

**Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования Первый Московский государственный медицинский
университет имени И.М. Сеченова
Министерство здравоохранения Российской Федерации
(Сеченовский Университет)**

На правах рукописи

Есина Елена Владимировна

**ОПТИМИЗАЦИЯ КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ
ПРИ ВЕДЕНИИ ЖЕНЩИН С БЕСПЛОДИЕМ, ВКЛЮЧЕННЫХ В
ПРОГРАММУ ЭКО**

14.01.01 - акушерство и гинекология

**Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор
Аляутдина Ольга Сергеевна

МОСКВА – 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1. СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ИМПЛАНТАЦИИ И МЕХАНИЗМЫ ЕЕ НАРУШЕНИЯ, КАК ПРИЧИНА БЕСПЛОДИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	9
1.1. Актуальность проблемы бесплодия.....	9
1.2. Нарушение имплантации как одна из основных причин неудачных попыток вспомогательных репродуктивных технологий.....	12
1.3. Роль хронических воспалительных заболеваний органов малого таза в неудачных попытках экстракорпорального оплодотворения.....	27
1.4. Иммунологические аспекты бесплодия, неудачных попыток экстракорпорального оплодотворения и невынашивания беременности.....	39
1.5. Методы повышения эффективности экстракорпорального оплодотворения.....	48
1.6. Методы иммунологического воздействия при лечении пациенток с различными формами бесплодия.....	53
1.7. Заключение.....	60
Глава 2. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ, МЕТОДЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ И ЛЕЧЕНИЯ	61
2.1. Общая клиническая характеристика пациенток, включенных в исследование.....	61
2.2. Характеристика методов исследования.....	71
2.3. Метод внутривлагалищной аутолимфоцитотерапии.....	76
2.4. Характеристика процедуры экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбриона.....	78
2.5. Статистические методы и анализ исследования.....	80
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	81
3.1. Сравнительный анализ традиционных методов лечения воспалительных заболеваний органов малого таза и комплексного использования	

внутривагинальной аутолимфоцитотерапии, как способ подготовки пациенток к программе экстракорпорального оплодотворения.....	81
3.1.1. Клинико-лабораторная характеристика больных с вульвовагинальной инфекцией и воспалительными заболеваниями органов малого таза.....	81
3.1.2. Сравнительная эффективность медикаментозного лечения инфекционного вульвовагинита и комплексного применения этиотропных лекарственных препаратов и внутривагинальной аутолимфоцитотерапии.....	89
3.1.3. Сравнительная оценка эффективности традиционного лечения и комплексной терапии с использованием внутривагинальной аутолимфоцитотерапии на иммунный статус пациенток с инфекцией нижних отделов органов малого таза.....	92
3.1.4. Клиническая характеристика больных с хроническими воспалительными заболеваниями органов малого таза.....	95
3.1.5. Анализ результатов традиционной терапии хронических воспалительных заболеваний органов малого таза и комплексного лечения с использованием внутривагинальной аутолимфоцитотерапии.....	98
3.2. Клиническая характеристика пациенток с эндокринными нарушениями.....	100
3.3. Результаты экстракорпорального оплодотворения и подсадки эмбриона в исследуемых группах.....	102
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	105
ВЫВОДЫ.....	132
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	134
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	135
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	138

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Проблема бездетных браков по причине репродуктивных нарушений с каждым годом становится все более актуальной. Согласно статистике, на конец 1990-х годов число бесплодных пар приравнивалось к 8%. Но в 2011 году этот показатель значительно вырос и составил примерно 17% [71].

Бесплодие считается наиболее болезненной проблемой в рамках репродуктивного здоровья населения в РФ. Это обусловлено низкой рождаемостью, колоссальным количеством прерванных беременностей искусственным путем и массовым распространением патологии органов малого таза воспалительного характера.

Современная диагностика и новейшие методики лечения основаны на инновационных разработках, что позволяет расшифровывать регуляцию процесса репродукции на гормональном и генетическом уровне. К наиболее эффективным методам обследования при бесплодии относят ультразвуковую диагностику, а непосредственно для устранения причин заболевания и лечения применяют эндоскопическую хирургию и вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) [1].

Несмотря на использование в практике современных лечебных методик, а именно ЭКО (экстракорпорального оплодотворения), частота успешных имплантаций после подсадки эмбрионов (ПЭ) улучшилась незначительно. Поэтому колебания показателя результативности ЭКО находятся в пределах 10-15% (в пересчете на 1 эмбрион). Если учитывать тот факт, что в маточную полость подсаживают одновременно 3 эмбриона, то частота удачных беременностей возрастает до 20-30%. Это процентное соотношение практически не отличается от аналогичных показателей у здоровых партнеров в одном менструальном цикле [104]. При этом наступление желанной беременности в здоровой семье лишь дело времени, тогда как у супругов с бесплодием каждая последующая попытка ЭКО требует значительных материальных затрат и

зачастую сопряжена с психологическими травмами. Таким образом, дальнейшее совершенствование методов и увеличение эффективности ВРТ остаются актуальными вопросами.

Внутривлагалищная аутолимфоцитотерапия (ВАЛТ) считается инновационной методикой в терапии различных форм женского бесплодия, которая успешно применяется в рамках программы экстракорпорального оплодотворения с целью увеличения эффективности ВРТ.

Цель планируемого исследования

Целью исследования является повышение эффективности лечения бесплодия у женщин методом экстракорпорального оплодотворения путем использования внутривлагалищной аутолимфоцитотерапии в подготовительном периоде.

Задачи исследования:

1. Проанализировать влияние ВАЛТ на показатели клеточного и гуморального иммунитета.
2. Оценить эффективность предложенного метода лечения бесплодия (внутривлагалищной аутолимфоцитотерапии) у женщин, включенных в программу ЭКО.
3. Оценить эффективность ВАЛТ при воспалительных заболеваниях органов малого таза, как самой частой причины бесплодия.
4. Оценить безопасность внутривлагалищной аутолимфоцитотерапии.
5. Разработать критерии отбора пациенток для лечения с помощью данной методики.
6. Оптимизировать методы лечения бесплодия у пациенток с неоднократными безуспешными попытками ЭКО и ПЭ с целью повышения его эффективности.
7. Провести анализ отдаленных результатов комплексного лечения инфекционного процесса в органах малого таза по сравнению с традиционной терапией.

8. Разработать и дополнить алгоритм ведения пациенток с различными формами бесплодия.

Научная новизна исследования

Впервые предложен метод внутривлагалищной аутолимфоцитотерапии (ВАЛТ) при лечении пациенток с бесплодием, включенных в программу ЭКО, позволяющий значительно повысить показатели частоты наступления беременности, а также оптимизировать применение вспомогательных репродуктивных технологий.

Нами разработаны и дополнены алгоритмы ведения женщин с бесплодием различной этиологии, что позволило повысить результативность экстракорпорального оплодотворения за счет более успешной имплантации эмбрионов.

Так же в работе впервые использован метод ВАЛТ в составе комплексного лечения воспалительных заболеваний органов малого таза, как одной из наиболее частых причин бесплодия.

Теоретическая и практическая значимость

Применение в клинической практике нового метода лечения женщин с бесплодием – внутривлагалищной аутолимфоцитотерапии в рамках программы вспомогательных репродуктивных технологий — повышает эффективность данного метода.

Разработка критериев отбора и модификация алгоритма ведения пациенток с бесплодием различного генеза, в том числе включенных в программы ВРТ, позволит значительно улучшить результаты лечения пациенток методом ЭКО.

Результаты проведенного исследования позволяют использовать новый метод ВАЛТ в комплексной терапии воспалительных заболеваний органов малого таза, в том числе на этапе подготовки пациенток к процедуре ЭКО и ПЭ.

Внедрение в практическую медицину метода ВАЛТ улучшит результативность программы ЭКО, что имеет выраженную экономическую целесообразность.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Метод внутривлагалищной аутолимфоцитотерапии может быть рекомендован в качестве подготовки пациенток с различными формами бесплодия к процедуре ВРТ (в частности, к ЭКО и ПЭ).
2. Применение ВАЛТ является эффективной технологией повышения эффективности проведения процедуры ЭКО.
3. Метод ВАЛТ может эффективно использоваться в комплексном лечении пациенток с воспалительными заболеваниями органов малого таза, как одной из наиболее частой причины бесплодия.
4. Метод ВАЛТ является эффективным компонентом комплексной терапии вагинитов и бактериальных вагинозов различной этиологии.

Достоверность научных положений и выводов

Результаты диссертационной работы достоверны и обоснованы, что обеспечивается репрезентативностью и достаточным объемом изученного материала ($n = 70$) и использованием адекватных решению поставленных задач методов: анамнестического, бактериологического, иммуногистохимического и статистического.

Личный вклад автора

Автор провел анализ клинических и лабораторных данных, принимал непосредственное участие в лечении пациенток методом внутривлагалищной аутолимфоцитотерапии. Проанализированы результаты клинического обследования пациенток с различными формами бесплодия. Проведенное исследование позволило диссертанту предложить метод иммуномодулирующей

терапии хронических воспалительных заболеваний, практически лишенный побочных эффектов. А также было рекомендовано использование ВАЛТ всем пациенткам с бесплодием и неудачными попытками ЭКО в анамнезе для повышения эффективности лечения бесплодия. Произведена статистическая обработка полученных результатов с использованием статистических программ.

Апробация и внедрение в практическое здравоохранение

Данное исследование является фрагментом комплексной темы кафедры «Разработка современных технологий подготовки специалистов с высшим медицинским и фармацевтическим образованием на основе достижений медико-биологических исследований» 01.2.006.06352.

Материалы работы были доложены на XII Всероссийском научном форуме «Мать и дитя» 2011 г; на XXVIII Всероссийском научном форуме «Мать и дитя» 2015 г.

Апробация диссертации проведена 16 декабря 2015 г. (протокол № 4) на заседании кафедры акушерства и гинекологии №1 лечебного факультета ФГАОУ ВО Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ, из них 3 – в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Объем и структура диссертации

Диссертация включает в себя список сокращений, введение, 4 главы, выводы, практические рекомендации и список используемой литературы. Работа изложена на 166 страницах компьютерного текста, содержит 19 таблиц, 11 рисунков. Список литературы включает 225 источников (98 на русском языке, 126 на английском языке).

Глава 1. СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ИМПЛАНТАЦИИ И МЕХАНИЗМЫ ЕЕ НАРУШЕНИЯ, КАК ПРИЧИНА БЕСПЛОДИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Актуальность проблемы бесплодия

Бесплодие в браке — это, пожалуй, одна из самых важных и сложнейших медико-социальных проблем. Согласно статистическим данным, полученным в результате эпидемиологических исследований, частота бесплодных браков в большинстве стран мира варьируется от 8 и до 29% [41]. В настоящее время отмечается рост приведенных показателей. В России процент бесплодия считается критическим и превышает 15% (по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ)). Этот факт негативно сказывается на демографической ситуации в стране в целом. На данный момент в РФ насчитывается порядка 5,5 миллиона бездетных семей. По данным статистики уровень бесплодия у женщин за последние десять лет вырос на 14% [1]. Если у человека нет возможности иметь родных детей, то это обстоятельство становится причиной серьезной моральной травмы как супружеской пары, так и их родственников. К тому же бесплодие вызывает у партнеров дезадаптацию в личностном и социальном плане [43; 44].

Таким образом демографические проблемы текущего столетия, прогрессирующий рост числа бездетных семей и частота привычного невынашивания беременности свидетельствуют о необходимости разработки и внедрении новых технологий. Именно поэтому наиболее прогрессивным достижением в области репродукции считается внедрение в медицинскую практику современных способов лечения бесплодия, а именно вспомогательных репродуктивных технологий, в частности экстракорпорального оплодотворения. Так, первооткрывателями зачатия «in vitro» стали британские клиницисты Эдвардс и Стептоу. Благодаря их разработке в 1978 году появилась на свет Луиза Браун - первый ребенок, рожденный по программе ЭКО. Доподлинно известно, что с помощью этой уникальной методики уже родилось несколько миллионов

здоровых детей. Ежегодно этот показатель возрастает примерно на 30 000 человек. При этом итоговое число циклов вспомогательных репродуктивных технологий, реализованных в медицинских центрах России с 2000 по 2015 год, возросло в 3,5 раза [29].

ЭКО успешно используют для лечения женского и мужского бесплодия, и при безрезультатности консервативных и хирургических методик при лечении иных патологических состояний, ставших причиной бездетного брака [31; 183]. Поэтому в большинстве случаев ВРТ является единственным шансом родить генетически родного ребенка. Реальные возможности открываются для супружеских пар с абсолютной инфертильностью - отсутствием или непроходимостью фаллопиевых труб у женщин и азооспермией у мужчин [72]. Именно по совокупности причин ЭКО и ПЭ получают наибольшую популярность и распространение [64]. Замечено, что за последние 30 лет методики вспомогательных репродуктивных технологий значительно усовершенствовались. В настоящее время появилась возможность отбора эмбрионов высокого качества и оценки статуса эндометрия. Кроме того, не прекращается развитие протоколов экстракорпорального оплодотворения в направлении увеличения частоты наступления беременностей, снижения случаев многоплодной беременности и появления на свет генетически здоровых детей при наличии наследственных дефектов в исходном материале.

Но несмотря на успешность новых технологий, показатели частоты имплантаций при переносе эмбрионов находится на низком уровне [128]. Об этом свидетельствуют систематические наблюдения за последние 10 лет [104]. Поскольку подсадка морфологически высококачественного эмбриона в полость матки, соответствующего по структуре определенной фазе менструального цикла, не всегда заканчивается беременностью. В ряде случаев развивающаяся беременность прерывается на ранней стадии развития.

Согласно полученным данным с европейского консорциума по IVF-мониторингу (EIM) при европейском сообществе по репродукции и эмбриологии человека (ESHRE), частота успешных имплантаций в рамках программы

экстракорпорального оплодотворения приравнивается к 28,4% - при условии применения исходного материала, не подвергавшегося криоконсервации. Если эмбрионы предварительно замораживали, то на долю результативных беременностей приходится лишь 21% [104], что существенно не различается с аналогичным показателем у здоровых супругов в одном менструальном цикле [62]. Но для здоровых семей наступление беременности — это вопрос времени. Тогда как для бесплодной пары повторные попытки сопровождаются материальными потерями и моральным перенапряжением.

Безуспешные циклы ЭКО могут быть сопряжены с множеством причинных факторов: недостаточным стимулированием яичников, нарушениями на стадиях культивирования, изначальной погрешностью при переносе эмбрионов в маточную полость. Даже если все причины полностью устранены при последующих попытках, часть семей сталкиваются с повторными неудачами по программе искусственного оплодотворения.

В 2005 г. В. Тап с соавторами [211] провели необходимые исследования и пришли к выводу, что термин «повторные имплантационные потери» правомерен при повторных неудачах в 2-6 циклах ЭКО при условии переноса в полость матки до 10 эмбрионов высокого качества. Но в последнее время специалисты придерживаются мнения о целесообразности переноса 1-2 эмбрионов в полость матки, поэтому определение «повторных имплантационных потерь» изменилось. Более детально обследовать партнеров необходимо уже по результатам 3-го безуспешного цикла ЭКО. Пациентки с повторными неудачными циклами ВРТ составляют до 30% от числа женщин, получивших лечение по программе ЭКО [83].

На основе полученных данных можно утверждать, что повышение эффективности лечения с помощью вспомогательных репродуктивных технологий является актуальной задачей в условиях современной медицины [171]. Крайне важными остаются вопросы, касающиеся диагностики и подготовительных мероприятий для супругов к процедуре ЭКО с учетом причинных факторов бесплодия в каждом отдельном случае [59; 97].

1.2. Нарушение имплантации как одна из основных причин неудачных попыток вспомогательных репродуктивных патологий

Повышение эффективности методик вспомогательных репродуктивных технологий, как одна из важнейших задач решается одновременно в разных направлениях: подтверждаются совершенствованию эмбриональные пособия и протоколы стимуляции яичников. Но большинство исследователей придерживаются мнения [100] о дальнейшей разработке новейших способов лечения бесплодия и повышения эффективности существующих методов. При этом важно тщательное изучение механизмов, регулирующих процесс имплантации – сложнейшего аспекта репродуктивной сферы человека [10].

Имплантация эмбриона считается сложным многоэтапным процессом, в который вовлекается большое количество факторов на клеточном и гуморальном уровне. Кроме того, имеет значение разнообразие межмолекулярных и межклеточных взаимодействий [57; 124]. В основу имплантации положено тесное взаимодействие эмбриона с рецепторами эндометрия. Этот процесс отличается интенсивностью взаимодействия между молекулами, клетками, клетками и тканями, экспрессией адгезивных молекул, ростовых факторов и цитокинов, отвечающих за разные виды регуляции (паракринную, аутокринную, интракринную, юкстакринную) [37; 206]. Именно поэтому прослеживается зависимость эффективности процедуры ЭКО от качества исходного материала, состояния эндометрия, его зрелости в функциональном плане и степени готовности к имплантации [2]. Создание наиболее благоприятных условий для имплантации особенно актуально при селективном переносе эмбриона в полость матки в единственном числе.

М.А. Ольховская считает, что нарушение рецептивности слизистой матки является основной причиной неудачных попыток ВРТ [64]. При этом максимальная активность рецепторного аппарата эндометрия определено как «окно имплантации», наблюдающееся на пике лютеинизирующего гормона в среднем на 5-10-й день после полноценной овуляции. Эти сроки совпадают с 20-

24-м днем нормального менструального цикла [99; 180]. В условиях современного развития науки интерес исследователей сконцентрирован именно на данном этапе зачатия как в целом, так и на отдельных факторах, приводящих к нарушению восприимчивости эндометрия и, как следствие, к бесплодию [92].

В настоящее время уже изучены часть молекулярных и биологических факторов, имеющих особую значимость в имплантации: цитокины, адгезивные молекулы, экстрацеллюлярный матрикс и ростовые факторы [106; 137; 142; 158]. Большинство исследователей пришли к общему выводу, что нарушение экспрессии отдельных факторов может явиться причиной имплантационных потерь при женском бесплодии [102; 113; 150; 220]. Поэтому наличие многокомпонентной функциональной активности слизистой матки считается обязательным условием успешной имплантации. Даже незначительное нарушение данной составляющей может привести к неудачной попытке забеременеть как физиологическим путем, так и в рамках программы ЭКО и ПЭ, при условии растущей и зрелой бластоцисты [77].

По результатам проведенных опытах на макаках резус было установлено, что имплантация у человека происходит в несколько стадий и контролируется комплексом взаимодействия эмбриона и слизистой матки, которые начинаются уже на ранних этапах созревания ооцита и полностью обеспечивают синхронность его развития и эндометрия [225]. Именно поэтому успешность зачатия напрямую зависит от следующих составляющих - качества и рецептивности эндометрия, эмбриональных качественных характеристик и их успешного взаимодействия [7].

Доподлинно известно, что прошедшая оплодотворение яйцеклетка проникает в маточную полость на этапе морулы к 5-му дню после успешной овуляции. По истечении 5-ти дней морула развивается в бластоцисту и подвергается хэтчингу, после чего на ее поверхности активируются рецепторы, обеспечивающие контакт с эндометрием. Каждая бластоциста наделена полярностью, как и каждая клетка эндометрия, что обеспечивает их специфическое взаимодействие [22]. После нормальной аппозиции бластоциста теряет прозрачную оболочку (*zona pellucida*).

Затем происходит адгезия - фиксация бластоцисты на слизистой матки, с последующим внедрением в ее строму (стадия инвазии) [99]. Инвазия считается основной фазой имплантации, сопровождающейся remodelированием сосудистой сети эндометрия и активным неоангиогенезом. Этот процесс играет важное значение в формировании кровообращения растущего зародыша [136].

Каждой имплантации предшествуют закономерные процессы, происходящие в эндометрии в фазу секреции. В свою очередь все представленные реакции слизистой матки можно разделить на три основные стадии [192].

Контроль первой фазы осуществляют эстрогены и прогестерон, который проявляется характерными изменениями покровного и железистого эпителия слизистой матки как подготовительный этап каппозиции и инвазии бластоцисты. Гормональное воздействие на эндометрий зависит от наличия рецепторов к стероидам. При этом отмечается закономерное нарастание концентрации рецепторов от функционального к базальному слою, что соответствует установлению необходимой маточной рецептивности, необходимой для успешной имплантации. Параллельно с преобразованиями рецепторного аппарата эпителиальные клетки структурно меняются, в том числе в профиле белковой секреции.

Во вторую фазу наблюдается модуляция гормональных эффектов посредством эмбриональных факторов. Секреторная активность бластоцисты начинается с синтеза хорионического гонадотропина и иных белковых фракций на ранней стадии развития беременности. Поэтому закономерно возникают дополнительные изменения клеточного состава эндометрия. Покровный эпителий подвергается эндорепликации, в результате чего формируются характерные «эпителиальные бляшки». В свою очередь железистый эпителий на воздействие эмбриональных факторов регуляции отвечает модификацией важного продукта секреции - гликоделина, оказывающего иммунный защитный эффект по отношению к реализующейся беременности. Кроме того, в результате процесса дифференциации стромальные фибробласты становятся обладателями децидуального фенотипа и запускают экспрессию актиновых филоментов.

На третьей стадии происходит инвазия трофобласта, стромальные компоненты слизистой матки, гладкомышечные волокна и сосудистый эндотелий подвергаются значительной перестройке. В этот период исчезают специфические «эпителиальные бляшки» на покровном эпителии, а железистый эпителий приобретает большую секреторную активность. Трансформация фибробластов заканчивается переходом в децидуальные клетки, отвечающие за экспрессию факторов роста, характерных для ранних сроков беременности.

По сути, процесс имплантации можно воспринимать как воспалительный процесс, в результате которого осуществляется эмбриональное взаимодействие с эндометрием и кровеносной системой матки. В результате подобных реакций на фоне действия простагландинов возрастает проницаемость сосудистых стенок, особенно в области имплантации бластоцисты. Простагландины при этом выступают в роли вазоактивных факторов, способствующих правильной овуляции, оплодотворению, вынашиванию плода и родовой деятельности [202]. Они синтезируются в мембране из фосфолипидов после последовательных реакций основных ферментов: фосфолипазы A_2 и ЦОГ, относящихся к семейству эйкозаноидов (PGD_2 , PGE_2 , $PGF_{2\alpha}$ и простациклин). На сегодняшний день открыты следующие формы циклооксигеназы: ЦОГ-1, ЦОГ-2 и ЦОГ-3.

Циклооксигеназа-1 считается промежуточным фактором в физиологических состояниях, циклооксигеназа-2 отвечает за индукцию ростовых факторов, цитокинов, онкогенов и воспалительных реакций. Что касается фосфолипазы A_2 , то она осуществляет воздействие непосредственно на фосфолипиды, локализующиеся на мембране клеток, что приводит к синтезу арахидоновой кислоты, которая в последующем подвергается оксигенации и восстанавливается с помощью ферментов циклооксигеназы. В качестве связующего звена в этом взаимодействии выступает простагландин H_2 [37].

В результате экспериментов на мышах, имеющих недостаточность фосфолипазы A_2 или ферментов ЦОГ-2, выявлена значимая роль простагландинов во взаимодействии зародыша с эндометрием. Ферментный дефицит может привести к нарушению синтеза простагландинов и, как следствие, неправильной

имплантации. Если экзогенные простагландины ввести искусственным путем в определенное время, то можно добиться нормальной эмбриональной имплантации. При этом индукция ЦОГ-1 проходит под воздействием эстрадиола и прогестерона, а ЦОГ-2 является ответной реакцией на воспаление [199].

ЦОГ-1 и ЦОГ-2 экспрессируются в железистом эпителии эутопического эндометрия с последовательными изменениями в зависимости от фазы менструального цикла. Уровень ферментативной активности их значительно возрастает в секреторную, а не в пролиферативную фазу. Это означает, что при высокой пролиферации экспрессия циклооксигеназы низкая и наоборот при высоком уровне экспрессии отмечается снижение процессов пролиферации [135].

Синтезированные простагландины попадают в клетки с помощью специальных переносчиков (PGT), относящихся к 12-трансмембранным анионпереносимым полипептидам органического происхождения и локализующихся в клетках стромы, поверхностном и железистом эпителии. При этом их экспрессия в женском организме значительно возрастает в фазу пролиферации и ранней секреции, а понижается в среднюю и позднюю фазу секреции. PGT-модуляция проходит в эпителии на протяжении всего менструального цикла, играя при этом значимую роль при взаимодействии простагландинов и эндометрия. Это касается регуляции простагландиновой активности на локальном уровне, но их специфическое участие в имплантации до конца не изучено [152].

Комплексная взаимосвязь между эмбрионом и эндометрием находится под контролем цитокинов, ростовых факторов (интерлейкина-1(IL-1), сосудисто-эндотелиального (VEGF), лейкоингибирующего (LIF), колониестимулирующего (CSF), инсулиноподобного ростового фактора (IGF)), интегринов и компонентов экстрацеллюлярного матрикса [125]. Эти процессы обеспечивают и регулируют нормальное развитие бластоцисты, вынашивание беременности и адаптацию женского организма к новым условиям.

Цитокины и факторы роста.

Большинство факторов роста синтезируются эпителиальными клетками, лимфоцитами и макрофагами [142]. При этом цитокины вырабатываются НК-клетками (естественными киллерами) под контролем прогестерона, что обеспечивает иммунологическую составляющую процесса имплантации. Факторы роста и цитокины входят в семейство пептидов, вовлеченных в паракринную, аутокринную и интракринную систему регуляцию на клеточном уровне посредством образования связей со специфическим рецепторным аппаратом на поверхности клеток [194].

Значительное место во взаимодействии эмбриона и эндометрия в преимплантационном периоде играет обширный спектр цитокинов [116]. Среди них интерлейкин-1, который считается провоспалительным цитокином, регулирующим ответную реакцию организма на воспаление. Кроме того, IL-1 относится к паракринным факторам, обеспечивающим взаимосвязь между эндометрием и эмбрионом в процессе имплантации. В его состав входят 2 субъединицы-агонисты - IL-1 α и IL-1 β , два типа рецептора - IL-1R I и II и один рецептор-антагонист (IL-1ra), ингибирующий взаимодействие обеих субъединиц с их рецепторами на мембране клеток эндометрия и эмбриона. Макрофаги, клетки стромы и трофобласта отвечают за продукцию IL-1 α и IL-1 β , которые подвергаются экспрессии непосредственно в эндометрии на протяжении менструального периода с достижением максимального уровня в раннюю и позднюю лютеиновую фазу [126].

В настоящее время известно, что на ранних сроках беременности компоненты интерлейкина-1 локализуются на материнско-трофобластной стороне и участвуют в имплантации и идентификации эмбриона [158]. При этом цитокины обеспечивают взаимодействие зародыша и эндометрия посредством общих сигнальных элементов, располагающихся в слизистой матки. Эксперты полагают, что нарушение синтеза цитокинов закономерно приводит к нарушению процессов имплантации [99; 116].

Не менее значимым цитокином во взаимодействии эмбриона с эндометрием является лейкемия-ингибирующий фактор (LIF) – гликоротеин, полученный в 1986 году из макрофагов и отвечающий за дифференцировку миелоидных лейкемических клеток у подопытных мышей. В последующем было показано ингибирование им процесса дифференцировки стволовых клеток эмбриона. Кроме того, аутокринные и паракринные эффекты лейкемия-ингибирующего фактора – пролиферация и дифференцировка клетки стали поводом для оценки его значимости в росте и имплантации бластоцисты. Так значимую роль LIF в имплантации изучили в опытах на гомозиготных мышах, у которых наблюдались неудачные попытки зачатия при дефиците гена LIF. У животных наблюдалась успешная овуляция и происходило оплодотворение, но имплантация не происходила. Ведение экзогенного фактора приводило к восстановлению процесса имплантации [220].

Лейкемия-ингибирующий фактор был идентифицирован во всех клетках и тканях органов репродукции в течении всего менструального цикла. Однако наибольшая его экспрессия стромой эндометрия, поверхностными и железистыми эпителиальными клетками осуществляется в среднюю и позднюю фазу секреции [118]. Так, у здоровых пациенток мРНК LIF достигает максимальной экспрессии в эндометрии с 18-го по 25-й день менструального цикла, т.е. в период «окна имплантации», что позволяет его расценивать как биохимический маркер рецептивности эндометрия [182]. На интенсивность экспрессии LIF могут влиять следующие факторы: IL-1 α , опухоль-некротизирующий фактор (TNF), трансформирующий фактор роста (TGF), гепарин-связывающий эпидермальный фактор роста (HB-EGF), прогестерон, лептин. Многими исследователями показано снижение экспрессии LIF в эндометрии у пациенток с бесплодием, и особенно с эндометриозом [130].

В преимплантационном периоде на поверхности бластоцисты и в цитотрофобласте происходит экспрессия LIF и его рецепторов, что приводит к формированию связей между эмбрионом и эндометрием, а также обеспечивает правильную ориентацию трофобласта, подготавливая его к адгезии эмбриона. И

хотя влияние LIF на развитие трофобласта окончательно не изучено, признана его важная роль во взаимодействии между трофобластом и материнскими децидуальными лейкоцитами.

Ангиогенез играет не последнюю роль в осуществлении успешной имплантации и прогрессирования беременности, обеспечивая нормальное функциональное состояние эндометрия в преимплантационном периоде. Ангиогенезом принято считать последовательный процесс формирования новой сосудистой сети, а именно активацию, миграцию и пролиферацию клеток эндотелия, разрушение старой мембраны и в итоге образование сосудов за счет новой базальной мембраны [124]. Этот процесс находится под контролем следующих активаторов и ингибиторов: протеазы, промежуточные метаболиты, ионы, цитокины, факторы роста - сосудисто-эндотелиальный (VEGF), эпидермальный (EGF), матриксные протеиназы, ангиопоэтин-2, эритропоэтин, интегрин $\alpha\beta 3$, функционирующего в качестве рецептора для витронектина, фибриногена, фибронектина, тромбина [179]. Среди этих факторов основные ангиогенные эффекты в слизистой матки обеспечивают матриксных металлопротеиназы (MMP) и тканевые ингибиторы матриксных металлопротеиназ (TIMP). В свою очередь VEGF считается одним из ведущих регуляторов физиологического и патологического ангиогенеза. В состав данного фактора роста входят 5 основных изоформ: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D и плацентарный ростовой фактор (PGF), два трансмембранных рецептора — KDR (или Flk-1) и — Flt-1 и один растворимый рецептор, выступающий в роли антагониста сосудисто-эндотелиального ростового фактора. Последний в свою очередь увеличивает проницаемость сосудистых стенок в эндометрии, характеризующимся периодическими изменениями ангиогенеза в физиологическом плане [155].

Экспрессия сосудисто-эндотелиального фактора происходит клетками железистого эпителия и стромы эндометрия, а также трофобластом [103]. Известно, что помимо указанных структур источником VEGF могут становиться нейтрофильные гранулоциты, участвующие в сосудистой пролиферации

эндометрия. Данный фактор обнаруживается в слизистой матки на протяжении всего менструального периода с тенденцией к усилению экспрессии в среднюю пролиферативную фазу и фазу секреции. Это полностью соответствует максимальной активности эндометрия на клеточном уровне. Наиболее сильными активаторами образования сосудисто-эндотелиального фактора роста считаются гипоксические состояния, IL-1, EGF и TGF. Нарушение сосудистой перфузии в ткани приводит к ускоренному падению уровня VEGF и, как следствие, неадекватному ангиогенезу [170].

Нарушения в системе ангиогенеза в эндометрии ведут к неправильной трансформации эндометрия в течении менструального цикла, а также к изменению процессов имплантации и, как следствие, прерыванию беременности. Так например, у пациенток с неудачными попытками ЭКО в анамнезе было выявлено снижение уровня VEGF в эндометии в 3,2 раза [64]. Похожие данные были получены и в других исследованиях, где было отмечено значительное угнетение экспрессии VEGF в период «имплантационного окна» у женщин с безуспешными попытками зачатия в рамках программы ЭКО и ПЭ [114]. Следовательно, ангиогенез играет важную роль в обеспечении трофики эндометрия, что обеспечивает его нормальную рецептивность в процессе имплантации.

Молекулы клеточной адгезии.

За последние годы отмечено активное исследование роли молекул адгезии в области процессов имплантации [161]. К имплантационным маркерам относят следующие белковые семейства: интегрины, селектины, кадгерины и муцины [95]. Среди них интегрины подверглись более детальному изучению, так как они отличаются циклической зависимостью изменений и особой значимостью в обеспечении рецептивности эндометрия [124].

Интегрины относятся к семейству трансмембранных гликопротеинов, в состав которых входят 2 нековалентные цепи – α и β . При этом у класса млекопитающих обнаружено 18 α -цепей и 8 β -цепей, формирующих 24 гетеродимера различных в

функциональном плане. Однако только некоторые из них играют ключевую роль в имплантации [99].

Интегрины участвуют как в клеточно-клеточной, так и клеточно-матриксной адгезии в большинстве физиологических реакциях, в том числе в развитии эмбриона, процессах гемостаза, тромбоза, заживлении ран вторичным натяжением, иммунном и неиммунном ответе и трансформации онкогенного характера [213]. Также они локализуются в эндометриальных, децидуальных, цитотрофобластных компонентах и принимают участие в изменениях фенотипа эндометрия в фазу секреции и начальных этапах имплантации [174].

Большинство интегринов обнаружено в поверхностном и железистом эпителии слизистой матки. Они характеризуются возрастающей экспрессией в среднюю лютеиновую фазу и обозначаются как маркеры «имплантационного окна». К циклоспецифическим интегринам относят: $\alpha_1\beta_1$, $\alpha_4\beta_1$, и $\alpha V\beta_3$, экспрессированных в человеческом эндометрии на 20-24-день менструального цикла (по результатам гистологического анализа). В свою очередь интегрин $\alpha V\beta_3$ был определен иммуногистохимическим способом непосредственно в люминальном пространстве эндометрия, взаимодействующим с трофобластом [105]. Кроме того, отмечено снижение экспрессии субъединиц интегринов в среднюю лютеиновую фазу у пациенток с разными формами infertility [174].

Так В. Lessey с соавторами провели оценку эндометриальной рецептивности у пациенток с бесплодием неясного происхождения посредством исследования уровня интегринов α_1 , α_4 , β_3 . В результате было выявлено значительное угнетение их экспрессии в эндометрии [128]. Примерно к таким же выводам пришли в своих работах V. Reddy и соавт. Сравнительная оценка экспрессии интегринов α_6 , α_4 , β_3 у здоровых пациенток и у женщин с бесплодием неясного генеза в период «имплантационного окна» показала достоверное снижение их экспрессии у последних [195]. Эксперты утверждают, что пониженную экспрессию интегринов можно считать основополагающим фактором в развитии имплантационных потерь [105].

Кроме того, в исследовательских трудах DeNeubourg отчетливо прослеживается взаимосвязь уровня экспрессии интегринов с генитальным эндометриозом, поликистозом яичников и воспалительными процессами тазовых органов. Каждая указанная патология при этом сопряжена с низким уровнем успешной имплантации в циклах ЭКО [123].

Селектины причисляют к группе адгезивных молекул, относящихся к семейству гликопротеинов и включающих Р-селектин (CD62P), L-селектин (CD62L) и E-селектин (CD62E). CD62P экспрессируется активированными тромбоцитами, CD62E клетками эндометрия в условиях воспалительного процесса, CD62L клетками трофобласта. Олигосахаридный лиганд L-селектина локализуется в железистых клетках и клетках поверхностного эпителия и экспрессируется в зависимости от фазы менструального цикла, постепенно наращивая темп от пролиферативной фазы к середине секреторной, достигая пика на 5-7 день после овуляции, что может указывать на его участие в процессах имплантации [164]. После установления устойчивой материнско-фетальной связи экспрессия лиганда L-селектина постепенно снижается, что в очередной раз доказывает его роль в определенный интервал времени, а именно в ранние сроки имплантации [169; 218].

Среди представленных адгезивных молекул L-селектины участвуют в межклеточных взаимодействиях, обеспечивая возможность лейкоцитам беспрепятственно преодолевать эндотелиальный барьер и достигать органов лимфатической системы и зон воспаления. Как говорилось ранее, именно от экспрессии L-селектина и его лиганда клетками трофобласта зависит прикрепление эмбриона на начальном этапе [133]. Их связывание приводит к активации сигнального каскада, в результате которого происходит фиксация лейкоцитов к эндотелию сосудов, что является сигнальным триггером модификации тела матки с целью установления стойкой адгезии. Дальнейшие взаимодействия остальных молекул адгезии с соответствующими лигандами приводят к более крепкой связи эмбриона со слизистой матки [197]. Эти характеристики сопряжены с концепцией о том, что первым с эмбрионом

контактирует люминальный эпителиальный слой, железистый же эпителий принимает участие в более поздних процессах.

Таким образом, система CD62L влияет на связь бластоцисты с эндометрием, что приводит к закреплению и имплантации эмбриона. Соответственно, нарушения в системе селектинов ведут к имплантационным потерям и, как следствие, прерыванию беременности на раннем сроке [148].

*Кадгерин*ы – семейство гликопротеинов, отвечающих за кальций-зависимые межклеточные адгезивные реакции. Среди них выделяют следующие подклассы: E-, P- и N-кадгерин, отличающиеся по специфике иммунологических реакции и локализации в тканевых структурах [99]. Подкласс E-кадгерин причисляют к трансмембранным поверхностным белкам, способствующим межклеточным взаимодействиям и играющих значимую роль на всех этапах эмбриогенеза (гастрюляция, нейруляция и органогенез). При этом супрессия синтеза E-кадгерина может стать причиной нарушения клеточно-клеточной адгезии, что приводит к дефектам процессов имплантации. Экспериментальные работы на эмбрионах мышей показали, что генетические мутации E-кадгерина становятся причиной нарушений имплантации. Известно, что экспрессия E-кадгерина возрастает на протяжении всей лютеиновой фазы. Прогестерон совместно с кальцитонином эндометрия, регулирующим в клетках уровень кальция, индуцирует экспрессию E-кадгерин [224]. Однако, роль данного кадгерина в процессах имплантации находится на стадии изучения.

Муцины относят к высокогликозилированным белкам с высокой молекулярной массой - до 500 кД, локализующимся на мембране эпителиальных клеток. Более полноценно изучен муцин MUC-1, определяющийся в эндометрии в зависимости от фазы менструального цикла [175]. В организме женщины экспрессия мРНК муцина-1 возрастает в фазу пролиферации и убывает в позднюю фазу секреции [144]. Это может свидетельствовать о предупреждении адгезии в эндометрии за исключением участка инвазии бластоцисты. В результате экспериментальных работ *in vitro* показано, что MUC-1 пропадает с адгезивного участка, т.е. эмбрион способствует снижению его концентрации. Таким образом,

в фазу аппозиции присутствие бластоцисты обуславливает усиление экспрессии MUC-1, а в процессе адгезии она становится инициатором расщепления данного компонента [147].

Компоненты экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ).

После успешной адгезии эмбриона в полости матки он преодолевает эпителий и базальную мембрану с целью интеграции для дальнейшего развития в децидуальной ткани. Инвазивный процесс напрямую связан с тканевым ремоделированием экстрацеллюлярного матрикса, а также находится под контролем матриксных металлопротеиназ (ММП). Экспрессия ММП в эндометрии осуществляется в фазу пролиферации и позднюю фазу секреции, синтез их угнетается овуляцией в раннюю и среднюю секреторные фазы.

К компонентам матриксных металлопротеиназ относят следующие группы: желатиназы (ММП-2, ММП-9, желатиназы А и В), коллагеназы (ММП-1, 8, 13, 18, интерстициальные и нейтрофильные коллагеназы, коллагеназы-3, 4), стромелизины (ММП-3, 7, 10, 11, стромелизин-1, 2, 3, матрилизин) и прочие [158]. ММП-1 вырабатывается в фазу пролиферации в клетках стромы эндометрия и индуцируется IL-1 α , продуцируемого эпителиальными клетками слизистой матки в позднюю стадию секреции. ММП-2 идентифицируется на протяжении всего цикла с усилением экспрессии в предменструальном периоде. Стромелизины синтезируются клетками эндометрия. Экспрессия стромелизина-2 регистрируется на протяжении поздней фазы секреции.

Желатиназы и коллагеназы считаются основными компонентами базальной мембраны и являются ключевым звеном в процессе имплантации, обеспечивая инвазию трофобласта в децидуальную ткань и связь с кровеносной системой матери.

Присутствие компонентов ЭЦМ в наибольшем количестве в эндометрии в фазы пролиферации и поздней секреторной доказывают их значение в подготовке слизистой матки к имплантации. В регуляции уровня их секреции участвуют цитокины, ростовые и ангиогенные факторы [98].

Wu R.J. и Zhou F.Z. пришли к выводу, что при женском бесплодии неизвестной этиологии часто в эндометрии отмечаются дефекты распределения гликопротеидов ЭЦМ, что закономерно приводит к имплантационным нарушениям [219]. Более того, они установили, что у пациенток с infertility уровнем мРНК MMP-9 в среднюю фазу секреции был значительно ниже, чем у здоровых женщин [219]. Таким образом, можно сделать вывод, что недостаток этого компонента в эндометрии может стать причиной бесплодия, а также причиной прерывания беременности на ранних сроках [150].

Известно, что способность маточной слизистой к взаимодействию с эмбрионом зависит не только от готовности рецепторного аппарата, но и от специфических изменений на морфологическом уровне, таких как пролиферация и апоптоз клеток эндометрия [147].

Апоптоз представляет собой запрограммированный процесс гибели клеток, находящийся под генетическим контролем и характеризующийся дисфункцией митохондрий, активацией протеолитических ферментов, ДНК-фрагментацией, клеточным распадом на специфические тельца [134]. Такие противоположные механизмы, как гибель и пролиферация клеток, необходимы для нормальной адгезии бластоцисты и трофобластной инвазии в эндометрии. В течении менструального цикла в фазу пролиферации отмечается низкая активность апоптоза, а в секреторную фазу апоптотическая активность резко возрастает, достигая максимального уровня в предменструальном периоде. Большая часть апоптотических клеток локализуется в эпителии эндометрия, в стромальном слое они практически отсутствуют. Апоптоз регулируется несколькими факторами: уровнем стероидных и глюкокортикоидных гормонов, факторов роста, половых гормонов, IL-1.

Доподлинно известно, что в фазу аппозиции апоптотическая активность в эпителии эндометрия снижается, а в адгезию и инвазию возрастает. Индукция апоптоза достигает максимума в эпителиальном слое маточной слизистой при взаимодействии её с бластоцистой. Гибель клеток эпителиального слоя эндометрия является необходимым звеном в его преодолении эмбрионом, что

приводит к прямому контакту трофобласта с базальной мембраной, и как следствие, к осуществлению процесса инвазии в строму [206].

Процесс апоптоза находится под регуляцией цитокинов, воздействие которых на клетки выглядит следующим образом: для части клеток они выступают в роли индукторов, а для других наоборот служат ингибиторами апоптоза. Принято считать, что гены *ced-3* и *ced-4* (проапоптотические - гомологи проонкогена *Bcl-2*), *p-53*, *Bcl-2*, *Bax*, *bcl-x*, *Fasligand (FasL)* также отвечают за регуляцию гибели клеток [119].

К рецепторному аппарату апоптоза относят рецепторы к *Fas*, *TNF α* , *TRAIL*, проводящие проапоптотический и антиапоптотический сигналы. В репродуктивной сфере у женщин апоптоз принимает участие в изменениях эндометрия на физиологическом уровне, в развитии эмбриона в преимплантационном периоде, в имплантации и формировании плаценты [134].

Согласно приведенным данным, процесс имплантации подвергается сложнейшей регуляции, основанной на взаимодействии многочисленных эффектов и сигналов, запускаемых эндометрием, иммунокомпетентными клетками материнского организма и собственно эмбрионом [75]. Поэтому уникальность матки обусловлена ее особенным строением и функциональными возможностями, а именно реализацией «имплантационного окна» и развитием трофобласта, что приводит к наступлению беременности и ее прогрессированию. Если принимать во внимание тот факт, что неудачные попытки ЭКО снижают вероятность зачатия, то становится очевидным необходимость дальнейших исследований в области процессов имплантации, как одного из самых важных процессов в женском организме для обеспечения зачатия и сохранения беременности, в том числе в циклах ВРТ [187].

1.3. Роль хронических воспалительных заболеваний органов малого таза в неудачных попытках экстракорпорального оплодотворения

Воспалительные заболевания органов малого таза (ВЗОМТ) лидируют в структуре гинекологической заболеваемости и считаются ведущими причинными факторами бесплодия, так как наибольшая распространенность прослеживается именно среди женщин в репродуктивном возрасте [42].

В нашей стране воспалительные заболевания по отношению к общей гинекологической заболеваемости составляют 28-34%. Этот показатель на протяжении многих лет остается высоким [87]. Согласно статистическим данным, общий уровень заболеваемости ИППП (инфекциями, передающимися половым путем) в последнее время возрос на 37,5% [28]. Помимо этого, стала очевидной роль инфекционных болезней в реализации различных расстройств в женской репродуктивной сфере, приводящих к бесплодию и невынашиванию беременности. В. М. Сидельникова утверждает, что воспалительные заболевания органов малого таза становятся причиной хронических тазовых болей в 24% случаев, бесплодия - в 40%, привычного невынашивания - в 45% и внематочной беременности - в 3% случаев [80].

Воспаление представляет собой ответную реакцию организма на повреждение, которая заключается в особых изменениях здоровых тканей с целью ликвидации инфекционного агента. Главным пусковым механизмом воспаления служит инвазия патогенной микрофлоры (микробный фактор).

Анализирование полученных результатов бактериологических посевов в области гинекологии за последние пол века позволило обнаружить смену патологической микробной составляющей. Так, в 60-е годы среди возбудителей ВЗОМТ лидировал стрептококк – в 31,4% случаев; в 70-е годы его сменил стафилококк - 54,5%. Наконец с 90-х годов прошлого столетия исследователи пришли к выводу, что ситуация усложнилась образованием микробных ассоциаций грамотрицательных (неспорообразующих - превотелла, бактероиды, фузобактерии и аэробов – кишечная палочка, протей, клебсиелла,

энтеробактерии) и грамположительных (пептострептококки, клостридии и реже стрептококки, энтерококки, стафилококки) бактерий [73].

Практически вся влагалищная микрофлора, кроме бифидо- и лактобактерий, может участвовать в воспалительных реакциях. В последние десятилетия особую роль в развитии воспалительных заболеваний органов малого таза занимают урогенитальные инфекции, передаваемые половым путем. При этом до 70% патологий малого таза были спровоцированы хламидиями и уреаплазмами [87].

С точки зрения патогенеза любой инфекционный процесс на слизистых в независимости от происхождения проходит одни стадии. На начальном этапе происходит адгезия патогена к эпителию, после чего запускается процесс колонизации слизистых оболочек, обусловленный вирулентными свойствами патогенной микрофлоры и защитой мукозного барьера. Уже на третьем этапе наблюдается нарушение защитного барьера слизистых оболочек и инвазия микроорганизмов в нижележащие структуры и ткани, что обуславливает развитие очаговой иммуновоспалительной реакции, выражающейся клинически как инфекционно-воспалительный процесс. При прохождении патогенов через местный физиологический барьер развивается генерализованная инфекция. В случае, когда местные механизмы защиты эффективно срабатывают, то инфекционный процесс может прекратиться на любой фазе развития. К такому роду механизмов относят сложнейшие биологические системы барьеров, формирование которых происходило в ходе длительной эволюции.

Первым естественным защитным барьером («механический») считается сомкнутое состояние половой щели на фоне нормотонуса мышечного каркаса промежности, что вызывает сужение вульварного кольца и смыкание больших и малых половых губ. Так достигается полноценная изоляция влагалища от внешних воздействий.

Следующим физиологическим барьером является собственно влагалище. Он состоит из нескольких компонентов. На первом плане это способность влагалища к «самоочищению», в результате чего происходит десквамация и цитоллиз эпителиальных клеток слизистой оболочки. Этот процесс зависит от

гормональных влияний в разные фазы цикла. Следующим компонентом является рН внутривлагалищной среды. При нормальном влиянии эстрогенов в клетках слизистой оболочки накапливается гликоген и происходит адгезия лактобактерий (*Lactobacillus spp.*) на поверхностном эпителии влагалища. Таким образом развивается нормомикробиоценоз.

В свою очередь, лактофлора участвует в расщеплении гликогена с выделением молочной кислоты, которая обеспечивает сдвиг рН в кислую сторону (3,8-4,5). Такой уровень кислотности вагинального секрета считается наиболее оптимальным для жизнедеятельности микрофлоры влагалища и подавления роста условно-патогенных и патогенных микробов.

В-третьих, колонизационная резистентность микробиоценоза во влагалище является ведущим фактором защиты, который определяется преобладанием лактомикрорфлоры. Помимо этого, защитные механизмы *Lactobacillus spp.* основаны не только на антагонистической активности и их адгезивных свойствах, но и на их возможности синтезировать различные антибиотические субстанции, такие как перекись водорода, лизоцим, лактоцидин, ацидофилин и прочие. При этом важнейшим определяющим фактором уникальной резистентности биоценоза во влагалище является содержание гликогена в клетках поверхностного эпителия. Прежде всего он является питательным субстратом для нормальной микрофлоры, а также участвует в процессе регенерации тканей и синтезе некоторых факторов иммунитета [61].

При этом на биоценоз и ферментативную активность слизистых влагалища влияет как гормональная секреция, изменяющаяся на протяжении всей жизни, так и комплексное воздействие различных факторов. К ним относится беспорядочная половая жизнь, регулярное применение контрацептивов со спермицидным эффектом (химическое действие), гормональный дисбаланс в сфере репродукции (функциональные расстройства яичников, продолжительное использование гормональных средств, в том числе КОК - комбинированные оральные контрацептивы), неконтрольный прием антибиотиков, халатное отношение к правилам интимной гигиены и прочие.

Одним из наиболее важных защитных барьеров во влагалище считаются факторы иммунной защиты. При этом защитные механизмы функционируют на уровне местного иммунитета слизистых оболочек - Mucosal-Associated Lymphoid Tissue (MALT - ассоциированная со слизистыми лимфоидная ткань), которая обеспечивает быструю локализацию инфекционного агента, и как следствие, инфекционный процесс протекает с минимальными воспалительными реакциями. Это обеспечивается комплексным действием неспецифических механизмов, в частности фагоцитарной системой, и специфическим ответом иммунной системы, а именно образованием антител [60; 61].

Первостепенной функцией макрофагов, относящихся к фагоцитарной системе, является фагоцитоз и истребление микроорганизмов. Нейтрофилы представляют собой первую линию неспецифической защиты на поверхностном эпителии. Они первыми оказываются в месте воспаления или инфекционного процесса, поэтому от их активности напрямую зависит элиминация повреждающего агента [79]. Вторую линию защиты гистогематического барьера представляет макрофагальная система. Как только инфекционный агент проникает через эпителиальный барьер, в субэпителиальной соединительной ткани он вступает во взаимодействие с макрофагами. По аналогии с нейтрофилами, они имеют фагоцитирующую активность высокого уровня, хорошую подвижность и уникальную способность синтезировать токсические метаболиты кислорода и мощнейшие ферменты, способные принимать участие в гидролизе. Данные способности объединяют гранулоцитарную и макрофагальную системы по способу их действия на бактерии. Контакт патогена с рецепторами макрофагов индуцирует продукцию и секрецию цитокинов с провоспалительным эффектом, которые обеспечивают ранний воспалительный ответ [92].

Интерфероны (ИФН α -, β -, γ -типов) относятся к группе низкомолекулярных гликопротеинов, синтезирующиеся лейкоцитами и клетками MALT, а именно лимфоцитами и фибробластами, в качестве ответа на антигенную индукцию. При этом ИФН образуют первый защитный барьер при инфекции вирусной этиологии,

обеспечивая резистентность клеток к патогену намного раньше специфических защитных реакций. Система интерферонов является значимым звеном в неспецифической защите, осуществляющее как первоначальную защиту от инфекционных агентов, так и участвующее в дальнейшей элиминации микроорганизмов. Интерфероны активно взаимодействуют с фагоцитарной системой и клеточным иммунитетом, поэтому нарушения в системе ИНФ приводят к недостаточности большинства иммунных звеньев, а именно антибактериального, противовирусного, противопротозойного, противохламидийного и других. Анализ иммунного и интерферонового статуса женщин в репродуктивном возрасте с цервицитом в острой и хронической форме по данным Г. М. Савельевой показал увеличение интерферона в сыворотке крови в 2 раза по сравнению с контрольной группой, а также угнетение интерферон-синтезирующей функции лимфоцитов в 4-7 раз. Известно, что при хроническом воспалительном процессе в органах малого таза (особенно в нижних отделах гениталий) выделяется смешанная патогенная флора, что может быть как следствием, так и причиной сниженной реактивности организма и, в частности, интерферонового статуса [56].

Одной из важных эффекторных систем местного защитного барьера считается иммуноглобулиновый профиль влагалищной среды, в том числе секреторный иммуноглобулин А (sIgA), роль которого является ключевой в неспецифической противовоспалительной защите слизистых оболочек. К основным эффектам иммуноглобулина А относят предупреждение адгезии патогенной микрофлоры к эпителиальному покрову гистогематического барьера посредством формирования внутримембранных иммунных комплексов, которые непосредственно препятствуют прикреплению патогенов к клеткам эпителия и полностью нейтрализуют их активность на биологическом уровне [173].

Во многих работах был показан местный синтез иммуноглобулина А и G в эпителии влагалища [146; 163]. На основе полученных данных после проведенных иммуно-гистохимических исследований слизистых оболочек

половой сферы женщин было выявлено, что в качестве основных клеток-продуцентов иммуноглобулинов выступают интраэпителиальные лимфоциты.

Вагинальный секрет является биологической жидкостью с высокой концентрацией IgG, который может присутствовать как локально, так и на системном уровне в условиях трансудативного механизма [111].

Шейка матки является третьим естественным защитным барьером в женской репродуктивной сфере, не позволяющим проникать инфекционным агента в полость матки. Защитный механизм шеечного барьера определяется суженным цервикальным каналом, закрытым наружным и внутренним зевом, степенью секреции слизи цилиндрическим эпителием, содержанием в ней лизоцима и sIgA. Кроме того, цервикальный канал обладает местной независимой системой образования антител против некоторых вирусных и бактериальных патогенов. В нескольких работах локальной защите цервикального канала, как основному барьеру между патогеном и полостью матки, уделялось особое внимание [74].

Резистентность внутренних половых органов к воздействию инфекционных агентов обеспечивается следующими механизмами:

- циклической десквамацией функционального слоя эндометрия во время менструации, окислительно-восстановительными и антибиотическими процессами в клетках эпителиального покрова матки;
- особенностью перистальтики фаллопиевых труб и колебательных движений реснитчатого трубного эпителия в сторону полости матки;
- присутствием зародышевого эпителия, покрывающего поверхность яичников;
- иммунологическими защитными элементами перитонеальной жидкости (лизоцим, иммуноглобулины) [61].

Инфекционный процесс влияет на генеративную систему человека на разных уровнях, вызывая специфические морфологические и функциональные изменения в женских репродуктивных органах, что приводит к патологической афферентации в отделы центральной нервной системы, регулирующие гипоталамо-гипофизарно-яичниковую систему.

Прогрессирующий патогенный процесс отражается не только на эндокринном статусе яичников, но и нередко отражается на овуляционном процессе. При этом воспаление в яичниках неизбежно приводит к функциональным нарушениям в них и изменениям синтеза эстрогенов и прогестерона. Чаще всего последствием такого рода расстройств становится недостаточность лютеиновой фазы цикла (НЛФ) на фоне относительной или абсолютной недостаточности прогестерона. Нарушение адекватного ответа эндометрия на гормональные влияния может зависеть как от изменений на морфологическом уровне, так и от функционирования рецепторного аппарата в условиях воспалительного процесса.

В месте воспаления протекают сложнейшие динамические реакции, которые не могут ограничиваться автономными процессами, так как считаются пусковыми механизмами для активации разных систем организма, и прежде всего иммунной системы. На данный момент больше трети всех патологических состояний человека сопряжены с нарушениями иммунной системы, от чего зависит тяжесть клинических симптомов болезни, формирование осложнений и ухудшение исхода. Именно поэтому пониженная местная и общая резистентность организма становится причиной хронических заболеваний [18].

Так, нарушения иммунной защиты при воспалительных заболеваниях органов малого таза проявляются угнетением активности системы интерферона, естественных киллеров и макрофагов, а также подавлением клеточного звена иммунной защиты (дисбаланс Т-клеточного звена и поликлональной стимуляция В-лимфоцитов) и возрастанием иммуноглобулинов всех типов.

Кроме воздействия на иммунитет на системном уровне патогенные агенты способны вызывать тяжелые изменения его на местном уровне, что проявляется, во-первых, ростом количества Т-лимфоцитов, НК-клеток и макрофагов. При этом в эндометрии возрастают классические CD16+ НК [84], а в децидуальной ткани на фоне инфекционного процесса увеличивается количество активированных цитотоксических НК-клеток (CD57+), которые продуцируют эмбриотоксические цитокины. Кроме того, снижается содержание клеток, отвечающих за синтез трансформирующего фактора роста β_2 (ТФР- β_2), который оказывает

иммуносупрессивное действие [120; 212]. Макрофаги, подвергшиеся активации, способны синтезировать оксид азота, обладающий токсичностью по отношению к клеткам трофобласта.

Во-вторых, преобладанием Т-клеточного звена иммунитета (Th1). Клетки эндометрия здоровых женщин продуцируют Т-хелперы 2-го типа (Th2) - цитокины ИЛ-4 и ИЛ-6. При этом цитокины, вырабатываемые Th1 (Т-хелпер 1-го типа), - ИЛ-2, ИЛ-12 и интерферон- γ (ИФН- γ) преобладают в эндометрии женщин, у которых в анамнезе были самопроизвольные выкидыши неясной этиологии [124]. У части пациенток (25%) с привычным невынашиванием беременности было выявлено усиление иммунной и воспалительной реакции на трофобласт и соответственно повышенная секреция эмбриотоксических Th1 цитокинов [157].

В-третьих, отмечается возрастание IgM, IgA и IgG, что может привести к отторжению эмбриона.

Из изложенного можно сделать вывод, что нарушения в иммунной системе могут привести к неадекватной реакции материнского организма на зачатие и прогрессирование беременности, что становится основной причиной бесплодия или привычного невынашивания беременности [80].

Хронический эндометрит.

Среди множества причинных факторов нарушения генеративной функции женщин большое значение имеют заболевания половых органов воспалительного характера, в том числе хронический эндометрит (ХЭ). Данная патология, согласно статистическим данным, распространена у более 50% женщин в репродуктивном возрасте [39; 85].

Так, ряд исследователей утверждают, что у большей половины женщин, проходящих процедуру искусственного оплодотворения, диагностирована внутриматочная патология [24,86]. В частности, И. Е. Корнеева привела данные исследований пациенток с бесплодием, по результатам которых у 23,6% женщин обнаружен эндометрит в хронической форме [30].

В.С. Корсак после проведенного комплексного обследования 133 бесплодных женщин выявила ХЭ в 91-м случае (68,4%). Кроме того, у одной женщины (0,8% случаев) было обнаружено наличие синехий в маточной полости, в 4 случаях (3%) диагностирован полипоз и гиперплазия эндометрия и в одном случае (0,8%) о гипоплазия эндометрия. При этом патогенная микрофлора в эндометрии при хронической форме эндометрита была идентифицирована только в 38 случаев (41,8%). Особое внимание обращает на себя тот факт, что на предварительном этапе обследования с помощью общепринятых методов анализа из нижних отделов половых органов выявленная из полости матки микрофлора обнаружена не была [31].

Среди отмеченных нарушений в репродуктивной сфере чаще всего при хроническом эндометрите встречается систематическое невынашивание беременности. В среднем этот показатель приближается к 14% случаев [205]. Патогенез изучаемых расстройств обусловлен физиологической неготовностью слизистой матки к внедрению бластоцисты с ее последующим развитием. Значимость ХЭ в развитии бесплодия до настоящего времени дискуссионна. Так, ряд исследователей утверждают, что хронический воспалительный процесс в эндометрии не влияет на зачатие [67; 87]. В свою очередь другие авторы выделяют именно хронический воспалительный процесс в матке как ведущую причину infertility [86; 186].

Морфологический анализ слизистой матки играет не только основную, но и в большинстве случаев решающую роль для установления точной причины женского бесплодия. Именно поэтому определение хронического эндометрита как диагноза не может быть произведена без гистологического исследования эндометрия [32; 63].

Как отмечалось ранее, у пациенток с наличием воспалительного процесса в полости матки, ассоциированного с вирусно-бактериальной флорой, не всегда при рутинном исследовании секрета цервикального канала выявляется возбудитель, что подтвердила в своих работах В. В. Гнипова. Следовательно, отрицательные результаты не являются прямым подтверждением полного отсутствия инфекции в

эндометрии. Именно бессимптомная персистенция патогенных микроорганизмов выявлена в слизистой матки у 67,7% пациенток с привычным невынашиванием беременности инфекционного происхождения, и у 20% пациенток с самопроизвольным прерыванием беременности невыясненной этиологии [15].

Именно поэтому несмотря на высокие достижения в морфологии в условиях современной медицины часть вопросов, которые касаются патогенеза бесплодия и систематических самопроизвольных выкидышей в настоящее время остаются не до конца изучены, что является определяющей составляющей возможностей их дальнейшего исследования.

Стероидный рецепторный аппарат эндометрия имеет большую значимость в процессе зачатия и развития беременности [7]. Поэтому, когда речь идет о бесплодии неясного происхождения и хроническом эндометрите как об одной из основных причин патологии в женской репродуктивной сфере, рецепторы эндометрия к эстрогенам и прогестерону обследованы в недостаточной степени. А это значит, исследования в этом направлении закономерно требуют дополнения.

Кроме того, установлено, что у пациенток с привычными выкидышами в анамнезе и ХЭ в эндометрии наблюдалось более выраженное и статистически значимое понижение экспрессии рецепторного аппарата слизистой матки к эстрогенам и прогестерону, а также общее снижение объемной плотности железистого компонента вне зависимости от фазы цикла. Помимо этого, выявлено, что у пациенток с неустановленной причиной бесплодия с нормальным уровнем стероидных гормонов в крови и нормальной морфологией эндометрия наблюдается понижение экспрессии рецепторов слизистой матки к прогестерону в фазу пролиферации и секреции [132].

На данный момент хронический эндометрит выделяют в отдельную нозологическую форму патологии слизистой матки. Этот факт обусловлен многочисленными клиническими наблюдениями и научными исследованиями, которые являются прямым свидетельством того, что диагностируемые при хроническом эндометрите морфологические изменения эндометрия на

функциональном уровне создают предпосылки для расстройств детородной функции у женщин. Согласно приведенным данным А.В.Шуршалиной, хроническая форма эндометрита считалась единственной верифицированной причиной привычного невынашивания беременности в 52% случаях и бесплодия в 18,8% случаях у обследуемой группы женщин [94].

При этом нарушения в рецепторном аппарате слизистой матки у пациенток с хроническим эндометритом может считаться важнейшей проблемой при проведении циклов ЭКО. Так, согласно результатам проведенного исследования Kuivasaari-Pirinen P., хронический эндометрит сочетается с высокой частотой безуспешных программ ЭКО и репродуктивных потерь в циклах вспомогательных репродуктивных технологий [159].

В литературных источниках прослеживаются некоторые противоречия о клинической симптоматике ХЭ. Мнение ряда авторов склоняется к тому, что хроническая форма эндометрита является клинико-морфологическим диагнозом и характеризуется четкостью клинической картины. Другие же склоняются к тому, что в современное время отмечается тенденция роста числа вялотекущих воспалительных процессов, большинство из которых протекают без видимых клинических симптомов [34].

В нынешних условиях хронический эндометрит определяется множеством особенностей, а именно: сменой этиологического фактора в сторону увеличения значимости вирусов и условно-патогенной микрофлоры, развитием резистентности микроорганизмов к фармакологическим средствам, продолжительным периодом лечения и его значительной стоимостью. Именно поэтому особую роль играют научные труды, направление которых основано на разработку эффективных и вместе с тем доступных методов терапии ХЭ.

Исследование PEACH (2002 г.), посвященное антибактериальному лечению хронической формы эндометрита, показало малую эффективность антибактериальных препаратов по отношению к данной патологии. Именно поэтому нарушения иммунной защиты при ХЭ подразумевают актуальность

назначения лекарственных препаратов, направленных на увеличение резистентности женского организма [82].

За последние годы были проведены исследования, которые позволили выявить значимые изменения иммунных параметров у женщин с хроническим эндометритом, которые характеризуются значительной активацией противовоспалительных реакций на клеточном и гуморальном уровне, прогрессирующей инфильтрацией слизистой матки лимфоцитами, местным возрастанием числа Т-лимфоцитов, НК-клеток (естественных киллеров), макрофагов и иммуноглобулинов. Наряду с изменениями морфологии эндометрия, нарушения ответных реакций со стороны иммунитета на местном уровне могут привести к отторжению плодного яйца с последующей гибелью эмбриона. В ряде клинических ситуаций иммунологические изменения в слизистой матки могут выступить в качестве самостоятельной причины бесплодия и привычного невынашивания беременности. Именно поэтому спектр репродуктивных расстройств у женщин с хроническим эндометритом варьирует от систематических самопроизвольных выкидышей в разные сроки беременности и до бесплодия. Добавление в комплексную терапию иммуномодулирующих препаратов приводит к снижению симптомов интоксикации, улучшению регенерации тканей, восстановлению нормального менструального цикла [85].

1.3. Иммунологические аспекты бесплодия, неудачных попыток экстракорпорального оплодотворения и невынашивания беременности

Результативность вспомогательных репродуктивных технологий в большей степени обусловлена причинами бесплодия, а также рядом индивидуальных факторов, к которым относятся: возраст каждого из супругов, качество подготовки партнеров к реализации экстракорпорального оплодотворения, использование определенной схемы стимулирования суперовуляции и гормональная подготовка слизистой матки к подсадке эмбриона [75]. Поэтому важно учесть, что абсолютно все этапы раннего репродуктивного процесса являются определяющими звеньями для благополучного наступления беременности и представляют собой сложнейший многоступенчатый процесс, регулируемый нервной, эндокринной и иммунной системами [72].

Нарушения в репродуктивной сфере у женщин чаще всего связывают с эндокринными и гинекологическими заболеваниями. Но нередко в условиях излеченности подобных болезней женская фертильность не восстанавливается. В дальнейшем, многие исследователи выявили непосредственную связь иммунной и репродуктивной систем [221]. Так, Takabatake К. с соавторами в своих трудах отмечают, что клетки иммунокомпетентные клетки способны вызывать дифференцировку эндометрия перед имплантацией в независимости от регуляции эндокринной системы [210].

Иммунные процессы в материнском организме во многом определяют исход имплантации бластоцисты, инвазию трофобласта, и соответственно, нормальное протекание беременности. Различные патологические процессы в полости матки, а именно - неполноценная секреторная трансформация или воспалительный процесс, могут стать причиной нарушения имплантации эмбриона или самопроизвольного выкидыша на ранних сроках беременности [129].

N. Gleicher в 1988 году впервые выдвинул теорию системного аутоиммунного синдрома репродуктивных потерь (RAFS), исходя из которой следует что

иммунологические факторы могут вызывать репродуктивные нарушения на разных этапах [139].

Одним из важных условий для реализации оплодотворения и прикрепления плодного яйца считается достижение ооцита достаточной зрелости. За последние 20 лет исследователи пришли к выводу, что процесс созревания яйцеклеток напрямую зависит как от гормонального статуса женского организма, так и от влияния со стороны иммунных факторов [142]. Таким образом, взаимосвязь систем иммунитета и репродукции позволяет осуществлять контроль за овариальной функцией. Данное утверждение подтверждается следующими фактами.

Во-первых, по данным иммуногистохимических и иммунологических анализов было выявлено достаточно высокое содержание разных типов лейкоцитов в строме яичника и непосредственно в фолликулярной жидкости, причем некоторые из них подтверждались изменениям согласно фазам цикла [138]. Например, в середине фолликулярной фазы были идентифицированы макрофаги, незначительное число нейтрофилов и Т-клеток, представленных в большинстве CD8 Т-лимфоцитами [121]. Следует отметить, что непосредственно перед овуляцией уровень макрофагов и нейтрофилов значительно увеличивается.

Во-вторых, стало известно, что на иммунокомпетентных клетках (ИКК) присутствуют рецепторы к половым гормонам, лютеинизирующему гормону (ЛГ) и гонадотропин-рилизинг-гормону. Согласно исследованиям между концентрацией цитокинов и гормональной секрецией прослеживается тесная взаимосвязь [166].

Таким образом, можно утверждать, что иммунокомпетентные клетки служат мишенями гормонального влияния. Наряду с этим циклическая секреция гормонов влияет на функции ИКК как на местном, так и на системном уровне, что отражается на уровне цитокинов в сыворотке крови и интенсивности их синтеза лимфоцитами. Тогда как, секретлируемые ИКК цитокины оказывают влияние на продукцию половых гормонов. К примеру, IL-1 и IL-6 оказывают стимулирующее

действие на продукцию прогестерона [176], TNF- α принимает участие в индукции стероидогенеза в клетках гранулезы и теки [208].

В-третьих, изменения иммунной системы оказывают влияние на процессы репродукции. В опытах на тимэктомированных мышах было показано, что у таких животных развивается инфертильность в следствие нарушения в функции яичников. При введении же спленоцитов или тимусовой ткани овариальная функция у животных восстанавливалась. Добавление антитимической сыворотки взрослым особям приводило к угнетению овуляции. В свою очередь, при нарушении работы яичников отмечаются изменения иммунного статуса. К примеру, особи, подвергшиеся кастрации при рождении, имеют тимусовую гиперплазию. Если подвергнуть таких животных стимуляции антагонистами гонадотропин-рилизинг-гормонов, то в организме мышей снижаются лимфоциты, Т-клеточная пролиферация и клеточная масса тимуса [181]. Что касается женского организма, то при нарушении эстрогеновой продукции наблюдается рост CD8-лимфоцитов и снижение CD4/CD8 индекса [11].

Известно, что ИКК влияют не только на фолликулогенез, но и на образование и регресс желтого тела. Например, после свершившейся овуляции и при регрессе желтого тела на местном уровне отмечается повышенное содержание лейкоцитов [138]. Иммунные клетки в тканях желтого тела принимают участие в контроле за стероидогенезом. На данное утверждение указывает значительное ускорение (в 2 раза) синтеза прогестерона и понижение ответной реакции на хорионический гонадотропин человека (чХГ) в культурах клеток желтого тела после извлечения лейкоцитарной фракции. При этом процесс регресса желтого тела сопровождается прогрессирующей лимфоцитарной и макрофагальной инфильтрацией, которая дает цитотоксический эффект. Причем резкое падение уровня макрофагов в желтом теле приводит к угнетению лютеолиза [165].

Таким образом, ИКК в тканях яичников способны синтезировать ряд цитокинов и хемокинов, участвующих в регуляции фолликулогенеза, овуляции, образовании и регресса желтого тела, стероидогенезе, и, следовательно, в регуляции менструального цикла и оплодотворении.

К иммунологическим факторам имплантационных нарушений и дальнейшего развития беременности относят разные аутоиммунные процессы, а именно образование антифосфолипидных, антитиреоидных, антинуклеарных, антиспермальных и антиовариальных антител, а также дисбаланс Th1 и Th2 клеток, активности NK-клеток и прочие [162].

Известным иммунологическим фактором, нарушающим оплодотворение, считается образование антиспермальных антител (АСАТ). В составе поверхностной оболочки сперматозоида выявлен SCA-антиген (скафферин), аналогичный по структуре вагинальному антигену и антигену секрета из цервикального канала у женщин. Поэтому его присутствие защищает мужские половые клетки от воздействия местной иммунной защиты женской половой сферы и негативного действия цитотоксических клеток [20]. Таким образом, сперматозоиды могут беспрепятственно перемещаться, и по достижении яйцеклетки оплодотворить ее. Индукция антиспермальных реакций может происходить под действием антигенов сперматозоидов и семенной плазмы, количество которых превышает 30. Антиспермальные антитела ускоряют агглютинацию и склеивание сперматозоидов головками друг к другу, что блокирует капацитацию и их подвижность. В свою очередь образование данных антител может быть вызвано воспалительными процессами в урогенитальном тракте пациентки (за счет перекрестных детерминант между сперматозоидами и инфекционными агентами). Терапия при повышенном титре антиспермальных антител проводится посредством назначения барьерной контрацепции (3-4 месяца) и детоксикационных мероприятий с использованием энтеросорбентов. В ряде случаев применяются иммуносупрессоры.

Антифосфолипидные антитела (АФА) представляют собой аутоантитела, характеризующиеся гетерогенной специфичностью, направленной на устранение отрицательно заряженных фосфолипидов. В результате проведенных исследований в крови пациенток с бесплодием неясного генеза были выявлены антикардиолипиновые антитела, которые могут быть частью общих аутоиммунных заболеваний [193]. Известно, что фосфатидилсерин и

фосфатидилэтаноламин имеют большое значение в имплантации. При этом кардиолипиновые и фосфатидилсериновые антитела могут привести к повреждению трофобласта, изменению синтеза чХГ, нарушению образования синцитиума и инвазии трофобласта [162]. Н. Qublan с соавт. обнаружили у 68,9% пациенток с безрезультатными ЭКО в анамнезе один или более наследственных, или приобретенных факторов тромбофилии, тогда как в группе пациенток с успешными исходами ВРТ этот показатель равнялся 25%. Кроме того, сравнительный анализ показал, что у пациенток с безуспешными ЭКО был выявлен высокий уровень антител к кардиолипину и волчаночному антикоагулянту (18,9%) против 5% в группе с успешными программами ЭКО [190]. Напротив, часть исследователей не обнаружили взаимосвязи между циркуляцией АФА и репродуктивными потерями на ранних сроках [138; 207]. Именно поэтому этот вопрос в настоящее время остается дискуссионным.

К более редким аутоиммунным заболеваниям, приводящим к прерыванию беременности или бесплодию, относят образование антиовариальных, антигонадотропиновых, антитиреоидных антител [1]. Высокий показатель нарушения имплантации имеет место при аутоенсибилизации к чХГ, в процессе чего происходит связывание хорионического гонадотропина с антителами, в результате чего становится невозможным взаимодействие с рецепторным аппаратом, и, как следствие, атрезии желтого тела и отторжению бластоцисты. Согласно исследователям аутоиммунные процессы могут отразиться на имплантации эмбриона, а значит привести к бесплодию неясного генеза [80].

S. Shatavi в своих работах по исследованию уровня гонадотропиновых аутоантител у пациенток с бесплодием неясного генеза и их связи с аутоантителами к ткани яичника пришел к выводу, что антигонадотропиновые антитела также могут выступать в качестве маркера нарушений аутоиммунного характера, связанных с infertility. J. Luborsky, исследуя овариальные аутоантитела у той же группы пациенток, предположил, что они могут стать маркерами овариальной недостаточности [204].

Так же в последнее время у женщин с бесплодием активно изучается роль антитиреоидных антител, которые могут выступать в качестве маркеров системных аутоиммунных заболеваний [1]. Обнаружено, что аутоиммунные болезни щитовидной железы могут быть сопряжены с аналогичными поражениями иных органов, в частности женской репродуктивной сферы. Так например, по утверждению К. Порре тиреоидит аутоиммунного происхождения может не нарушать имплантацию, тогда как опасность репродуктивных потерь на ранних сроках беременности значительно возрастает [187]. В свою очередь, J. Bellver с соавторами обнаружили высокую степень распространенности тиреоидных аутоантител у женщин при бесплодии неясной этиологии [108]. Именно поэтому женщины с нарушенной функцией щитовидной железы находятся в группе риска по возможным ранним репродуктивным потерям.

Известно, что причиной бесплодия иммунного характера может служить сниженная иммунная реакция на аллоантигены партнера по причине сходства по определенным HLA-локусам [80]. Совместимость по HLA-антигенам диагностируется в 0,2% случаев, но только совпадение более 25% можно расценивать как неблагоприятный фактор для вынашивания беременности [153]. У каждого человека индивидуальный набор HLA-антигенов или как его называют еще - главный комплекс гистосовместимости (англ. — MHC, major histocompatibility complex), который находится на коротком плече 6-й хромосомы. Именно эта группа генов отвечает за кодировку образования в организме определенных белков — человеческих лимфоцитарных антигенов (human leucocyte antigens, HLA) [89].

Гены MHC комплекса подразделяют на три класса:

- I класс представлен генами локусов A, B, C и располагается на поверхности всех клеток организма, содержащих ядро;
- II класс представлен D-областью (сублокусами DR, DP, DQ) и представлен на макрофагах, иммунных и эпителиальных клетках;
- III класс расположен на иммунокомпетентных клетках, принимающих активное участие в воспалительном процессе, и содержит аллели

компонента комплемента, фактор некроза опухоли и ряд изоферментов [89].

HLA-антигены вырабатываются трофобластом и иммунными клетками женского организма в ответ на экспрессию бластоцисты и принимают активное участие в регуляции иммунных реакций матери на материнско-фетальной поверхности, что влияет на формирование бластоцисты и трофобласта, и их динамику развития [141].

В женском организме плод можно расценивать как аллотрансплантант, к которому должна выработаться иммунологическая толерантность. В процессе развития беременности клетки трофобласта пролиферируют в кровотоке матери, в результате чего антигены плода контактируют с материнскими Т-лимфоцитами. Этот факт приводит к выработке специфических защитных «антиотцовских» аллоантител, покрывающих поверхность трофобласта, и угнетению НК-клеток – основополагающий момент нормальной эмбриональной имплантации и защиты плода от иммунной системы матери [205]. К аллоантигенам относят антигены другого индивида. Так, плацента и эмбрион имеют в своем составе половину отцовского, то есть чужого генетического материала [127].

Согласно статистическим данным полное несоответствие HLA-генотипов у супружеской пары является благоприятным фактором для развития беременности. В большинстве случаев совпадение генов HLA II класса не приводит к достаточной степени иммуносенсибилизации материнского организма, поэтому не вырабатывается оптимального количества аллоантител к антигенам эмбриона [205]. Так, в 1995 году Jin K. с соавторами выявили высокую частоту совместимости среди супругов по HLA-DR у женщин с безрезультатными ЭКО в анамнезе, а у супругов с бесплодием неясного генеза – по HLA-DQ [149].

Анализ на HLA-совместимость супругов не считается обязательным обследованием для бесплодной пары, необходимость в исследовании возникает после двух и более самопроизвольных выкидышей в анамнезе или безрезультатных попыток ЭКО.

В данных литературы встречается и другая точка зрения, согласно которой совместимость супругов по нескольким генам HLA-системы не может стать причиной недостаточной иммунной реакции со стороны матери и привести к выкидышу, а также подтверждается сомнению роль материнских антител в развитии толерантности к тканям плода [120].

В настоящее время единственным методом лечения аллоиммунных нарушений является иммунизация аллогенными лимфоцитами - лимфоцитоиммунотерапия (ЛИТ). Механизм данной методики заключается в стимуляции ослабленного локального иммунного ответа организма матери и активации цитокинов, отвечающих за индукцию инвазии трофобласта и плацентации. Ранние труды по применению лимфоцитоиммунотерапии принадлежат В.И. Говалло и В.М. Сидельниковой [16]. У этого метода лечения есть как сторонники, так и противники [145]. Проведение ЛИТ с использованием клеток от супруга или от донора так же подвергается активным дискуссиям, так как нет четко обозначенных критериев выбора пациенток и сроков применения лечения подобным способом. Кроме того, нет достоверных доказательств высокой эффективности при различных схемах дозирования лимфоцитов.

В области иммунного бесплодия активно исследуется также роль естественных киллеров — НК-клеток [191], являющихся гранулярными лимфоцитами, которые участвуют во множестве биологических процессов по регуляции дифференцировки клеток, устранению генетически аномальных и пораженных патогенами клеток без предварительной иммунизации. НК-клетки экспрессируют на своей поверхности CD56 и CD16 антигены. При нормальных условиях в эндометрии наблюдаются все типы иммунокомпетентных клеток, но при этом НК-клетки преобладают (до 70%) [156]. Естественные киллеры в норме имеют низкую цитолитическую активность (CD56+ CD16+), но при создании определенных условий способны активироваться (CD56+ CD16+) и повреждать ткани трофобласта [131; 216]. Именно поэтому увеличение НК-активности некоторые специалисты ассоциируют с бесплодием и безрезультатными попытками программы экстракорпорального оплодотворения [191].

Более того, определенную роль играют как НК-клетки эндометрия, так и циркулирующие популяции этих клеток, способных внедряться в зону имплантации. При этом активация естественных киллеров приводит к усилению синтеза IFN γ и IL-12, приводящих к дифференцировке Т-лимфоцитов в Th1-тип., в результате чего ускоряется выработка иммуноактивных цитокинов, ограничивающих инвазию трофобласта, что может привести к прерыванию беременности [188; 191]. Выявлено, что у пациенток с бесплодием и невынашиванием беременности в анамнезе часто обнаруживается увеличение циркулирующих НК-клеток в крови [101], а показатели их содержания, превышающие 12%, считаются прогностически неблагоприятным фактором зачатия и прогрессирования беременности.

Одной из иммунологических причин ранних репродуктивных потерь в последнее время является активация В-лимфоцитов (CD19+5+ клеток), функция которых связана с выработкой аутоантител к гормонам, отвечающих за правильное развитие беременности: эстрадиола, прогестерона и хорионического гонадотропина. Нормальным уровнем содержания CD19+5+ клеток в крови считается 2-10%, превышение этого показателя является патологическим [80]. По данным L. Putowski у пациенток с неудачными ЭКО в анамнезе показатели CD19+5+ клеток в крови были значительно выше по сравнению со здоровыми женщинами. Кроме того, у этих пациенток автор обнаружил нарушения реакций в эндометрии в предимплантационный период [189].

Таким образом, учитывая тесную взаимосвязь иммунной и репродуктивной систем в регуляции овариальной функции, формирования эмбриона, его имплантации и пролонгировании беременности, становится очевидным тот факт, что нарушения в иммунной системе как на местном так и на системном уровне, а также развитие иммунных дисфункций в процессе стимуляции овуляции может стать важной причиной снижения качественных характеристик половых клеток, дефекта оплодотворения, нарушения развития и имплантации эмбриона и, в конечном итоге, потери беременности.

1.5. Методы повышения эффективности экстракорпорального плодотворения

За последнее десятилетие отмечено активное развитие вспомогательных репродуктивных технологий. Но, несмотря на их совершенствование частота успешных имплантаций в цикле ЭКО и ПЭ (перенос эмбриона в полость матки) остается на низком уровне и приравнивается к 31,5% [117; 128]. Основными причинами таких результатов может быть сочетание нескольких факторов, а именно мужское бесплодие, нарушение рецепторного аппарата эндометрия, дефекты имплантации и эмбриона. Как правило, аномалии обусловлены генетической патологией у партнеров, расстройствами сперматогенеза и нарушениями хромосомного набора у эмбрионов (анеуплодиями).

Среди причин бесплодия в супружеской паре в последнее время мужской фактор достигает до 52% [96]. До 1992 года мужской вариант бесплодия не поддавался лечению и считался неизлечимым. С внедрением в медицину новейших микротехнологий - пунктирование прозрачной оболочки, ее частичное рассечение и субзональная инъекция сперматозоида (SUZI), у многих семей появился шанс улучшить прогноз лечения, но процент успешной программы ЭКО при этом не изменился. Дальнейшее развитие исследований в этой области привело к открытию и внедрению в практику под руководством профессора A. Van Steirteghem из Свободного университета Брюсселя (Бельгия) интрацитоплазматической инъекции сперматозоида в ооцит (ИКСИ), что значительно улучшило прогноз ведения семей с тяжелыми формами бесплодия у мужчин посредством ВРТ [151].

Применение данного метода возможно даже при наличии в эякуляте нескольких морфологически правильных сперматозоидов с нормальной подвижностью. Так с помощью ИКСИ бесплодный мужчина имеет возможность стать отцом генетически родного малыша, тогда как раньше партнерша могла забеременеть только от донорской спермы. Данная методика применяется также

для улучшения прогнозов программы ЭКО у пар старшей возрастной группы и в условиях малого количества полученных в процессе стимуляции яйцеклеток.

После широкого распространения ИКСИ в репродуктивных клиниках быстро последовала разработка новой методики - забор сперматозоидов из эпидидимиса и напрямую из яичка, что позволило лечить различные формы мужского бесплодия (невозможность эякуляции, обструктивная и необструктивная азооспермия). На современном этапе развития репродуктивных технологий вместо «открытой» микрохирургической манипуляции микроэпидидимальной аспирации (MESA) в большинстве случаев используется упрощенная техника чрескожной аспирации сперматозоидов (PESA). К тому же эту процедуру можно выполнять в амбулаторных условиях. При невозможности аспирации спермы из эпидидимиса, забор проводят непосредственно из яичка посредством иглы с широким просветом (TESA) или прибегают к открытой биопсии (TESE) [110].

Методика ИКСИ используется не только у пар с мужским фактором бесплодия, но и при идиопатическом бесплодии, при котором главным препятствиями к зачатию выступают индивидуальные особенности женского организма, имеющие отношение к ооцитам. Согласно последним исследованиям частота успешного оплодотворения с использованием данной техники достигает 67%, успешной имплантации 36%, частота родов приближается к 28% [110].

К неудачным попыткам ЭКО может приводить такое нарушение имплантации как невозможность разрыва наружной эмбриональной оболочки - *zona pellucida* [159]. Чтобы исправить данный вид нарушений были внедрены в практику различные способы вспомогательного хэтчинга, а именно рассечение оболочки (механический метод), кислотный дриллинг (химический) и лазерную насечку. Эксперты утверждают, что применение хэтчинга при безрезультатных попытках ЭКО в анамнезе может увеличить эффективность ВРТ [110].

На практике перенос эмбриона в полость матки осуществляют на этапе 2-8 бластомеров, что соответствует 2-3-му дню развития. При беременности, возникшей естественным путем, этот момент соотносится с локализацией бластоцисты в маточной трубе. Большинство специалистов склоняются к факту,

что перенос эмбриона в маточную полость на стадии бластоцисты считается наиболее рациональным в физиологическом плане. Этот факт объясняется тем, что при естественной беременности эмбрион попадает в эндометрий через 5 дней после оплодотворения, то есть на этапе морулы-бластоцисты, после активации генетического материала эмбриона [160].

Пожалуй, самым важным моментом в программе ЭКО является перенос эмбриона в полость матки. Согласно проведенным исследованиям установлено, что частота положительного исхода протокола ЭКО выше при переносе эмбриона в среднюю часть полости матки под контролем УЗИ [159]. В 1999 году I. Bar-Navah с соавторами для увеличения результативности ЭКО применили клей на основе фибрина, но этот способ не нашел широкого распространения. Некоторые исследователи утверждают, что перенос большого числа эмбрионов увеличивает шансы на беременность у пациенток с неудачными ЭКО. Но к настоящему времени нет достоверных публикаций о сравнительном анализе подобных экспериментов.

Ведущей причиной снижения частоты имплантации и полного прекращения эмбрионального развития могут послужить хромосомные мутации. Многочисленные исследования на предмет кариотипа абортусов, полученных при прервавшейся беременности в рамках программы ЭКО, позволили проследить взаимосвязь между прекращением развития эмбриона и генетическими нарушениями. К наиболее распространенным аномалиям отнесли дефекты хромосом X, Y, 13, 18 и 21, в частности анеуплоидии. Более того, данные изменения кариотипа встречались чаще у эмбрионов, полученных в результате программы ЭКО, нежели у эмбрионов при самостоятельной беременности. К примеру, испанскими учеными было проведено исследование, по результатам которого была выявлена наибольшая частота измененного генома по хромосомам 13, 16, 18, 21, 22, X и Y у бездетных семей (67,4%), чем у фертильных супругов - 36,3% [107].

В конце 80-х годов учеными была разработана новая методика пренатальной диагностики генетических дефектов эмбрионов (ПГД), позволившая партнерам из

группы риска по генетической патологии обрести генетически здоровых детей. Внедрение в практику ПГД и селективный перенос эмбрионов дало возможность поднять ЭКО на новый уровень и улучшить исходы при неудачных циклах в анамнезе [112]. В своих научных трудах Basille С. с соавт. утверждает, что ПГД улучшает исход ВРТ у женщин с безрезультатными попытками ЭКО до 43% для наступления беременности и до 32% для родов [107]. В свою очередь итальянские и американские ученые провели сравнительный анализ эффективности программ ЭКО в группе, где был осуществлен перенос эмбрионов, подвергшимся ПГД, и в группе контроля, где данная манипуляция не проводилась. По результатам исследования частота наступления и дальнейшего развития беременности была достоверно выше в 1-й группе [177].

Весомым преимуществом ПГД считается анализ эмбриона на предмет генетических заболеваний до переноса в полость матки [112]. С целью реализации данного скрининга в условиях современной медицины кроме ПЦР диагностики применяют молекулярно-генетический метод (FISH - флюоресцентная *in situ* гибридизация). Для генетического анализа с помощью FISH метода нет необходимости в использовании большого количества биоматериала, не требуется выделение ДНК из клеток и применение радиоизотопов. Эти неоспоримые плюсы позволяют провести хромосомный анализ на любом этапе клеточного цикла за короткий промежуток времени и быстро получить достоверные результаты. По сути, методика является специфической гибридизацией определенных хромосомных участков с помеченными флюоресцентными зондами, свечение которых дает возможность выявить хромосомные перестройки и определить количество копий в ядрах на стадии интерфазы.

Предимплантационная генетическая диагностика также служит для исследования наличия анеуплоидий в кариотипе супругов с подозрением на генетические аномалии и у пациенток с привычными выкидышами в анамнезе, а также для определения половой принадлежности эмбриона [14]. Процедуру проводят на 3-й день развития эмбриона, т.е. на стадии 8 бластомеров, один или два из которых берут на анализ. Эмбрионы без хромосомных нарушений

переносятся в полость матки или подвергаются криоконсервации. Для исследований биологического материала в рамках ПГД могут быть использованы ядро blastomera, первое и второе полярные тельца. Для их изъятия применяют пенетрацию наружной эмбриональной оболочки с помощью аспирационной иглы. Полученный blastomere с четкими очертаниями ядра переносят на предметное стекло, фиксируют и подвергают ДНК-гибридизации. Затем препарат исследуют под люминесцентным микроскопом. Каждая отдельно взятая хромосома отличается цветом свечения благодаря специфичности зондов, помеченных разными флуоресцентными красителями. Все маркеры имеют различную длину волны излучения, которую регистрируют с помощью микроскопа [14].

Именно поэтому использование преимплантационной генетической диагностики на основе FISH-методики позволяет осуществлять отбор здоровых эмбрионов для последующего переноса в маточную полость. Это наиболее актуально для пациенток с безрезультатными попытками ЭКО и ПЭ, нарушением имплантации и прекращением эмбрионального развития на ранних сроках [47]. По литературным данным применение предварительного скрининга увеличивает частоту имплантации [107] и снижает количество прерванных беременностей [3].

Несмотря на совершенствование способов преодоления неудачных попыток экстракорпорального оплодотворения, частота успешных имплантаций и результативных беременностей остается все еще на низком уровне. Это обстоятельство свидетельствует о необходимости эффективных разработок новейших методов по повышению эффективности ВРТ.

1.6. Методы иммунологического воздействия при лечении пациенток с различными формами бесплодия

Как отмечалось ранее, заболевания тазовых органов воспалительного характера и снижение иммунной защиты организма могут стать причиной бесплодия и безуспешных попыток ЭКО и ПЭ. Поэтому целесообразно искать и развивать новые направления для лечения подобных патологических состояний.

На данный момент применяемые традиционные схемы терапии инфекционных заболеваний гениталий с помощью антибактериальных и противовирусных средств зачастую не дают должного эффекта или оказывают кратковременное воздействие, особенно при затяжном течении заболеваний. Это объясняется изменением чувствительности и формированием резистентности патогенной микрофлоры к используемым лекарственным препаратам, множеством их побочных действий (аллергические реакции, дисбактериоз, иммуносупрессивное действие и др.), а также их недостаточным действием на измененную реактивность тканей и местный иммунитет. Поэтому в ходе такого лечения нередко развивается «иммунологическая недостаточность», на фоне которой наблюдается продолжительная персистенция возбудителя заболевания, рецидивирующее течение болезни и высокая вероятность повторного заражения инфекциями иного происхождения. При этом иммунный статус и микробиоценоз восстанавливается недостаточными темпами или вовсе не подвергается восстановлению [61].

Переход острой стадии патологического процесса в хроническую сопряжен со снижением функциональной активности различных мононуклеаров, угнетением синтеза цитокинов, стимулирующий процесс регенерации органов и тканей, изменением популяционного клеточного состава периферической крови и нарушением их реактивности [58]. При затяжном течении инфекционного процесса нарушения в иммунном статусе усугубляются. Именно поэтому терапия занимает более длительное время и требует значительных финансовых средств.

Очевидным становится факт, что лекарственные препараты необходимо подбирать с учетом следующих факторов: возрастных особенностей, сопутствующих заболеваний, стадии патологического процесса, эффективности и продолжительности ранее проводимой терапии, состояния репродуктивной сферы. Более того, важным фактором в рамках патогенетического выбора метода лечения считается комплекс диагностического исследования возможных изменений в иммунной системе. На основе полученных результатов и обнаруженных иммунологических расстройств в традиционную схему лечения вводят иммуностропные средства, направленные на стимулирование неспецифической резистентности и иммунокоррекцию [6]. К таким препаратам относят иммуномодуляторы биологического и химического происхождения, оказывающих влияние на иммунитет, стимулируя или наоборот подавляя его.

Целесообразность подключения иммунокорректоров при воспалительных заболеваниях обусловлена следующими моментами:

- возрастает ограничение возможности этиотропной терапии;
- формированием и нарастанием дисфункциональных нарушений в иммунной системе;
- идентификацией новых и трансформацией известных возбудителей;
- развитием резистентности штаммов вирусов и бактерий к имеющимся лекарствам;
- нарушением баланса между нормальной и патогенной флорой;
- нарастанием количества и выраженности различных осложнений после проводимого традиционного лечения;
- возрастанием продолжительности терапии и денежных затрат на нее [61].

К сожалению, использование иммуномодуляторов влияет не только на повышение активности иммунной системы. Затяжное лечение сопряжено с возникновением нежелательных эффектов в виде повышения температуры тела, индивидуальной непереносимости отдельных компонентов лекарственных средств, рецидива хронического процесса и прочими клиническими ситуациями [51]. Поэтому поиск новых средств коррекции иммунологических реакций

организма не теряет своей актуальности в условиях современной медицинской помощи.

Одним из перспективных и безопасных методов воздействия на иммунитет является внутривлагалищная аутолимфоцитотерапия (ВАЛТ). В основу данной терапевтической методики положен метод лечения аллергических состояний с помощью АЛТ (АЛТ – от греч. *autos* сам, лат. *lymphocyte* – основная иммунокомпетентная клетка, греч. *therapeia* – лечение), успешно применяемой на протяжении уже почти 20 лет [54]. Этот метод относят к инновационным технологиям экстракорпоральной фармакотерапевтической помощи (ЭФТ), основанный на применении собственных клеток крови и измененными свойствами с целью направленного воздействия на очаг поражения [33]. При этом аутоклетки, предназначенные для направленного транспорта (НТ), обозначаются как «фармакоциты» (эритроциты, лейкоциты, тромбоциты) и могут служить переносчиками антибиотиков, цитостатиков и контрастных средств и др.

Кроме того, НТ действующих веществ отличается повышенной эффективностью и минимальным токсическим воздействием, сравнимым с «точечным ударом». Направленный транспорт лекарственных препаратов дает возможность охватить патологический очаг в полном объеме, сконцентрировать введенное средство в зоне поражения, понизить риск возникновения побочных эффектов, терапевтическую дозу и кратность применения медикаментозных средств [13].

Согласно данным литературы НТ антибактериальных препаратов уже успешно используются в клинической практике при самых различных воспалительных заболеваниях, что обеспечивает их высокую концентрацию в очаге инфекционного процесса с минимумом побочных реакций [66]. В свою очередь Д.А.Благов свидетельствует о пользе направленного транспорта антибактериальных средств посредством эритроцитов у пациентов с панкреонекрозом. Данное воздействие позволяет быстро и эффективно устранить выраженность эндотоксикоза и полиорганых дисфункциональных нарушений, и, как следствие, подавить деструкцию клеток поджелудочной железы [8].

Т.М.Левина привела свои доводы о целесообразности НТ эритромицина с помощью эритроцитов в легочную ткань при пневмонии. Этот факт подтверждается наибольшей эффективностью антибиотика по сравнению с внутривенными вливаниями [49]. Г.А.Грузнов успешно использовал НТ антибактериальных препаратов у пациентов с гнойно-некротическими последствиями диабетической стопы [17]. Согласно данным, приведенным В.М.Провоторовой и ее соавторами, практическое применение данного метода сокращает сроки купирования острого состояния воспалительного характера и позволяет снизить дозировку антибиотиков в 6-8 раз по отношению к традиционным схемам лечения [66].

В литературных источниках все чаще приводятся сведения об успешной реализации направленного транспорта в разных отраслях медицины, в частности в акушерской практике. В.В. Ветров с соавторами выдвинул предложение о целесообразности применения этой уникальной методики у родильниц с возможными осложнениями гнойно-септического характера. В качестве лекарственных средств использовали гентамицин и аугментин, переносчиками которых послужили лейкоциты. Это позволило купировать клиническую симптоматику в 2 раза быстрее по сравнению с традиционными методиками [12].

Экстракорпоральная иммунофармакотерапия (ЭИФТ) открывает новые возможности и позволяет предварительно проконтролировать уровень и степень индукции определенной клеточной функции. Так ВАЛТ считается отдельным направлением ЭИФТ, возникшем в период активного развития иммунологии и гемокоррекции. При этом основой методики ЭИФТ является фармакологическая внеорганная индукция клеток (с функциональной направленностью) и последующее их введение для получения иммунного ответа [201].

И. С. Гуцин с соавторами провели экспериментальные исследования с целью обоснования методики ЭИФТ и выявления ее основных преимуществ перед иными методами коррекции иммунитета:

1. Лекарственный препарат в организм пациента практически не попадает либо обнаруживаются его следы;

2. Клеточная индукция *in vitro* подразумевает применение лекарственных средств в таких дозах, которые неприемлемы для использования *in vivo*;

3. ЭИФТ дает возможность соблюдать временные рамки и строго дозировать контактирование клеток с действующим веществом препарата;

4. Клетки, прошедшие индукцию *in vitro* и введенные в организм пациента, выполняют физиологические функции в точке приложения. Именно прицельное воздействие не вызывает нежелательных побочных эффектов, как при традиционном поступлении лекарства в организм;

5. Данная методика позволяет сделать предварительный анализ *in vitro* количества и степень индукции определенных клеток [50].

Подобный подход к лечебному процессу продемонстрировали различные авторы, профессиональная деятельность которых связана с разными медицинскими отраслями. Так например, А. П. Кривчикова использовала экстракорпоральную иммунофармакотерапию для лечения гормональнозависимых и резистентных форм неспецифического язвенного колита. У пациентов на фоне терапии отмечалось угасание воспалительного процесса, нормализация иммунной системы на гуморальном и клеточном уровне. Именно поэтому в большинстве случаев (60%) становилось возможным прекращение приема кортикостероидных средств [36]. В 1992 году Н.Ю. Логина с соавт. впервые применила методику АЛТ для лечения аллергических состояний, в частности при поливалентной аллергии к широкому спектру различных видов аллергенов, тяжелых гормонально-зависимых форм аллергических заболеваний, а также при хронической крапивнице, рецидивирующем отеке Квинке, атопическом дерматите, бронхиальной астме [54]. А. Л. Костюченко с соавторами применили на практике данный метод у пациентов с послеоперационными гнойными осложнениями на конечностях и у пациенток после кесарева сечения с метроэндометритом гнойного характера [33].

На западе экстракорпоральная иммунофармакотерапия в лечении бесплодия стала известна с конца 70-х годов благодаря Фольку. В России первым применил ЭИФТ на практике профессор В. И. Говалло [16]. В настоящее время данную

уникальную методику используют при привычном невынашивании беременности и HLA-идентичности партнеров, а точнее при совпадении 2-х и более антигенов. В подобных случаях иммунизируют женский организм аллогенными лимфоцитами супруга (ЛИТ) [168; 90].

За последние годы новейшая методика (ВАЛТ) заняла свои позиции в терапии хронических форм урогенитальных инфекций [55]. В этом случае проводят выделение лимфоцитов из собственной крови пациентов, имеющих в анамнезе хронические заболевания воспалительного характера, и культивируют с выбранным иммуномодулятором. Затем вводят полученные лимфоциты влагалищным доступом. Таким образом, лечение без антибиотиков дает выраженный противовирусный и антибактериальный эффекты, приводит в норму иммунный статус и не вызывает побочных явлений. Для иммуномодуляции исследователи применяли иммунофан, являющийся синтетическим подобием препаратов тимуса [55].

Отличительной особенностью процедуры ВАЛТ считается внутриорганное введение собственных лимфоцитов, подвергшихся активации иммунофаном. Данный аналог тимуса оказывает стимулирующее воздействие на иммунокомпетентные клетки, вызывая синтез ИЛ-1 β , ИЛ-2, TNF- α , IFN- γ , выступающих в роли медиаторов противовоспалительных реакций [50]. Предварительно измененная лимфоцитарная активность полностью остается сохранной и после внутриорганного введения. Поэтому оказывается прицельное воздействие на иммунные клетки влагалища и шейки матки. В результате чего опосредованно запускается регенерация и восстановление функциональных возможностей эндометрия.

В последние годы специалисты активно практикуют применение мононуклеаров для улучшения имплантации эмбриона по программе ЭКО у женщин с неоднократными безуспешными попытками зачатия экстракорпоральным способом. Именно внутриматочное введение мононуклеаров, подвергшихся процедуре активации *in vitro* посредством фармакологических препаратов, в частности с помощью человеческого

гонадотропина (ХГЧ), позволяет повысить частоту успешного зачатия и выносить здоровое потомство. Таким образом, для оплодотворенной яйцеклетки создаются наиболее благоприятные условия для имплантации и закономерно повышается частота результативных ЭКО [178; 221; 222].

Экстракорпоральная фармакотерапия в целом и АЛТ в частности находят применение в лечении самых различных заболеваний. Спектр применяемых препаратов и предоставляемых возможностей достаточно широк уже сегодня. Дальнейшее развитие этого направления имеет очень широкие перспективы.

1.7. Заключение

Согласно современным представлениям иммунная система человека – это сложный механизм, тесно взаимодействующий со всеми процессами организма, координирующий гомеостаз в целом. Функциональные способности иммунитета не ограничиваются внешней и внутренней защитой от различных аггессоров, в том числе патогенных микробов, токсичных веществ, мутированных клеток и прочих опасных элементов. Иммунитет осуществляет контроль над пролиферацией и дифференцировкой клеточного состава, а также над воспалительными процессами, непосредственно имплантацией, эмбриогенезом и гистогенезом.

Таким образом, воздействуя на различные составляющие иммунного статуса можно ожидать положительный эффект на результаты программы ЭКО и ПЭ, в частности улучшение показателей удачных имплантаций и рождаемости при использовании различных методик ВРТ (вспомогательных репродуктивных технологий).

Глава 2. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ, МЕТОДЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ И ЛЕЧЕНИЯ

2.1. Общая клиническая характеристика пациенток, включенных в исследование

За период с 2009 по 2014 годы в рамках нашего исследования была обследована группа пациенток ($n = 70$) репродуктивного возраста с диагнозом бесплодие. Все пациентки были включены в программу экстракорпорального оплодотворения и распределены на 2 группы: основная группа ($n = 40$), в которой перед процедурой ЭКО проводился курс внутривлагалищной аутолимфоцитотерапии; группа сравнения ($n = 30$) со стандартной схемой подготовки к ЭКО.

По принципу сопоставимости исследуемых групп, пациентки, включенные в исследование были разделены на 2 достаточно однородные по возрасту, этиологии бесплодия и сопутствующими заболеваниями группы. Из исследования были исключены пациентки с тяжелыми нарушениями иммунной системы, включая ВИЧ, обострением хронических заболеваний, злокачественными новообразованиями, преждевременным истощением яичников. Пары с мужским фактором беспорядия были исключены из исследования.

На каждую пациентку заводилась индивидуальная карта, позволяющая учитывать данные анамнеза (перенесенные гинекологические и экстрагенитальные заболевания, оперативные вмешательства, паритет, менструальная функция, наследственный и аллергологический анамнез). Внимание акцентировалось на жалобах и репродуктивной функции, а также на факторах, способствующих возникновению и развитию заболевания, ставшего причиной бесплодия.

Характеристика менструальной функции включала возраст менархе, становление, продолжительность кровянистых выделений и цикла, его регулярность и особенности. Выяснялось наличие жалоб на кровянистые

выделения вне цикла, выраженность болевого синдрома во время менструальных выделений, изменение характера цикла с началом половой жизни, после родов, абортов, проведения различных диагностических и лечебных процедур, а также во время приема гормональных контрацептивных средств.

При общем осмотре указывался тип телосложения пациенток, оценивалось состояние молочных желез (симметричность, форма, наличие выделений из сосков и объемных образований). При гинекологическом исследовании оценивалось состояние слизистых оболочек влагалища, состояние шейки и тела матки, характер влагалищных выделений. Во время бимануального влагалищного исследования определялись расположение, размер, форма и подвижность матки, оценивалось состояние придатков матки, их консистенция, наличие объемных образований.

Возраст пациенток, включенных в исследование, находился в рамках от 28 до 42 лет и в среднем составил для первой группы $35 \pm 1,6$ года; для второй - $33,6 \pm 2,5$ года. Продолжительность отсутствия беременности у супружеских пар составила от 2-х до 11-ти лет, в среднем $\pm 5,2$ года.

Трубно-перитонеальный фактор в качестве основной причины бесплодия встречался у 42,5% пациенток основной и 40% пациенток сравнительной группы, патология матки (эндометриоз, хронический эндометрит) у 27,5% и 33,3% соответственно, эндокринное бесплодие у 17,5% и 16,6%, бесплодие неясного генеза составило 12,5% и 10% соответственно (Таблица 1, Рисунок1)

Таблица 1 – Средний возраст и причины бесплодия в исследуемых группах

Показатель	Основная группа	Группа сравнения
Средний возраст	$35 \pm 1,6$	$33,6 \pm 2,5$
Причины бесплодия		
Трубно-перитонеальный фактор	17 (42,5%)	12 (40%)
Патология полости матки	11 (27,5 %)	10 (33,3 %)

Причины бесплодия	Основная группа	Группа сравнения
Эндокринные нарушения	7 (17,5 %)	5 (16,6 %)
Бесплодие неясного генеза	5 (12,5 %)	3 (10 %)

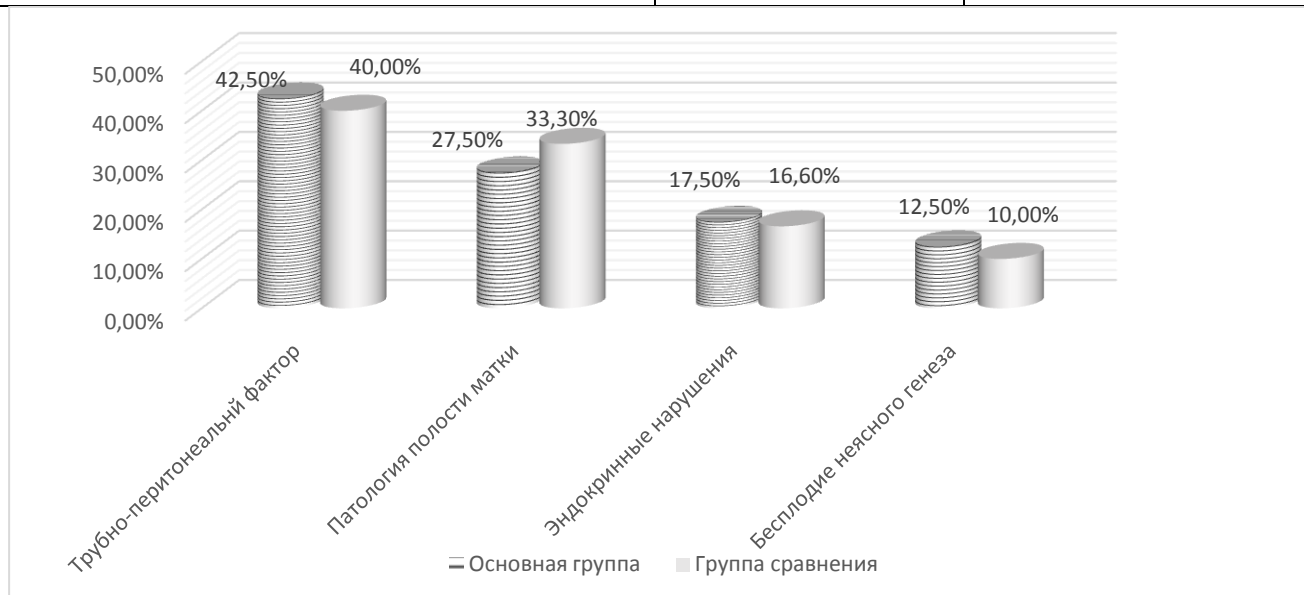


Рисунок 1 – Причины бесплодия в исследуемых группах

Менструальная функция пациенток анализировалась по следующим факторам - возраст менархе, длительность цикла и кровотечения, выраженность болевого синдрома, объем кровянистых выделений. Исходя из полученных данных, средний возраст менархе распределился следующим образом - $12,8 \pm 1,1$ года в основной группе и $13,5 \pm 1,2$ года в контрольной. Определенные нарушения менструальной функции наблюдались в основной группе у 30% женщин, в группе сравнения – у 33,3%. Нормальные характеристики менструального цикла (продолжительность 27-30 дней) были отмечены у большинства пациенток обеих групп (у 70% основной и у 66,7% контрольной), при этом длительность менструального кровотечения в 92,5% (65 пациенток из обеих групп) составила не более 6 дней, характер их был умеренный, а у 7% (5 пациенток) - длительные (от 8 до 12 дней) и обильные менструации, в 5,7% случаев (4 женщины) – отмечались прорывные ациклические кровотечения, у 2 пациенток (2,8%) обеих групп

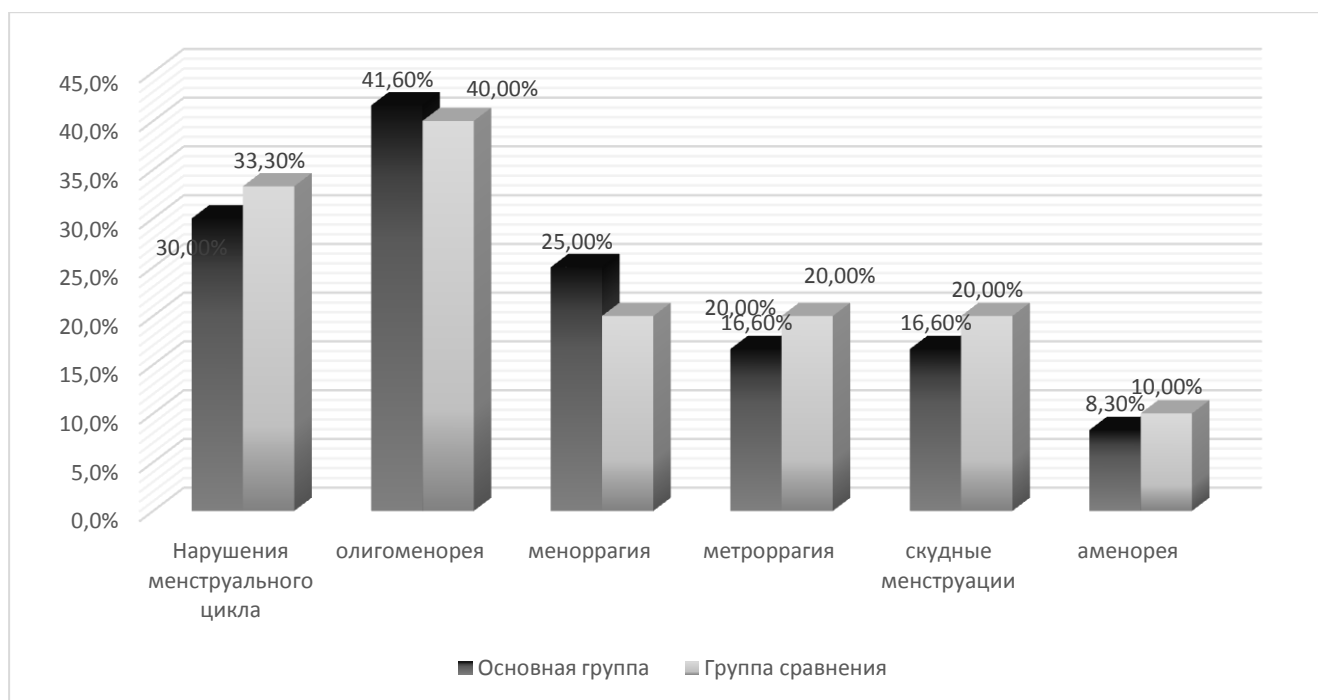
отмечена аменорея более 6 месяцев. На болезненные менструации указали 13 (32,5%) женщин основной и 12 (40%) контрольной групп.

Проанализировав полученные данные, нарушения менструального цикла распределились следующим образом: олигоменорея наблюдалась у 41,6 % пациенток основной группы и у 40% контрольной, обильные менструации (25% и 20% соответственно), ациклические маточные кровотечения (16,6% и 20%), скудные менструации (16,6% и 20%), вторичная аменорея (8,3% и 10%).

Исходя из собранных данных о половой жизни, средний возраст дебюта составил $18,7 \pm 1,9$ года и $18,2 \pm 1,3$ года в основной и контрольной группе соответственно (Таблица 2, Рисунок 2), одного полового партнера в течении последних лет имело подавляющее большинство женщин обеих групп (96,4%).

Таблица 2 – Возраст менархе и структура нарушений менструального цикла в исследуемых группах

Показатель	Основная группа	Группа сравнения
Возраст менархе	$12,6 \pm 1,2$	$12,8 \pm 1,6$
Возраст сексуального дебюта	$18,7 \pm 1,9$	$18,2 \pm 1,3$
Нарушения менструального цикла	12 (30%)	10 (33,3%)
• олигоменорея	5 (41,6%)	4 (40%)
• меноррагия	3 (25%)	2 (20%)
• метроррагия	2 (16,6%)	2 (20%)
• скудные менструации	2 (16,6%)	2 (20%)
• аменорея	1 (8,3%)	1 (10%)
Альгодисменорея	13 (32,5%)	12 (40%)



($p < 0,05$)

Рисунок 2 – Структура нарушений менструального цикла в исследуемых группах

Согласно опросу, к моменту обращения у большинства пациенток имелись какие-либо сопутствующие соматические заболевания, причем у 28 женщин обеих групп выявилось сочетание нескольких хронических заболеваний, а у 8 – более 3-х. Частота сопутствующих экстрагенитальных заболеваний наглядно представлена в Таблице 3.

Таблица 3 – Структура сопутствующей экстрагенитальной патологии.

Заболевание	Основная группа	Группа сравнения
Частые ОРВИ, грипп, ангина	21 (52,5%)	16 (53,33%)
Хронический тонзиллит	13 (32,5%)	11 (36,66%)
Хронические заболевания легких	2 (5,0%)	0 (0%)
Гипертоническая болезнь	8 (20,0%)	7 (23,33%)
Вегето-сосудистая дистония	21 (52,5%)	11 (36,67%)
Варикозное расширение вен нижних конечностей	8 (20,0%)	6 (20,0%)
Заболевания щитовидной железы	5 (12,5%)	7 (23,33%)

Заболевание	Основная группа	Группа сравнения
Хронические заболевания ЖКТ	16 (40,0%)	13 (43,33%)
Заболевания мочевыделительной системы	8 (20%)	9 (30%)
Астено-невротический синдром	15 (37,5%)	23 (76,67%)
Аллергические реакции	13 (32,5%)	10 (33,33%)
- в том числе на лекарственные препараты	5 (12,5%)	5 (16,6%)
Ожирение	15 (37,5%)	10 (33,33%)

Как видно, респираторно-вирусные заболевания, рецидивирующие ангины, хронические тонзиллиты наблюдались достаточно часто у пациенток в обеих группах. Причем все вышеперечисленные инфекционные заболевания пришлось, в основном, на детский возраст и период полового созревания. Заболевания респираторной системы включали хронический бронхит и синусит; пищеварительной системы – хронический гастрит, колит, холецистит, дискинезия желчевыводящих путей, достаточно часто встречался дисбактериоз кишечника различной степени выраженности. Хронические заболевания сердечно-сосудистой системы включали вегетососудистую дистонию, варикозную и гипертоническую болезнь (легкую степень выраженности). Из патологии щитовидной железы особенно часто встречались гипотиреоз и аутоиммунный тиреоидит. Достаточно часто у пациенток обеих групп встречался астено-невротический синдром (около 50% женщин обеих групп) и ожирение как проявление метаболического синдрома (у 35,71% пациенток обеих групп). Среди заболеваний мочевыделительной системы преобладали хронические пиелонефриты и циститы – у 20% в первой группе и 30% во второй группе. Достаточно часто встречались аллергические реакции: у 32,5% пациенток в первой группе и у 33,3% во второй, в том числе на лекарственные препараты (12,5% и 16,6% соответственно). Столь высокая частота перенесенных острых инфекций и наличие очагов хронических процессов (почти у каждой третьей женщины) косвенно говорит о наличии нарушений защитных механизмов.

Исходя из совокупности перечисленных фактов, сравнительный анализ соматического статуса пациенток показал, что группы были сопоставимы по характеру и частоте экстрагенитальных заболеваний.

Изучение акушерского анамнеза пациенток в основной группе показало: наличие беременностей в анамнезе у 18 (45%), из них родов - у 5 (27,78%), искусственных аборт - у 4 (22,22%), самопроизвольных выкидышей – у 6 (33,33%), эктопическая беременность у 3 (16,67%) женщин. Те же показатели в контрольной группе распределились следующим образом: наличие беременности в анамнезе у 13 (43,3%) женщин, из них роды были у 3 (23,07%) пациенток, искусственные аборты у 4 (30,77%), неразвивающаяся беременность у 4 (30,77%), внематочная беременность у 2 (15,38%). Неэффективные попытки ЭКО в анамнезе зафиксированы у 31 пациентки (77,5%) основной группы, причем 2 и более неудачных попыток выявлено у 25 (62,5%) из них; в контрольной группе повторные попытки ЭКО были у 20 женщин (66,6%), из них 2 и более неудачных попыток у 12 (40%). Таким образом, у 18 (45,0%) пациенток основной группы и у 13 (43,3%) пациенток контрольной группы были беременности, первичное бесплодие было соответственно у 22 (55%) и у 17 (56,67%) больных (Таблица 4).

Таблица 4 – Особенности акушерского анамнеза пациенток обеих групп

Показатель	Основная группа	Группа сравнения
Беременности в анамнезе	18(45%)	13(43,3%)
• роды	5(27,78%)	3(23,07%)
• искусственные аборты	4(22,22%)	4(30,77%)
• самопроизвольные выкидыши	6(33,33%)	4(30,77%)
• эктопическая беременность	3(16,67%)	2(15,38%)
Попытки ЭКО и ПЭ	31(77,5%)	20(66,6%)
• 2 и более попытки ЭКО и ПЭ	25(62,5%)	12(40%)

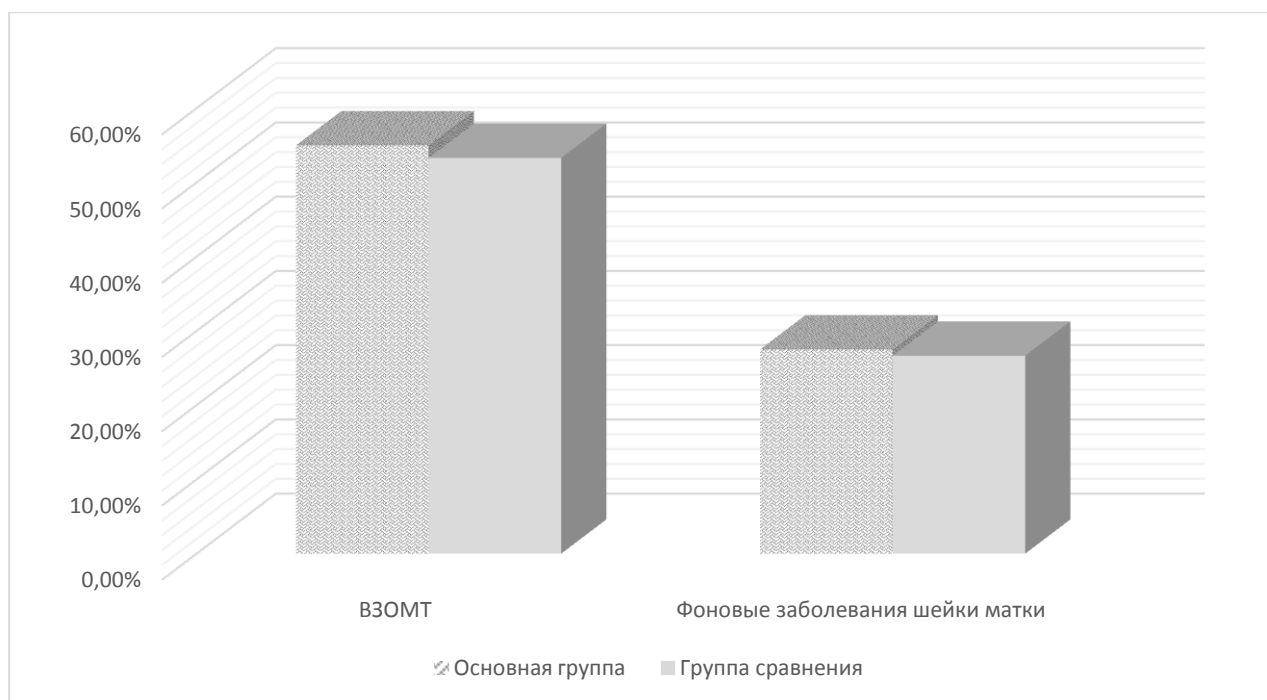
Показатель	Основная группа	Группа сравнения
Первичное бесплодие	22 (55,0%)	17 (56,67%)
Вторичное бесплодие	18 (45,0%)	13 (43,33%)

($p < 0,05$)

Различные осложнения оперативных манипуляций по поводу искусственных аборт и неразвивающихся беременностей были обнаружены у 12,5% пациенток основной группы и у 20% контрольной группы: острый эндометрит у 1 (2,5%) и 2 (6,7%) из них соответственно; острый сальпингофорит или обострение - у 3 (7,5%) и 3 (10%), остатки плодного яйца - у 2 (5%) и 3 (10%), после чего производилось повторное выскабливание.

Из всех перенесенных заболеваний репродуктивной системы наиболее часто встречались воспалительные заболевания органов малого таза (более 50% пациенток обеих групп), т.е. каждая вторая пациентка лечилась по поводу одной или нескольких генитальных инфекций. Кроме того, у части исследованных пациенток выявилась тенденция к рецидивирующему и затяжному течению, что говорит о некоторых нарушениях в местных и общих системах защиты организма. Сравниваемые группы по данному показателю сопоставимы.

Суммируя вышесказанное, можно сделать вывод, что наиболее часто в обеих группах встречались различные инфекционные процессы в органах малого таза (55% и 53,3% по группам, соответственно) и заболевания шейки матки (27,5% и 26,66%) (Рисунок 3). Практически все пациентки (92% и 86,7% соответственно по группам) указали на проводимое ранее стационарное или амбулаторное лечение генитальных заболеваний с использованием системных и местных антибактериальных препаратов, кортикостероидов, стимуляторов иммунитета, физиотерапии. На развитие аллергической реакции после курса лечения пожаловалось 11,3% пациенток основной группы и 13,3% - контрольной.



($p < 0,05$)

Рисунок 3 – Особенности гинекологического анамнеза пациенток

Этиологические факторы воспалительных заболеваний распределились следующим образом - наиболее часто встречались грибы рода *Candida* (70%), анаэробная флора (41,4%), уреоплазмы (28,6%), микоплазмы (17,2%), хламидии (27,1%), гарднерелла (24,3%) и вирусные агенты (ВПЧ – 45,8%; ВПГ – 20%; ЦМВ – 17,1%) (Таблица 5).

Таблица 5 – Частота перенесенных урогенитальных инфекций в анамнезе

Показатель	Основная группа	Контрольная группа
<i>Chlamydia trachomatis</i>	13 (32,5%)	6 (20%)
<i>Mycoplasma genitalium</i>	4 (10%)	2 (6,7%)
<i>Mycoplasma hominis</i>	3 (7,5%)	3 (10%)
<i>Ureaplasma urealyticum</i> / <i>Ureaplasma parvum</i>	9 (22,5%)	11 (36,7%)
<i>Gardnerella vaginalis</i>	10 (25%)	7 (23,3%)
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	3 (7,5%)	1 (3,3%)
<i>Trichomonas vaginalis</i>	4 (10%)	2 (6,7%)
<i>Treponema pallidum</i>	0 (0%)	0 (0%)

Показатель	Основная группа	Контрольная группа
Candida albicans	28 (70%)	21 (70%)
Вирус папилломы человека (типы: 6, 11)	4 (10%)	5 (16,7%)
ВПЧ высокого онкогенного риска (типы 16,18, 31, 33, 35, 45, 39, 59, 52, 56, 58, 66)	14 (35%)	9 (30%)
HSV 1 + 2	8 (20%)	6 (20%)
CMV	7 (17,5%)	5 (16,7%)
Неспецифическая флора	18 (45%)	11 (36,7%)

По другим гинекологическим заболеваниям (миома матки, эндометриоз, кисты яичников) группы были абсолютно сопоставимы.

Интересными оказались данные об использовавшихся способах контрацепции (Таблица 6). В обеих группах отмечалось повышение частоты применения гормональных контрацептивов (КОК) и ВМС в анамнезе по сравнению с барьерным методом (презерватив), что может свидетельствовать о повышении риска развития воспалительных заболеваний генитального тракта при отказе от барьерных методов контрацепции.

Таблица 6 – Методы контрацепции, использующиеся в анамнезе

Метод контрацепции	Основная группа	Группа сравнения
КОК	15 (37,5%)	13 (43,33%)
ВМС	6 (15%)	4 (13,33%)
Презерватив	11 (27,5%)	7 (23,33%)
Не применялся	8 (20%)	6 (20%)

Исходя из предоставленных данных, каких-либо достоверных различий между исследуемыми группами не обнаружено.

2.2. Характеристика методов исследования

Все пациентки, включенные в исследование, подвергались тщательному опросу и обследованию путем использования клинических, инструментальных (ультразвуковая диагностика, при необходимости эндоскопическая и рентгенологическая), лабораторных и статистических методов.

Анализ анамнестических данных.

Изучение общего и семейного анамнеза помимо стандартного опроса включало в себя выяснение факторов риска возникновения инфекционных заболеваний репродуктивной системы, анализ особенностей течения заболевания и результаты проведенной терапии. Изучались сведения о социально-экономическом статусе пациенток, характере половой жизни, предпочтительном методе контрацепции. Особенно тщательно проводилась комплексная оценка перенесенной патологии - детские инфекции, гинекологический анамнез, сопутствующие и перенесенные заболевания, операции. Производился анализ эффективности проводимого ранее лечения (особо акцентируясь на применении антибактериальных и иммуностимулирующих препаратов). Подробно изучались особенности становления менструальной функции и паритет.

Клиническое обследование.

Нами оценивался общий статус пациенток, особенности телосложения, индекс массы тела, чистота кожных покровов, оволосение. Отдельное внимание уделялось осмотру и пальпаторному обследованию молочных желез. Производился сбор жалоб: выделения из половых путей, зуд, жжение в области гениталий, нарушения мочеиспускания, болевой синдром. При гинекологическом обследовании с помощью зеркал оценивались состояние слизистой влагалища и шейки матки, производилась оценка характера и количества выделений, образований на шейке матки. Состояние матки и придатков оценивали посредством бимануального обследования (расположение, размер и консиситенция, болевой синдром, наличие образований).

Инструментальные методы исследования.

Всем пациенткам на 5-7 день менструального цикла проводилось ультразвуковое исследование и доплерометрия органа малого таза. Данное исследование выполнялось на аппарате «Philips HD7» с трансвагинальным конвексным датчиком С8-4v с частотой 8 МГц. Ультразвуковое исследование осуществлялось трансвагинальным доступом путем проведения серий продольных и поперечных сканирований. Измерялись длина, ширина, переднезадний размеры матки, толщина М-эхо, определялись структура, контуры, размеры яичников. При выявлении образований в органах малого таза, описывались характер, размер, расположение, особенности кровоснабжения. При изучении яичников, помимо их общих характеристик, обращалось особое внимание на их функциональную активность в разные периоды менструального цикла: в первую фазу цикла (на 5-7 день) оценивался фолликулярный запас, в середине цикла (на 12-14-й день) – наличие и размеры доминантного фолликула, во вторую фазу цикла (на 20-22 день) - наличие желтого тела. С помощью доплерометрического исследования оценивали интенсивность кровотока в спиральных артериях эндометрия, маточных и яичниковых артериях, а также кровотоков в выявленных образованиях.

Для исследования состояния шейки матки пациенткам выполнялась расширенная кольпоскопия на бинокулярном кольпоскопе фирмы «Olympus» (Япония), модель ОсS5-BA 500, при 10-кратном увеличении. Производилась простая кольпоскопия для определения деформаций шейки матки и формы наружного зева, оценивался цвет слизистой экзоцервикса, сосудистый рисунок и границы стыка плоского и цилиндрического эпителия. Техника проведения расширенной кольпоскопии включала пробу с 3% раствором уксусной кислоты и раствором Люголя (проба Шиллера).

Лабораторные методы исследования.

Всем пациенткам производили общеклиническое исследование: серологическое (ВИЧ-инфекции, сифилис, гепатиты В и С), клинический и биохимический анализы крови, коагулограмма.

Для оценки репродуктивной системы и овариального резерва проводили исследование гормонального статуса на 3-5 день менструального цикла утром натощак из локтевой вены - пролактин, антимюллеров гормон (АМГ), ФСГ, ЛГ и стероидные (эстрадиол, тестостерон, ДГЭА) и 20-22 дни цикла - прогестерон. У пациенток с ациклическими кровянистыми выделениями и аменореей данное исследование проводилось без цикла. Определение концентрации гормонов осуществлялось иммунохимолюминисцентным методом на автоматической хемолюминисцентной системе «ACS-180Plus». Референсные значения определялись среднегеометрическими данными, полученными при рутинном обследовании здоровых женщин активного репродуктивного возраста.

До и после лечения пациенток проводилась комплексная оценка иммунного статуса. Для этого определяли абсолютный уровень лейкоцитов в крови, абсолютное и относительное количество лимфоцитов и их субпопуляций: содержание CD 3+ CD 4+клеток-хелперов; цитотоксичных Т-клеток CD 3+CD 8+; активированных Т-лимфоцитов CD 3+DR+; В-лимфоцитов CD 19+; CD 16+CD 56+ натуральный киллеров. Подсчет численности данных клеток проводили, используя лейкоцитарную формулу общего анализа крови. Фагоцитарная активность моноцитов и нейтрофилов оценивалась с помощью анализа истинного фагоцитоза – фаготест и изучения продукции активных форм кислорода – фагобурст. Исследование производилось на проточном цитометре «Coulter Epics XL» (США). Количество иммуноглобулинов А, М, G в сыворотке крови устанавливали с помощью радиальной иммунодиффузии в агаровой среде по Манчини в иммунологической лаборатории с использованием диагностических моноспецифических сывороток.

Для оценки воспалительной реакции слизистой влагалища и цервикального канала и выделения микробной составляющей всем пациенткам производилось бактериологическое и микроскопическое исследование вагинального отделяемого. Для микроскопического анализа забор материала осуществляли урогенитальным зондом на предметные стекла из трех точек (уретра, задний свод влагалища, цервикальный канал), далее использовались методики окраски по

Грамм и Романовскому-Гимзе. Образцы для бактериологического исследования брали стерильным тампоном и помещали в пробирку с транспортной средой (среда Эймса), после чего производили посев материала на общепринятые среды. Определение возбудителей ИППП (уреаплазма, микоплазма, хламидия, гарднерелла, цитомегаловирус, ВПГ 1,2 тип, ВПЧ) в содержимом цервикального канала выявляли методом ПЦР путем помещения исследуемого материала в транспортную среду типа Эппендорфф с последующей амплификацией и детекцией продуктов амплификации методом горизонтального электрофореза.

Для оценки состояние шейки матки проводилось онкоцитологическое исследование соскобов с поверхности шейки матки по технологии жидкостной цитологии и приготовления тонкослойных цитологических препаратов (Thin Prep-метод). Материал (соскоб из цервикального канала и с поверхности экзоцервикса) помещался в особый стабилизирующий раствор (BD ShurePath), обеспечивающий сохранность биоматериала. Взятие образцов производили путем соскоба с поверхности влагалищной части шейки матки и из эндоцервикса одноразовой цито-щеточкой (cervix-brush). Для забора шейка тщательно предварительно очищалась от слизи ватным тампоном. Материал вместе с щеткой помещали в контейнер с жидкой транспортной средой. После чего среда центрифугировалась в режиме 1000 оборотов в течение 5 минут при среднем ускорении на центрифуге (Cytospin-4). Готовый препарат оценивался автоматизированной системой просмотра цитологических препаратов BD FocalPoint GS, затем просматривался цитологом.

Дополнительные методы исследования.

Для выявления трубно-перитонеального и эндокринного бесплодия пациентам было произведено обследование.

Для уточнения формы эндокринного бесплодия:

- ультразвуковая фолликулометрия
- магнитно-резонансная томография черепа с визуализацией турецкого седла (при высоком уровне пролактина для исключения микроаденомы гипофиза)

- исследование уровня гормонов щитовидной железы и тиреотропного гормона, для исключения патологии (Т3, Т4)
- глюкозотолерантный тест при подозрении на нарушения углеводного обмена.

Для выявления трубно-перитонеального фактора бесплодия производилась гистеросальпингография на 8-12 день менструального цикла или лапароскопия с хромогидротубацией.

Для исследования функционального слоя эндометрия всем пациенткам рекомендовалась пайпель-биопсия эндометрия с последующим цитологическим исследованием материала по технологии жидкостной цитологии и изготовления тонкослойных цитологических препаратов (Thin Prep-метод). При выявлении методом ультразвуковой диагностики патологии эндометрия (гиперплазия, полипы эндометрия), рекомендовалось проведение гистероскопии и отдельного диагностического выскабливания с последующим гистологическим исследованием материала.

2.3. Метод внутривлагалищной аутолимфоцитотерапии.

Курс лечения методом влагалищной аутолимфоцитотерапии проходили все пациентки основной группы. Перед назначением ВАЛТ пациентки осматривались гинекологом и врачом-иммунологом. Процедура включала в себя следующие манипуляции:

1. Забор периферической крови в объеме 10-20 мл производили у пациенток утром в вакуумные пробирки из локтевой вены. Далее с целью получения лейкоцитарной суспензии в 2 мл гепаринизированной крови добавляли 1 мл подогретого до 37°C 3% раствора желатина и помещали в термостат на 30 мин (37°C). После проведенной процедуры слой плазмы с лейкоцитами помещался в пластиковую пробирку, после чего отмывался с помощью фосфатно-солевого буфера (10-ти кратный объем, pH=7,4). Затем раствор лейкоцитов помещался в центрифугу на 10 минут при 1000 об/мин, затем его разводили в растворе Хенкса без ионов Ca²⁺ и Mg²⁺. В камере Горяева производили подсчет лимфоцитов (доводили до 10⁶-10⁷ кл/мл) и после окраски метиленовым синим проверяли их жизнеспособность.

2. Полученную суспензию клеток ресуспензировали в 0,9%-м растворе хлорида натрия. Далее лимфоциты культивировали вместе с фармпрепаратом, обладающим иммуномодуляторными свойствами (в нашем случае 1,0-0,005% стерильным раствором имунофана) около 4-6 часов, при 37°C и влажности 95% в атмосфере, содержащей 5% CO₂.

Полученный раствор подтверждался двукратному отмыванию: первый раз - в RPMI 1640, второй раз - изотоническим раствором NaCl. Далее клетки ресуспензировали в 1 мл стерильного 0,9%-го раствора натрия хлорида. Затем повторно осуществлялся подсчет клеток и оценка их жизнеспособности в камере Горяева. Все перечисленные манипуляции производились врачом лаборантом-иммунологом.

В Таблице 7 представлены данные, которые указывают на достаточно высокую жизнеспособность аутолимфоцитов крови после активации

имунофаном. Как видно, непосредственно после получения суспензии лимфоцитов жизнеспособность их колебалась от 90 до 97%, через несколько часов после культивирования с иммуномодулятором составила 80-90%, по истечении 6 часов - 81-77%, 48 часов - 50-60%.

Таблица 7 – Изучение жизнеспособности лимфоцитов, выделенных из периферической крови доноров, в процессе их инкубации с имунофаном

Дата	Время инкубации (час)	Жизнеспособность (%)	Концентрация кл/мл $\times 10^6$
14-10-14	0	97	6,7
	3	85	0,26
	6	81	0,63
	48	75	0,52
14-10-14	0	95	9,8
	3	81	0,2
	6	77	0,45
	48	51	0,77

3. Непосредственно медицинская процедура ВАЛТ проводилась в амбулаторных условиях врачом гинекологом на гинекологическом кресле. В стерильных условиях с помощью зеркала Куско производили санацию влагалища антисептическим раствором (octenisept в разведении 1:6, экспозиция 1 минута), далее слизистую оболочку осушали стерильным ватным тампоном. Посредством шприца на 5 мл слизистую влагалища и шейки матки орошали суспензией аутолимфоцитов, разведенных в 5,0 мл стерильного физиологического раствора.

Процедуру начинали с введения 1×10^6 кл/мл клеток 1 раз в неделю, постепенно повышая до 1×10^6 кл/мл. Время процедуры колебалось в пределах 40-60 мин. Процедуру начинали за 2-3 месяца до процедуры ЭКО, проводилась с кратностью в 1-2 раза в неделю, в количестве 6-10 процедур на курс [55].

Далее пациентки проходили стандартную процедуру ЭКО и ПЭ (при необходимости ИКСИ).

2.4. Характеристика процедуры экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбриона

Протокол программы экстракорпорального оплодотворения проводился по стандартной схеме с незначительными модификациями.

Стимуляцию яичников проводили с учетом индивидуальных особенностей и данных анамнеза по «длинной» (с использованием агонистов ГнРГ) или «короткой» (без а-ГнРГ) схеме.

Протокол стандартной схемы ЭКО:

начало – 19-21 день цикла	базовая терапия	мониторинг	
подавление функции гипофиза в течении 10-14 дней	стимуляция функции яичников 8-12 дней	36 часов	поддержка функции ЖТ утрожестан\дюфастон
агонисты-ГнРГ.....	препараты ФСГ.....	ХГЧ	забор ооцитов.....ПЭ

1. Подавление функции гипофиза агонистом ГнРГ (Бусерелин /ООО Фарм-синтез, Россия/, Диферелин /Ipsen Pharma, Франция/, Люкрин-депо / Abbott Laboratories, Испания/) начинали на 19-21-й день цикла.
2. Схема стимуляция функции яичников подбиралась индивидуально и составила в среднем 8-12 дней. Стандартная стартовая доза гонадотропина составила 150-225 МЕ препарата в зависимости от возраста пациентки, анамнеза и т.д. Применяемые гонадотропины: Пурегон (фоллитропин-бета) /Organon, Нидерланды/, Гонал-Ф (фоллитропин-альфа) /Serono EuropeLtd., Великобритания/, Менопур (менотропин) /FerrihgGmbh, Германия/.
3. Перед началом стимуляции роста фолликулов результаты подавления подтверждали базовыми исследованиями (УЗИ малого таза, анализ уровня репродуктивных гормонов). УЗ-исследование производилось на 2,4-6, 8-11 дни цикла, а также непосредственно перед пункцией фолликулов и перед переносом эмбрионов.
4. Для обеспечения достаточной толщины эндометрия к стимуляции добавлялись препараты эстрогенов. Применяли таблетированный препарат Прогинова (эстрадиола валериат) /Shering, Франция/, в дозировке 2 мг/сут с 5 по 21 дни менструального цикла.

5. Овуляция индуцировалась подкожным или внутримышечным введением хорионического гонадотропина человека – Прегнил /Organon, Нидерланды/, Овитрель /Serono EuropeLtd., Великобритания/ - в дозе 5000-10000 ЕД при наличии как минимум одного доминантного фолликула ≥ 18 мм в диаметре и 2-х фолликулов не менее 15 мм в диаметре. Введение препаратов ХГ осуществлялось за 36 часов до предполагаемой пункции.
6. Забор ооцитов проводился под внутривенной анестезией через 34-36 часов после инъекции ХГЧ путем вакуумной аспирации фолликулов под контролем трансвагинального ультразвукового мониторинга отдельно из правого и левого яичника. Аспират помещали в подогретые пробирки Фалькона.
7. Фолликулярный аспират немедленно исследовался врачом-эмбриологом на нагретом столике микроскопа. Ооциты отмывались и переносились в культуральную среду, где производилась оценка качества и зрелости ооцитов. Отмывка ооцитов производилась в среде MediCultFlushingMedium при температуре 37° согласно инструкции.
8. Образец спермы мужа подвергался градиентному центрифугированию с использованием сред MediCultSpermPreparationMedium.
9. Далее производилась инсеминация ооцитов взвесью сперматозоидов (в среднем 100 000 нормальных подвижных сперматозоидов на 1 мл среды с ооцитами) и/или процедура ИКСИ (интрацитоплазматическая инъекция сперматозоидов) для пар с мужским фактором бесплодия.
10. В 1-й день после инсеминации производили оценку оплодотворения, после чего культуру эмбрионов помещали в шкаф для инкубации. Культивация ооцитов осуществлялась в инкубаторе при температуре 37° и концентрации в смеси CO₂, с использованием питательных сред MediCultEmbryoAssist и BlastAssist.
11. На 5-й день производили оценку качества эмбрионов согласно оценивающей системе Gardner и Schoolcraft (1999). Только эмбрионы

хорошего качества переносились в полость матки с помощью катетера для переноса (не более 3-х эмбрионов).

12. Поддержку лютеиновой фазы осуществляли препаратами прогестерона (Утрожестан / Besins Healthcare, Бельгия/, Дюфастон / Solvay Pharmaceuticals, Нидерланды/) в индивидуально подобранной дозировке.
13. Через 14 дней после переноса эмбрионов производился анализ уровня ХГЧ в крови, при положительном уровне которого через еще 1 неделю выполнялось УЗИ.

2.5. Статистический анализ результатов исследования

Полученные результаты исследования подвергались статистическому анализу на персональном ноутбуке в программе MS EXCEL версия 1807 с помощью программы «Statistic» (версия 9.0 StatSoft Inc. (США)), используя методологию параметрической и непараметрической статистики. Различия между группами выявлялись при использовании однофакторного дисперсионного анализа. Группы исследования сравнивались по методу парного критерия Стьюдента. Статистически значимыми считали отличия при $p < 0,05$ (95%-й уровень значимости) и при $p < 0,01$ (99%-й уровень значимости).

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Сравнительный анализ традиционных методов лечения воспалительных заболеваний органов малого таза и комплексного использования аутолимфоцитотерапии, как способ подготовки пациенток к программе экстракорпорального оплодотворения

3.1.1. Клинико-лабораторная характеристика больных с вульвовагинальной инфекцией и воспалительными заболеваниями органов малого таза

Согласно результатам анализа причин бесплодия наиболее часто встречался трубно-перитонеальный фактор (42,5% пациенток основной и 40% пациенток контрольной группы), а ведущей перенесенной патологией в обеих группах являлись воспалительные заболевания (более 50% пациенток обеих групп).

Всем пациенткам с бесплодием, ассоциированным предположительно с трубно-перитонеальным фактором, проводили диагностику методом гистеросальпингографии (ГСГ). Результаты представлены в Таблице 8.

Таблица 8 – Результаты ГСГ в исследуемых группах

Результат	Основная группа	Группа сравнения
Трубы полностью проходимы	23 (57,5%)	18 (60%)
Имеется нарушение проходимости труб	17 (42,5%)	12 (40%)
• Трубы полностью непроходимы	8(47%)	5(41,7%)
• Трубы частично проходимы	5(29,4%)	5(41,7%)*
• Гидросальпинкс (с одной или двух сторон)	4(23,5%)	2(16,7%)

p – статистически значимые различия (p < 0,05)

Среди причин ограничения проходимости маточных труб на первом месте значились перенесенные в анамнезе инфекционные заболевания женской репродуктивной системы (48,3% случаев), на втором - лапароскопическая тубэктомия в результате эктопической беременности (17,2% случаев) и спаечный процесс в результате других операций на органах малого таза (аппендэктомия, резекция яичников по поводу кист и опухолей яичников различной этиологии – 17,2%), на третьем - наружный генитальный эндометриоз (13,8%), и наконец - неясная этиология (3,4%) (Таблица 9).

Таблица 9 – Причины трубно-перитонеального фактора бесплодия в исследуемых группах

Показатель	Основная группа	Контрольная группа
Трубно-перитонеальный фактор бесплодия	17 (42,5%)	12 (40%)
• ВЗОМТ	8 (47%)	6 (50%)
• Тубэктомия в результате эктопической беременности	3 (17,65%)	2 (16,67%)
• Операции на органах малого таза	3 (17,6%)	2 (16,67%)
• НГЭ	2 (11,8%)	2 (16,67%)
• Причина не установлена	1 (5,9%)	-

p – статистически значимые различия ($p < 0,05$)

Согласно данным из таблицы самой распространенной причиной непроходимости маточных труб в нашем исследовании явились ВЗОМТ в анамнезе и образование спаек вследствие перенесенных операций на органах малого таза, причем в некоторых случаях имелась сочетанная патология.

Клиническая характеристика воспалительных заболеваний органов малого таза больных, включенных в исследование.

С целью диагностики заболеваний нижних половых путей всем пациенткам (70 женщин) было проведено стандартное клинико-лабораторное обследование, включающее описание качественных и количественных характеристик влагалищных выделений (цвет, консистенция, запах), осмотр слизистых покровов вульвы и влагалища (цвет, повреждения, наличие папиллом), и естественно микроскопическое исследование окрашенных по Граму влагалищных мазков. Для уточнения характера и причины патологического процесса всем женщинам, включенным в исследование, осуществлялся культуральный посев секрета цервикального канала и диагностика на ИППП с помощью ПЦР метода. С целью комплексной оценки заболеваний шейки матки производили простую и расширенную кольпоскопию, а также жидкостную онкоцитологию.

В итоге проведенного обследования:

- кандидозный вульвовагинит выявлен у 16 пациенток (22,86%): в основной группе у 9 (22,5%), в контрольной группе у 7 (23,33%);
- бактериальный вагиноз – у 25 пациенток (35,7%): в основной группе у 14 (35%), в контрольной группе у 11 (36,67%);
- после обследования на ИППП с помощью иммуноферментного анализа, методом полимеразной цепной реакции, результаты распределились следующим образом (Таблица 10):

Таблица 10 – Результаты заболеваемости инфекциями, передаваемыми половым путем, по группам

Показатель	Основная группа	Контрольная группа
<i>Chlamydia trachomatis</i>	3 (7,5%)	5 (16,67%)
<i>Mycoplasma genitalium</i>	2 (5%)	3 (10%)
<i>Mycoplasma hominis</i>	2 (5%)	2 (6,7%)

Показатель	Основная группа	Контрольная группа
Ureaplasma urealiticum/ Ureaplasma parvum	8 (20%)	9 (30%)
Gardnerella vaginalis	7 (17,5%)	5 (16,67%)
Neisseria gonorrhoeae	0 (0%)	0 (0%)
Trichomonas vaginalis	0 (0%)	0 (0%)
Treponema pallidum	0 (0%)	0 (0%)
Candida albicans	9 (22,5%)	7 (23,33%)
Вирус папилломы человека (типы: 6, 11)	1 (2,5%)	2 (6,7%)
ВПЧ высокого онкогенного риска	8 (20%)	6 (20%)
HSV 1 + 2	3 (7,5%)	2 (6,7%)
CMV	5 (12,5%)	3 (10%)

p – статистически значимые различия ($p < 0,05$)

- сочетанные формы вульвовагинальной инфекции – у 28 (40%) пациенток: 17 пациенток (42,5%) основной и 11 (36,7%) группы сравнения.

Обращает на себя внимание тот факт, что в большинстве случаев воспалительные заболевания приобретали рецидивирующий характер – в 42,5% случаев (17 пациенток) в основной группе и 46,7% (14 пациенток) в группе сравнения (Рисунок 4).

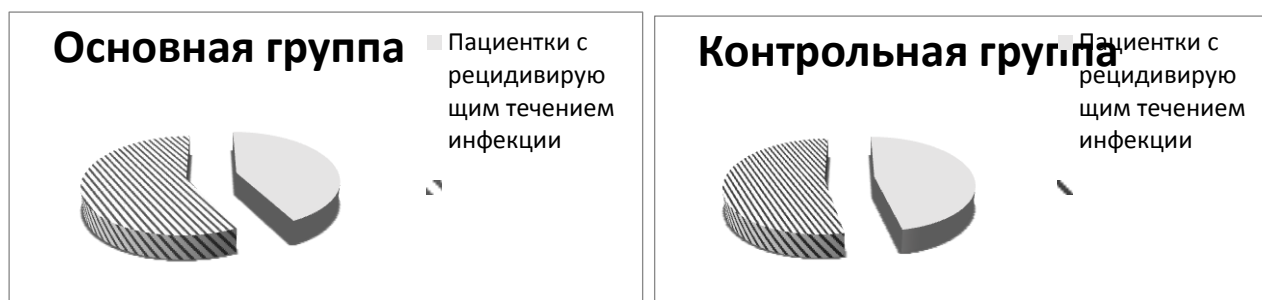


Рисунок 4 – Число пациенток с рецидивирующим течением инфекции

Результаты сравнительного анализа различных форм изменения нормального микробиоценоза влагалища показали, что преобладающими клиническими проявлениями данной патологии являлось увеличение количества и качества вагинального отделяемого (Таблица 11). В частности, жалобы на усиление выделений встречались у 54,3% больных, причем выделения имели белый или желтоватый цвет, реже с зеленоватым оттенком, по консистенции жидкие гомогенные, «пенистые» или имели «творожистый» характер. В 21,4% случаев пациенток беспокоили зуд или жжение в области гениталий, некоторые из них указали на изменение интенсивности этих проявлений в зависимости от фазы менструального цикла. Данное клиническое проявление наиболее часто было присуще кандидозному поражению слизистых оболочек, а также при сочетании с другими инфекциями, реже – герпес-вирусной инфекции. Однако, присутствие данных жалоб не может считаться облигатным признаком грибкового поражения, так как они нередко встречались у пациенток с дисбиозом влагалища и сочетанной патологией.

Таблица 11 – Клинические проявления вульвовагинальной инфекции в исследуемых группах

Показатель	Основная группа	Контрольная группа
Обильные выделения	22 (55%)	16 (53,3%)
Зуд, жжение	9 (22,5%)	6 (20%)
Неприятный запах выделений	10 (25%)	7 (23,3%)
Дизурические расстройства	5 (12,5%)	4 (13,3%)
Диспареуния	2 (5%)	1 (3,3%)
Бессимптомное течение	10 (25%)	6 (20%)

p – статистически значимые различия ($p < 0,05$)

У 24,3% обследованных одной из основных жалоб помимо увеличения объема влагалищных выделений был неприятный запах их. Данные признаки были характерны для пациенток с диагнозом бактериального вагиноза (70,5%) и

сочетанной формой вульвовагинита (29,4%). Жалобы на дизурические расстройства (учащенное или/и болезненное мочеиспускание, частые обострения цистита) предъявляли 12,9% пациенток обеих групп, что было больше характерно для сочетанной патологии. Диспареуния беспокоила 3-х пациенток (4,3%).

Все указанные жалобы не являлись специфичными, кроме того, 10 (25%) пациенток основной группы и 6 (20%) группы сравнения жалоб не предъявили, что может свидетельствовать о скрытом течении инфекции. Исходя из этого, несмотря на наличие субъективных симптомов, всем пациенткам проводили тщательный осмотр, в результате которого давали оценку влагалищным выделениям, состоянию слизистой вульвы и влагалища.

По полученным данным какие-либо признаки воспалительного процесса (гиперемия, отечность стромы) при влагалищном осмотре были отмечены у 19 обследованных (27%). Более того, у 11 пациенток (15,7%) отмечались характерные признаки цервицита (гиперемия эктоцервикса, повышенная кровоточивость). У части пациенток (5,7%) данные признаки распространялись и на вульву.

Следует уточнить, что по субъективной симптоматике и клиническим проявлениям воспалительного процесса статистически значимого различия между группами не было выявлено, что позволяет провести сравнительный анализ эффективности лечения.

Как говорилось ранее, всем пациенткам проводилось рутинное клинико-лабораторное исследование с помощью микроскопического исследования мазков вагинального секрета, окрашенных метиленовым синим и по Граму, а также культуральное исследование влагалищного отделяемого. В образцах исследовали уровень лейкоцитов, количество и морфологию микробных колоний, наличие «ключевых» клеток, спор и мицелия дрожжеподобных грибов.

У 11 пациенток (15,7%) при анализе мазков на флору были выявлены признаки кандидозной инфекции (обнаружение в поле зрения спор и мицелия дрожжеподобных грибов, сочетающиеся с увеличением количества лейкоцитов более 30 в поле зрения). Однако, у 5 больных (7,1%) с характерными жалобами на

зуд и жжение во влагалище микроскопическое обследование не обнаружило признаков наличия дрожжеподобных грибов. В данном случае при культуральном исследовании секрета слизистой влагалища был выявлен рост *Candida albicans* в количестве 10^2 - 10^4 КОЕ/мл, что показывает необходимость дополнительных культуральных методов обследования у данного контингента больных.

У 9 пациенток (12,9%) культуральное исследование выявило рост ассоциаций бактерий, причем в этих случаях рост лактоморфной флоры был резко занижен или вовсе отсутствовал. Преобладали грамположительные палочки, реже мелкие грам(+) кокки и мелкие грамотрицательные палочки.

Согласно нашим данным, у 17% пациенток в мазках на флору были выявлены так называемые «ключевые» клетки – клетки эпителиальной выстилки влагалища с адсорбированными на них мелкими палочковыми бактериями. Характерно, что у этих пациенток не выявилась повышенная лейкоцитарная реакция (лейкоциты не более 20 в поле зрения). Такая микроскопическая картина присуща бактериальному вагинозу, ассоциированному с *Gardnerella vaginalis* и не характерна для других форм инфекционного процесса или нормоцинозе влагалища.

В результате расширенной кольпоскопии были диагностированы следующие изменения шейки матки, представленные в Таблице 12.

Таблица 12 – Кольпоскопическая картина обследованных пациенток

Кольпоскопическая картина	Основная группа	Контрольная группа
Оригинальный сквамозный эпителий	18 (45%)	16 (53,3%)
Эктопия цилиндрического эпителия	11 (27,5%)	8 (26,7%)
Ацето-белый эпителий	7 (17,5%)	4 (13,3%)
Йод-негативный участок	4 (10%)	2 (6,7%)
Признаки цервицита	16 (40%)	15 (50%)

p – статистически значимые различия ($p < 0,05$)

По результатам жидкостной онкоцитологии у большинства пациенток не обнаружено патологических изменений шейки матки (34,3%), у 30% пациенток обеих групп выявлена картина воспаления (цервицит), косвенные признаки ВПЧ-инфекции выявлены у 15% пациенток основной и у 23,3% пациенток контрольной группы. У 10% больных выявлены атипические клетки неясной этиологии (ASC-US). У 7,1% по результатам исследования поставлен диагноз дисплазии легкой степени (LSIL/CIN I). (Таблица 13).

Таблица 13 – Результаты жидкостной онкоцитологии

Результат	Основная группа	Контрольная группа
NILM (1 тип мазка по классификации Папаниколау)	14 (35%)	10 (33,3%)
NILM, признаки воспаления	12 (30 %)	9 (30%)
NILM, косвенные признаки ВПЧ	6 (15%)	7 (23,3%)
ASC-US	5 (12,5%)	2 (6,7%)
LSIL/CIN I	3 (7,5%)	2 (6,7%)

p – статистически значимые различия (p < 0,05)

Суммируя все вышесказанное, можно сделать вывод, что при воспалительных заболеваниях генитального тракта имеет место различные неспецифические субъективные и клинические проявления, склонность к рецидивированию и хронизации процесса (44,3%), а также сочетание полимикробных ассоциаций и наличие вялотекущих малосимптомных форм, создающих трудности в диагностике и лечении, особенно в предгравидарном периоде. Все это диктует необходимость разработки алгоритма лечения, направленного на ликвидацию пусковых механизмов воспалительного процесса, а также позволяющего активизировать общую и местную защитные системы организма.

3.1.2. Сравнительная эффективность медикаментозного лечения инфекционного вульвовагинита и комплексного применения этиотропных лекарственных препаратов и внутривлагалищной аутолимфоцитотерапии

В представленной работе для терапии инфекционного процесса нижних половых путей в рамках подготовки к процедуре ЭКО у пациенток основной группы наряду с традиционно принятыми схемами лечения, такими как этиотропная антибактериальная и противогрибковая терапия, применялась влагалищная аутолимфоцитотерапия. Тогда как, больные контрольной группы (30 женщин) подтвердились традиционным методам терапии, которая зависела от этиологического фактора развития инфекции. В частности, при выявлении кандидозной инфекции использовался однократный пероральный прием флуконазола (дифлюкан - Pfizer, США; флюкостат – Фармстандарт, Россия) в дозировке 150 мг. Лечение бактериального вагиноза включало использование вагинальных свечей Далацин (克林дамицин) в течении 3-х или 6-ти дней. Для лечения ИППП применяли курс антибактериальной терапии (Вильпрафен /Джозамицин/, Юнидокс /Доксициклин/, Трихопол /Метронидазол/) в соответствующих дозировках в зависимости от инфекционного агента. В качестве восстановительной терапии использовали препараты лакто- и бифидокультур.

После проведенного лечение оценивали клинические критерии восстановления нормобиоценоза: отсутствие у пациенток жалоб и улучшение клинческой картины при осмотре в зеркалах (отсутствие патологических белей и признаков цервицита, равномерный розовый цвет слизистой оболочки).

О нормализации микроскопической картины свидетельствовало преобладание крупной грамположительной палочковой флоры, отсутствие в поле зрения возбудителей и «ключевых» клеток, достаточно низкое присутствие лейкоцитов (до 15 в поле зрения) и эпителиальных клеток. Бактериологическими критериями - отсутствие роста патогенных бактерий, присутствие достаточного количества бифидо- и лактобактерий (10^8 КОЕ). Отсутствие возбудителей ИППП в анализах ПЦР.

Анализ эффективности пройденного лечения проводился по истечении 12-14 дней со дня окончания терапии (первый контроль) и через 28-31 день (второй контроль). Излечение фиксировалось в случае отсутствия жалоб, клинических и лабораторных признаков инфекционного процесса, о положительной динамике процесса свидетельствовало отсутствие субъективной симптоматики, но сохранении лабораторных признаков. Полное отсутствие эффекта от проводимой терапии диагностировали при наличии тех же жалоб или усилении симптомов заболевания.

При оценке полученных результатов первого контрольного исследования мы получили исчезновение клинической симптоматики заболевания у 36 из 40 пациенток основной группы (90%) и у 22 из 30 пациенток группы сравнения (73,3%) (Таблица 14). При этом, 52,5% женщин (n = 21), лечение которых включало в дополнение к традиционной схеме лечения ВАЛТ, уже на 2 процедуре отмечали значительное уменьшение дискомфорта в области гениталий и уменьшение отделяемого из половых путей.

Таблица 14 – Терапевтическая эффективность традиционного лечения вульвовагинальной инфекции и комплексного применения этиотропных лекарственных препаратов и ВАЛТ

Результаты лечения	Первое контрольное обследование (через 10-14 дней)		Второе контрольное обследование (через 28-31 дней)	
	Основная группа	Контрольная группа	Основная группа	Контрольная группа
Излечение	30 (75%)	18 (60%)	37 (92,5%)	23 (76,6%)
Улучшение	6 (15%)	4 (13%)	-	-
Отсутствие эффекта	4 (10%)	8 (26,6%)	3 (7,5%)	7 (23,3%)

p – статистически значимые различия (p<0,05)

По результатам микроскопического анализа вагинальных мазков во время первого контроля признаки какой-либо формы вульвовагинальной инфекции отсутствовали в основной группе у 30 (75%), в сравнительной – у 18 (60%) пациенток. В изучаемых группах эффект от проведенной терапии полностью отсутствовал у 4 (10%) женщин основной группы и 8 (26,6%) контрольной, что привело к назначению повторно курса специфического лечения. Исходя из предоставленных данных следует вывод, что сочетание традиционной терапии с применением аутолимфоцитов достоверно эффективнее только этиотропной терапии. Следует отметить, что в контрольной группе у 3-х пациенток (10%) потребовалось дополнительное назначение противогрибковых средств на фоне антибактериальной терапии из-за развития признаков кандидозного поражения. Кроме того, у 2 (6,7%) пациенток группы контроля при лабораторном исследовании диагностировано бессимптомное носительство грибов рода *Candida*, что также привело к необходимости дополнительного назначения противогрибковых препаратов. Тогда как, комплексное лечение продемонстрировало отсутствие подобных осложнений.

При втором контрольном исследовании из всех пациенток какие либо проявления инфекции было выявлено у 3 (7,5%) пациенток основной группы и у 7 (23,3%) группы сравнения. Заслуживает внимания тот факт, что указанные пациентки страдали рецидивирующим течением вульвовагинальной инфекции и у 66,7% из них была выявлена смешанная форма инфекции.

Таким образом, включение в стандартные схемы этиотропного лечения внутривлагалищную аутолимфоцитотерапию позволило достоверно снизить количество осложнений медикаментозной терапии, а также уменьшить вероятность рецидивирования инфекционного процесса. Наряду с этим, комплексный подход к лечению может быть целесообразен как раз у пациенток с затяжным течением вульвовагинальной инфекции, особенно при смешанных формах.

3.1.3. Сравнительная оценка влияния традиционного лечения и комплексной терапии с использованием аутолимфоцитотерапии на иммунный статус пациенток с инфекцией нижних отделов органов малого таза

Всем пациенткам с воспалительными заболеваниями органов малого таза и вульвовагинальной инфекцией до и после проведенного лечения исследовали показатели иммунного статуса. Оценивалось действие этиотропной терапии и комбинированного лечения (с использованием ВАЛТ) на клеточное и гуморальное звено иммунитета, а также на фагоцитарную активность клеток.

Результаты анализа показателей гуморального звена иммунитета показали, что у 22 (55%) больных основной группы и у 16 (53,3%) контрольной было отмечено повышение иммуноглобулина М на момент установления диагноза воспалительного процесса, тогда как уровень иммуноглобулинов А, G не менялся до и после терапии и находился в пределах референсных значений (Таблица 15). Помимо гиперпродукции IgM, были выявлены такие нарушения клеточного звена иммунной системы, как активация В-лимфоцитов (отмечено увеличение их концентрации) и снижение активности клеток-хелперов (CD3+CD4+), что приводит к нарушению образования антител класса на IgG из IgM. Более того, в исследовании наблюдалось некоторое угнетение синтеза макрофагов и натуральных киллеров (CD3-CD16+56+), что может говорить об усиленной работе защитного звена иммунитета, которое обеспечивает непосредственное удаление инфекционного агента из организма. Следует отметить, что тяжесть выявленных нарушений иммунной системы не зависела от этиологического фактора, но соответствовала характеру течения заболевания (хронизация, затяжное течение, частое рецидивирование).

Таблица 15 - Изменения иммунного статуса у больных с инфекцией органов малого таза на фоне традиционного лечения и комплексного использования этиотропного лечения и ВАЛТ

Показатели		До лечения		После лечения	
Единицы измерения	Норма	Основная группа N=40	Контрольная группа N=30	Основная группа N=40	Контрольная группа N=30
IgA, mg%	70-350	228,2±11,5	239,8±16,1	281,3±18,9	263,5±20,5
IgM, mg%	50-250	278,3±14,2	271,4±12,8	153,4±14,9	256,5±12,4
IgG, mg%	700-2200	1562,5±15,7	1487,3±14,1	1791,7±11,8	1343,3±11,7
Лейкоциты, тыс.	4,3-10	8,9±0,57	8,1±0,69	7,4±0,19	7,3±0,27
Лимфоциты, %	25-40	20,9±2,5	23,1±2,3	21,8±1,6	22,2±1,5
Лимфоциты, abs	1,1-4,0	2,0±0,17	1,9±0,26	1,5±0,29	1,7±0,19
Моноциты, %	2-8	2,6±0,9	2,1±0,5	5,2±1,1	2,2±0,6
Моноциты, abs	0,1-0,8	0,13±0,04	0,11±0,04	0,31±0,05	0,12±0,04
Гранулоциты, %	55-80	53,9±1,5	54,1±0,8	62±1,2	54,8±1,5
Гранулоциты, abs	2,4-8,0	2,2±0,7	2,1±1,4	3,6±0,9	2,2±0,5
T-cell (CD3+), %	60-85	64,1±1,9	63,9±2,3	66,9±1,8	67,1±1,5
T-cell(CD3+), abs	800-2200	1125±30,0	1131±31,6	1338±23,7	1178±28,6
T-help(CD3+CD4+), %	29-60	26,9±2,2	26,9±3,1	39,8±4,1	27,8±1,6
T-help(CD3+CD4+), abs	600-1600	510,1±5,5	518,6±5,5	1226±5,2	605,1±5,8
T-sup(CD3+CD8+), %	11-38	22,3±1,6	23,8±1,2	23,8±1,1	23,2±2,0
T-sup(CD3+CD8+), abs	300-800	429,6±17,3	470,2±12,9	499,7±13,5	492,1±10,7
B-cell(CD19+), %	6-22	24,2±1,1	25,3±0,7	17,8±2,0	22,7±0,6
B-cell(CD19+), abs	100-500	523,5±10,1	521,2±11,8	319,1±8,7	520,2±11,5
NK cell (CD3-CD16+56+), %	5-30	4,6±1,8	3,5±1,3	11,2±1,6	5,9±1,6
NK cell (CD3-CD16+56+), abs	100-600	98,9±9,3	92,2±11,6	347,4±12,2	232,1±11,3
T-NK cell (CD3+CD16+CD56+), %	0-5	3,1±0,6	3,8±0,7	3,4±0,4	3,3±0,5

p – статистически значимые различия (p < 0,05)

По нашим данным лечение только этиотропными препаратами не вызывало снижение уровня иммуноглобулина М. Кроме того, только у 4 пациенток контрольной группы (13,3%) обнаружилось нормализация уровней Т-лимфоцитов

во время второго исследования. У 10% пациенток был отмечен дальнейший рост содержания В-лимфоцитов, что может говорить о тенденции к хронизации процесса.

Комплексное лечение с использованием ВАЛТ в лечении инфекционного процесса сопровождалось снижением уровня IgM, повышением количества NK-клеток, моноцитов и гранулоцитов. Кроме того, в основной группе по завершении терапии наблюдалась нормализация соотношения Т-хелпер\Т-супрессор у 34 (85%) пациенток. Все эти данные говорят об адекватном иммуномодулирующем эффекте.

3.1.4. Клиническая характеристика больных с хроническими воспалительными заболеваниями органов малого таза

Как уже указывалось ранее, воспалительные заболевания репродуктивной системы в той или иной форме встречались у большинства пациенток обеих групп. Причем достаточно часто инфекционный процесс приобретал затяжное течение, в частности с формированием хронического эндометрита. Данная патология выявлена у 21 пациентки: у 11 (27,5%) основной и 10 (33,3%) контрольной группы.

Оценивая жалобы и клиническую картину хронических воспалительных процессов в репродуктивной схеме, мы получили преимущественно малосимптомное их течение и отсутствие специфических проявлений (38,1%) (Таблица 16). 6 (54,5%) больных основной группы и 4 (40%) контрольной группы жаловались на ноющие боли внизу живота, в паху и области кресца, не связанные с циклом. 3 (27,3%) и 5 (50%) больных (по группам, соответственно) страдали кровянистыми выделениями, вне менструации, а также увеличением объема, длительности менструальных выделений, альгодисменореей. Определенная часть пациенток в основной (18,2%) и сравнительной группе (10%) жаловались на ослабление полового влечения и появление болей во время коитуса.

Таблица 16 – Клиническая картина хронических воспалительных заболеваний органов малого таза

Клиническая картина	Основная группа	Контрольная группа
Бессимптомное течение	4 (36,4%)	4 (40%)
Хронические боли	6 (54,5 %)	4 (40%)
Нарушение менструальной функции	3 (27,3%)	5 (50%)
Расстройство половой функции	2 (18,2%)	1 (10%)
Влагалищные выделения	3 (27,3%)	2 (20%)

p – статистически значимые различия ($p < 0,05$)

При бимануальном обследовании на кресле были выявлены предположительные признаки спаечного процесса в органах малого таза у 7 (17,5%) больных основной и у 5 (16,7%) сравнительной группы: тяжесть придатков, ограничение их подвижности. Нередко наблюдались сопутствующие изменения функции секреции – увеличение количества серозных или серозно-слизистых выделений из половых путей (у 3-х и 2-х пациенток в группах соответственно).

Выявление микробного агента у пациенток с воспалительным процессом в органах малого таза проводили с помощью стандартного обследования – анализ методом ПЦР, микроскопический анализ мазков и бактериологическое исследование отделяемого цервикального канала и из заднего свода влагалища.

Таблица 17 – Результаты идентификации микробного агента

Выявленные микроорганизмы	Основная группа	Контрольная группа
Staphylococcus spp.	5 (12,5%)	3 (10%)
Escherichya coli	7 (17,5%)	5 (16,7%)
Enterococcus spp.	3 (7,5%)	2 (6,7%)
Gardnerella vag.	7 (17,5%)	5 (16,7%)
Streptococcus spp.	4 (10%)	3 (10%)

p – статистически значимые различия ($p < 0,05$)

В результате произведенных анализов у пациенток в основной и сравнительной группах были выявлены (Таблица 17) стафилококк – у 5 (12,5%) и 3 (10%), кишечная палочка – у 7 (17,5%) и 5 (16,7%), энтерококки – у 3 (7,5%) и 2 (6,7%), гарднереллы – у 7 (17,5%) и 5 (16,7%), стрептококки – у 4 (10%) и 3 (10%). Результаты ПЦР диагностики указаны выше (таблица 10). При этом, какой-либо возбудитель в качестве моноинфекции встречался достаточно редко, преобладающую роль играли сочетанные формы инфекции. Таким образом, как

показали результаты обследований, условно-патогенная флора имеет большое значение в хронизации воспалительных процессов.

В рамках рутинного обследования все пациентки прошли процедуру ультразвуковой диагностики. Обнаружение таких эхографических признаков, как наличие в эндометрии множественных гиперэхогенных включений и жидкостного содержимого на 5-7 дни цикла расценивали как возможное наличие хронического эндометрита. О воспалительном процессе в области придатков свидетельствовало обнаружение жидкости в трубах, гиперэхогенные включения по контуру яичников, признаки спаек в малом тазу. Косвенные признаки воспалительного процесса в органах малого таза по УЗИ были выявлены у 8 (20%) и 7 (23,3%) пациенток по группам соответственно. Кроме того, у части больных (25% и 36,7% соответственно по группам) отмечался ановуляторный менструальный цикл.

Для верификации диагноза хронического эндометрита производили пайпель-биопсию эндометрия на 8-10 день менструального цикла. Полученный таким образом материал отправлялся на гистологическое исследование. Гистологическими маркерами ХЭ считали присутствие лимфоидных инфильтратов, стромального фиброза, очаговых кровоизлияний, эозинофилия. Диагноз ХЭ в итоге был верифицирован в 87,5% случаев по данным проведенного гистологического исследования.

3.1.5. Сравнительная оценка эффективности традиционной терапии хронических воспалительных заболеваний органов малого таза и комплексного лечения с использованием внутривлагалищной аутолимфоцитотерапии

В рамках работы пациентки контрольной группы подвергались традиционной терапии воспалительных заболеваний, исходя из этиотропного фактора (антибактериальные, противовирусные, противовоспалительные, иммуностимулирующие препараты). Лечение больных основной группы включало этиотропную терапию и ВАЛТ по схеме, указанной выше.

Пациентки основной группы на фоне комплексного лечения с использованием ВАЛТ отметили более быстрое купирование болевых ощущений – у 62,5% пациенток основной группы по сравнению с больными сравнительной группы (Таблица 18). Кроме того, на фоне применения ВАЛТ побочных эффектов зафиксировано не было. По окончании полного курса лечения данная симптоматика исчезла у 87,5% пациенток основной группы. При оценке отдаленных результатов лечения заслуживает внимания отсутствие признаков обострения хронического воспалительного процесса в течение полугода у 35 (87,5%) и 11 (36,6%) пациенток по группам, соответственно.

Таблица 18 – Сравнительный анализ традиционного лечения хронических ВЗОМТ и совместного лечения с использованием ВАЛТ

Результаты проведенной терапии	Основная группа	Контрольная группа
Исчезновение субъективной симптоматики	35 (87,5%)	16 (53,3%)
Нормализация микрофлоры	34 (85%)	17 (56,7%)
Улучшение УЗ-картины ВЗОМТ	35 (75%)	13 (43,3%)
Уменьшение признаков ХЭ при ГС	18 (45%)	9 (30%)

Результаты проведенной терапии	Основная группа	Контрольная группа
Обострения ХВЗОМТ в течение 1 года	5 (12,5%)	19 (63,3%)

p – статистически значимые различия ($p < 0,05$)

При изучении микробной флоры влагалищного отделяемого после курса лечения нормализация микрофлоры произошла у 34 (85%) пациенток основной и у 17 (56,7%) группы сравнения.

По результатам ультразвукового исследования после полного курса лечения положительная динамика (отсутствие гиперэхогенных включений в эндометрии и жидкостного содержимого в полости матки, соответствие толщины и структуры М-эха дню цикла) была отмечена у 35 (75%) пациенток основной и у 13 (43,3%) пациенток контрольной группы.

При контрольной офисной гистероскопии у 18 (45%) больных основной группы с признаками ХЭ наблюдалась положительная эндоскопическая динамика: равномерный розовый цвет слизистой, сосудистая сеть не выражена, толщина соответствует циклу. Данная динамика в группе сравнения наблюдалась у 30% больных.

3.2. Клиническая характеристика пациенток с эндокринными нарушениями

При обследовании всех пациенток, включенных в исследование, было выявлено 7 женщин (10%) с нарушением процессов овуляции и 6 (8,5%) – с недостаточностью лютеиновой фазы цикла (НЛФ). Показатели гормонального фона представлены в Таблице 19, из которой следует, что отсутствие овуляции сопровождалось изменениями соотношения ЛГ\ФСГ (более 2,5 за счет повышения уровня ЛГ), а также относительно низким содержанием эстрадиола (уровень E_2 в среднем составил $93,1 \pm 14,9$ пмоль\мл). Тогда как, содержание тестостерона составило в среднем $0,84 \pm 0,1$ нг\мл (т.е. в пределах нормальных значений, приближаясь, однако, к верхней границе нормы). Также следует отметить достаточно низкий уровень прогестерона – в среднем, $1,2 \pm 0,3$ нг\мл. Женщин с гиперпролактинемией выявлено не было (средний показатель пролактина составил 275 ± 39 мМЕ\л), а также с нарушением функции коры надпочечников (уровень ДГЭА-С в среднем составил $2,3 \pm 0,7$ нг\мл). Средний уровень АМГ в обеих группах составил $2,1 \pm 0,4$ и $2,2 \pm 0,5$ нг/мл соответственно, что свидетельствовало о сохранении овариального резерва у всех обследованных женщин. У пациенток с повышенным индексом ЛГ/ФСГ при УЗ исследовании наблюдалось увеличение объема яичников (в среднем $9 \pm 2,5$ см³), а также мультифолликулярное строение и увеличение стромального компонента.

Таблица 19 – Исходный гормональный профиль пациенток с нарушением процессов овуляции

Гормон	ЛГ мМЕ/мл	ФСГ мМЕ/мл	Прл мМЕ/мл	E_2 пмоль/мл	Прогест. мг/мл	Тест. мг/мл	ДГЭА мг/мл
Норма	$2,2 \pm 1,0$	$1,1 \pm 0,4$	0-650	80-230	3,1-12,6	0,3-1,0	0,7-3,9
Результат	$4,1 \pm 0,6$	$1,0 \pm 0,3$	275 ± 39	$93,1 \pm 14,9$	$1,2 \pm 0,3$	$0,84 \pm 0,1$	$2,3 \pm 0,7$

p – статистически значимые различия ($p < 0,05$)

Всем пациенткам проводилась патогенетическая терапия с использованием гормональных препаратов (Дюфастон, Утрожестан), после чего уровень прогестерона в сыворотке крови повысилось до $3,6 \pm 0,2$ нг\мл. Для стимуляции овуляции использовалась стандартная схема ЭКО с использованием гонадотропинов (Менопур, Пурегон, Гонал-Ф) в индивидуально подобранных дозах. Эффективность терапии оценивали по результатам контрольного исследования крови на гормональный профиль и результатам динамического УЗ исследование (рост фолликулов, толщина эндометрия).

Нормализация длительности и продолжительности менструального цикла на фоне прогестероновой терапии произошла у 17 из 22. Однако, полноценные овуляторные циклы были отмечены только у 5 пациенток, причем изменения носили нестабильный характер.

Таким образом, клинические наблюдения подтвердили возможность лечения пациенток с НЛФ и ановуляторным бесплодием с помощью применения гормональных методов лечения. Применение внутривлагалищной аутолимфоцитотерапии достоверно не привело к нормализации уровня гормонов.

3.3. Результаты экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбриона в исследуемых группах

Следуя поставленным задачам исследования пациенткам основной группы в рамках подготовки к процедуре экстракорпорального оплодотворения, проводился курс интравагинальной аутолимфоцитотерапии по указанной ранее схеме. В результате работы процедура ЭКО была произведена в 68 случаях в обеих группах (в основной группе у 2 пациенток наступила самопроизвольная беременность на этапе подготовки к процедуре).

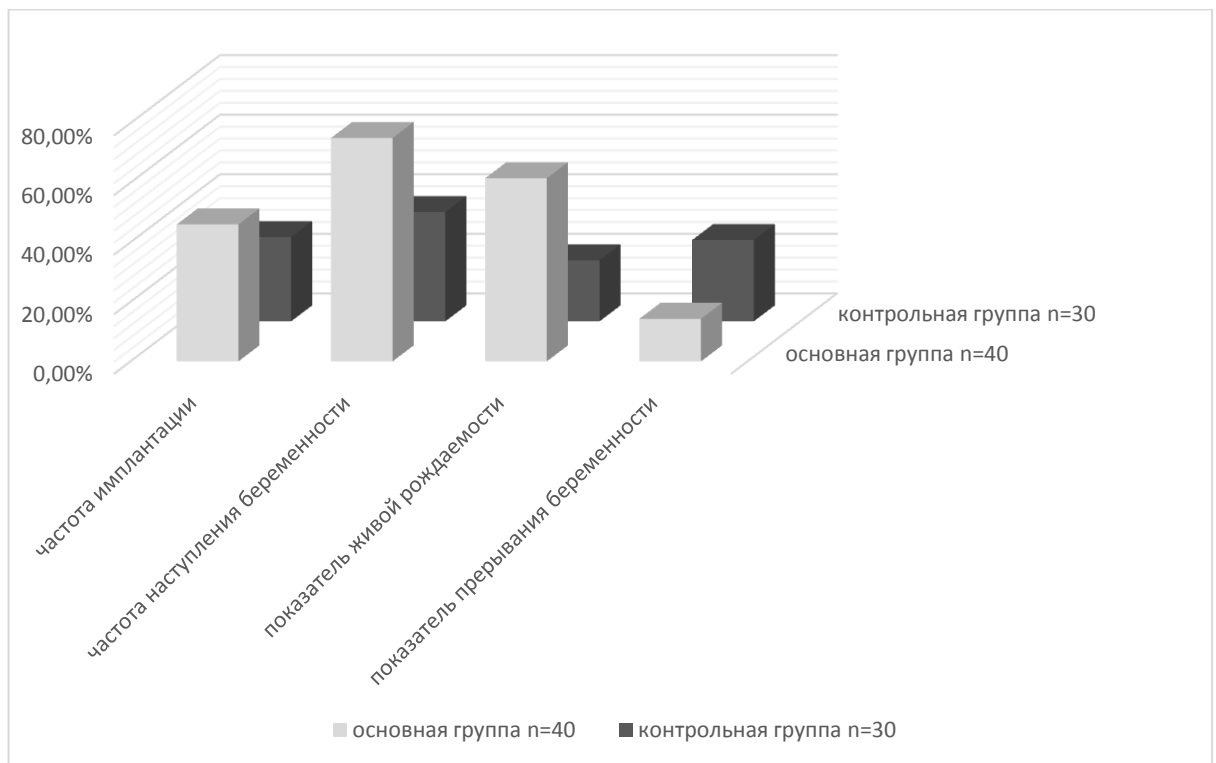
В итоге, в основной группе 38 протоколов ВРТ сопровождалось переносом 63 эмбрионов. Тогда как в группе сравнения программа ЭКО закончилась переносом 46 эмбрионов в 30 случаях.

Анализ частоты успешной имплантации (из расчета на один эмбрион) показал, что в основной группе она достоверно выше, чем в сравнительной (46% против 28,3%), наряду с этим различия между данными показателями оказались статистически значимыми ($p = 0,04$).

Проведенное лечение и процедура ЭКО в основной группе привели к наступлению беременности у 26 пациентки (65%), у троих из них была диагностирована многоплодная беременность (при переносе двух эмбрионов). Обращает внимание тот факт, что в данной группе у двоих пациенток программа ЭКО не была реализована ввиду наступления спонтанной беременности на этапах подготовки к циклу ВРТ. Суммируя данные, получаем, что у 28 пациентки (70%) основной группы лечение закончилось наступлением беременности. В контрольной группе лечение закончилось положительным результатом у 11 пациенток (36,7%), у двоих из них была диагностирована двойня. Исходя из полученных результатов можно сделать вывод, что проведение курса ВАЛТ в основной группе достоверно повысило результат успешного исхода программы ЭКО в основной группе (Рисунок 5).

Большая часть наступивших беременностей в ходе исследования закончилась рождением здорового потомства - в 82,1% случаях (у 24 пациенток основной

группы - 60% и 8 пациенток контрольной - 26,7%). Однако, несмотря на тщательное наблюдение за протеканием беременности и своевременную комплексную сохраняющую терапию у 7 пациенток (у 17,9% из пациенток с наступившей беременностью) пролонгировать беременность не удалось (неразвивающаяся беременность). Таким образом, частота прерывания беременности в 1 триместре в основной группе наблюдалась у 4-х пациенток (в 14,3 % случаях), в контрольной у 3-х пациенток (в 26,7% случаях). Следует подчеркнуть, что прерывания беременности во 2 и 3 триместре в нашем исследовании не наблюдалось.



$p < 0,05$

Рисунок 5 – Результаты лечения пациенток в исследуемых группах

Совокупность полученных результатов говорит о тесной связи между функциональным состоянием системы иммунной защиты и репродуктивной системы, а следовательно, и эффективности циклов ВРТ. Вышеизложенное подчеркивает необходимость модификации алгоритмов обследования пациенток на этапе подготовки к программе ЭКО.

Из сказанного становится очевидным, что изучение и комплексная оценка иммунного статуса и инфекционного профиля пациенток является одним из оптимальных путей улучшения показателей программ ВРТ, а внедрение в клиническую практику ВАЛТ является перспективным методом реализации поставленной задачи. Наряду с этим, влияние и окончательная роль данной методики остается до конца неизученной и требует дальнейших исследований.

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Возрастающая за последнее время проблема бесплодных браков диктует необходимость развития технологии вспомогательных репродуктивных технологий. Известно, что бесплодие супружеских пар детородного возраста встречается в популяции значительно чаще, чем предполагалось ранее, и в среднем оно составляет 15 %. При этом наиболее распространенным является женское бесплодие [71]. В нашей стране из-за снижения рождаемости в последние годы данная проблема приобретает особую актуальность. Использование ВРТ у человека, в частности ЭКО и ПЭ, вносит весомый вклад в решение этой проблемы для некоторой части бесплодных пар. К тому же эффективность программы ЭКО и ПЭ, составляющая 6,4-24,0%, вызывает справедливую неудовлетворенность репродуктологов, что приводит к необходимости к дальнейшему детальному обследованию женщин с бесплодием, сопряженным с воспалительными процессами внутренних половых органов, как наиболее частой причины нарушений в репродуктивной сфере.

Неэффективность проведения программы во многом определяется контингентом женщин с длительным консервативным лечением, имеющих в анамнезе неоднократные полостные операции. В некоторых случаях причины неудачного проведения ЭКО и ПЭ так и остаются неизвестными. Отрицательные результаты оказывают психологическое воздействие, что нередко приводит к депрессивным состояниям у пары в целом, а многократное использование стимуляции суперовуляции приводит к преждевременному истощению яичников. Неоднократное выскабливание матки в процессе выяснения причин бесплодия сопровождается нарушением чувствительности рецепторного аппарата, патологией эндометрия, развитием хронического воспалительного процесса. Во многих случаях медикаментозная коррекция нарушений репродуктивной функции (гомеостаза, воспаления и др.) не оказывает должного эффекта, а побочные эффекты на организм от лекарственной терапии только.

ЭКО – дорогостоящее, сложное и не совсем безопасное для женского здоровья вмешательство, из чего следует вывод, что данная методика, а также подготовка к ней, должна постоянно совершенствоваться с целью повышения эффективности и снижения медикаментозной нагрузки на организм женщины. Все это приводит к необходимости проведения подготовки супружеской пары к программе ЭКО и ПЭ. Тем более, что наиболее частыми причинами бесплодия и неудачных попыток ЭКО и ПЭ являются воспалительные заболевания женских репродуктивных органов [76].

Несмотря на широкий спектр исследований, диагностики и лечения в области воспалительных заболеваний женских половых органов, распространенность их в популяции не имеет тенденции к снижению (30-65%) [39; 78; 79; 167]. Современные особенности течения воспалительного процесса, начиная с бесконтрольного массивного и не всегда обоснованного антибактериального и иммуностимулирующего лечения, а также с изменением структуры этиологического агента (преобладание условно патогенных форм и полимикробных ассоциаций), и заканчивая снижением общей реактивности организма, обуславливают тенденцию к росту заболеваемости [81; 109; 217]. В результате образуется «порочный круг» в системе гипоталамус-гипофиз-яичники-матка на фоне нарушений в иммунной системе.

Исходя из источников, протекающее бессимптомно нарушение микроценоза влагалища нередко сопряжено с рядом акушерских и гинекологических осложнений [81]. Более того, некоторые авторы продвигают теорию о том, что состояние влагалищной микрофлоры может служить своеобразным «диагностическим зеркалом», которое отражает состояние верхних отделов репродуктивной системы [45].

Как указывалось ранее, в нашем исследовании более половины женщин обеих групп имели в анамнезе инфекционные заболевания гениталий или дисбиозы влагалища. Возможно, это и послужило ведущей причиной неэффективных попыток ЭКО и ПЭ у этих пациенток. Это дает основание полагать, что инфекции

(ассоциированные как со специфической, так и неспецифической флорой) нижних отделов генитального тракта сопряжены с высоким риском неудач циклов ВРТ.

Некоторые источники сообщают о высоком содержании летучих жирных кислот во влагалищной среде при бактериальном вагинозе, что действует угнетающе на различные звенья местной иммунной защиты [9].

Исходя из данных литературы, только в 10-15% случаях перенесенные эмбрионы успешно имплантируются в цикле ЭКО [59]. Решающим звеном в процессах имплантации является взаимодействие эмбриона с рецепторами эндометрия. Основной пул клеток эндометрия представлен лейкоцитами (8-35%), Т-клетками, макрофагами и большими гранулярными лимфоцитами [154]. Сложные механизмы взаимодействий эмбриона и эндометрия, включающие развитие иммунной толерантности к антигенам плода, инвазия трофобласта, находятся под контролем различных факторов, в частности медиаторов межклеточного взаимодействия (цитокины и хемокины) [142]. При нормальных процессах имплантации преобладают противовоспалительные цитокины – интерлейкины (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10). Во взаимоотношениях эмбриона и матери также вовлечены эмбриональный ИЛ-1 и его рецепторы в слизистой матки [148]. ИЛ-8 участвует в формировании рецепторного аппарата эндометрия. Преобладают противовоспалительные Т-хелперы 2-го типа.

При активности патогенов в полости матки клиническая картина может отсутствовать, что не исключает развития воспалительных процессов. Активированные чужеродными антигенами тканевые макрофаги экспрессируют медиаторы воспаления (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8), что приводит к активации Т-хелперов 1-го типа. В итоге происходит нарушение в соотношении цитокинов, активация провоспалительных реакций Т-клеток, что препятствует развитию иммунологической толерантности, и как следствие нормальной имплантации.

Такие манипуляции во время прохождения пациенткой процедуры ЭКО, как пункция фолликулов через задний свод влагалища и трансцервикальный перенос эмбрионов, повышают шансы восходящего инфицирования верхних отделов репродуктивной системы. Особенно это касается процедуры подсадки эмбрионов

путем их перемещения с помощью катетера по цервикальному каналу, слизистая пробка которого может содержать достаточно большое количество условно-патогенных и патогенных микроорганизмов, которые могут быть занесены в полость матки. Эндометрий должен одновременно нейтрализовать эту колонизацию и адекватно ответить на имплантацию эмбрионов, что и является причиной более низкой частоты успешности ЭКО у женщин с дисбиозом влагалища. Все вышесказанное диктует необходимость комплексного и тщательного обследования и подготовки пациенток к программам ВРТ [46].

Стандартная этиотропная терапия направлена не только на элиминацию чужеродного агента, на также может оказывать повреждающее действие на окружающие ткани, а также может привести к аллергизации организма и снижению системного иммунного ответа. Исходя из совокупности указанных фактов, становится очевидным необходимость разработки и внедрения в практическую медицину новых методов лечения, которые затронули бы все звенья этиопатогенеза инфекционного процесса. Одним из таких методов может стать экстракорпоральная фармакотерапия и в частности – аутолимфоцитотерапия.

В нашей работе оценивалась успешность ЭКО и ПЭ у женщин с предварительной подготовкой перед проведением процедуры – ВАЛТ (основная группа, n = 40) и без нее (контрольная группа, n = 30). При выявлении инфекционного агента пациентки обеих групп получали классическое этиотропное лечение в соответствии с его видом. Кроме того, у пациенток основной группы лечение включало курс аутолимфоцитотерапии.

Согласно полученным данным, преобладающими клиническими формами выявленной в процессе подготовки к ЭКО инфекции оказались кандидозный вульвовагинит (22,86%) и бактериальный вагиноз (35,7%). Из ИППП наиболее часто встречалась условно-патогенная флора (уреаплазма, гарднерелла) и вирусная инфекция (ВПЧ, ВПГ). Доля сочетанных форм инфекции составила 40%.

Анализируя возраст пациенток обеих групп мы получили, что группы были сопоставимы по данному критерию и средний возраст составил 30-37 лет, что соответствует данным литературы о важности возрастного критерия в качестве фактора риска инфекционных процессов среди сексуально активных женщин [185].

По социальному статусу достоверных различий в сравниваемых группах не отмечено. Более того, социальное положение практически всех пациенток можно было оценить как достаточно высокое, все пациентки имели высшее образование, проходили регулярное наблюдение и обследование у врача-гинеколога по месту жительства. Исходя из вышесказанного, в нашей работе такой фактор риска воспалительных заболеваний, как низкий социальный статус, отсутствовал.

Среди факторов, определяющих риск развития воспалительных заболеваний, помимо возраста и социально-экономического уровня, особо выделяются ранний сексуальный дебют, количество половых партнеров, выбор метода контрацепции [65]. В представленной работе средний возраст начала половой жизни составил $18 \pm 0,5$ лет и у подавляющего большинства женщин (96,4%) был один половой партнер в течение нескольких лет. Количество аборт в обеих группах составило 11,4% (8 пациенток обеих групп).

Обобщая вышеизложенное, можно сделать вывод о достаточно низком уровне риска инфекционных процессов в исследуемых группах.

Интересным оказался тот факт, что пациентки с выявленными инфекциями отдавали предпочтение гормональным методам контрацепции и ВМС (54,3%). Данный факт свидетельствует о непосредственной зависимости между отказом от барьерных методов контрацепции и распространенностью ВЗОМТ.

Сравнительная оценка соматической патологии не выявило различий в сравниваемых группах. Обращает на себя внимание достаточно высокий уровень встречаемости перенесенных заболеваний воспалительного характера – 92% (острые инфекции и обострение хронических заболеваний), что приводило к приему большого количества антибактериальных препаратов. В результате такого масштабного и не всегда необходимого лечения, обладающего

иммунодепрессивным действием и приводящим к дисбиотическим нарушениям, нередко развивается бактериальный вагиноз и/или грибковое поражение слизистых, а также затяжное или хроническое течение ВЗОМТ [65; 167].

Для выявления и сравнительной оценки клинических проявлений инфекций половой сферы все пациентки подвергались рутинной диагностике. Анализ данных показал, что достаточно часто инфекционный процесс приобретал затяжное рецидивирующее течение (44,3% пациенток обеих групп), а также имело место неспецифичность клинической картины ИППП, что требовало дальнейшего лабораторного обследования. Рецидивирующее течение заболеваний наиболее часто было связано с вирусными патогенами (ВПГ, ВПЧ, ЦМВ) в 42,85% случаях, что может быть обусловлено длительным состоянием дисбиоза, и как следствием нарушением местной иммунной защиты [167; 172].

Сравнительная оценка субъективных жалоб и клинической картины вульвовагинальной инфекции не выявила различий между сравниваемыми группами, что позволяет достоверно оценить эффективность лечения в обеих группах.

Очевидно, что для успешного лечения острой инфекции и исключения отдаленных последствий и хронизации процесса необходима не только своевременная диагностика и выявление этиологического фактора, но и проведение рациональной адекватной терапии. Особенно необходимо наиболее тщательно подходить к выбору антибактериальных препаратов. Так, например, по данным многих авторов в 50% случаях антибиотики назначаются необоснованно [70], что приводит к накоплению побочных эффектов и развитию резистентности микробных штаммов, вследствие чего дисбиотические изменения приобретают рецидивирующий характер течения с формированием явных нарушений иммунного статуса (особенно, Т-лимфоцитарного ответа) [52; 58]. Из указанных данных следует, что терапия вульвовагинальной инфекции должна быть комплексной, включающей в себя воздействием на микро- и макроорганизм.

Современные источники литературы свидетельствуют о повышенном интересе клиницистов в области экстракорпоральной фармакотерапии (ЭФТ).

Расширенное воздействие, от антибактериального эффекта до иммунологической коррекции в целом, определяет привлекательность этих методов в лечении ВЗОМТ [33; 70]. Опубликованы сообщения о хорошей эффективности использования технологии "направленного транспорта" антибактериальных препаратов в культурах эритроцитов при терапии воспалительных процессов разной локализации и выраженности [8; 12; 13; 49]. Данный вид лечения не только позволяет уменьшить дозу вводимого препарата, но и сокращает сроки выведения лекарства из организма. Экстракорпоральная иммунотерапия (ЭИФТ), как отдельное направление ЭФТ, сейчас представляет особый интерес клиницистов, в связи с увеличением распространенности воспалительных заболеваний и развитием резистентности микробных агентов к антибиотикам. Согласно данным, ЭИФТ обеспечивает полноценную дифференцировку и созревание иммунокомпетентных клеток, инициирует начало антителообразования и потенцирует выработку иммуноглобулинов, а также приводит в норму соотношение субпопуляций Т-лимфоцитов [8; 51].

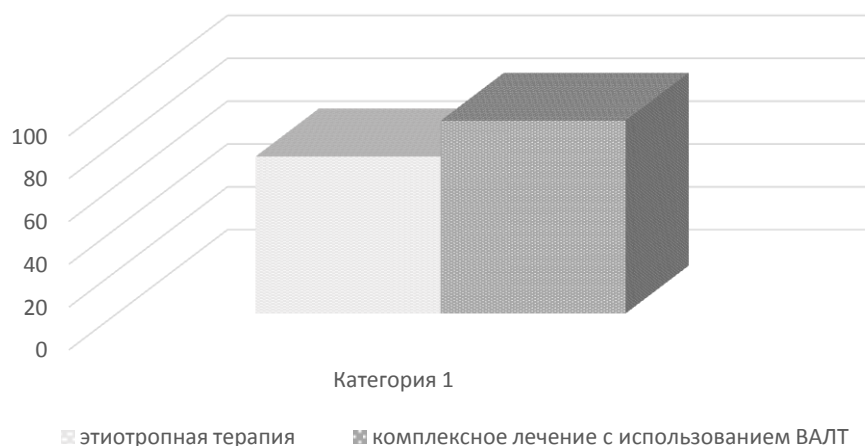
В литературе сообщается об успешном использовании метода ЭИФТ при лечении острого метроэндометрита, как осложнения после кесарева сечения, путем введения в кровеносное русло аутологичных активированных иммунокомпетентных клеток [33]. Применение данной технологии представляет перспективное направление, особенно методика актуальна в отношении труднодоступных очагов инфекции. В литературе встречаются данные об эффективном лечении урогенитальных инфекций [52], а также лечении привычного невынашивания беременности с помощью лимфоцитотерапии – ЛИТ [90]. Дальнейшие исследования в данной области имеют весьма перспективное значение для мировой практики в целом.

Однако, клинический опыт использования ЭИФТ в лечении инфекций женской репродуктивной системы достаточно скудный. Для изучения целесообразности применения внутривлагалищной аутолимфоцитотерапии - ВАЛТ (как отдельного направления ЭИФТ) в комплексной терапии различных форм и вариантов течения урогенитальной инфекции в нашей работе произведено

сравнительное изучение эффективности этиотропных медикаментозных методов лечения и их комбинации с ВАЛТ.

Выбор лекарственных препаратов производился в соответствии с выявленным этиотропным агентом и с учетом международных рекомендаций: для лечения грибковой инфекции использовался прием системных и местных антифунгальных препаратов (однократный прием флуконазола 150 мг, влагалищные свечи с антимикотиками согласно выявленной чувствительности к препаратам), пациенткам с бактериальным вагинозом назначались 3-х и 6-дневные курсы крема или свечей Далацин, при выявленных ВЗОМТ прописывался курс системных антибактериальных препаратов широкого спектра действия (Джозамицин, Доксициклин, Метронидазол) и при необходимости противовирусное лечение. В основной группе традиционное лечение сочеталось с курсом местной внутривлагалищной аутолимфоцитотерапии.

После первого контрольного обследования эффективность курса лечения с применением ВАЛТ составила 90%, что оказалось выше аналогичных показателей традиционной этиотропной терапии – 73,3%. При этом, субъективное улучшение состояния в представленных группах отмечено в одинаковые сроки (на 6-7 сутки от начала терапии) (Рисунок 6).



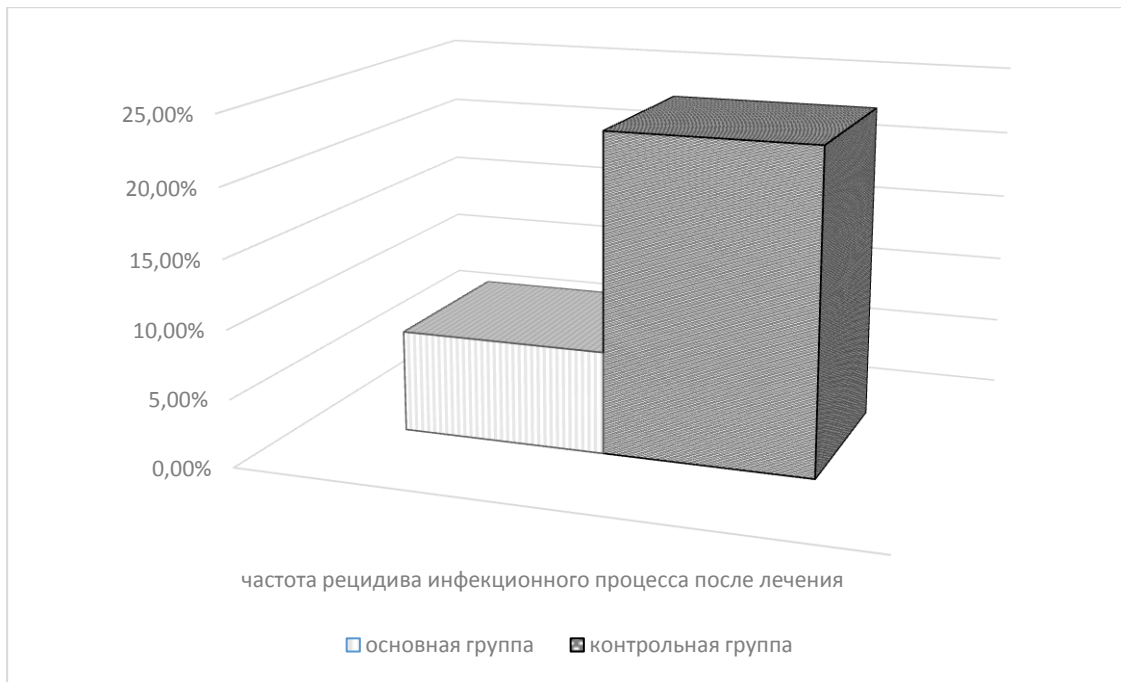
$p < 0,05$

Рисунок 6 – Сравнительная оценка эффективности комплексного лечения и традиционной терапии по результатам первого контроля

По результатам первого контрольного обследования выявилась следующая закономерность – у пациенток, получающих только традиционную терапию (у 10% в контрольной группе), нередко развивалась кандидозная инфекция или происходила смена микробного агента с установлением резистентности к применяемым препаратам, что приводило к необходимости повторных курсов лечения, а следовательно усилением общей лекарственной нагрузки на организм. Это относится не только к системным, но и к местным препаратам [45; 214], длительное использование которых может приводить к нарушению нормобиоза влагалища [122].

Комплексная терапия с использованием ВАЛТ в основной группе продемонстрировала отсутствие побочных реакций в виде вторичного развития кандидозного вульвовагинита или развития резистентности к проведенной терапии. Данный факт может быть обусловлен иммунокорректирующим действием и усилением местных защитных систем слизистой влагалища, что способствует длительному восстановлению микроценоза и резистентности к инфекционным агентам [40].

Как показали результаты второго контрольного исследования, включение ВАЛТ в схему лечения позволило уменьшить количество рецидивов инфекционных процессов. Так, например, в основной группе количество рецидивов составило 7,5%, против 23,3% в группе контроля (Рисунок 7), что согласуется с данными литературы (18-32%) [214]. Данная ситуация может быть обусловлена тем, что этиотропная терапия не влияет на восстановление местных защитных сил.



$p < 0,05$

Рисунок 7 – Частота рецидивов в основной и контрольной группах

Из некоторых источников литературы следует, что развитие бактериального вагиноза сопряжено с угнетением местных защитных иммунных механизмов, что может и способствовать развитию рецидивов заболевания [23; 122]. Формируется так называемый «порочный круг», в котором каждое обострение инфекции ведет к нарушению иммунной защиты, что в свою очередь способствует затяжному течению и рецидивированию. По данным авторов, кандидозная инфекция приводит к развитию нарушений в иммунном статусе не только на системном, но и на местном уровне [122]. Кроме того, у ряда пациенток была выявлена микстинфекция, что значительно в большей степени приводило к дисбалансу иммунных защитных систем и развитию рецидивирующих форм заболевания. По результатам нашей работы было установлено достоверно более низкое количество рецидивов в основной группе (с использованием комбинированной терапии), что вероятнее всего связано с положительным иммуномодулирующим действием ВАЛТ на местном и системном уровне.

Для комплексной оценки роли проводимой терапии в коррекции иммунных нарушений в рамках работы было произведено детальное изучение иммунного

статуса. На данный момент в литературе нет однозначной точки зрения на роль системы иммунитета в патогенезе вульвовагинитов. С одной стороны, приоритетную роль в развитии дисбиоза влагалища или вульвовагинита отводят временной недостаточности местного Т-лимфоцитарного ответа. Наряду с этим, другие авторы свидетельствуют о нарушении системы иммуноглобулинов, угнетении фагоцитарной активности и снижении функциональной активности Т-клеток [214; 217].

Анализируя показатели гуморального звена иммунитета пациенток с вульвовагинальной инфекцией, мы получили что концентрация Ig A и G находилась в пределах референсных значений как до, так и после проведенного лечения в обеих группах. Следует отметить, что на момент постановки диагноза воспалительного процесса у преобладающего большинства пациенток выявилось повышение уровня иммуноглобулина M, что говорит о первичном низкоспецифичном ответе макроорганизма на чужеродный агент. Этот процесс сопровождался следующими изменениями клеточного звена иммунной системы - усиленная активация В-лимфоцитов, снижение активности Т-хелперов, способствующих переключению выработки антител класса IgG вместо IgM. Также имело место некоторое уменьшение численности NK-клеток, а также клеток моноцитарно-макрофагального ряда, что говорит об активации защитного звена иммунитета, отвечающего за элиминацию патогена из организма.

Необходимо отметить, что согласно полученным данным степень выраженности нарушений клеточного звена иммунитета, напрямую зависела от характера течения вульвовагинальной инфекции и в основном не зависела от выявленного инфекционного агента. Например, в настоящем исследовании у 55% пациенток основной группы с рецидивирующим течением инфекции и у 53,3% группы контроля наблюдались описанные изменения иммунного гомеостаза.

Исходя из указанных данных, можно сделать вывод, что большую роль в течении инфекций репродуктивных органов играет системный иммунитет, в частности его клеточное звено. Роль местных иммунных ответов требует дальнейшего изучения.

Повторный анализ иммуннограммы у пациенток, подвергшихся традиционному лечению, показало отсутствие в динамике уровней иммуноглобулина М и соотношения субпопуляций Т-лимфоцитов, а также в 10% случаев произошел дальнейший рост содержания В-лимфоцитов, что может свидетельствовать о склонности к затяжному течению процесса.

Комплексное использование традиционной терапии и ВАЛТ для лечения урогенитальных инфекций продемонстрировало иммунокорректирующее действие данного вида терапии, проявляющееся в снижении концентрации иммуноглобулинов класса М, нормализации соотношения хелперов и супрессоров, умеренном повышении уровня НК-клеток, моноцитов и гранулоцитов через 28-31 день после окончания лечения более чем у половины пациенток основной группы. Следовательно, комплексное применение ВАЛТ обеспечивает необходимый иммуномодулирующий эффект при коррекции стойких дисбиозах влагалища.

Таким образом, сравнительная оценка традиционной терапии и комплексного использования лекарственных препаратов и ВАЛТ показывает, что в первом случае лечение оправдано при единичных или редких эпизодах вульвовагинальной инфекции, что также является и экономически выгодным. Однако, при рецидивирующем течении вульвовагинитов и микстинфекциях, сопровождающихся нарушением иммунной защиты организма на разных уровнях, использование ВАЛТ в комплексной терапии можно оценить, как целесообразное и патогенетически обоснованное.

Определенная роль в развитии бесплодия и неудачных попытках ЭКО принадлежит хроническим воспалительным заболеваниям органов малого таза. Кроме того, по данным разных авторов [58; 65] распространенность данной патологии встречается достаточно часто (до 66,3%). Хронические ВЗОМТ сопряжены с нарушениями в гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системе и репродуктивных органов, возрастает число оперативных вмешательств и частота эктопической беременности, в результате чего происходит резкое снижение репродуктивной функции – у 30-40% женщин развивается бесплодие, у 30% -

невынашивание беременности [131; 161]. Данная патология приводит к увеличению рисков по развитию доброкачественных гиперпластических процессов и злокачественных новообразований матки [159]. Хроническое рецидивирующее течение инфекционного процесса сопровождается развитием вторичного иммунодефицитного состояния, что приводит к угнетению общей сопротивляемости организма, и формированию хронической формы ДВС-синдрома [198].

Современные достижения медицинской науки и техники позволили использовать комплексное лечение хронических воспалительных процессов в репродуктивной сфере женщин, что обеспечивает положительный эффект почти в 71-87% случаях [18; 19]. Несмотря на это, используемые схемы лечения зачастую не дают должного эффекта из-за высокой частоты рецидивов и большого количества аллергических и побочных реакций [214].

Как указывалось, выше сейчас особый интерес представляет новое направление лечения – ЭИФТ, и, в частности, ВАЛТ. Для оценки целесообразности и патогенетической обоснованности комплексного подхода к терапии больных с хроническими ВЗОМТ в настоящем исследовании проведен сравнительный анализ данных видов терапии.

В рамках диссертационного исследования было выявлено 21 пациент с признаками хронического воспалительного процесса (хронический эндометрит): 11 пациенток из основной группы, лечение которых совмещало этиотропное лечение (антибактериальные препараты широкого спектра действия) и ВАЛТ – 7-10 процедур на курс; 10 пациенток из контрольной группы, получавших только этиотропную терапию. Опрос данного контингента пациенток выявил достаточно высокий уровень нарушений менструальной функции (аномальные маточные кровотечения или наоборот скудные длительные менструации) – у 12,9% обследуемых, что соответствует данным многих авторов. Данный факт может объясняться нарушением агрегации тромбоцитов, изменением проницаемости сосудистой стенки эндометрия и угнетением сократительной деятельности матки в условиях длительного вялотекущего воспалительного процесса [53].

Изучение используемых пациентками методов контрацепции подтверждает влияние этого фактора на развитие воспалительных заболеваний женских половых органов. Большинство пациенток в нашем исследовании предпочитали гормональные виды контрацепции – 40%, ВМС выбрало 14,3% обследуемых, не применяли контрацепции 20% пациенток. Данные литературы подтверждают связь между использованием внутриматочных средств контрацепции и частотой развития инфекционных процессов (в 30-42,9% случаев) [26; 34]. Кроме того, у 86% пациенток при исследовании бактериологических мазков с удаленной спирали были выявлены те или иные микробные ассоциации [65; 73].

Без сомнений тенденция к увеличению распространенности хронических воспалительных заболеваний органов малого таза связана высокими показателями оперативных вмешательств по поводу внутриматочной патологии. Ациклических маточных кровотечений, абортов, осложненных родов и неразвивающихся беременностей. В представленной работе указанные показатели распределились следующим образом - 37,5% в основной группе и 43,3% в контрольной, что соответствует данным литературы [4; 73; 82].

Согласно нашим данным из перенесенных гинекологических заболеваний преобладали воспалительные процессы в органах малого таза (более 50% в обеих группах), вульвовагиниты (53,3%) и инфекции, передаваемые половым путем (15%). Следует отметить, что большинство пациенток (около 90%) уже проходили лечение, включающее как системные, так и местные препараты с антибактериальной активностью, но результат не превышал 21,2%. Такой результат может быть сопряжен с неадекватными дозировками препаратов, а также нежеланием комплексного подхода к лечению. Более того, была выявлена непереносимость лекарственных средств – у 11,3% пациенток основной и 13,3% контрольной группы, а также развитие аллергических реакций (у 8,3% всех пациенток). Указанные факты являются отражением течения инфекционных процессов в органах малого таза в современных условиях, что соответствует данным литературы [18; 19].

Таким образом, очевиден факт необходимости внедрения в общеклиническую практику альтернативных методов терапии. Сравнительный анализ результатов лечения в обеих группах основывался на клинической картине, местных признаках воспалительного процесса, изменениях в иммунном статусе и улучшении функции репродукции.

Анализируя особенности течения хронических воспалительных реакций в органах малого таза, можно сделать вывод о вялотекущем малосимптомном характере, что согласуется с опубликованными данными [73; 74; 78]. В подавляющем большинстве поводом обращения к врачу послужили жалобы на изменения характера менструаций (38,1%). Хронический воспалительный процесс в эндометрии, по всей видимости, провоцировал морфофункциональные изменения, что приводило к неполноценной трансформации, десквамации и регенерации функционального слоя слизистой оболочки матки и как следствие к маточному кровотечению. Кроме того, на фоне длительного воспалительного процесса происходят изменения и в самой системе гемостаза, например, нарушение агрегационных свойств тромбоцитов. Хронические ВЗОМТ, как указывалось выше, часто сопровождаются нарушением в системе гипоталамус-гипофиз-яичники, что приводит к дисбалансу стероидных гормонов и, как следствие, к патологии функции эндометрия [77; 78]. Кроме того, перенесенные воспалительные процессы затрагивают маточные трубы, что приводит к их деформации и появлению спаек и, как следствие, к частичной или полной непроходимости [21; 209].

Следует обратить внимание на высокую частоту нарушения репродуктивной функции у пациенток с хроническими воспалительными процессами в малом тазу. Так, например, бесплодие было установлено у 55,7% и 44,3% пациенток по группам соответственно, невынашивания беременности в 33,3 и 30,7% случаев в группе пациенток с хроническими ВЗОМТ, что соответствует таковому по данным многих авторов [35; 80; 82]. Расстройства генеративной функции определяются как нарушениями функций эндометрия (включая структурные и

рецепторные повреждения), а также нарушением овуляции и недостаточности лютеиновой фазы [161].

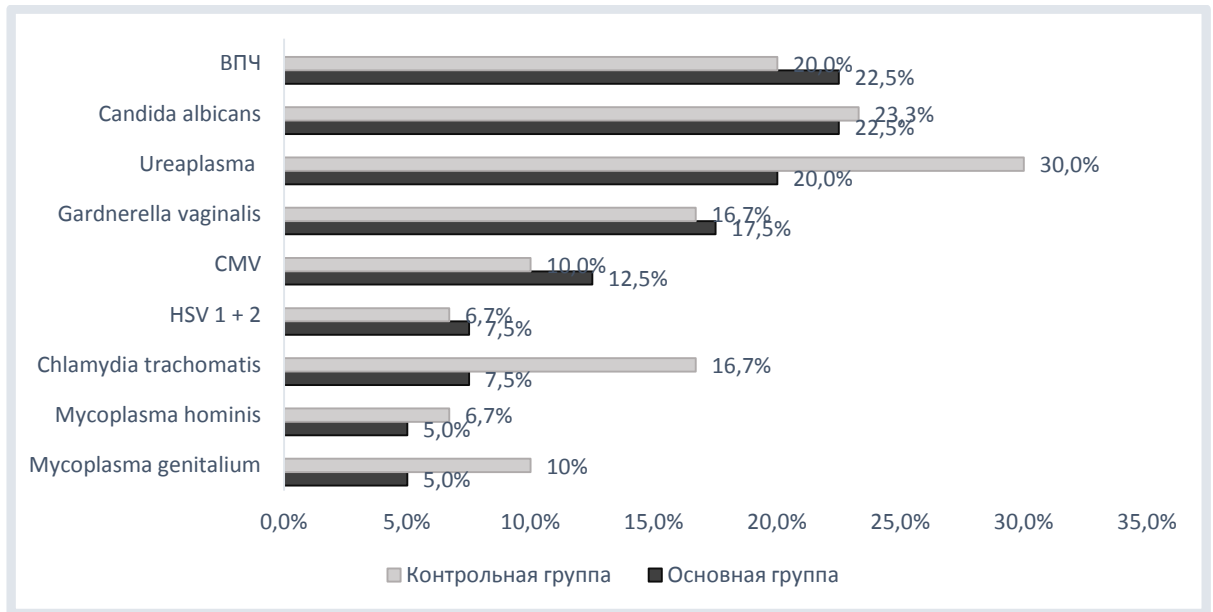
Исследование микробных ассоциаций материала из полости матки и цервикального канала женщин с хроническим течением воспалительных процессов репродуктивной системы выявило преимущественно полимикробный состав (*e.coli* обнаружена у 17,1% пациенток, *staphylococcus sp.* – у 11,4%, *enterococcus sp.* – у 7,1%, *streptococcus* гр.В – у 7%). По современным данным значимую роль в развитии воспалительных заболеваний органов малого таза занимает условно-патогенные организмы, что соответствует нашим данным [9; 26; 88; 203]. Кроме того, в материале из полости матки отмечается достаточно высокий уровень гарднерелл – 20-60% [5], что согласуется с полученными данными (17,1%). Причем, в развитии заболевания имеет значение не просто наличие перечисленных микроорганизмов, а их количество, что приводит к дисбиозу и снижению местной резистентности.

Более того, по результатам работы среди пациенток с ХВЗОМТ было выявлено достаточно большое количество носителей микоплазм (17,2%) и уреаплазм (28,6%), что согласуется с данными эпидемиологических исследований (6-30%). Наряду с этим, степень патогенности данных инфекций до сих пор остается дискуссионным. Исследования последних лет, показывают, что патогенность микоплазм и уреаплазм реализуется при достижении ими достаточного уровня роста и диссеминации, а также играет значение вирулентность конкретного штамма. Нередко встречается «здоровое» носительство микоплазменных микроорганизмов, не вызывающее клинической симптоматики. В отдельных случаях они приводят к вялотекущему инфекционному процессу, который обостряется и может перейти в хроническую форму под влиянием различных стрессовых факторов. К провоцирующим факторам относятся: сопутствующая ко-инфекция, нарушения в синтезе гормонов, беременность и роды, изменения в системе иммунитета и интерфероновом статусе [25; 38]. Кроме того, изолированная микоплазменная инфекция

встречается достаточно редко - в 12–18% случаев, тогда как в сочетании с другим патогеном – в 82–88%, особенно часто с хламидиями – в 25–30% случаев.

В 27,1% случаев в качестве инфекционного агента выделен абсолютный патоген – хламидия [69; 223]. Инфекции мочеполовой сферы, ассоциированные с хламидиями, встречаются достаточно часто, особенно у пациентов с хроническим рецидивирующим течением воспалительного процесса, у 57% женщин, страдающих бесплодием, у 87% женщин с привычным невынашиванием беременности, у 83% женщин с неудачными попытками ЭКО в анамнезе. Более того, учитывая недостаточную надежность имеющихся методов диагностики хламидиоза, реальные цифры могут оказаться выше. Инфекция, вызванная хламидией, приводит к нарушению клеточного (активация Т-хелперов) и гуморального звеньев иммунной системы, приводя к образованию иммуноглобулинов А, М, G. Особого внимания требует то факт, что хламидии из-за некорректного лечения способны трансформироваться в L-формы и преобразовывать свою антигенную структуру, что намного затрудняет их дальнейшее обнаружение и подбор терапии [27; 209].

В 20% случаях хронического воспалительного процесса в качестве единственного патогена был выявлен вирус простого герпеса человека, что согласуется с современными представлениями о важной роли вирусной инфекции в развитии патологии репродуктивной системы (у 28% пациенток с ХЭ обнаруживается моновирусная инфекция, у 56% она сочетается с бактериями) [140]. Такая ситуация может объясняться достаточно частым приемом антибактериальных и глюкокортикоидных препаратов в анамнезе, что повлекло за собой развитие дисбиоза и угнетение системы иммунитета (Рисунок 8).



$p < 0,05$

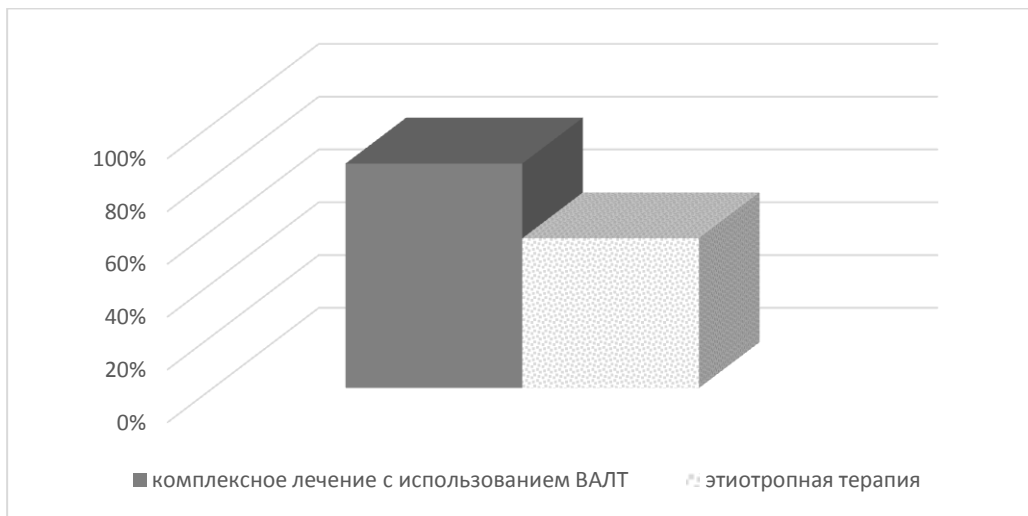
Рисунок 8 – Инфекционный профиль пациенток обеих групп

Следует указать, что у 18,3% обследованных пациенток выделить микробного агента не удалось. Сам патоген запускает начальные процессы воспаления, в дальнейшем формируется «порочный круг» из некорректных адаптационных реакций организма, результатом чего является хронизация процесса воспаления. Таким образом, только антибактериальная терапия ХВЗОМТ может не оказать должного эффекта из-за уже отсутствующего инфекционного агента, а привести к еще большему напряжению иммунной системы и срыву адаптационных механизмов.

Сравнивая эффективность традиционной терапии ВЗОМТ и комплексного лечения с использованием технологии ВАЛТ, можно наглядно продемонстрировать ряд преимуществ последнего. Например, у пациенток основной группы отмечалось более быстрое исчезновение клинических проявлений воспалительного процесса по сравнению с группой сравнения.

При обследовании по окончании лечения нормализация микробиоценоза влагалища выявлено у 85% женщин, получавших комплексную терапию, и у 56,7% пациенток, проходивших только этиотропное лечение. Таким образом, с

позиции микробиологических критериев излеченности эффективность комплексного метода выше (Рисунок 9).



$p < 0,05$

Рисунок 9 – Эффективность комплексной и этиотропной терапии по результатам микробиологического исследования

Одним из критериев оценки эффективности лечения воспалительных заболеваний женской репродуктивной системы явились результаты УЗИ. На ультразвуковом контроле через несколько недель после завершения курса лечения положительная динамика наблюдалась у 75% пациенток с ВЗОМТ основной группы и у 43,3% сравнительной. Полученные данные подтверждают более высокую эффективность комбинированного лечения. Это можно объяснить выраженностью вторичных полисистемных нарушений при хроническом течении инфекции, замедляющих процессы восстановления, а также недостаточным эффективным воздействием этиотропных препаратов на гомеостаз организма.

Важно указать, что у пациенток в репродуктивном возрасте с хроническими ВЗОМТ достаточно часто данная патология сопровождается гипофункцией яичников, что ведет к недостаточной продукции половых гормонов и, как следствие, к ановуляции, недостаточности лютеиновой фазы цикла (НЛФ), поликистозному строению яичников и гиперпластическим процессам в эндометрии [34; 65; 73; 167; 198]. Среди гормональных нарушений в гинекологии

достаточно часто встречается такая патология как НЛФ (от 30 до 47%), так и хроническая ановуляция (от 16 до 50%) [30; 43; 59]. Учитывая, что современные гормональные препараты (рилизинг-гормоны, антагонисты дофамина, антиэстрогены) позволяют достигнуть полноценной овуляции в 70-85% случаев [30; 97], все они имеют побочные эффекты, а качество полученных таким образом яйцеклеток еще не до конца изучено. Поэтому в последние годы особенно актуальна разработка новых, более физиологичных для женского организма методов гормональной коррекции и стимуляции овуляторных процессов.

В научных трудах практически отсутствуют сведения о непосредственном влиянии аутолимфоцитотерапии на стероидогенез. В нашей работе также не было отмечено влияния данного вида лечения на изменение концентрации гормонов в сыворотке крови. Не исключено, что аутолимфоцитотерапия влияет на функцию яичников опосредовано через нормализацию иммунологического гомеостаза на системном уровне, что требует дальнейшего изучения.

Одним из ключевых патогенетических звеньев в развитии хронического воспалительного заболевания является нарушение механизмов иммунной защиты [19; 53; 58; 167]. Исходя из этого факта, современное лечение воспалительных заболеваний различной этиологии включает помимо этиотропных препаратов иммуномодуляторы [48; 60]. Однако, действие их на организм и отдаленные последствия не до конца изучены.

Одной из задач настоящего исследования было оценить влияние традиционных методов лечения с использованием только этиотропной терапии и комплексного лечения с использованием ВАЛТ на показатели иммунного статуса.

Сравнительный анализ проводился по трем звеньям иммунной системы: фагоцитарному, клеточному и гуморальному. При первичном исследовании показателей иммунной системы у пациенток с хроническим вариантом течения воспалительного заболевания органов малого таза не было отмечено повышения уровня лейкоцитов в крови и изменения относительного или абсолютного количества нейтрофилов. Однако, при изучении их фагоцитарной активности было отмечено снижение бактерицидной и поглотительной функции, что не

противоречит проведенным ранее исследованиям [11], в которых отмечалось подобное влияние на активность нейтрофилов при длительно текущем воспалительном процессе.

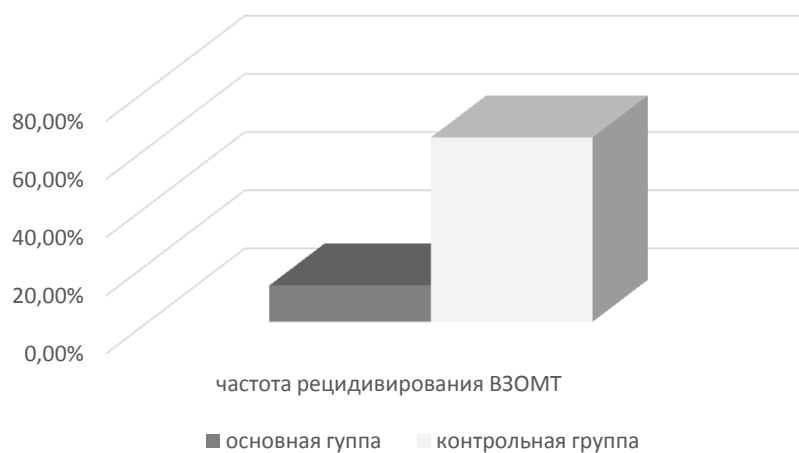
Анализ показателей клеточного звена иммунитета выявил повышение относительного и абсолютного уровня лимфоцитов, а также выраженный дисбаланс субпопуляций Т-клеток. В частности, отмечено уменьшение абсолютного и относительного количества Т-лимфоцитов, смещения иммунорегуляторного индекса за счет преобладания Т-хелперов, а также повышенное содержание нулевых лимфоцитов. Последнее объясняется как стимуляцией лимфопоэза, так и задержкой созревания лимфоцитов. Данное явление наиболее характерно для вялотекущих воспалительных процессов, при которых в длительно существующий очаг инфламации мигрируют дифференцированные Т- и В-лимфоциты, а незрелые формы циркулируют в системном кровотоке [51; 200].

По результатам исследования у большинства пациенток не было отмечено реакции Т-лимфоцитов на воспаление, что, очевидно, связано было с инактивацией мембранных рецепторов продуктами жизнедеятельности бактерий, циркулирующими иммунными комплексами и др. По некоторым данным может иметь место врожденная предрасположенность к хронизации инфекционного процесса за счет генетического задетерминированного снижения содержания Т-лимфоцитов [7].

Дальнейшее изучение иммунного статуса женщин с сочетанием хронического воспалительного процесса в каких-либо отделах репродуктивной системы и бесплодием выявило некоторое снижение абсолютного и относительного количества В-лимфоцитов, что может свидетельствовать как об истощении запасов данных клеток, так и о рецепторной инактивации продуктами иммунных комплексов или микробными метаболитами. У половины пациенток с ХВЗОМТ (51,7%) была выявлена относительная гипоиммуноглобулинемия, которая, по-видимому, сопряжена со снижением содержания и угнетением функциональной активности В-лимфоцитов.

В результате терапии у 85% пациенток основной группы лечение с использованием активированных аутолимфоцитов привело к активации клеточного звена иммунитета, снижению количества иммуноглобулинов М, стимуляции фагоцитарной функции нейтрофилов. Определить преимущественное иммуномодулирующее воздействие на определенное звено иммунитета представляется проблематичным. Очевидно, комплексное влияние активированных лимфоцитов на защитные силы организма в целом за счет стимуляции процессов, запускающих каскад клеточных и гуморальных иммунных реакций. Это становится особенно важным у пациенток с хроническими инфекционными процессами, т.е. в условиях угнетения иммунной системы.

Сравнительный анализ отдаленных результатов лечения выявил преимущество комплексного применения аутолимфоцитотерапии в лечении ВЗОМТ перед традиционными методами. Так, например, у 87,5% пациенток основной группы в течение полугода не было выявлено признаков обострения и рецидивирования инфекционного процесса, тогда как этот показатель в группе сравнения составил 36,6%. Данные результаты можно объяснить полисистемным влиянием аутолимфоцитотерапии на организм, что привело к улучшению сопротивляемости организма к инфекционным агентам (Рисунок 10).



$p < 0,05$

Рисунок 10 – Частота рецидивирования ВЗОМТ у пациенток обеих групп после проведенного лечения

Общеизвестно, что антибактериальный препарат оказывает бактерицидный эффект не только на конкретный патоген в очаге инфекции, но и на представителей нормальной микрофлоры, подавляя тем самым местную резистентность слизистых оболочек и поддерживая рост и распространение антибиотикорезистентных штаммов, приводя впоследствии к развитию гнойно-септических осложнений. Таким образом, в некоторых случаях во время курса лечения требуется микробиологический мониторинг со своевременной коррекцией этиотропного препарата [68], что приводит к назначению нескольких антибактериальных средств, суммируя тем самым и их побочные эффекты.

Исходя из вышесказанного вопрос эффективности терапии инфекций женской репродуктивной сферы приобретает особую актуальность. Решению данной задачи посвящено много исследований, предлагая использование комбинаций разных антимикробных препаратов, а также так дополняя их лекарственными средствами других групп (иммуномодуляторы, ферменты и др.).

В свете последних данных иммунная система человека объединяет в себе тесно интегрированные механизмы, регулирующие процессы поддержания гомеостаза в организме [35]. Инфекционный процесс – это классический пример заболевания с вовлечением иммунной системы и сопровождающееся развитием вторичного иммунодефицита в следствии истощения ее ресурсов и дисфункции ее звеньев. Кроме того, в условиях бесконтрольного, а иногда и необоснованного назначения антибактериальных препаратов, произошло формирование новых резистентных штаммов, появление полимикробных и вирусно–бактериальных ассоциаций, стойкое снижение нормобиофлоры, суммирование и усиление различных побочных эффектов этиотропной терапии [70; 215].

Все перечисленное диктует необходимость включения иммуномодулирующих средств в схему лечения воспалительных процессов в женских репродуктивных органах.

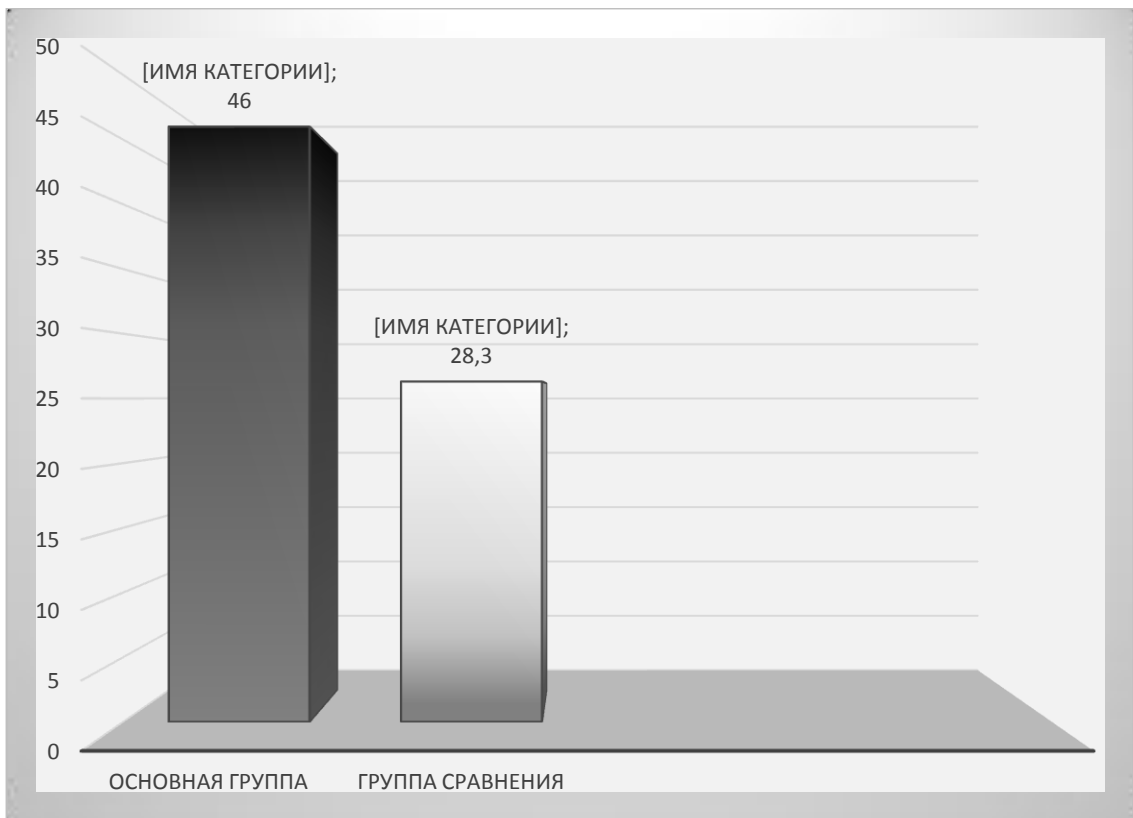
Таким образом, этиопатогенетическим обоснованием применения аутолимфоцитотерапии и, в частности, ВАЛТ является его широкий спектр действия на различные звенья инфекционного процесса: прямое воздействие на

патоген, противовоспалительное влияние, изменение метаболической активности и мобилизация механизмов репарации, нормализация показателей иммунного статуса. Данная методика абсолютно безопасна, без выведенных побочных эффектов и аллергических реакций. Таким образом, можно сделать вывод об обоснованном использовании ВАЛТ в комплексном лечении ВЗОМТ и сопутствующих нарушений менструальной и репродуктивной функций.

В зарубежной литературе достаточно часто встречаются такие термины как «пациенты с привычным выкидышем» или «пациенты с плохим прогнозом». Все они характеризуют женщин с неоднократным невынашиванием беременности, в том числе и после многократных попыток ЭКО, трудно поддающиеся препаратам стимуляции овуляции и гормональной коррекции. Именно у такой категории женщин методы иммунокоррекции могут дать лучшие результаты, чем традиционные методики [115; 184]. В нашей работе исследование проводилось именно на данном контингенте больных, которым планировалось проведение лечения бесплодия с помощью ВРТ. Причем лечение путем ЭКО в анамнезе было зафиксировано у 31 пациентки (77,5%) основной группы, 2 и более неудачных попыток выявлено у 25 (62,5%) из них; в контрольной группе повторные попытки ЭКО были у 20 женщин (66,6%), из них 2 и более неудачных попыток у 12 (40%). В рамках исследования на подготовительном этапе все пациентки в основной группе в соответствии с изложенной выше схемой прошли курс ВАЛТ. Стимуляцию овуляции всем пациенткам производили согласно стандартным протоколам ЭКО и ПЭ. Процедуру ВАЛТ заканчивали за неделю до стимуляции овуляции. В результате лечения программа ЭКО реализована в 68 случаях в обеих группах: 38 протоколов в основной группе завершились переносом в полость матки 63 эмбрионов, в группе сравнения - 46 эмбрионов в 30-ти реализованных программах ЭКО. Все эмбрионы отвечали критериям хорошего качества, достоверных различий в качестве и количестве перенесенных эмбрионов между сравниваемыми группами не было.

При анализе успешности наступления имплантации в расчете на один эмбрион мы получили следующие данные: в основной группе она составила 46%, в группе

сравнения – 28,3% (различия между данными показателями оказались статистически значимыми ($p = 0,04$) (Рисунок 11).



$p < 0,05$

Рисунок 11 – Частота имплантации в программе ЭКО из расчета на один эмбрион в исследуемых группах

Как указывалось выше, в результате проводимых манипуляций и протокола ЭКО беременность наступила у 26 пациентки (65%) основной группы, у троих из них в результате переноса 2-х эмбрионов была диагностирована двойня. В группе контроля положительный результат программы ВРТ получен у 11 пациенток (36,7%), причем у двоих из них наступила многоплодная беременность (двойня). Из полученных нами результатов следует вывод, что включение в схему лечения бесплодия методики ВАЛТ привело к достоверно лучшему результату ($p < 0,05$). Обращает на себя тот факт, что в основной группе пациенток на фоне подготовке к ЭКО и проведении комплексного лечения, включающего ВАЛТ, у 2-х пациенток наступила самопроизвольная беременность, закончившаяся рождением

здоровых детей на сроке 37 и 39,5 недель. Возможно, комплексный подход к обследованию и лечению данных пациенток привел к нормализации гомеостаза организма, улучшению имплантации, спонтанной овуляции, а также условий для вынашивания плода.

Большинство наступивших беременностей обеих групп (всего у 32 пациенток - 82,1%) закончилось своевременными родами, у 7 пациенток (17,9%) несмотря на проводимую терапию, сохранить беременность не удалось. В итоге, частота прерывания беременности в 1 триместре в основной группе наблюдалась у 4-х пациенток (в 14,3 % случаях), в контрольной у 3-х пациенток (в 26,7% случаях). Следует подчеркнуть, что прерывания беременности во 2 и 3 триместре в нашем исследовании не наблюдалось. Предоставленные результаты также могут свидетельствовать о благоприятном влиянии ВАЛТ на вынашивание беременности. Возможно, данный механизм связан с долгосрочным подавлением воспалительных процессов в слизистой оболочке матки, что обеспечивает полноценную имплантацию эмбриона, а также достаточную рецепторную активность эндометрия.

Действие аутолимфоцитов, активированных иммунопрепаратами, на эндометрий и влияние их на имплантацию до конца не изучено. Возможно, активированные лимфоциты вызывают в эндометрии благоприятные провоспалительные реакции, облегчающие имплантацию эмбриона. Так в некоторых работах было показано благоприятное действие активированных хорионическим гонадотропином человека мононуклеаров на эндометрий путем стимуляции производства интерлейкина-8, повышение которого отмечается у женщин на 4-5 неделях гестации [125]. Важная роль хемокинов, включая интерлейкин-8, в имплантации эмбриона была отмечена в ряде других работ [116]. В своих работах Nakayama и Fujiwara продемонстрировали, что хемокины регулируют инвазию ворсин трофобласта у человека [178]. Можно предположить, что аутолимфоциты вызывают некоторые «благоприятные воспалительные» реакции в эндометрии, благоприятствуя имплантации эмбриона. Тем не менее наша работа не дает четкого представления о влиянии процедуры ВАЛТ на

процессы имплантации эмбриона. Следовательно, этот вопрос должен изучаться дальше для совершенствования протоколов ЭКО. Так же есть сообщения, что активированные лимфоциты могут выделять протеазы. Различные протеазы и их ингибиторы производятся в эндометрии человека в секреторной фазе и, предполагается, что они регулируют функцию эндометрия [125]. Эти протеазы могут менять функцию и структуру молекул экспрессированных на поверхностных клетках эндометрия, повышая тем самым восприимчивость эндометрия к различным воздействиям, в том числе и к имплантации.

Таким образом, комплексное ведение пациенток, включенных в программу ЭКО, пациенток с неоднократными попытками ЭКО в анамнезе, повышает эффективность процедуры, а также улучшает прогноз вынашивания беременности. Т.к. ВАЛТ лишена побочных реакций, технически не сложна в проведении, то может широко использоваться в стандартном цикле лечения бесплодия, включая внутриматочную инсеминацию. Хотя точный механизм действия данной процедуры требует дальнейшего изучения, ВАЛТ может стать эффективным методом для лечения пациентов с бесплодием.

ВЫВОДЫ

1. Совместное использование традиционных методов лечения воспалительных заболеваний женских половых органов и внутривлагалищной аутолимфоцитотерапии приводило к достоверному улучшению фагоцитарной функции нейтрофилов и нормализации иммунного гомеостаза у 85% пациенток.

2. Применение внутривлагалищной аутолимфоцитотерапии на этапе подготовки пациенток с бесплодием к ЭКО и ПЭ позволило достоверно повысить эффективность производимой манипуляции в 1,5 раза и улучшить прогноз вынашивания наступившей беременности.

3. Включение внутривлагалищной аутолимфоцитотерапии в курс лечения воспалительных заболеваний органов малого таза и вульвовагинитов различной этиологии позволяет достоверно улучшить исходы терапии. В результате комплексного подхода к лечению пациенток основной группы с использованием ВАЛТ полного излечения удалось добиться в 92,5% случаев.

4. При использовании процедуры ВАЛТ не было зафиксировано побочных реакций и негативных воздействий на организм, причем комплексное лечение воспалительных заболеваний органов малого таза позволило существенно снизить количество и дозировки этиотропных препаратов, избегая развития резистентности и аллергических реакций.

5. Методика ВАЛТ в качестве подготовительного этапа к программам ВРТ может рекомендоваться в первую очередь пациенткам с ВЗОМТ в анамнезе, а также пациенткам с неоднократными попытками ЭКО. ВАЛТ может использоваться как самостоятельный метод при лечении пациенток с бесплодием (за исключением трубно-перитонеального и мужского фактора).

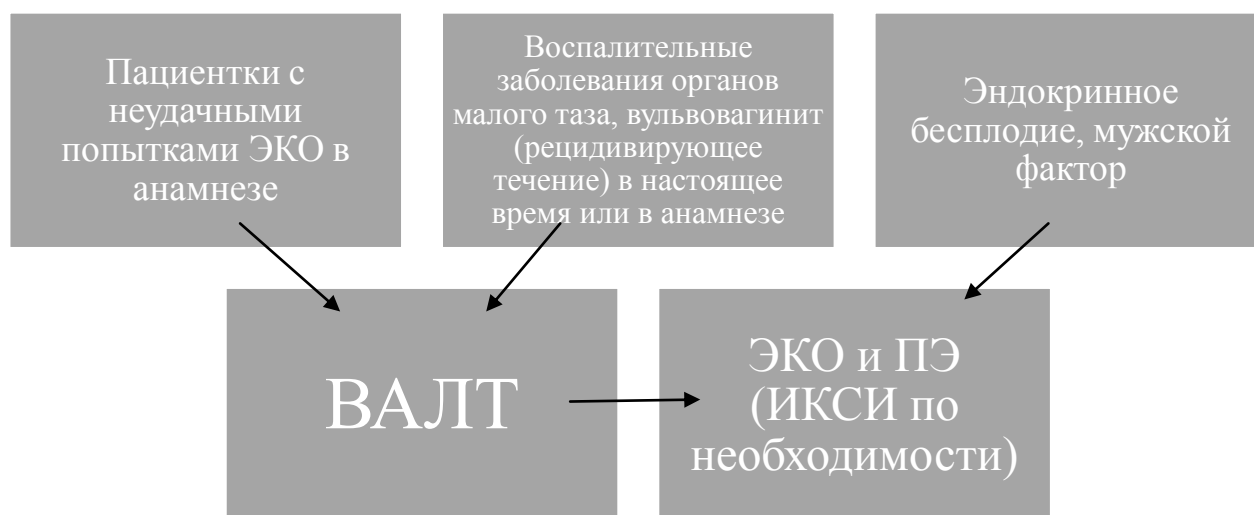
6. Предложенный метод лечения бесплодия позволил оптимизировать программы вспомогательных репродуктивных технологий, в частности ЭКО и ПЭ, для пациенток с неоднократными неудачными попытками ЭКО в анамнезе.

7. Комплексный подход с использованием ВАЛТ к лечению пациенток с хроническим и рецидивирующим характером течения воспалительных

заболеваний органов малого таза в сравнении с традиционной терапией характеризовалось снижением в 2,5 раза частоты обострений воспалительного процесса.

8. Результаты полученных исследований позволили нам модифицировать алгоритмы ведения пациенток с различными формами бесплодия.

Алгоритм ведения пациенток с бесплодием



ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При подготовке к программе ЭКО и ПЭ пациенткам, особенно перенесшим ВЗОМТ в анамнезе или страдающими рецидивирующими вульвовагинитами, а также пациенткам с неудачными попытками ВРТ, рекомендуется наряду с медикаментозным этиотропным лечением применение процедуры ВАЛТ: вагинальное введение лимфоцитов крови пациентки, активированных *in vitro* иммунофаном или другим иммуномодулятором по разработанной нами схеме.
2. Пациенткам с рецидивирующим течением урогенитальных инфекций, страдающим хроническими воспалительными заболеваниями органов малого таза, рекомендуется комплексное использование этиотропного лечения и процедуры ВАЛТ по указанной схеме. Количество процедур устанавливается индивидуально.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

а-ГнРГ	агонисты гонадотропинрилизинг-гормонов
АСАТ	антиспермальные антитела
АФА	антифосфолипидные антитела
ВАЛТ	внутривлагалищная аутолимфоцитотерапия
ВЗОМТ	воспалительные заболевания органов малого таза
ВИЧ	вирус иммунодефицита человека
ВМС	внутриматочная система
ВОЗ	всемирная организация здравоохранения
ВПГ	вирус простого герпеса
ВПЧ	вирус папилломы человека
ВРТ	вспомогательные репродуктивные технологии
ВС	вагинальный секрет
ГСГ	гистеросальпингография
ДГЭА	дигидроэпиандростендион
ИКК	иммунокомпетентные клетки
ИКСИ	интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида
ИППП	инфекции, передающиеся половым путем
ИФН	интерферон
КОК	комбинированные оральные контрацептивы
ЛГ	лютеинизирующий гормон
ЛИТ	лимфоцитоиммунотерапия
ММР	матриксные металлопротеиназы
мРНК	матричная РНК
НЛФ	недостаточность лютеиновой фазы
НТ	направленный транспорт
ПГД	преимплантационная генетическая диагностика
ПЦР	полимеразно-цепная реакция
ПЭ	перенос эмбрионов

ТФР	трансформирующий фактор роста
УЗИ	ультразвуковое исследование
ФСГ	фолликулостимулирующий гормон
ХЭ	хронический эндометрит
ЦМВ	цитомегаловирус
ЦНС	центральная нервная система
ЦОГ	циклооксигеназа
чХГ	человеческий хорионический гонадотропин
ЭИФТ	экстракорпоральная иммунофармакотерапия
ЭКО	экстракорпоральное оплодотворение
ЭФТ	экстракорпоральная фармакотерапия
ЭЦМ	экстрацеллюлярный матрикс
ASC-US	атипические сквамозные клетки неясного значения
CIN	цервикальная интраэпителиальная неоплазия
CSF	колониестимулирующий фактор роста
EGF	эпидермальный фактор роста
FISH	флюоресцентная <i>in situ</i> гибридизация
HSIL	интраэпителиальное поражение тяжелой степени
HLA	главный комплекс гистосовместимости
HB-EGF	гепарин-связывающий эпидермальный фактор роста
IGF	инсулиноподобный фактор роста
IgG	иммуноглобулин G
IgM	иммуноглобулин M
IL/ИЛ	интерлейкин
LIF	лейкемия-ингибирующий фактор
LSIL	интраэпителиальное поражение слабой степени
MALT	ассоциированная со слизистыми лимфоидная ткань
MESA	микроэпидидимальная аспирация сперматозоидов
MUC	муцин
NK	натуральные киллерные клетки

PESA	чрескожная эпидидимальная аспирация сперматозоидов
PGF	плацентарный фактор роста
PGT	переносчик простагландинов
SCA	скафферин
sIgA	секреторный иммуноглобулин А
SUZI	субзональная инъекция сперматозоида
TESA	аспирация сперматозоидов из яичка
Th	Т-хелпер
TIMP	тканевые ингибиторы матриксных металлопротеиназ
TNF	опухоль-некротизирующий фактор
VEGF	сосудисто-эндотелиальный фактор роста

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адамян Л.В., Сухих Г.Т. Технологии XXI века в гинекологии // Пробл репрод – 2008 - №5-12 (спец. выпуск).
2. Айламазян Э.К. Ко-культивирование эмбриона человека с эндометрием: оптимизация экстракорпорального оплодотворения // Журнал акушерства и женских болезней. — 2012 — Т. LXI, вып. 4. — С. 16–22
3. Андропова Н.В., Зарецкая Н.В., Ходжаева З.С., Доронина О.А. Роль предимплантационной генетической диагностики в снижении риска репродуктивных потерь у носителей сбалансированных хромосомных перестроек // Акушерство и Гинекология – 2013 - №1 – С.15-18
4. Базина М.И., Сыромятникова С.А., Егорова А.Т., Кириченко А.К., Хоржевский В.А. Прегестационная иммуноморфологическая оценка эндометрия и обоснование терапии у женщин с нарушением репродуктивной функции // Акушерство и гинекология – 2013 - №10 – С.46-50
5. Байрамова Г. Р. Современные возможности диагностики и лечения бактериального вагиноза // CONSILIUM medicum – 2012 - Т. 14, № 6.-С.44-47
6. Байрамова Г.Р. Оценка эффективности комплексной терапии больных с хроническим рецидивирующим вульвовагинальным кандидозом // Российский вестник акушера-гинеколога – 2011 - Т.11, № 2 - С.86-89
7. Бессмертная В.С. Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика эндометрия при бесплодии: автореферат диссертации кандидата мед. наук: 14.00.15 // М. - 2009. – С.28
8. Благов Д.А. Экстракорпоральная фармакотерапия и малоинвазивные технологии в комплексном лечении панкреонекроза // автореф. дис. канд. мед. наук: Ярославль, 2005.

9. Бондаренко К.Р., Озолия Л.А., Бондаренко В.М. Патогенетические аспекты дисбиоза влагалища и современные возможности его коррекции. // Акушерство и гинекология – 2014 - №8 – С. 127-132
10. Бурлеев В. А., Кузмичев Л. Н., Щетинина Н. С. и др. Состояние молекулярного имплантационного окна: роль в исходах ЭКО (обзор литературы) // Проблемы репродукции – 2009 - № 6 - С. 24–27
11. Велиева Э.Э., Смольникова В.Ю., Кузьмичев Л.Н. Роль иммуногенетического обследования в программе экстракорпорального оплодотворения (обзор литературы) // Российский медицинский журнал - 2009 - №6. - С.47 – 50
12. Ветров В.В., Ахмеджанова З.М., Дудниченко Т.А. Экстракорпоральная фармакотерапия антибиотиками у родильниц с проявлениями гнойно-септических осложнений // Акушерство и гинекология – 2012 - №5- С.18-21
13. Генинг Т.П., Белозерова Л.А. Эритроцитарные носители в направленном транспорте лекарств в гепатологии. // Ульяновск: УлГУ, 2006г.
14. Глинкина Ж.И. Диагностика и профилактика врожденных и наследственных заболеваний при вспомогательных репродуктивных технологиях. // автореф. дис. док. биол. наук: М., 2008.
15. Гнипова В. В. Оптимизация патогенетической терапии у женщин с привычным невынашиванием беременности I триместра на основании исследования состояния эндометрия: автореф. дис. канд. мед. наук: 14.00.01. М., 2003.
16. Говалло В.И., Сидельникова В.М. Иммунизация беременных женщин аллогенными лимфоцитами мужа как метод профилактики самопроизвольных выкидышей // Жур. Акушерство и гинекология – 1983 - №2 – С.25-26.

17. Грузнов Г.А. Регионарная клеточно-ассоциированная антибактериальная терапия при гнойно-некротических осложнениях диабетической стопы: Автореф. дисс. канд. мед. наук. Саранск, 2009
18. Довлетханова Э.Р., Абакарова П.Р. Возможности комплексного лечения хронических цервицитов // Акушерство и гинекология – 2012 - №4-1 – С.83-86.
19. Додова Е.Г., Аполихина И.А., Горбунова Е.А., Бородина Е.А. Комплексное лечение воспалительных заболеваний нижних отделов генитального тракта у женщин // Акушерство и гинекология – 2015 - №6 – С.129-135
20. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология // М: Медицина 2003, С.603.
21. Дубинская Е.Д., Гаспаров А.С., Бабичева И.А. Бесплодие и спаечный процесс в малом тазу: отдаленные результаты лечения // Акушерство и гинекология – 2013 - №7 – С.40-44
22. Дюжева Е.В. Гормональная подготовка эндометрия у пациенток с неэффективными попытками ЭКО в анамнезе: автореферат диссертации кандидата мед. наук. // М. – 2010 - С.19.
23. Захарова Т.В., Волков В.Г. Коррекция нарушений вагинальной микрофлоры при бактериальных вагинозах и неспецифических вагинитах // Акушерство и гинекология – 2010 - №5 – С.102-106
24. Здановский В. М., Буравченко Н. В. Результаты применения вспомогательных репродуктивных технологий у бесплодных пациенток с патологией эндометрия // Российский вестник акушера-гинеколога – 2010 - № 4 - С. 39–42.
25. Карапетян Т.Э., Кречетова Л.В., Зиганшина М.М., Ванько Л.В. Содержание цитокинов в отделяемом цервикального канала у беременных с бактериальным вагинозом // Акушерство и гинекология – 2011 - №5 – С.39-44

26. Караулов А.В., Юдина Е.А., Конопля А.А. Местный иммунитет при хроническом сальпингоофорите: коррекция лонгидазой // Рос Иммунологический Журнал – 2008 - №2:11 – С.24-26.
27. Кисина В.И., Андреева И.В., Стецюк О.У. Лечение хламидийной инфекции в гинекологии и акушерстве: обзор современных зарубежных и российских рекомендаций // Акушерство и гинекология – 2012 - №4-1 – С.91-98
28. Киясов И. А., Хузиханов Ф. В. Современные тенденции заболеваемости инфекциями, передающимися половым путем, и пути ее профилактики. // Успехи современного естествознания – 2015 - № 2 – С.51-55
29. Концепция демографической политики Российской Федерации на период до 2025 года, утвержденная Указом Президента Российской Федерации от 9 октября 2007 г. N 1351 "Об утверждении Концепции демографической политики Российской Федерации на период до 2025 года".
30. Корнеева И.Е. Современная концепция диагностики и лечения бесплодия в браке. Автореф. дис. ... докт. мед. наук. – М., 2003.
31. Корсак В.С., Исакова Э.В., Васильева О.Е. Эндометриоз и ВРТ (обзор литературы) // Проблемы репродукции – 2006 - N 3 - С.41-46.
32. Костючек И.Н., Никитин С.В., Клещев М.А. Гистологические и молекулярные маркеры эндометрита при бесплодии // Проблемы репродукции: III Международный конгресс по репродуктивной медицине. – М., 2009. – С. 282.
33. Костюченко А.Л. Эфферентная терапия.- СПб.: Фолиант, 2000. – 432с.
34. Котиков А.Р. Патологическая анатомия и иммуногистохимический анализ эндометрия женщин с бесплодием неясного генеза и привычным невынашиванием беременности при хроническом эндометрите // Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Красноярск, 2007.

35. Краснопольский В.И. и др. Лечение хронического эндометрита в прегравидарной подготовке женщин с невынашиванием беременности: Пособие для врачей. – М., 2006
36. Кривчикова А.П., Караманян Э.В. Экстракорпоральная иммунофармакотерапия в комплексном лечении стероид-зависимых и стероид резистентных форм неспецифического язвенного колита // Международный студенческий вестник – 2014г
37. Крылова Ю.С., Кветной И.М., Айламазян Э.К. Рецептивность эндометрия: молекулярные механизмы регуляции имплантации. // Журнал Акушерства и Женских болезней. – 2013 -Том LXII, выпуск 2 – с.63-74
38. Кубанова А.А., Рахматуллина М.Р. Урогенитальные инфекционные заболевания, вызванные генитальными микоплазмами. Клинические рекомендации // Consilium Medicum. – 2009. – Т. 11.
39. Кузнецова А. В. Хронические эндометриты // Архив патологии - 2000 - Вып. 3 – с.48 - 52.
40. Кузнецова И.В., Сулейманова Н.С. Применение иммуномодуляторов в терапии цервицита // Акушерство и гинекология – 2014 - №2 – С.80-85
41. Кулаков В. И. Репродуктивное здоровье населения России // Consilium medicum – 2007 - № 2 - С. 26.
42. Кулаков В. И., Манухин И. Б., Савельева Г. М. Гинекология. Национальное руководство // М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007 - С.890–897.
43. Кулаков В.И., Манухина И.Б., Савельева Г.М. Бесплодный брак // Гинекология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2011 - С. 581-628.
44. Кулаков В.И., Смольникова В.Ю., Киндарова Л.Б. Эндометриоз в программе ЭКО и ПЭ. В кн.: Экстракорпоральное оплодотворение и его новые направления в лечении женского бесплодия. Под ред. В.И. Кулакова, Б.В. Леонова. // М: Московское информационное агентство - 2000 – С.516-534.

45. Лаврова Л.В., Лавочкина Л.Н., Копейкина Е.А., Шеманаева Т.В. Бактериальный вагиноз: сравнительная оценка эффективности локальной антибактериальной терапии // Гинекология. – 2011. – № 3 (13). — С. 41–3.
46. Лапшихин А.А., Бессмертная В.С., Серебренникова К.Г. Оценка состояния эндометрия при подготовке к лечению методами вспомогательных репродуктивных технологий // Амбулаторно-поликлиническая практика – платформа женского здоровья. - 2009 - С. 241-242.
47. Лебедева О.Е., Глинкина Ж.И., Иконников М.В., Романова Н.В. Результаты предимплантационной диагностики FISH-методом супружеских пар с нормальным кариотипом // Акушерство и Гинекология- 2010 - №4 – С.89-94
48. Леваков С.А., Кедрова А.Г., Челнокова Н.Н. Фармакотерапия неосложненных воспалительных заболеваний органов малого таза // Акушерство и гинекология – 2013 - №9 – С.79-83
49. Левина Т.М. Исследование влияния направленного транспорта антибактериальных препаратов на морфофункциональное состояние легких и эффективность лечения экспериментальной пневмонии // Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2013.
50. Лесков В.П., Гущин К.С. Экстракорпоральная иммунофармакотерапия // Пульмонология - 1993 - №3 - с.10-15.
51. Лесков В.П., Чередеев А.Н., Горлина Н.К., Новоженков В.Г. Клиническая иммунология для врачей // Москва «Медицина» -2005 г. - с.144.
52. Летяева О.И., Гизингер О.А. Иммуномодулирующая терапия как способ коррекции иммуномикробиологических нарушений урогенитального тракта при хламидийной инфекции, осложненной бактериальным вагинозом. // Гинекология – 2011 - №13:1 – С.16-21.

53. Летяева О.И., Гизингер О.А., Долгушин И.И. Вопросы терапии воспалительных заболеваний женских половых органов // Акушерство и гинекология – 2013 - №2 – С.124-128
54. Логина Н.Ю. Патент «Способ лечения аллергических заболеваний» 1992 года
55. Логина Н.Ю., Ольшанский А.Я. Способ лечения хронических рецидивирующих урогенитальных бактериальных и вирусных заболеваний. Патент № 2390339.
56. Магомедова А.М. Прогностическое значение определения интерферонового статуса и экспрессии генов цитокинов у беременных высокого инфекционного риска. // Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 2013.
57. Машкина Е.В., Коваленко К.А., Фомина Н.В., Покудина И.О. Полиморфизм генов цитокинов в тканях плаценты при невынашивании беременности. // Fundamental research – 2013 - №1 – с.580-584
58. Медяникова И.В., Кравченко Е.Н. Иммунокорригирующая терапия воспалительных заболеваний нижнего отдела женской половой сферы // Акушерство и гинекология – 2010 - №5 – С.107-110.
59. Микаелян В.Г. Современные медицинские технологии в лечении бесплодия в программе ЭКО и ПЭ у пациенток старшего репродуктивного возраста. // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, Москва, 2005г.
60. Нестеров И.М., Айламазян Э.К., Тотолян А.А. .Оптимизация местной терапии вагинальных инфекций и дисбиозов // Акушерство и гинекология – 2010 - №6 – С.70-75
61. Нестеров И.П., Тотолян А.А. Иммунокорригирующая терапия инфекционно-воспалительных заболеваний женской половой сферы // Ст-Петербург, 2007 – С.80.
62. Никитин А.И. Факторы неудач в программах вспомогательной репродукции // Пробл. Репрод – 1995 - №2 - С.36-43.

63. Овчарук Э.А., Хадарцева К.А. Бактериологическая и гистологическая диагностика хронического эндометрита при бесплодии // Вестник новых медицинских технологий – 2010 - №17(1) – С.181–82.
64. Ольховская М.А. Комплексная оценка состояния эндометрия в программе ЭКО // Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 2007.
65. Подольский В.В. Клинико-эпидемиологическая характеристика женщин фертильного возраста с хроническими воспалительными заболеваниями половых органов // Акушерство и гинекология – 2013 - №4 – С. 61-66
66. Провоторов В.М., Иванова Г.А. Роль и место эритроцитов в системе направленного транспорта различных фармакологических средств. // Клиническая медицина – 2009 - N 9 - С.4-8
67. Радзинский В.Е., Милованов А.П. Экстраэмбриональные и околоплодные структуры при нормальной и осложненной беременности // М.: Медицинское информационное агенство - 2004. - 393 с
68. Рафальский В.В., Довгань Е.В., Иванян А.Н., Саврацкий А.Н. Практика применения антимикробных препаратов у женщин с воспалительными заболеваниями органов малого таза в Российской Федерации // Акушерство и гинекология – 2011 - №5 – С.88-93
69. Рахматулина М.Р. Эффективность терапии хламидийной и микоплазменной инфекции у беременных женщин. Результаты многоцентрового клинического исследования // Гинекология – 2011– № 1. – Т.13
70. Рахматулина М.Р. Эффективность, безопасность и переносимость антимикробных препаратов в терапии ассоциированных урогенитальных инфекций // Акушерство и гинекология – 2011 - №1 – С. 95-100
71. Резолюция по итогам общественных слушаний на тему: «Современные репродуктивные технологии: их доступность и эффективность» 28 апреля 2011 года, г.Москва.

72. Рудакова Е. Б., Бесман И. В. Вспомогательные репродуктивные технологии. Проблемы потерь беременности // Лечащий Врач – 2010 - № 3 - С.46–49.
73. Рудакова Е. Б., Лузин А. А., Богданова О. Н. Хронический эндомиометрит: от совершенствования диагностического подхода к оптимизации лечения // Лечащий Врач – 2008 - № 10 - С.6–10.
74. Савченко Т.Н., Хашукоева А.З., Ильина И.Ю., Агаева М.И., Дергачева И.А., Нариманова М.Р. Воспалительные заболевания органов малого таза: влияние на репродуктивное состояние женщин, перспективы лечения. // Лечащий врач – 2014 - N12 - С.8-11
75. Светлаков А.В., Яманова М.В., Егорова А.Б., Михуткина С.В. Молекулярно-биологические аспекты имплантации у человека и животных // Проблемы репродукции – 2002 - N 2 - С.16-28
76. Серебренникова К.Г., Кузнецова Е.П. Подготовка эндометрия к программам ВРТ у пациенток с бесплодием // Проблемы репродукции - 2014 - №4 - С.62-67
77. Серебренникова К.Г., Лапшихин М.В. Эндометрий у пациенток с бесплодием и методы его коррекции // Вестник Российского Университета Дружбы Народов – 2010 - №5 - С.33-38.
78. Серов В.Н., Дубницкая Л.В., Тютюнник В.Л. Воспалительные заболевания органов малого таза: диагностические критерии и принципы лечения. // Рус мед журн – 2011 - №19:1 – С.46-50.
79. Серов В.Н., Твердикова М.А., Вересова А.А. Иммуномодуляторы в комплексной терапии воспалительных заболеваний органов малого таза // Рус мед журн – 2012 - №17 – С.12-18.
80. Сидельникова В.М., Сухих Г.Т. Невынашивание беременности: Руководство для практикующих врачей. // М.: МИА; 2011г.
81. Синчихин С.П., Черникина О.Г., Мамиев О.Б. Современные аспекты бактериального вагиноза // Акушерство и гинекология – 2013 - №8 – 19-24

82. Спирина Ю.В. Комбинированная терапия хронического эндометрита у женщин с бесплодием и невынашиванием беременности // Автореф. дисс. ... канд. мед.наук. Томск, 2009г.
83. Судома И.А., Маслий Ю.В. Алгоритм обследования и лечения пациентов с многократными неудачными программами ВРТ // Казань, Репродуктивные технологии сегодня и завтра. 2007 - с.20 - 21.
84. Сухих Г.Т., Ванько Л.В. Иммунные факторы в этиологии и патогенезе осложнений беременности // Акушерство и гинекология – 2012 - №1 – С.128-136
85. Сухих Г.Т., Шуршалина А.В. Хронический эндометрит // М. ГЭОТАР-Медиа. - 2010. - 64 С.
86. Таболова В.К., Корнеева И.Е. Влияние хронического эндометрита на исходы программ вспомогательных репродуктивных технологий: морфо-функциональные и молекулярно-генетические особенности // Акушерство и гинекология – 2013 - №10 – С. 17-22
87. Тихомиров А.Л., Лубнин Д.М. Привычное невынашивание беременности: причины, диагностика и современные подходы к терапии. // Фарматека. Акушерство. Гинекология. Педиатрия. – 2005 -№1(80) – С.15-18.
88. Тютюнник В.Л., Михайлова О.И., Меджидова М.К. Неспецифический вагинит: этиология, патогенез, клиника, диагностика, современные принципы лечения // Акушерство и гинекология – 2011 - №7-2- С.92-96
89. Хаитов Р.М., Алексеев Л.П. Физиологическая роль главного комплекса гистосовместимости человека // Иммунология – 2001 - №3 -С. 4-12.
90. Хачатрян Н.А., Кречетова Л.В., Тетруашвили Н.К. Лимфоцитоиммунотерапия в коррекции аллоиммунных нарушений при привычном выкидыше // Акушерство и гинекология – 2014 - №1 – С.9-14

91. Храмова И.А. Характеристика макрофагальной системы у женщин при нарушении процесса репродукции. // Автореф. дисс. ... док. мед.наук. Владивосток, 2011.
92. Шнейдерман М.Г., Аполихина И.А., Калинина Е.А. Новое об имплантации эмбриона в эндометрий // Акушерство и гинекология – 2013 - №11 – С.75-8.
93. Шуршалина А.В. Воспалительные заболевания органов малого таза: современная тактика терапии // Гинекология – 2011 – Т.13 №5 – С.23-26
94. Шуршалина А.В. Хронический эндометрит у женщин с патологией репродуктивной функции // Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2007.
95. Шуршалина А.В., Демура Т.А. Морфофункциональные перестройки эндометрия в «окно имплантации» // Акушерство и гинекология – 2011 - №7-2
96. Юшко Е.И., Жуковская С.В., Игнатьева Т.В., Линник А.И. Оценка результатов тестикулярной биопсии и криоконсервации биоптата в программе лечения мужского бесплодия. // Здоровоохранение – 2010 -№8 - С.63-66
97. Яковенко Е.М., Яковенко С.А. Современные методы преодоления бесплодия. // М.; 2010: 197-8
98. Яролинская М.И., Молотков А.С., Денисова В.М. Матриксные металлопротеиназы и ингибиторы: классификация, механизм действия. // Журнал акушерства и женских болезней – 2012 - № 1, том LXI – С.113-125
99. Achache H., Revel A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation // Hum. Reprod. Update. – 2006. – Vol. 12. – P. 731—746.
100. Achard V., Perrin J., Saias-Magnan J., Noizet A., Grillo J.M, Paulmyer-Lacroix O. Optimization of artificial inseminations with donor semen: a four-year experience // Gynecol Obstet Fertil – 2005. - №33 – P.877-883.
101. Agerwal N., Gosh R., Jain A., Arya S.C. Elevated peripheral natural killer cell and infertility // Am J Reprod Immunol – 2006 - №56 – P.77—78.

102. Agajanova L. Leukemia inhibitory factors and human embryo implantation // Acad Sci - 2004 - №1034 – P.176—183.
103. Ancelin M., Buteau-Lozano H., Meduri G., Osborne-Pellegrin M., Sordello S., Plouët J., Perrot-Applanat M. dynamic shift of VEGF isoforms with a transient and selective progesterone-induced expression of VEGF189 regulates angiogenesis and vascular permeability in human uterus. // Proc Natl Acad Sci U S A – 2002 - №30;99(9) – P.6023-8.
104. Andersen A.N., Gianaroli L., Felberbaum R. et al. Assisted reproductive technology in Europe. Results generated from European registers by ESHRE // Hum Reprod – 2014 - №20 – P.1158—1176.
105. Apparao K.B., Murray M.J., Fritz M.A., Meyer W.R., Chambers A.F., Truong P.R., Lessey B.A. Osteopontin and its receptor alpha-beta (3) integrin are co-expressed in the human endometrium during the menstrual cycle but regulated differentially // J Clin Endocrinol Metab – 2001 - 86(10) – P.4991-5000.
106. Balasch J., Cervera R. Refrctions on the management of reproductive failure in the antiphospholipid syndrome — the clinican perspective // Lupus – 2002 - №11:8 – P.467—477.
107. Basille C., Frydman R. Preimplantation genetic diagnosis: state of the art // European J. Obstetrics& Gynecology and Reproductive Biology – 2009. – Vol. 145, № 1. – P. 9-13.
108. Bellver J., Munoz E., Ramirez A. et al. The role of trombophilia and thyroid autoimmunity in unexplained infertility, implantation failure and recurrent spontaneous abortion // Hum Reprod – 2008 - №23:2 – P.278—284.
109. Benetti-Pinto C.L., Giraldo P.C., Pacello P.C. Vaginal epithelium and microflora characteristics in women with premature ovarian failure under hormone therapy compared to healthy women. // Arch Gynecol Obstet – 2015 - №292(1) – P.159-64.
110. Bradley C.K., McArthur S.J., Gee A.J. Intervention improves assisted conception intracytoplasmic sperm injection outcomes for patients with high

- levels of sperm DNA fragmentation: a retrospective analysis. // *Andrology* - 2016 - №4(5) – P.903-10
111. Brandtzaeg P. Secretory IgA: Designed for Anti-Microbial Defense // *Front Immunol* – 2013 - №6;4 – P.222
112. Brezina P.R., Kutteh W.H. Clinical applications of preimplantation genetic testing. // *BMJ* – 2015 - №19- P.350
113. Bukman A., Heineman M. Ovarian reserve testing and the use of prognostic models in patients with subfertility // *Hum Reprod Update* – 2001 - №7:6 – P.581—590.
114. Byung C.J., Lee J.R., Chang S.S., Seok H.K. & Shin Y.M. Follicular fluid growth differentiation factor-9 concentration and oocyte developmental competence // *J. Womens Med* - 2011 - №4 – P.1–5.
115. Carp H.J., Selmi C., Shoenfeld Y. The autoimmune bases of infertility and pregnancy loss. // *J Autoimmun* – 2012 - №38(2-3) – P.266-74.
116. Castro-Rendón W.A., Castro-Alvarez J.F., Guzmán-Martinez C., Bueno-Sanchez J.C. Blastocyst-endometrium interaction: intertwining a cytokine network. // *Braz J Med Biol Res* – 2006 - №39 (11) – P.1373-85.
117. Chai J., Yeung T.W. Live birth rate, multiple pregnancy rate, and obstetric outcomes of elective single and double embryo transfers: Hong Kong experience // *Human Reproduction* - 2014. - Vol.29, №11. - P. 2474-2481
118. Chen Q.J., Sun X.X. Effects of ovarian stimulation on endometrial integrin beta3 and leukemia inhibitory factor expression in the peri-implantation phase // *Fertility Sterility* – 2008 – Vol. 89, № 5. – P. 1357-1363
119. Choi K.C., Kang S.K., Tai C.J. et al. Estradiol up-regulates antiapoptotic Bcl-2 messenger ribonucleic acid and protein in tumorigenic ovarian surface epithelium cells // *Endocrinology* - 2001 - Vol.142. - N. 6. - P. 2351-2360
120. Coulam C.D., Roussev R.G. Correlation of NK cell activation and inhibition markers with NK cytotoxicity among women experience in immunologic implantation failure after in vitro fertilization and embryo transfer // *J Ass Reprod Genet* – 2003 - №20- P. 58-62.

121. Dahm-Kähler P., Ghahremani M., Lind A.K., Brännström M. Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), its receptor, and macrophages in the perifollicular stroma during the human ovulatory process // *Fertil Steril* – 2009 - №91(1) – P.231-9.
122. De Bernardis F., Arancia S., Sandini S., Graziani S., Norelli S. Studies of Immune Responses in *Candida vaginitis*. // *Pathogens* – 2015 - №9;4(4) – P.697-707
123. De Neubourg D. Prognostic factors of implantation // *J Gynecol Obstet Biol Reprod* - 2004 - №33 – P.21-24
124. Dey S.K., Lim H., Das S.K. et al. Molecular cues to implantation // *Endocrinol Rev* – 2004 - №25:3 – P.341—373.
125. Dimitriadis E., Menkhorst E., Salamonsen L.A. Review: LIF and IL1 in trophoblast-endometrial interactions during the establishment of pregnancy // *Placenta*. – 2010. – Vol. 31. - P. 99-104.
126. Dimitriadis E., Winship A., Cuman C. Fibulin-5 is upregulated in decidualized human endometrial stromal cells and promotes primary human extravillous trophoblast outgrowth // *Placenta*. – 2015. – Vol. 3, № 10. – P. 139-147
127. D'Ippolito S., Gasbarrini A., Castellani R., Rocchetti S., Sisti L.G. Human leukocyte antigen (HLA) DQ2/DQ8 prevalence in recurrent pregnancy loss // *Autoimmun Rev* – 2016 - №15(7) – P.638-43
128. Donaghy M., Lessey B.A. Uterine receptivity: alterations associated with benign gynecological disease // *Semin Reprod Med* – 2007 - №25 – P.461-475.
129. Dong X., Liao X., Wang R. The impact of endometriosis on IVF/ICSI outcomes // *Int. J. Clinical & Experimental Pathology*. - 2013. - Vol.6, №9. - P. 1911-1918.
130. Emiliani S., Delbaere A., Devreker F., Englert Y. Embryo-maternal interactive factors regulating the implantation process: implications in assisted reproductive // *Reprod Biomed Online* – 2005 - №10(4) – P.527-540.

131. Faridi R.M., Das V., Tripthi G., Talwar S., Parveen F., Agrawal S. Influence of activating and inhibitory killer immunoglobulin-like receptors on predisposition to recurrent miscarriages // *Human Reproduction* – 2009 - №24:7 – P.1758-1764.
132. Fatemi H.M., Popovic-Todorovic B., Ameryckx L., Bourgain C., Fauser B., Devroey P. In vitro fertilization pregnancy in a patient with proven chronic endometritis // *Fertil. Steril* – 2009 - №91(4) – P.9–11.
133. Foulk R.A., Zdravkovic T., Genbacev O., Prakobphol A. Expression of L-selectin ligand MECA-79 as a predictive marker of human uterine receptivity. // *J Assist Reprod Genet* – 2007 - №24(7) – P.316-21
134. Galán A, Herrero R, Remohí J, Pellicer A, Simón C. Embryonic regulation of endometrial epithelial apoptosis during human implantation. // *Hum Reprod* - 2000 - №5;6 – P.74-80.
135. Gargett C.E., Lederman F., Heryanto B., Gambino L.S., Rogers P.A. Focal vascular endothelial growth factor correlates with angiogenesis in human endometrium. Role of intravascular neutrophils // *Hum Reprod* – 2001- №16(6) – P.1065-75.
136. Gendie E., Lash L., Barbara A. Localization of angiogenic growth factors and their receptors in the human endometrium throughout the menstrual cycle and in recurrent miscarriage // *Human Reproduction* - 2012 - Vol.27, №1. - P. 183–195.
137. Glasser S.R., Aplin J.D., Giudice L.C., Tabibzadeh S. *The Endometrium* // London: Taylor&Francis – 2002 – P.675.
138. Gleicher N., Barad D. Unexplained infertility: does really exist? // *Hum Reprod* – 2006 - №21:8 – P.1951—1955.
139. Gleicher N., Roeijy A. The reproductive autoimmune failure syndrome // *Am J Obstet Gynaecol* – 1988 - №159:1 – P.223—227.
140. Glinšek Biškup U, Uršič T, Petrovec M. Laboratory diagnosis and epidemiology of herpes simplex 1 and 2 genital infections. // *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat* – 2015 - №24(2) – P.31-5.

141. Grimstad F., Krieg S. Immunogenetic contributions to recurrent pregnancy loss // *J Assist Reprod Genet* – 2016 - №33(7) – P.833-47
142. Guzeloglu-Kayisli O., Kayisli U.A., Taylor H.S. The role of growth factors and cytokines during implantation: endocrine and paracrine interactions // *Seminars Reproductive Medicine* - 2009 - Vol.27, №1. - P. 62-79
143. Helms D.J., Mosure D.J., Secor W.E., Workowski K.A. Management of trichomonas vaginalis in women with suspected metronidazole hypersensitivity // *Am. J. Obstet. Gynecol* – 2008 -Vol. 198(4) - P. 370–7.
144. Hey N.A., Meseguer M., Simón C., Smorodinsky N.I. Transmembrane and truncated (SEC) isoforms of MUC1 in the human endometrium and Fallopian tube. // *Reprod Biol Endocrinol* - 2003 - №30 – P.12
145. Hill J.A. Immunologic factors in spontaneous abortion // *Reprod Immunology*, Cambridge - 1996.
146. Hocini H., Barra A., Bélec L., Iscaki S., Preud'homme J.L., Pillot J., Bouvet J.P. Systemic and secretory humoral immunity in the normal human vaginal tract // *Scand J Immunol* – 1995 - №42(2) – P.269-74.
147. Horcajadas J.A., Goyri E., Higón M.A. Endometrial receptivity and implantation are not affected by the presence of uterine intramural leiomyomas: a clinical and functional genomics analysis // *J. Clin. Endocrinol. Metab* – 2008 – Vol. 93, № 9. – P. 3490—3498.
148. Ingman W., Jones R. Cytokine knockouts in reproduction: the use of gene ablation to dissect roles of cytokines in reproduction biology // *Hum. Reprod. Update* – 2008 – Vol. 14, № 2. – P. 179—192.
149. Jin K., Ho H.N., Speed T.P. and Gill T.J. Reproductive failure and the major histocompatibility complex // *Am. J. Hum. Genet* – 1995 - №56 – P.1456–1467.
150. Jokimaa V., Oksjoki S., Kujari H., Vurio E. Altered expression of genes involved in the production and degradation of endometrial extracellular matrix in patients with unexplained infertility and recurrent miscarriages // *Mol Hum Reprod* – 2002 - №8 – P.1111—1116.

151. Jungheim E.S., Ryan G.L. Embryo transfer practices in the United States: a survey of clinics registered with the Society for Assisted Reproductive Technology // *Fertility Sterility* - 2010 - Vol.94, №4. - P. 1432-1436.
152. Kang J., Chapdelaine P., Laberge P.Y. Functional characterization of prostaglandin transporter and terminal prostaglandin synthases during decidualization of human endometrial stromal cells // *Hum Reprod* – 2006 - Vol 21, №3 – P.592-599
153. Karagozoglu H., Karlikaya G., Ismailoglu B. et al. Clinical outcomes of 6 year-experience on HLA-typing // *Fert Steril* – 2008 - №90 – P.308—309.
154. Kheshtchin N., Gharagozloo M., Andalib A., Ghahiri A., Maracy M.R., Rezaei A. The expression of Th1- and Th2-related chemokine receptors in women with recurrent miscarriage: the impact of lymphocyte immunotherapy // *Am. J. Reprod. Immunol* – 2010 - №64(2) – P.104–12.
155. Kim M., Park H.J., Seol J.W. VEGF- A regulated by progesterone governs uterine angiogenesis and vascular remodelling during // *EMBO Molecular Medicine* - 2013 - Vol.5. - P. 1–16
156. Kitaya K. Accumulation of uterine CD16– natural killer (NK) cells: friends, foes, or Jekyll-and-Hyde relationship for the conceptus? // *Immunol Inv* – 2008 - №37:5 – P.467—481.
157. Kitaya K., Tada Y., Hayashi T., Taguchi S., Funabiki M., Nakamura Y. Comprehensive endometrial immunoglobulin subclass analysis in infertile women suffering from repeated implantation failure with or without chronic endometritis. // *Am J Reprod Immunol* – 2014 - №72(4) – P.386-91
158. Krussel J.S., Bielfeld P., Polan M.L. et al. Regulation of embryonic implantation // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* – 2003 - №110(1) – P.2—9.
159. Kuivasaari-Pirinen P., Raatikainen K. Outcomes of IVF/ICSI Pregnancies Vary Depending on Aetiology of Infertility // *ISRN . Obstetrics Gynecology* - 2012 – Vol.12 — P. 1-5.

160. Kupka M.S. Ferraretti A.P., Assisted reproductive technology in Europe, 2010: results generated from European registers by ESHRE // *Human Reproduction* – 2014 – Vol. 29, № 10. – P. 2099-2113.
161. Kurabayashi T., Kase H. et al. Endometrial abnormalities in infertile women. // *J. Reprod. Med* – 2003 - V.48 N.6 - P.455-459.
162. Kutteh W.H. Antiphospholipid antibody syndrome and reproduction. // *Curr Opin Obstet Gynecol* – 2014 - №26(4) – P.260-5
163. Kutteh W.H., Prince S.J., Hammond K.R., Kutteh C.C., Mestecky J. Variations in immunoglobulins and IgA subclasses of human uterine cervical secretions around the time of ovulation // *Clin Exp Immunol* – 1996 - №104(3) – P.538-45
164. Lai T.H., Zhao Y., Shih I.M., Ho C.L., Bankowski B., Vlahos N. Expression of L-selectin ligands in human endometrium during the implantation window after controlled ovarian stimulation for oocyte donation // *Fertil Steril* - 2006 -№85(3) – P.761-3.
165. Lee F.K., Lai T.H., Lin T.K., Horng S.G., Chen S.C. Relationship of progesterone/estradiol ratio on day of hCG administration and pregnancy outcomes in high responders undergoing in vitro fertilization // *Fertil Steril* - 2009 - №92(4) – P.1284-9.
166. Lessey B.A. Assessment of endometrial receptivity // *J. Fertility Sterility* - 2011 - Vol96. – P. 522–529.
167. Leysens A., Vanhoenacker F.M., Libeer C. Pelvic inflammatory disease // *JBR-BTR* – 2011 - №94:3 – P.128-129.
168. Liang P., Mo M., Li G.G., Yin B., Cai J., Wu T. et al. Comprehensive analysis of peripheral blood lymphocytes in 76 women with recurrent miscarriage before and after lymphocyte immunotherapy // *Am. J. Reprod. Immunol* - 2012 - №68(2) – P.164–74.
169. Lipari C.W., Zhao Y., King J.A., Alexander C.J., Lai T.H. Variations in L-selectin ligand expression in the luteal-phase endometrium after final oocyte

- maturation with human chorionic gonadotropin compared with a gonadotropin-releasing hormone agonist. // *Fertil Steril* - 2008 - №90(3) – P.876-8.
170. Machado D.E., Abrao M.S., Berardo P.T. Vascular density and distribution of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor VEGFR-2 (Flk-1) are significantly higher in patients with deeply infiltrating endometriosis affecting the rectum // *Fertility Sterility* - 2008 - Vol.90, №1. - P. 148-155.
171. Mastenbroek S., Twisk M, van der Veen F, Repping S., Preimplantation genetic screening: a systematic review and meta-analysis of RCTs // *Hum Reprod Update* – 2013 - №19(2) – P.206.
172. Mastromarino P., Hemalatha R., Barbonetti A. Biological control of vaginosis to improve reproductive health. // *Indian J Med Res* – 2014 - №140 – P.91-7
173. Haouzi D., Mahmoud K., Fourar M. Identification of new biomarkers of human endometrial receptivity in the natural cycle // *Hum. Reprod.* – 2009 – Vol. 24, № 1. – P. 198—205.
174. Merviel P., Challier J.C., Carbillon L., Foidart J.M., Uzan S. The role of integrins in human embryo implantation // *Fetal Diagn Ther* – 2001 - №16(6) – P.364-71
175. Meseguer M., Aplin J.D., Caballero-Campo P. Human endometrial mucin MUC1 is up-regulated by progesterone and down-regulated in vitro by the human blastocyst. // *Biol Reprod.* – 2001 - 64(2) – P.590-601
176. Miceli F., Tropea A., Minici F. et al. Interleukin-1b stimulates progesterone production by in vitro human luteal cells: evidence of a mediatory role of prostaglandins // *J Clin Endocrinol Metab* – 2003 - №88:6 – P.2690—2694.
177. Munné S. Preimplantation genetic diagnosis and human implantation-a review // *Placenta* – 2003 - №24 – P.70-6.
178. Nakayama T., Fujiwara H., Maeda M. et al. Human peripheral blood mononuclear cells (PBMC) in early pregnancy promote embryo invasion in vitro:

- HCG enhances the effects of PBMC // *Hum Reprod* – 2002 - №17:1 – P.207—212.
179. Nardo L.G. Vascular endothelial growth factor expression in the endometrium during the menstrual cycle, implantation window and early pregnancy // *Curr Opin Obstet Gynecol* – 2005 - №17(4) – P.419-423
180. Nikas G. Endometrial receptivity: changes in cell-surface morphology // *Semin Reprod Med* – 2000 - №18(3) – P.229-35.
181. Nishizuka Y., Sakakuta T. Thymus and reproduction: sex-link dysgenesis of the gonad after neonatal thymectomy in mice // *Science* – 1969 - №166 – P.753—755.
182. Novotný Z., Krízan J., Leukaemia inhibitory factor (LIF) gene mutations in women diagnosed with unexplained infertility and endometriosis have a negative impact on the IVF outcome // *Folia Biologica* — 2009- Vol. 55, №3. - P. 92-97.
183. Nygren KG, Andersen AN. Assisted reproductive technology in Europe, 1999. Results generated from European registers by ESHRE // *Hum Reprod.* – 2002 - №17(12) – P.3260-74.
184. Park D.W., Lee H.J., Park C.W., Hong S.R., Kwak-Kim J., Yang K.M. Peripheral blood NK cells reflect changes in decidual NK cells in women with recurrent miscarriages. // *Am. J. Reprod. Immunol.* - 2010 - №63(2) – P.173–80.
185. Patel S.V., Baxi R.K., Kotecha P.V. Association between pelvic inflammatory disease and abortions. // *Indian J Sex Transm Dis* – 2010 - №31 – P.127-128.
186. Polisseni F., Bambirra E.A., Camargos A.F. Detection of chronic endometritis by diagnostic hysteroscopy in asymptomatic infertile patients // *Gynecol Obstet Invest* – 2003 - №55(4) – P.205-10.
187. Poppe K., Glinier D., Tournaye H., Devroey P. et al. Assisted reproduction and thyroid autoimmunity and unfortunate combination? // *J Clin Endocrinol Metab* – 2003 - №88 – P.4149—4152.

188. Prado-Drayer A., Teppa J., Sanchez P. et al. Immunophenotype of peripheral T lymphocytes, NK cells and expression of CD69 activation marker in patients with recurrent spontaneous abortion during mid-luteal phase // *Am J Reprod Immunol* – 2008 - №60:1 – P.66—74.
189. Putowski L., Darmochwal-Kolarz D., Oleszczuk J. The immunological profile of infertility women with after repeated IVF failures (preliminary study) // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* – 2004 - №10:112 – P.192—196.
190. Qublan H., Eid S. Acquired and inherited thrombophilia: implication in recurrent IVF and embryo transfer failure // *Hum Reprod* – 2006 - №21:10 – P.2694-2698.
191. Quenby S., Nik H., Innes B. Uterine natural killer cells and angiogenesis in recurrent reproductive failure // *Hum Reprod* - 2009 - №24:1 – P.45—54.
192. Quinn C.E., Casper R.F. Pinopodes: a questionable role in endometrial receptivity // *Human Reproduction Update*. - 2009. - Vol.15, №2. - P. 229–236.
193. Radojicic L., Marjanovic S., Vucovas L., Kataranovski M. Anticardiolipin antibodies in women with unexplained infertility // *Physiol Res* – 2004 -№53:1 – P.91—96.
194. Rajaei S., Zarnani A.H., Jeddi-Tehrani M. Cytokine profile in the endometrium of normal fertile and women with repeated implantation failure // *J Immunology*. - 2011 - Vol.8, №4. - P. 201-208.
195. Reddy V.K., Gupta S.M., Pervin K. M. Expression of Integrin Receptors on Peripheral Lymphocytes: Correlation with Endometrial Receptivity // *Am. J. Reprod. Immunol* – 2001 – V.46, №3 – C.188–195
196. Reindollar R. Contemporary tissues for spontaneous abortion // *Obst. Gynecol. Clinic*. – 2000 – №27- P.3.
197. Rosen S.D. Ligands for L-Selectin: Homing, Inflammation, and Beyond. // *Annual Review of Immunology* – 2004 - №22 – P.129-156.
198. Ross J.D. What is endometritis and does it require treatment? // *Sex Transm Infect* – 2004 - №80(4) – P.252-3.

199. Sanjoy K. Regional Development of Uterine Decidualization: Molecular Signaling by Hoxa-10 // *Mol Reprod Dev* – 2010 - №77(5) – P.387–396.
200. Santos-Greatti M.M., da Silva M.G., Ferreira C.S., Marconi C.J. Cervicovaginal cytokines, sialidase activity and bacterial load in reproductive-aged women with intermediate vaginal flora. // *Reprod Immunol* – 2016 - №17;118 – P.36-41
201. Sawada K., Kusugami K., Suzuki Y. et al. Leukocytapheresis in ulcerative colitis: Results of a multicenter double-blind prospective case-control study with sham apheresis as placebo treatment. // *Gastroenterol. Hepatology* - №4 – 2005 – P.7-8.
202. Seo W.S., B.C. Jee, S.Y. Moon Expression of endometrial protein markers in infertile women and the association with subsequent in vitro fertilization outcome // *Fertility Sterility* – 2011 – Vol. 95, № 8 – P. 2707-2710.
203. Sharma H., Tal R., Clark N.A., Segars J.H. Microbiota and pelvic inflammatory disease. // *Semin Reprod Med* – 2014 - №32(1) – P.43-9.
204. Shatavi S.V., Lianes B., Luborsky J.L. Association of unexplained infertility with gonadotropin and ovarian antibodies // *Am J Reprod Immunol* – 2006 - №56 - P.286—291.
205. Simon A. Laufer N. Repeated implantation failure: clinical approach // *Fertility Sterility* – 2012 – Vol.97, №5. – P. 1039-1043.
206. Simon C., Martin J.C., Pellicer A.B. Paracrine regulators of implantation // *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* – 2001 - №14:5 – P.815-826
207. Siristatadis C., Bhattacharya S. Unexplained infertility: does really exist? Does it matter? // *Hum Reprod* – 2007 - №22:8 – P.2084—2087.
208. Sudhir N., Beri A., Kaur A. Association of tumor necrosis factor-alpha 308G/A polymorphism with recurrent miscarriages in women. // *J Hum Reprod Sci* – 2016 - №9(2) – P.86-9
209. Sweet R.L. Pelvic Inflammatory Disease: Current Concepts of Diagnosis and Management // *Curr. Infect. Dis. Rep* – 2012 -Vol. 2.

210. Takabatake K., Fujiwara H., Goto Y., Nakayama T., Higuchi T., Maeda M., Mori T. Intravenous administration of splenocytes in early pregnancy changed implantation window in mice // *Hum Reprod* – 1997 - №12 – P.583–585.
211. Tan B.K., Vandekerckhove P., Kennedy R., Keay S.D. Investigation and current management of recurrent IVF treatment failure in the UK // *BJOG* – 2005 - №112(6) – P.773-80.
212. Tang A.W., Alfirevic Z., Quenby S. Natural killer cells and pregnancy outcomes in women with recurrent miscarriage and infertility: a systematic review // *Hum. Reprod* – 2011 - №26(8) – P.1971–80.
213. Thiery J.P. Epithelial-mesenchymal transitions in development and pathologies. // *Curr Opin Cell Biol* – 2003 - №15(6) – P.740-6.
214. Thurman A.R., Kimble T., Herold B., Mesquita P.M. Bacterial Vaginosis and Subclinical Markers of Genital Tract Inflammation and Mucosal Immunity // *AIDS Res Hum Retroviruses* – 2015 - №31(11) – P.1139-52
215. Unemo M., Shafer W.M. Antibiotic resistance in *Neisseria gonorrhoeae*: origin, evolution, and lessons learned for the future // *Ann. N Y Acad Sci* – 2011 - Vol.1230(1) - P.19–28.
216. Vacca P., Cantoni C., Prato C. et al. Regulatory role of NKp44, NKp46, DNAM-1 and NKG2D receptors in the interaction between NK cells and trophoblast cells. Evidence for divergent functional profiles of decidual versus peripheral NK cells // *Int Immunol* – 2008 - №20:11 – P.1395—1405.
217. Vahidnia A., Tuin H., Blikendaal H., Spaargaren J. Association of sexually transmitted infections, *Candida* species, gram-positive flora and perianal flora with bacterial vaginosis. // *New Microbiol* – 2015 - №38(4) – P.559-63.
218. Vlahos N.F., Lipari C.W., Bankowski B., Lai T.H., King J.A., Zhao Y. Effect of luteal-phase support on endometrial L-selectin ligand expression after recombinant follicle-stimulating hormone and ganirelix acetate for in vitro fertilization. // *J Clin Endocrinol Metab* – 2006 - №91(10):4043-9

219. Wu R.J., Zhou F.Z. Insulin-like growth factor II and its receptor gene expression in the endometrium of women with unexplained infertility. // *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi* – 2004 -№39(4) – P.242-5
220. Xu B., Sun X., Li L. Pinopodes, leukemia inhibitory factor, integrin- β 3, and mucin-1 expression in the peri-implantation endometrium of women with unexplained recurrent pregnancy loss. // *Fertility Sterility* – 2012 – Vol. 98, № 2 – P. 389-395.
221. Yoshioka S., Fujiwara H., Nakayama T., Kosaka K., Mori T., Fujii S. Intrauterine administration of autologous peripheral blood mononuclear cells promotes implantation rates in patients with repeated failure of IVF–embryo transfer. // *Hum Reprod* – 2009 - №21(12) – P.3290-4.
222. Yu N., Zhang B., Xu M., Wang S., Liu R., Wu J., Yang J., Feng L. Intrauterine administration of autologous peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) activated by HCG improves the implantation and pregnancy rates in patients with repeated implantation failure: a prospective randomized study // *Am J Reprod Immunol* – 2016 - №76(3) – P.212-6.
223. Zhang J.J., Zhao G.L., Wang F. et al. Molecular epidemiology of genital *Chlamydia trachomatis* infection in Shenzhen // *China Sex Transm. Infect.* – 2012 - №88(4) – P.272-7
224. Zhang S.Y., Lin X.N., Song T. et al. Gene expression profiles of peri-implantation endometrium in natural and superovulation cycles // *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* - 2008 - Vol. 88, 3 - P.2343—2346.
225. Zhioua A., Elloumi H., Fourati S., Morphometric analysis of the human endometrium during the implantation window. Light and transmission electron microscopy study // *European J. Obstetrics& Gynecology and Reproductive Biology* – 2012 – Vol.41, №3 – P.235-242.