимо сравнивалась с контрольными показателями. Стандартная терапия оказывает лишь эффект на характер менструальной функции, снижение частоты встречаемости гипоолигоменореи, но не меняется клиническая симптоматика пациенток. После лечения сохранились жалобы на патологические выделения из половых путей и болезненные менструации. Продолжительность менструации не увеличилась, но увеличился объём менструальных выделений. Таким образом, циклическая гормональная терапия сыграла свою роль лишь в отношении гипоменструального синдрома. После лишь гормональной терапии он снизился до 15,38%, $p < 0,05$. Объяснить улучшение клинической симптоматики после проведения ультразвуковых орошений полости матки можно регрессом остаточных явлений хронического эндометрита, улучшение процессов ангиогенеза и кровоснабжения в эндометрии.

Результаты ультразвукового исследования эндометрия на 20-22 день менструального цикла после лечения свидетельствуют о более эффективной комплексной терапии, так как именно в этих группах статистически значимо увеличилась толщина эндометрия и составила после лечения более 8 мм. Прирост М-ЭХО в группе с бесплодием составил $3,55 \pm 0,45$ мм, в группе с привычным невынашиванием $3,60 \pm 0,46$ мм, тогда как на фоне стандартной терапии прирост составил всего $1,43 \pm 0,12$ мм, и толщина эндометрия осталась в среднем менее 8 мм.

При стандартном лечении не изменилась частота встречаемости неоднородной структуры эндометрия, лишь в 2 раза сократились ультразвуковые признаки синехий полости матки и полипов эндометрия. Применение низкочастотного ультразвука оказало свою эффективность, которая проявилась достоверно значимым снижением неоднородности эхо-структуры, уменьшения синехий полости матки и нормализации трёхслойной структуры эндометрия.

После проведения комплексной терапии, включающую низкочастотное ультразвуковое орошение полости матки, у всех женщин с бесплодием и привычным невынашиванием беременности восстановилась биоценоз половых путей. Увеличился рост нормальной микрофлоры, что стало сопоставимо с контрольной группой обследуемых женщин. У пациенток в первой группе с бесплодием доля *Lactobacillus spp.* увеличилась в два раза до 54,35, а среди пациенток с привычным невынашиванием беременности после лечения рост *Lactobacillus spp.* был отмечен в три раза чаще и составил до 43,18%.

Доминирование лактобактерий в составе микрофлоры влагалища является важнейшим механизмом защиты от инфекционных заболеваний половых органов у женщин и связано это с тем, что лактобактерии за счёт синтеза молочной кислоты, поддерживающую кислую рН среды, подавляют рост условно-патогенных микроорганизмов [114,143,167].

Низкочастотный ультразвук обладает выраженным бактерицидным действием [5,12,96]. Бактерицидный эффект ультразвука низкой частоты объясняется повреждающим действием самих ультразвуковых волн на клеточную мембрану микроорганизмов, разрывами ее оболочки, набуханием и последующем их разрушением и окислительному действию кислорода, который активизируется ультразвуком. Под воздействием ультразвуковой обработки полости матки и влагалища флора частично погибает, остальная меняет свои культуральные свойства [5,14,96].

Беременность на фоне исходно условно-патогенной микрофлоры после лечения наступила у 10,87% пациенток в группе с бесплодием и 13,64% в группе с привычным невынашиванием. После санации облигатно-патогенной микрофлоры

и проведения комплексного лечения в большинстве случаев выявлена лактофлора и беременность наступила у 23,91% пациенток первой группы и у 22,73% пациенток во второй группе.

По данным морфологического исследования на фоне применения низкочастотного ультразвукового орошения полости матки у пациенток с «тонким» эндометрием отмечено улучшение морфологических характеристик эндометрия, значительно сократились признаки хронического эндометрита и увеличился его имплантационный потенциал. После комплексного лечения как в группе с бесплодием, так и в группе с привычным невынашиванием сократились проявления дисхроноза созревания желез эндометрия. Стали достоверно значимо преобладать в период «окна имплантации» железы в стадию средней секреции, в первой группе 82,5%, во второй - 83,33%. На фоне комплексного лечения строма стала более рыхлой, уменьшилось количество плотных участков эндометрия.

Действие ультразвука низкой частоты положительно сказалось на формировании сосудистой сети эндометрия, показатели, характеризующие сосудистый компонент, стали статистически неотличимы от контрольных значений фертильных женщин. После комплексного лечения оптимальное строение сосудистого компонента стромы эндометрия пациенток с бесплодием увеличилось до 70% наблюдений, а в группе с привычным невынашиванием до 66,67%. Под действием ультразвука уменьшились проявления стромального склероза спиральных артерий эндометрия. Эффективность лечения с применением физических методов можно оценить по увеличению в 2 раза числа пиноподий в период имплантации у пациенток с бесплодием (85,0 %) и в 3 раза у пациенток с привычным невынашиванием беременности (83,33%).

По результатам морфологического исследования после комплексного лечения удалось добиться значимого снижения числа пациенток с клинкоморфологическими проявлениями хронического эндометрита: в группе с бесплодием их число уменьшилось до 7,5%, в группе с привычным невынашиванием беременности сократилось в 4 раза и составило 6,67%.

Снижение экспрессии рецепторов к эстрадиолу альфа и прогестерону в период «окна имплантации» совпадает с изменением ультраструктуры апикальной поверхности мембран эпителия с образованием пиноподий [65,151]. По результатам СЭМ эндометрия в динамике комплексной терапии в основных группах обследуемых женщин уменьшилась частота выявления асинхронности и акселерация созревания пиноподий, достоверно значимо снизилась частота плотных межклеточных контактов в поверхностном эпителии эндометрия.

В группе с бесплодием статистически значимо улучшились показатели морфофункционального состояния клеток микроокружения эндометрия, уменьшилась частота выявления гладкой апикальной поверхности желез эндометрия, сократилось число зон «спокойного» эпителия, увеличилась зона интенсивной секреции. После комплексного лечения на апикальной поверхности мембран эндометрия достоверно значимо увеличилось количество образцов эндометрия, демонстрирующих «зрелые» пиноподии до 60,88%. В группе с привычным невынашиванием беременности после лечения с применением кавитационного орошения полости матки в образцах имплантационного эндометрия полностью исчезли гетероморфные секреторные клетки, в 2 раза снизилось число образцов эндометрия с плотными межклеточными контактами на поверхностном эпителии эндометрия, уменьшилась частота верификации гипоплазии и аплазии пиноподий, в то время как количество образцов эндометрия, демонстрирующих зрелые пиноподии возросло до 73,35%.

Полученные результаты иммуногистохимического исследования после проведения низкочастотных ультразвуковых орошений полости матки свидетельствуют о восстановлении рецепторного поля эндометрия у пациенток с репродуктивными неудачами. В имплантационном эндометрии значимо снизилась экспрессия рецепторов к эстрадиолу альфа (ER α) и увеличилась экспрессия PR в строме эндометрия, стало в соответствие с показателями фертильных здоровых женщин. Соотношение PR/ ER α достигло диапазона 2-4 баллов, что по данным ряда авторов [35] соответствует нормальным значениям.

Достоверно значимо после комплексного лечения улучшились показатели клеточного и гуморального звена иммунного ответа в эндометрии, что свидетельствует об уменьшении воспалительных процессов в тканях эндометрия. У пациенток с исходно высоким уровнем экспрессии CD3+ и CD20+ в «тонком» эндометрии на фоне комплексной терапии достоверно снизились показатели лимфоцитарной стромальной инфильтрации. У пациенток с привычным невынашиванием снизился до контрольных значений уровень экспрессии CD56+ как в строме, так и в железах эндометрия. Исходно до лечения в сравнении с группой бесплодия экспрессия данного маркера наоборот превышала контрольные значения. Под действием противовоспалительного эффекта ультразвуковых орошений полости матки статистически значимо снизилось число плазматических клеток, указывающих на наличие хронического воспаления в полости матки и уровень маркера CD138+ в группе с бесплодием снизился в 3 раза, а в группе с привычным невынашиванием в 9 раз.

В эндометрии женщин первой и второй группы после проведенного комплексного лечения статистически значимо увеличился показатель экспрессии сигнальных молекул LIF и уровень рецепции к ним (LIF-R), более выражено в строме эндометрия. Участие LIF в процессе имплантации неоспоримо. Предложен новый метод контрацепции при помощи блокатора LIF, который подавляет имплантацию бластоцисты [124,149,165]. Фактор, ингибирующий лейкемию участвует в формировании пиноподий, молекул адгезии и адгезии бластоцисты и поэтому увеличение экспрессии LIF и LIF-R в строме и железах имплантационного эндометрия на фоне комплексной терапии свидетельствует о восстановлении рецептивных свойств эндометрия.

Интересно отметить действие ультразвукового орошения полости матки на процессы неоангиогенеза. В строме эндометрия пациенток в группе с бесплодием увеличилась экспрессия маркера ангиогенеза CD 34, что говорит о положительном влиянии ультразвука низкой частоты на улучшение кровоснабжения эндометрия в период «окна имплантации». А в группе пациенток с привычным невы-

нашиванием достоверно значимо увеличилась экспрессия сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF-A).

Так как CD34 является маркером ангиогенеза, можно предположить, что под действием низкочастотного ультразвука в строме эндометрия активируется неоангиогенез, результатом чего является увеличение выраженности сосудистого рисунка в эндометрии. В экспериментах на мышах, испытывались различные методы терапии бесплодия. В ходе исследования было показано, что повышение экспрессии CD34 сопровождалось увеличением частоты наступления беременности [51,128,132].

Благоприятный эффект от проведённого лечения мы оценивали после её завершения в течении года по количеству наступивших беременностей и их исходам. В течении первого года после комплексного лечения среди пациенток с бесплодием беременность наступила в 34 (73,91%) случаях, в группе с привычным невынашиванием в 35 (79,55%) случаях. Беременность на фоне стандартной терапии наступила только в 34,62 % случаях, что говорит о более низкой эффективности данного метода лечения. По данным Межевитиновой Е. А., (2016) эффективность циклической гормональной терапии у пациенток с тонким эндометрием составила 49,3% [59]. При использовании стандартной терапии пациенткам чаще приходилось прибегать к применению вспомогательных репродуктивных технологий. Естественным путём беременность наступила в первой группе в 76,47% случаях, во второй группе в 80,0% против 55,56% в группе сравнения. При использовании комплексной терапии в сравнении со стандартной в 2 раза чаще наблюдались срочные роды, тогда как в группе сравнения был высок процент преждевременных родов (22,22%). Самопроизвольные выкидыши зарегистрированы только у пациенток, применявших стандартное лечение.

Таким образом, комплексный подход к восстановлению рецептивности эндометрия с использованием низкочастотного ультразвукового орошения полости матки по исходу лечения оказался практически на 50% эффективнее стандартной терапии. Полученные результаты подтверждались и клиническими наблюдениями

за катамнезом жизни пациенток, а также по ультразвуковым показателям в период «окна имплантации» после лечения.

Применение низкочастотного ультразвукового орошения полости матки в комплексном лечении с циклической гормональной терапией позволило добиться снижения показателей хронического эндометрита и маркёров иммунного воспалительного ответа, эрадикации условно-патогенной и облигатно-патогенной микрофлоры, улучшения кровоснабжения эндометрия, восстановление его цитоархитектоники с равномерным созреванием пиноподий, что в целом улучшило рецептивность эндометрия, тем самым повысив его имплантационный потенциал и увеличив шансы наступления и вынашивания беременности.

Результаты проведенного исследования показали значимое преимущество эффективности данного метода по сравнению со стандартной терапией гормональными препаратами. И таким образом, комплексный подход к восстановлению рецептивности эндометрия может быть рекомендован женщинам с репродуктивными неудачами, обусловленными гипоплазией эндометрия.

ВЫВОДЫ

1. Клиническими предпосылками нарушения рецептивности эндометрия является его механическое повреждение, которое приводит к воспалительному ответу с исходом в хронический эндометрит (в 33,33% случаях в 1 группе и в 29,63% случаях во 2 группе), а в дальнейшем к атрофическим изменениям в эндометрии с нарушением citoархитектоники (1 группа - 51,61%; 1 группа – 51,85%), стромальным фиброзом (1 группа – 73,33%, 2 группа – 81,48%), уменьшением васкуляризации стромы (52% в 1 группе и 62,96% во 2 группе) и снижением рецептивности. Клинически это выражается гипоолигоменореей (45,65% в 1 группе и 29,55% во 2 группе) и альгодисменореей (15,22% и 29,55% соответственно).

2. Морфофункциональное состояние эндометрия у пациенток с репродуктивными неудачами, обусловленными «тонким» эндометрием, характеризуется дисхронозом созревания желёз эндометрия (1 группа – 60%, 2 группа – 74,07%), обеднением его сосудистой сети (1 группа – 48%, 2 группа- 37,04), уплотнением его стромального компонента (73,33% в 1 группе и 81,48% во 2 группе), асинхронностью и акселерацией созревания пиноподий (1 группа – 17,38%, 2 группа – 46,67%), плотными межклеточными контактами (1 группа – 69,23%, 2 группа – 84,25%), гладкой апикальной поверхностью (1 группа – 52,17%; 2 группа – 37,79%), атипичными ресничными клетками (1 группа – 50%, 2 группа 13,3%), снижением экспрессии LIF (1 группа $120,25 \pm 5,93$, 2 группа – $107,70 \pm 5,75$), LIF-R в железах (1 группа – $123,53 \pm 12,0$, 2 группа – $126,63 \pm 10,88$), CD34 ($20,90 \pm 0,78$ в 1 группе, $27,90 \pm 3,15$ во 2 группе), VEGF A ($216,20 \pm 9,06$ в 1 группе, $240,87 \pm 8,17$ во 2 группе), увеличением экспрессии CD3+ (в строме: 1 группа – $78,18 \pm 6,88$, 2 группа- $75,76 \pm 4,26$; в железах: 1 группа – $50,57 \pm 4,62$, 2 группа – $39,10 \pm 2,27$), CD20+ (в строме: 1 группа – $25,72 \pm 5,42$, 2 группа- $20,39 \pm 4,94$; в железах: 1 группа – $6,14 \pm 1,31$, 2 группа – $9,45 \pm 1,22$), CD138+ (в 1 группе – $21,84 \pm 3,43$, во 2 группе – $75,77 \pm 4,17$).

3. Применение в составе комплексной терапии низкочастотного ультразвукового орошения полости матки приводит к восстановлению рецептивности эндометрия, что заключается в восстановлении морфофункциональной структуры (1 группа – 59,26%, 2 группа – 90,0%), увеличении М-ЭХО (прирост эндометрия в 1 группе на $3,55 \pm 0,45$ мм, во второй группе – на $3,60 \pm 0,46$) и повышении его имплантационного потенциала за счёт увеличения числа зрелых пиноподий в период «окна имплантации» (1 группа: до – 37,76%, после – 60,88%; 2 группа: до – 55,94%, после – 73,35%), увеличения экспрессии LIF (1 группа: до – $120,25 \pm 5,93$, после – $144,34 \pm 6,32$; 2 группа: до – $107,70 \pm 5,75$, после – $127,16 \pm 8,76$), LIF-R (1 группа: до – $67,75 \pm 10,12$, после – $103,73 \pm 8,50$; 2 группа: до – $64,68 \pm 8,39$, после – $70,50 \pm 15,54$), CD34+ (1 группа: до – $20,90 \pm 0,78$, после – $33,84 \pm 3,64$; 2 группа: до – $27,90 \pm 3,15$, после – $24,85 \pm 1,66$), VEGF A (1 группа: до – $216,20 \pm 9,06$, после – $231,66 \pm 14,66$; 2 группа: до – $240,87 \pm 8,17$, после – $276,55 \pm 12,8$).

4. Использование комплексного лечения с целью восстановления рецептивности эндометрия эффективнее на 50% стандартной терапии в плане наступления беременности. Беременность на фоне комплексной терапии наступила в группе пациенток с бесплодием в 34 (73,91%) случаях, в группе с привычным невынашиванием в 35 (79,55%) случаях, а после стандартной терапии беременность зарегистрирована в 34,62% случаях. Беременность без применения ВРТ наступила в первой группе в 76,47% случаях, во второй группе в 80,0%. У 88,24% в 1 группе и 85,71% во 2 группе беременность завершилась срочными родами с рождением живых доношенных детей.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациенткам с бесплодием и привычным невынашиванием на 20-22 день менструального цикла проводится УЗИ органов малого таза влагалищным датчиком с измерением М-ЭХО.

2. При толщине М-ЭХО на 20-22 день менструального цикла менее 7 мм проводится в предполагаемое «окно имплантации» пайпель биопсия эндометрия с последующим морфологическим и иммуногистохимическим исследованием эндометрия. При проведении ИГХ определяется экспрессия ER α , PR, LIF, CD3+, CD20+, CD34, VEGF. Аспират забирается на 7 день после пика ЛГ, который определяется по мочевому тесту. Перед пайпель биопсией проводится бактериологическое исследование отделяемого женских половых органов, при выявлении патогенной микрофлоры в диагностически значимом титре проводится санация антибиотиками курсом согласно чувствительности с повторным контролем посева.

3. Начинают комплексное лечение с базовой циклической гормональной терапией. С 3-5 дня менструального цикла начинают приём препаратов эстрогена и продолжают по 14 день цикла, далее назначаются гестагены (дидрогестерон). Дозы препаратов подбираются индивидуально в зависимости от ИМТ.

4. В фазу пролиферации на 7-9 день менструального цикла начинают курс низкочастотного ультразвукового кавитационного орошения полости матки. Курс терапии составляет 5 процедур ежедневно продолжительностью 5 минут в режиме «Селект» с мощностью воздействия 25 кГц с использованием аппарата для ультразвуковой кавитации «Фотек АК 100-25» с усовершенствованным маточным наконечником АА 211 со скоростью потока лекарственного средства 100-150 мл/минуту. Озвученной средой для кавитации является физиологический раствор.

5. Критерием эффективности лечения и необходимости проведения повторных курсов орошения полости матки является толщина эндометрия, повторяют УЗИ после лечения также в период «окна имплантации» на 20-22 день менстру-

ального цикла. При М-ЭХО менее 7 мм повторяют процедуры и продляется гормональная терапия.

6. Вопрос о возможности планирования беременности окончательно решается после повторного морфологического и иммуногистохимического исследования. При нормальном распределении желёз эндометрия, соответствии стадии развития «окну имплантации», наличии пиноподий, рыхлой строме с богатой сосудистой сетью и нормализации показателей экспрессии маркёров рецептивности разрешается планирование беременности естественным путём или начало протокола ВРТ.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- ВЗОМТ – воспалительные заболевания органов малого таза
- ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии
- ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
- ИГХ – иммуногистохимическая реакция
- ИЛ - интерлейкин
- ИМТ – индекс массы тела
- ИППП – инфекции, передающиеся половым путем
- ЛГ – лютеинизирующий гормон
- МВС – мочевыводящая система
- М –РНК – матричная рибонуклеиновая кислота
- УЗИ – ультразвуковое исследование
- ФНО – фактор некроза опухоли
- ХГЧ – хорионический гонадотропин человека
- ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение
- СОХ – циклооксигеназа
- CD3 - мультипротеиновый комплекс на поверхности Т-лимфоцитов, являющийся основным корцептором Т-клеточного рецептора
- CD20 - белок, корцептор, расположенный на поверхности В-лимфоцитов
- CD56 – натуральные киллеры
- CD138 – плазматические клетки
- ER α – рецептор к эстрадиолу α
- E2 – эстрадиол
- GP130 – гликопротеин 130
- LIF– лейкоemia-ингибирующий фактор
- LIF –R – рецептор к фактору, ингибирующему лейкемию
- HIF - гипоксия индуцированный фактор
- NO – оксид азота
- PR – рецептор к прогестерону

VEGF- сосудистый эндотелиальный фактор роста

TGF- β – трансформирующий фактор роста- β

TNF – фактор некроза опухоли

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агаджанова, Л.М. Эндометриальные пиноподии как маркер имплантации человека / Л.М.Агаджанова // Проблемы репродукции. -2010.- №3.- С.6-11.
2. Акушерство и гинекология. Клинические рекомендации / под ред. Г. М. Савельевой, Г.Т. Сухих, В.Н. Серова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 1024 с.
3. Алиева, К.У. Современные подходы к подготовке эндометрия у пациенток с ранее безуспешными исходами программы экстракорпорального оплодотворения / К.У.Алиева, Л.Н.Кузьмичев, В.Ю.Смольникова // Акушерство и гинекология.- 2011.- №5.- С.39-43.
4. Амбарцумян, Э.М. Роль фактора, ингибирующего лейкемию в репродукции человека / Э.М.Амбарцумян, Л.М.Агаджанова // Акушерство и гинекология.- 2010.- №2.- С.17-21.
5. Антушева, Т.И. Некоторые особенности влияния ультразвука на микроорганизмы: [Электронный ресурс] / Т.И.Антушева // Живые и биокосные системы. - 2013. - № 4. – Электрон. журн.- Режим доступа : <http://www.jbks.ru/archive/issue-4/article-11>.
6. Архипова, М.П. Репродуктивный потенциал России: статистика, проблемы, перспективы улучшения / М.П.Архипова, М.Б.Хамошина, А. И.Чотчаева // Доктор Ру. – 2013. – № 1.– С. 70-74.
7. Бабиченко, И.И. Рецепторы к эстрогенам и прогестерону в эндометрии женщин при бесплодии / И.И.Бабиченко //Вестник РУДН.- 2010.- №2.- С.48-52.
8. Башмакова, Н.В. Воздействие низкочастотного ультразвука на рецепторное поле эндометрия: возможности реабилитации после регрессирующей беременности / Н.В.Башмакова, О.А.Мелкозерова, Д.В.Погорелко // Проблемы репродукции.- 2014.- № 3.- С. 87-94.
9. Башмакова, Н.В. Возможности низкочастотной ультразвуковой кавитации в восстановлении эндометрия у пациенток с неразвивающейся беременно-

- стью в анамнезе / Н.В.Башмакова, О.А.мелкозерова, Д.В.Погорелко // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.-2013.-№ 6.- С.14-18.
- 10.Башмакова, Н.В. Современные вспомогательные репродуктивные технологии и программирование здоровья ребенка и взрослого человека / Н.В.Башмакова, П.Б.Цывьян// Акушерство и гинекология. – 2015. - № 10. – С. 35 – 40.
- 11.Бебякова, Н.А. Взаимосвязь периферической вазоконстрикции с полиморфизмом т-786с гена эндотелиальной синтазы оксида азота / Н.А.Бебякова, А.В.Хромова, О.М.Феликсова // Медицинские науки.- 2013.- № 2.- С.176–179.
- 12.Берестовой, О.А. Эндометрий в программах вспомогательных репродуктивных технологий: подходы к подготовке трансдермальными формами натурального эстрадиола / О.А.Берестовой, В.В.Веселовский // Женское здоровье. – 2012.- № 4 .- С.27-30.
- 13.Бессмертная, В.С. Морфологические и иммуногистохимические особенности эндометрия у женщин с первичным и вторичным бесплодием / В.С.Бессмертная // Архив патологии. - 2012. - № 4. - С. 31 - 34.
- 14.Богданова, А.М. Применение низкочастотного ультразвука в комплексном лечении гипопластического варианта хронического эндометрита / А.М.Богданова, Е.Ю.Глухов, Г.Б.Дикке // Акушерство и гинекология.- 2017. - № 2. - С. 90 - 96.
- 15.Боярский, К.Ю. Современный взгляд на проблему рецептивности и тонкого эндометрия в программах ВРТ. Обзор литературы/ К.Ю.Боярский, С.Н.Гайдуков, Н.А.Пальченко // Проблемы репродукции.- 2013.- № 4.- С. 3-7.
- 16.Брагина, Е.Е. Морфологические маркёры рецептивности эндометрия / Е.Е.Брагина // Проблемы репродукции.- 2013.- № 4.- С. 17-24.
- 17.Бурлев, В.А.Функциональная активность эндометрия влияет на результаты ЭКО и перенос эмбрионов: молекулярные механизмы регуляции фертильности / В.А.Бурлев, Л.Н.Кузьмичев // Проблемы репродукции. 2010;2:41-52.

- 18.Бурменская, О.В. Поиск маркеров персонального «окна имплантации» у женщин в программе экстракорпорального оплодотворения с помощью определения транскрипционного профиля генов / О.В.Бурменская, В.К.Боженко, В.Ю.Смольникова // Акушерство и гинекология. - 2017. - № 5. – С. 72-80.
- 19.Бурменская, О.В. Молекулярно-генетические маркеры иммунного ответа при воспалительных заболеваниях органов женской репродуктивной системы : автореф. дис. ... д-ра мед.наук / О.В.Бурменская.- М., 2014. – 49 с.
- 20.Бурменская, О.В. Оценка экспрессии мРНК генов цитокинов в эндометрии при хроническом эндометрите / О.В.Бурменская, Н.А.Гомболевская, Т.А.Демура, Л.А.Марченко // Акушерство и гинекология. - 2013. – № 11. – С.35-40.
- 21.Вартанян, Э. В. Преодоление повторных неудач ВРТ: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Э.В.Вартанян. - М., 2012. - 34 с.
- 22.Волкова, Е.Ю. Прегравидарная подготовка женщин с нарушением репродуктивной функции и «тонким» эндометрием : дис. ... канд. мед. наук / Е.Ю.Волкова.- М., 2014. – 144 с.
- 23.Волкова, Е.Ю. Роль маточной гемодинамики в оценке рецептивности эндометрия / Е.Ю.Волкова, И.Е.Корнеева, Е.С.Силантьева // Проблемы репродукции.- 2012.- № 2.- С.57-62.
- 24.Гайдуков, С.Н. Современный взгляд на проблему рецептивности и тонкого эндометрия в программах ВРТ (обзор литературы) / С.Н.Гайдуков, Ю.К.Боярский, Н.А.Пальченко // Проблемы репродукции.- 2013.- № 4. - С. 51–60.
- 25.Гзгзян, А.М. Доплерометрические показатели сосудов матки в оценке имплантационной способности эндометрия при проведении программ ЭКО / А.М.Гзгзян, Д.А.Ниаури, И.Ю.Коган, Л.Х.Джемлиханова // Журнал акушерства и женских болезней.- 2013.-№ 4.- С.29-36.

26. Гинекология: национальное руководство / под ред. Г. М. Савельевой, Г.Т.Сухих, В.Н.Серова, И.Б.Манухина, В.Е.Радзинского. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. – 1048 с.
27. Глухов, Е.Ю. Волшебные» пузырьки? Кавитированные ультразвуком растворы в терапии акушерских и гинекологических заболеваний / Е.Ю.Глухов, А.М.Богданова, Е.Н.Козырева // StatusPraesens.-2014.-№2.- С.23-29.
28. Глухов, Е.Ю. Лечение бесплодия на фоне хронического эндометрита с гипоплазией эндометрия с использованием низкочастотного ультразвук / Е.Ю.Глухов, А.М.Богданова, Е.Н.Козырева // Медицинский альманах.- 2014.-№5.- С.106-110.
29. Глухов, Е.Ю. Применение низкочастотного ультразвука в комплексном лечении послеродового эндометрита / Е.Ю.Глухов, Т.А.Обоскалова, Ю.В.Игнатова //Уральский медицинский журнал.- 2013.-№ 4.- С.38-40.
30. Гомболевская, Н.А. Современные возможности этиологической диагностики хронического эндометрита / Н.А.Гомболевская, В.В.Муравьева, Л.А.Марченко, А.С.Анкирская // Акушерство и гинекология.- 2015.- № 8-1.- С. 40-45.
31. Грищенко, Н.Г. Оптимизация результатов программ ЭКО при использовании экзогенного оксида азота для повышения рецептивности эндометрия / Н.Г.Грищенко, Ю.А.Котлик, Т.Л.Весич //Таврический медико-биологический вестник. – 2012.- № 15.- С. 80–82.
32. Громова, О.А. Систематический анализ фундаментальных и клинических исследований, как обоснование необходимости совместного использования эстрогенсодержащих препаратов с препаратами магния и пиридоксина / О.А.Громова, О.А.Лиманова, И.Ю.Торшин // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2013.- № 3.- С.35-50.
33. Гюльмамедова И.Д., Межова О.К. Проблемы имплантации в программе IVF (обзор литературы). Новости медицины и фармации. 2010;253:17-27.

34. Дьяконов, С.А. Роль интегринов в имплантации у человека (обзор литературы) / С.А.Дьяконов // Проблемы репродукции. — 2014. - № 1. - С. 14-16.
35. Дюжева, Е.В. Гормональная подготовка эндометрия у пациенток с неэффективными попытками ЭКО в анамнезе: дис. ... канд. мед.наук / Е.В.Дюжева. - М., 2010.- 235 с.
36. Дюжева, Е.В. Иммуногистохимическое исследование эндометрия в программах ВРТ / Е.В.Дюжева, Е.А.калинина, Л.Н.Кузьмичев // Вестник РУДН.- 2009.- № 6.- С.98–104.- (Сер.Акушерство и гинекология.)
37. Дюжева, Е.В. Принципы индивидуальной гормональной подготовки эндометрия у пациенток с неэффективными попытками ЭКО / Е.В.Дюжева, Е.А.Коган, Е.А.Калинина // Акушерство и гинекология.- 2011.- № 7-2.- С.39–45.
38. Ермоленко, К.С. Современное состояние проблемы реализации фертильной функции у женщин позднего репродуктивного возраста / К.С.Ермоленко, В.Е.Радзинский, С.И.Рапопорт // Клиническая медицина.- 2016.-№ 1.- С.10-15.
39. Зароченцева, Н.В. Хронический эндометрит: этиология, клиника, диагностика, лечение / Н.В.Зароченцева, А.К.Аршакян, Н.С.Меньшикова, Ю.П.Титченко // Российский вестник акушера-гинеколога. -2013.- № 5.- С. 21-27.
40. Здравоохранение в России: статистический сборник. - М.: Росстат, 2015. – 174 с.
41. Казачков, Е.Л. Морфо-функциональная характеристика рецептивности слизистой оболочки полости матки при хроническом эндометрите / Е.Л.Казачков, Э.А.Казачкова, Е.Е.Воропаева // Научная медицина.- 2013. - № 25. – С.127-131.- (Сер. Медицина. Фармация).
42. Казачков, Е.Л. Хронический эндометрит, эндокринная функция яичников и рецептивность эндометрия: есть ли связь? / Е.Л.Казачков, И.Г.Хелашвили, Э.А.Казачкова // Медицинский вестник Башкортостана. - 2014. - № 5. – С. 20 – 23.

43. Казачкова, Э.А. Хронический эндометрит и рецептивность эндометрия / Э.А.Казачкова, Е.Л.казачков, И.Г.Хелашвили.- Челябинск: Издательство Южно-Уральского государственного медицинского университета, 2015.- 147 с.
44. Карева, Е.Н. Эстрогены и головной мозг / Е.Н.Карева, О.М.Олейникова, В.О.Панов // Вестник РАМН.- 2012.- № 2.- С.48-59.
45. Келлэт, Е.П. Роль эндометрия в неудачах реализации репродуктивной функции / Е.П.Келлэт, А.В.Шуршалина // Проблемы репродукции.- 2010.- № 2.- С.16-20.
46. Коган, Е.А. Морфологические и молекулярно-биологические особенности эндометрия в период «окна имплантации» у пациенток с бесплодием, сочетающимся с наружно-генитальным эндометриозом 1-2 стадии / Е.А.Коган, А.В.Колотовкина, Н.М.Файзуллина, Е.А.Калинина // Акушерство и гинекология. -2013.- № 9.- С. 35-40.
47. Коган, Е.А. Молекулярные и морфологические аспекты нарушения рецептивности при хроническом эндометрите / Е.А.Коган // Архив патологии. – 2012.- № 3.- С.15-17.
48. Крутова, В. А. Пути преодоления женского бесплодия: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / В.А.Крутова.- М., 2016.- 51 с.
49. Крылова, Ю.М. Рецептивность эндометрия: молекулярные механизмы регуляции имплантации / Ю.М.Крылова, И.М.Квитной, Э.К.Айламазян // Журнал акушерства и женских болезней. – 2013. – № 2. – С. 63-74.
50. Кузнецова, И.В. Проблема тонкого эндометрия и возможные пути ее решения / И.В.Кузнецова, Н.С.Землина, Т.Н.Рашидов, М.А.Коваленко // Эффективная фармакотерапия.- 2015.- № 1.- С. 15-25.
51. Кузьмичев, Л.Н. Принципы комплексной оценки подготовки эндометрия у пациенток программ вспомогательных репродуктивных технологий / Л.Н.Кузьмичев, В.Ю.Смольникова, Е.А.Калинина // Акушерство и гинекология.- 2010.- № 5.- С.32-36.

52. Кулаков, В.И. Лечение женского и мужского бесплодия / В.И.Кулаков, Б.В.Леонов, Н.Кузьмичев // Вспомогательные репродуктивные технологии. М.: МИА, 2009.- С.349-679.
53. Лазарев, А.П. Клиническое значение структурно-функционального состояния эндометрия в программе экстракорпорального оплодотворения: дис. . канд. мед. наук / А.П.Лазарев.- М., 2006.- 104с.
54. Левиашвили, М.М. Оценка рецептивности эндометрия у пациенток с безуспешными программами экстракорпорального оплодотворения в анамнезе / М.М.Левиашвили, Т.А.Демура, Н.Г.Мишиева, Н.М.Фазуллина // Акушерство и гинекология. - 2012. - № 4-1. – С. 65-69.
55. Левиашевских, М.М. Лейкемия-ингибирующий фактор и рецептивность эндометрия / М.М.Левиашевских, Н.Г.Мишиева // Проблемы репродукции.- 2012.- № 3.- С.7-11.
56. Летяева, О.И. Терапия рецидивирующих урогенитальных инфекций у женщин репродуктивного возраста / О.И.Летяева, О.Р.Зиганшин, О.С.Абрамовских // Врач.- 2016. – № 1- С.77-81.
57. Макаренко, Т.А. Современные возможности в лечении синдрома Ашермана / Т.А.Макаренко, Д.Е.Никифорова// РМЖ.- 2016. - № 15.- С. 1001-1004.
58. Маслова, М.А. Оценка значимости молекулярно-генетических маркеров в эндометрии в прогнозировании исхода беременности в программе экстракорпорального оплодотворения / М.А.Маслова, В.Ю.Смольникова, А.Е.Донников, О.В.Бурменская // Акушерство и гинекология. - 2015. - № 3. – С. 26-32.
59. Межевитинова, Е.А. Трансдермальные эстрогены у женщин репродуктивного возраста (в помощь практикующему врачу) / Е.А.Межевитинова // Гинекология.- 2016. - №18.- С. 101–103. 330.
60. Мелкозерова, О.А. Эффект ультразвуковой кавитации в восстановлении эндометрия у пациенток с хроническим эндометритом после прерывания регрессирующей беременности / О.А.Мелкозерова, Н.В.Башмакова, Е.Ю.Глухов, Д.В.Погорелко // Практическая медицина.-2015.-№ 1.- С.25-32.

61. Мелкозерова, О.А. Энергия низкочастотного ультразвука в восстановлении рецепторного поля эндометрия после неразвивающейся беременности / О.А.Мелкозерова, Н.В.Башмакова, Д.В.Погорелко, М.А.Чистяков // Акушерство и гинекология.- 2014.- № 7.- С.61-67.
62. Мелкозерова, О.А. Новые возможности низкочастотного ультразвука в открытии имплантационного окна у пациенток с неразвивающейся беременностью / О.А.Мелкозерова, Н.В.Башмакова, Г.Н.Чистякова, Д.В.Погорелко // Журнал международной медицины.-2013.-№ 1.- С.76-80.
63. Милованов, А.П. Влияние местной обработки полости матки специальным раствором с помощью аппарата “ФОТЕК АК100” у женщин с гистологически подтвержденным эндометритом : отчет НИИ морфологии человека РАМН / А.П.Милованов.-М., 2010.- 456 с.
64. Митюрин, Е.В. Морфофункциональное состояние эндометрия в стимулированных циклах программы экстракорпорального оплодотворения / Е.В.Митюрин, С.Г.Перминова, Т.А.Демура, Е.М.Галлямова // Акушерство и гинекология.- 2014.- № 11.- С. 80—87.
65. Молекулярные механизмы заболеваний репродуктивной системы / М.А.Пальцев, Э.К.Айламазян, И.М.Кветной.- СПб.: Эко-вектор, 2017. – 256 с.
66. Ниаури, Д.А. Иммуногистохимическая характеристика рецептивности эндометрия в циклах ЭКО / Д.А.Ниаури, А.М.Гзгзян, И.М.Кветной, И.Ю.Коган // Акушерство и гинекология. - 2014. - № 9. – С. 44-50.
67. Обоскалова, Т.А. Иммунокоррекция кавитированными ультразвуком растворами в комплексном лечении цервикальных интраэпителиальных неоплазий, ассоциированных с папилломавирусной инфекцией / Т.А.Обоскалова, И.Н.Кононова, Е.С.Волошина // Уральский медицинский журнал.-2013.-№ 4.- С.46-51.
68. Ольховская, М.А. Биомаркеры «имплантационного окна» / М.А.Ольховская // Проблемы репродукции. -2007.- № 1.- С.72-77.

69. Основные показатели деятельности акушерско-гинекологической службы в Российской Федерации в 2014, 2015 году / под ред. Е.Н.Байбаринной.- М., 2015. – 31 с.
70. Плотко, Е.Э. Использование низкочастотного ультразвука в профилактике осложнений хирургического аборта / Е.Э.Плотко, Е.С.Ворошилина // Репродуктивный потенциал России: версии и контрарсии : тезисы докладов VII Общероссийского научно-практического семинара.- Сочи, 2014.- С.77-78.
71. Побединский, Н.М. Стероидные рецепторы нормального эндометрия / Н.М.Побединский, О.И.Балтуцкая, А.И.Омельяненко // Акушерство и гинекология.- 2010.- № 3.- С.5 - 8.
72. Прегравидарная подготовка: клинический протокол / под ред. В.Е. Радзинского.— М.: Status Praesens, 2016. — 80 с.
73. Применение эстрогенов в программах ВРТ : научно-практические рекомендации РАРЧ.- М., 2015. - 13 с.
74. Профилактика и лечение воспалительных заболеваний в акушерстве и гинекологии с использованием метода ультразвуковой кавитации лекарственных растворов: практ. руководство для врачей / Т.А. Обоскалова, Е.Ю. Глухов, И. В.Лаврентьева . – Екатеринбург, 2014. – 68 с.
75. Радзинский, В.Е. Кавитированные растворы в репродуктивной медицине / В.Е.Радзинский, Е.Ю.Глухов. – М.: Редакция журнала StatusPraesens, 2017. – 344 с.
76. Радзинский, В.Е. Нерезвивающаяся беременность: руководство.- М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. - 176 с.
77. Радзинский, В.Е. Ранние сроки беременности / В.Е. Радзинский, А.А. Оразмурадова - 2-е изд., испр. и доп. – М.: Status Praesens, 2009. - 480 с.
78. Радзинский, В.Е. Реабилитация репродуктивного здоровья женщин после хирургического лечения гинекологических заболеваний / В.Е. Радзинский, А.О.Духин, И.Н.Костин // Клиническая гинекология: избранные лекции /

- под ред. проф. В.Н.Прилепской. – М.: МЕДпресс-информ, 2007. – С. 378-391.
- 79.Радзинский, В.Е. Современные технологии в лечении больных с синдромом истощения яичников / В.Е.Радзинский, И.М.Ордянец, О.С.Побединская // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение.- 2015.- № 3. - С. 126–136.
- 80.Светлаков, А. В. Молекулярно-биологические аспекты имплантации у человека и животных / А.В.Светлаков //Проблемы репродукции.- 2012. -№ 2.- С. 16-28.
- 81.Серебренникова, К.Г. Принципы терапии патологии эндометрия у пациенток с бесплодием / К.Г.Серебренникова, Н.В.Чумакова, В.Ф.Меняшева // Клиническая гинекология.- М.: МЕДпресс-информ, 2011.- С.249-268.
- 82.Серов, В.Н. Безопасность физиотерапии у гинекологических больных / В.Н.Серов, Е.С.Силантьева // Акушерство и гинекология.- 2007.- № 3.- С.74-77.
- 83.Силантьева, Е.С. Физические методы структурно-функционального ремоделирования эндометрия у женщин с нарушением репродуктивной функции: дис. ... д-ра мед. наук / Е.С.Силантьева. –М., 2008. – 261с.
- 84.Стругацкий, В.М. Физиотерапия в практике акушера-гинеколога (клинические аспекты и рецептура) / В.М. Стругацкий, Т.Б. Маланова, К.Н. Арсланян. – М.: МЕДпресс-информ, 2005. – 208 с.
- 85.Сухих, Г.Т. Хронический эндометрит / Г.Т.Сухих, А.В.Шуршалина.- М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010.- 123с.
- 86.Таболова, В.К. Влияние хронического эндометрита на исходы программ вспомогательных репродуктивных технологии : морфо-функциональные и молекулярно-генетические особенности / В.К.Таболова, И.Е.Корнеева // Акушерство и гинекология. – 2013.- № 10.- С.17-22.
- 87.Таболова, В.К. Профиль локальной экспрессии генов ростовых факторов и цитокинов в эндометрии периода «имплантационного окна» при хрониче-

- ском эндометрите/ В.К.Таболова, И.Е.Корнеева, А.Е.Донников, О.В.Бурменская // Акушерство и гинекология. - 2014. - № 12. – С. 74-78.
- 88.Таюкина, И.П. Морфофункциональное состояние эндометрия и экспрессия рецепторов стероидных гормонов у пациенток с бесплодием / И.П.Таюкина, Л.Р.Мустафина, О.А.Тихоновская, С.В.Логвинов // Сибирский медицинский журнал.- 2010. - № 4.- С. 110–112.
- 89.Титченко, Ю.П. Применение ультразвуковых методов исследования в оценке состояния эндометрия у пациенток с хроническим эндометритом и невынашиванием беременности / Ю.П.Титченко, Н.В.Зароченцева, А.К.Аршакян // Рос. вестник акушера–гинеколога. – 2014. – № 1.– С.55–58.
- 90.Унанян, А.Л. Хронический эндометрит: этиопатогенез, диагностика, клиника и лечение. Роль антифиброзирующей терапии / А.Л.Унанян, Ю.М.Коссович // Лечащий врач. - 2012. - №11.- С. 35-40.
- 91.Унанян, А.Л. Хронический эндометрит: этиопатогенез, диагностика, клиника и лечение. Роль антифиброзирующей терапии / А.Л.Унанян, Ю.М.Коссович // Лечащий врач. - 2012. - № 11.- С. 35-40. Повтор № 90.
- 92.Ходжаева, З.С. Клинико-патогенетическое обоснование исследования секреции ангиогенных факторов в лютеиновую фазу менструального цикла у женщин с повторными потерями беременности в анамнезе / З.С.Ходжаева, Е.В.Мусиенко // Акушерство и гинекология.- 2011.- № 8.- С.61-65.
- 93.Чернуха Г.Е. Роль факторов роста в функции репродуктивной системы / Г.Е.Чернуха, В.П.Сметник // Проблемы репродукции.- 2011.- № 2.- С.8 -13.
- 94.Чертовских, М.Н. Значение гистероскопии при подготовке эндометрия для реализации программ вспомогательных репродуктивных технологий / М.Н. Чертовских // Лечение и профилактика. - 2013. - № 2. - С.59-64.
- 95.Шуршалина А.В. Морфофункциональные перестройки эндометрия в «окно имплантации» / А.В.Шуршалина, Т.А.Демура //Акушерство и гинекология. - 2011.- № 7- 2.- С. 9—13.

96. Achache, H. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation / H. Achache // *Hum. Reprod. Update.*- 2006.- Vol.12, № 6.- P.731 - 746.
97. Akopians, A.L. The role of inflammatory pathways in implantation failure: chronic endometritis and hydrosalpinges / A.L. Akopians, M.D. Pisarska, E.T. Wang // *Semin. Reprod. Med.*- 2015.- Vol. 33.- P.298–304.
98. Allahbadia, G.A. Low-Molecular-Weight Heparin (LMWH) in Women with Repeated Implantation Failure / G.A. Allahbadia // *J. Obstet. Gynaecol. India.*- 2012.- Vol.62, № 4.- P. 381–383.
99. Atmae, S. Guidelines for the design, analysis and interpretation of omics data: focus on human endometrium / S. Atmae, F. Esteban, A. Stavreus-Evers, C. Simon // *Hum. Reprod. Update.* -2013.- Vol.20, № 1.- P.12-28.
100. Basir, G.S. Evaluation of cycle-to-cycle variation of endometrial responsiveness using transvaginal sonography in women undergoing assisted reproduction / G.S. Basir, W.S.O, W.W. So // *Ultrasound. Obstet. Gynecol.*- 2012.- Vol. 19.- P. 484-489.
101. Beaman, K.D. Immune etiology of recurrent pregnancy loss and its diagnosis / K.D. Beaman, E. Ntrivalas, T.M. Mallers // *American. Journal of Reproductive Immunology.*-2012.-Vol.67, № 4.-P.319–325.
102. Bentin-Ley, U. Presence of uterine pinopodes at the embryo-endometrial interface during human implantation in vitro / U. Bentin-Ley, A. Sjögren, L. Nilsson // *Hum. Reprod.*- 2009.- Vol.14.- P.515-520.
103. Binder, N.K. Endometrial signals improve embryo outcome: functional role of vascular endothelial growth factor isoforms on embryo development and implantation in mice / N.K. Binder, J. Evans, D.K. Gardner // *Hum. Reprod.*- 2014.- Vol. 29, № 10.- P. 2278-2286.
104. Black, R.E. Global Prevalence of Small for Gestational Age / R.E. Black // *Births. Nestle Nutr. Inst. Workshop. Ser.*- 2015.- Vol. 81.- P. 1-7.
105. Carr, B.R. Endometrium and implantation / B.R. Carr // *Semin Reprod Med.*- 2014.- Vol.32, № 5.- P.331-332.

106. Chen, X. Differential expression of vascular endothelial growth factor angiogenic factors in different endometrial compartments in women who have an elevated progesterone level before oocyte retrieval, during in vitro fertilization-embryo transfer treatment / X.Chen, X.Jin, L.Liu // *Fertil. Steril.*- 2015.- Vol. 21.- P.67-78.
107. Chen, X. Vascular endothelial growth factor (VEGF) regulation by hypoxia inducible factor-1 alpha (HIF1A) starts and peaks during endometrial breakdown, not repair, in a mouse menstrual-like model / X.Chen, X.Jin, // *Hum. Reprod.*- 2015.-Vol.30,№9.- P.2160-2170.
108. Connelly, O.M. Reproductive functions of progesterone receptors Recent / O.M.Connelly // *Prog. Horm. Res.*- 2012. – Vol.57.- P.339 - 355.
109. Di Pietro, C. Altered transcriptional regulation of cytokines, growth factors, and apoptotic proteins in the endometrium of infertile women with chronic endometritis / C.Di Pietro, E.Cicinelli, M.R.Guglielmino // *Am. J. Reprod. Immunol.* -2013.- Vol.5.- P.509–517.
110. Diedrich, K. The role of the endometrium and embryo implantation in the human / K.Diedrich // *Hum. Reprod.*- 2009.- Vol.14.- P.365-377.
111. Dimitriadis, E. Review: LIF and IL11 in trophoblast-endometrial interactions during the establishment of pregnancy / E. Dimitriadis, E. Menkhorst, L.A. Salamonsen, P. Paiva // *Placenta.* – 2010. - Vol. 31. - P. 99–104.
112. Edwards, R.G. Human implantation: the last barrier in assisted reproduction technologies? / R.G.Edwards // *Reprod. Biomed. Online.*- 2006.- Vol. 13.- P. 887-904.
113. Fanchin, R. Vaginal versus oral E(2) administration: effects on endometrial thickness, uterine perfusion, and contractility / R.Fanchin, C.Righini, L.M.Schönauer // *Fertil.Steril.*- 2011.- Vol.76.- P.994-999.
114. Forsythe, J.A. Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1 / J.A.Forsythe, B.H. Jiang, N.V.Yer // *Mol. Cell. Biol.*- 2013.- Vol.16.- P.4604–4613.

115. Fragouli, E. Morphological and cytogenetic assessment of cleavage and blastocyst stage embryos / E.Fragouli, S.Alfarawati, K.Spath // *Mol. Hum. Reprod.*- 2014.- Vol. 20, № 2.- P. 117-126.
116. Garrido-Gómez, T. Profiling the gene signature of endometrial receptivity: clinical results / T.Garrido-Gómez, M.Ruiz-Alonso, D.Blesa // *Fertil. Steril.*- 2013.-Vol.99.- P.1078-1085.
117. Gonen, Y. Sonographic determination of a possible adverse effect of clomiphene citrate on endometrial growth / Y.Gonen, R.F.Casper // *Hum. Reprod.* - 1990.- Vol.5.- P.670-674.
118. Hasegawa, E. Expression of leukemia inhibitory factor in the endometrium in abnormal uterine cavities during the implantation window / E.Hasegawa, H.Ito, F.Hasegawa, K.Hatano // *Fertil.Steril.*- 2012.- Vol.97.- P.953–958.
119. Health-2020: a European policy framework and strategy for the 21st century. - Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2013. -242 p.
120. Herr, D. VEGF induces ascites in ovarian cancer patients via increasing peritoneal permeability by downregulation of Claudin 5 / D.Herr, A.Sallmann, I.Bekes, R.Konrad // *Gynecol. Oncol.*- 2012.- Vol.127, № 1.- P.210-216.
121. Jerman, L.F. The role of the lymphatic system in endometriosis: a comprehensive review of the literature / L.F.Jerman, A.Hey-Cunningham // *J. Biol. Reprod.*- 2015.- Vol.92, № 3.- P.64.
122. Kasius, A. Endometrial thickness and pregnancy rates after IVF: a systematic review and meta-analysis / A.Kasius, J.G.Smit, H.L.Torrance // *Hum. Reprod. Update.*- 2014. -Vol. 20, № 4.- P. 530–541.
123. Kasius, J.C. The impact of chronic endometritis on reproductive outcome / J.C.Kasius, H.M.Fatemi, C.Bourgain // *Fertil.Steril.* -2011.- Vol.96, №6.- P.1451-1456.
124. Kitaya, K. Inter-observer and intra-observer variability in immunohistochemical detection of endometrial stromal plasmacytes in chronic endometritis /K.Kitaya, T.Yasuo // *Exp. Ther. Med.*- 2013.-Vol.5, №2.- P.485–488.

125. Kitaya, K. Unusual inflammation in gynecologic pathology associated with defective endometrial receptivity / K.Kitaya, T.Yasuo, Y.Tada // *Histol. Histo-pathol.*- 2014.- Vol.29.- P.1113–1127.
126. Kornilov, N. Effect of exogenous estradiol on the results of IVF / N.Komilov // *Human Reproduction.*-1999.- Vol.5.- P.1-52..
127. Koukourakis, M.I. LYVE-1 immunohistochemical assessment of lymphangiogenesis in endometrial and lung cancer / M.I.Koukourakis, A.Giatromanolaki, E.Sivridis // *J. Clin. Pathol.*- 2015.- Vol.58, №2.- P.202-206.
128. Lash, G.E. Localization of angiogenic growth factors and their receptors in the human endometrium throughout the menstrual cycle and in recurrent miscarriage /G.E.Lash, B.A.Innes, J.A.Drury // *Hum. Reprod.* – 2012.- Vol. 27, №1.- P.183-195.
129. Ledee-Bataille, N. Concentration of leukaemia inhibitory factor (LIF) in uterine flushing fluid is highly predictive of embryo implantation / N.Ledee-Bataille // *Reprod.* -2012.- Vol.17.- P.213-218.
130. Lessey, B. Luminal and glandular endometrial epithelium express integrins differentially throughout the menstrual cycle: implications for implantation, contraception, and infertility / B.Lessey, A.Ilesanmi, J.Sun // *Am. J. ReprodImmunol.* -2006.- Vol.35.- P.195–204.
131. Lessey, B. A. Assessment of endometrial receptivity / B. A. Lessey // *Fertil. Steril.* - 2011. – Vol. 96, № 3. – P. 522 - 529.
132. Lima, P.D. Leukocyte driven-decidual angiogenesis in early pregnancy/ P.D.Lima, J.Zhang, C.Dunk // *Cell. Mol. Immunol.*- 2014.- Vol.11,№ 6.- P.522-537.
133. Liu, F. Association of VEGFA polymorphisms with susceptibility and clinical outcome of hepatocellular carcinoma in a Chinese Han population / F.Liu, L.Luo, Y.Weii // *Oncotarget.*- 2017.- Vol.8, №10.- P.16488-16497.
134. Margarit, L. MUC1 as a Discriminator between Endometrium from Fertile and Infertile Patients with PCOS and Endometriosis / L.Margarit, A.Taylor, M.H.Roberts // *J. Clin.Endocrinol.Metab.*-2010.- Vol.95, № 12.- P.5320—5329.

135. Margioulas-Siarkou, C. LIF and LIF-R expression in the endometrium of fertile and infertile women: A prospective observational case-control study / C.Margioulas-Siarkou, Y.Prapas, S.Petousis // *Mol. Med Rep.*- 2016.-Vol.13, №6.- P.4721-4728.
136. Mariee, N. Expression of leukaemia inhibitory factor and interleukin 15 in endometrium of women with recurrent implantation failure after IVF; correlation with the number of endometrial natural killer cells / N.Mariee, T.C. Li, S.M.Laird // *Human Reproduction.*- 2012.- Vol.27, №7.- P.1946–1954.
137. Matsuzaki, S. HOXA-10 expression in the mid-secretory endometrium of infertile patients with either endometriosis, uterine fibromas or unexplained infertility / S.Matsuzaki, M.Canis, C.Darcha // *Hum. Reprod.*- 2010.- Vol.24, №14):91-98.(29).
138. Moberg, C. Endometrial expression of LIF and its receptor and peritoneal fluid levels of IL-1 α and IL-6 in women with endometriosis are associated with the probability of pregnancy / C.Moberg, V.Bourlev, N.Ilyasova // *Archives of Gynecology and Obstetrics.*- 2015.- Vol.292, № 2.- P.429–437.
139. Moreno, I. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure / I.Moreno, F.M.Codoñer, F.Vilella // *Am. J. Of Obstetrics and Gynecology.*- 2016.- Vol. 215, №1.- P.684–703.
140. Myers, E M. Comprehensive management of severe Asherman syndrome and amenorrhea / E.M.Myers, B.S.Hurst // *Fertil. Steril.*- 2012.- Vol.97.- P.160–164.
141. Nikas,G. Cell-surface morphological events relevant to human implantation / G.Nikas // *Hum.Reprod.*- 2009.- Vol.14, №2.- P.7-44.
142. Nicola, N.A. Leukemia inhibitory factor (LIF) / N.A.Nicola, J.J.Babon // *Cytokine Growth. Factor. Rev.* -2015.- Vol.26.- P.533–544.
143. Ocana, V. S. Characterization of a bacteriocin-like substance produced by a vaginal *Lactobacillus salivarius* strain / V.S.Ocana, A.Pesce De Ruiz Holgado // *Applied and environmental microbiology.* - 1999. - Vol. 65. - №12. - P. 5631-5635.

144. Piltonen, T.T. Endometrial stromal fibroblasts from women with endometritis have impaired progesterone-mediated decidualization, aberrant cytokine profiles and promote enhanced immune cell migration in vitro / T.T.Piltonen // *Human Reproduction*.- 2015.- Vol.30, № 5.- P.1203–1215.
145. Pustotina, O.A. Urogenital infection in pregnant women: clinical signs and outcome / O.A.Pustotina // *J. Perinat Med*.- 2013. -Vol. 41.- P. 135-139.
146. Qingxiang, Wei M.A. Reduced expression of biomarkers associated with the implantation window in women with endometriosis / M.A. Wei Qingxiang, J.Benjamin // *Fertil.Steril*. -2009.- Vol. 91, №5.- P.1686-1691.
147. Quinn, C. The presence of pinopodes in the human endometrium does not delineate the implantation window / C.Quinn, E.Ryan, E.A.Claessens // *Fertil.Steril*.- 2011.- Vol.87.- P.1015–1021.
148. Rackow, B.W. Submucosal uterine leiomyomas have a global effect on molecular determinants of endometrial receptivity / B.W.Rackow, H.S.Taylor // *Fertil.Steril*. -2010.- Vol.93, № 6.- P.2027-2034.
149. Rosario, G.X. The Multifaceted Actions of Leukaemia Inhibitory Factor in Mediating Uterine Receptivity and Embryo Implantation / G.X.Rosario, C.L.Stewart // *Am. J. Reprod. Immunol*.- 2016.- Vol.75, №3.- P.246-255.
150. Safdarian, L. Recurrent IVF failure and hereditary thrombophilia / L.Safdarian, Z.Najmi, A.Aleyasin // *Iran. J. Reprod. Med*.- 2014.- Vol.12, №7.- P. 467–470.
151. Saito, K. Degradation of estrogen receptor α in activated blastocysts is associated with implantation in the delayed implantation mouse model / K.Saito, E.Furukawa, M. Kobayashi // *Mol.Hum. Reprod*.- 2014.- Vol.20, №5.- P.384-391.
152. Salamonsen, L.A. Tissue injury and repair in the female human reproductive tract / L.A.Salamonsen // *Reproduction*.- 2013. –Vol.125. –P. 301–311.
153. Senturk, L. M. Thin endometrium in assisted reproductive technology / L.M. Senturk, C.T. Erel // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol*. – 2008. – Vol. 20, № 3. – P. 221 - 228.

154. Schatz, F. Progesterin-regulated expression of tissue factor in decidual cells: implications in endometrial hemostasis, menstruation and angiogenesis / F.Schatz, G.Krikun, R.Caze // *Steroids*.- 2013.- Vol.68. – P.849–860.
155. Shao, R. The elusive and controversial roles of estrogen and progesterone receptors in human endometriosis / R.Shao, S.Cao, X.Wang // *American Journal of Translational Research*.-2014.- Vol.6, №2.- P.104–113.
156. Sher, G. Effect of vaginal sildenafil on the outcome of in vitro fertilization (IVF) after multiple IVF failures attributed to poor endometrial development / G. Sher, J.D. Fisch // *Fertil. Steril.* – 2002. – Vol. 78, № 5. – P. 1073 - 1076.
157. Simon, A. Repeated implantation failure: clinical approach / A.Simon, N.Laufer // *Fertil. Steril.*- 2012.- Vol.97, № 5.- P.1039-1043.
158. Singh, N. Predictive value of endometrial thickness, pattern and sub-endometrial blood flows on the day of hCG by 2D dopler in in-vitro fertilization cycles: A prospective clinical study from a tertiary care unit / N.Singh, A.Bahadur, S.Mittal // *J. Hum. Reprod. Science*.- 2011.- Vol.4, № 1.- P.29-33.
159. Sirota, I. Potential influence of the microbiome on infertility and assisted reproductive technology / I.Sirota, S.M.Zarek, J.H.Segars // *Semin. Reprod. Med.*- 2014.- Vol. 32.- P. 35–42.
160. Smith, S.D. Changes in vascular extracellular matrix composition during decidual spiral arteriole remodeling in early human pregnancy / S.D.Smith, R.H.Choudhur, P.Matos // *Histol. Histopathol.*- 2016.- Vol.31,№ 5.- P.557-571.
161. Stamenov, K. The introduction of G-CSF into the uterus - a possible treatment for repeated implantation failures / K.Stamenov // *Fertil.Steril.* -2011.- Vol.96.- P.1-93.
162. Stavreus-Evers, A. Formation of pinopodes in human endometrium is associated with the concentrations of progesterone and progesterone receptors text / A.Stavreus-Evers // *Fertil.Steril.*-2001.- Vol.76, № 4.- P.782-791.
163. Teissier, D.R. Uterine spiral arteries in pathogenesis of natural killer cells and extra villous trophoblasts in normal and heigh-risk pregnancies /

- D.R.Teissier, J.Yockell-Lellievre, A.Gruslin //Am. J. Reprod. Immunol.- 2015.- Vol.74, №1.- P.177-191.
164. The European health report 2015. Targets and beyond – reaching new frontiers in evidence.- Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2015. – 234 p.
165. The LIF receptor antagonist PEGLA is effectively delivered to the uterine endometrium and blocks LIF activity in cynomolgus monkeys //Contraception. – 2013. - Vol. 87, № 6. - P. 813-823.
166. Timeva, T. Recurrent Implantation Failure: The Role of the Endometrium / T.Timeva, A.Shterev, S.Kyurkchiev //J. Reprod. Infertil.- 2014.- Vol.15, №4.-P. 173–183.
167. Ubeda, C. Roles of the intestinal microbiota in pathogen protection / C.Ubeda, A.Djukovic, S.Isaac // Clin. Transl. Immunology.- 2017.- Vol.10, №2.- P.128
168. Wetendorf, M. The progesterone receptor regulates implantation, decidualization, and glandular development via a complex paracrine signaling network / M.Wetendorf, F.De Mayo // Molecular and cellular endocrinology. - 2012. - Vol. 357. - №1-2. - P. 108-118.
169. Youngblood, B.A. Application of recombinant human leukemia inhibitory factor (LIF) produced in rice (*Oryza sativa* L.) for maintenance of mouse embryonic stem cells / B.A.Youngblood, R.Alfano, S.C.Pettit //J. Biotechnol.- 2014 .- Vol.20.- P.67-72.
170. Yu, H.T. The role of diagnostic hysteroscopy before the first in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycle / H.T.Yu, C.J.Wang, C.L.Lee // Arch. Gynecol. Obstet.- 2012.- Vol.286.- P.1323-1328.
171. Yue, X. Leukemia inhibitory factor promotes EMT through STAT3-dependent miR-21 induction / X.Yue, Y.Zhao, C.Zhang //Oncotarget.- 2016.- Vol.26.- P.3777-3790.
172. Zhang, J. Human dNK cell function is differentially regulated by extrinsic cellular engagement and intrinsic activating receptors in first and second trimester

pregnancy / J.Zhang, C.E.Dunk, M.Kwan // Cell. Mol. Immunol. -2015.- Vol.17.- P.1-11.

173. Zhang, J. To serve and to protect: the role of decidual innate immune cells on human pregnancy / J.Zhang, C.Dunk, A.B.Croy // Cell. Tissue. Res.- 2016.- Vol.363.- P.249-265.
174. Ziebe, S.A randomized clinical trial to evaluate the effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) in embryo culture medium for in vitro fertilization / S.Ziebe, A.Loft, B.B.Povlsen // Fertil. Steril.- 2013.- Vol.99.- P.1600-1609.