

ЕСИНА ЕЛЕНА ВЛАДИМИРОВНА

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

14.01.01 - акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2019

Диссертационная работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Аляутдина Ольга Сергеевна

Официальные оппоненты:

Калинина Елена Анатольевна – доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, заведующая отделением вспомогательных репродуктивных технологий в лечении бесплодия

Андреева Маргарита Викторовна - доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, кафедра акушерства и гинекологии, профессор кафедры

Ведущая организация: Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии» (ГБУЗ МО МОНИИАГ)

Защита состоится «___» _____ 2019 года в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.040.03 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, дом 8, строение 2.

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бульвар 37/1 и на сайте организации www.sechenov.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2019 года.

Ученый секретарь Д 208.04.03

диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор

Шулутко Александр Михайлович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Проблема бездетных браков по причине репродуктивных нарушений с каждым новым годом становится все более актуальной. Так, на конец 1990-х годов число бесплодных пар составило 8%, в 2017 году этот показатель значительно вырос и достиг 17% («Здравоохранение в России» 2017г).

Бесплодие считается наиболее болезненной проблемой в рамках репродуктивного здоровья населения в РФ, что обусловлено низкой рождаемостью, большим количеством абортов и массовым распространением патологии органов малого таза воспалительного характера.

Современные методы лечения основаны на инновационных разработках, что позволяет расшифровывать регуляцию процесса репродукции на гормональном и генетическом уровне. К наиболее эффективным методам обследования и лечения при бесплодии относят ультразвуковую диагностику, эндоскопическую хирургию и вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) (Адамян Л.В., 2008).

Несмотря на использование в практике современных методик, а именно экстракорпорального оплодотворения, частота успешных имплантаций после переноса эмбрионов улучшилась незначительно и составляет 10-15% (в пересчете на 1 эмбрион). При переносе 2-х и более эмбрионов частота успешных попыток ЭКО возрастает до 20-30%, что практически не отличается от аналогичных показателей у здоровых партнеров в одном менструальном цикле (Никитин А.И., 1995). По данным европейского консорциума по ЭКО-мониторингу при европейском сообществе репродукции человека и эмбриологии (ESHRE), частота наступления беременности в программе ЭКО в среднем составляет 21-28,4% (Andersen A.N., 2014). При этом наступление желанной беременности в здоровой семье лишь дело времени, тогда как у супругов с бесплодием каждая попытка ЭКО требует значительных материальных и моральных затрат.

Таким образом, повышение эффективности лечения с помощью ВРТ является актуальной задачей современной медицины (Mastenbroek S., 2013). Чрезвычайно важными остаются вопросы обследования и подготовки супружеских пар к

проведению ЭКО с учетом многообразия этиологических и патогенетических факторов бесплодия (Микаелян В.Г., 2005, Яковенко Е.М., 2010).

Новым методом лечения пациенток с различными формами бесплодия является внутривлагалищная аутолимфоцитотерапия (ВАЛТ), которая может использоваться в программе ЭКО для повышения эффективности ВРТ.

Цель 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

Предложен метод внутривлагалищной аутолимфоцитотерапии при лечении пациенток с бесплодием, включенных в программу ЭКО, позволяющий

значительно повысить показатели частоты наступления беременности, а также оптимизировать применение вспомогательных репродуктивных технологий.

Нами 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.

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 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.

Методология и методы исследования

При написании работы применялась клинические и анкетные методы исследования. Исследование носило проспективный характер. Теоретической основой данной работы послужили научные труды отечественных и зарубежных исследователей.

Степень обоснованности и достоверности полученных результатов

Высокая степень обоснованности и достоверности результатов, выводов и заключений диссертационной работы обусловлена достаточным количеством обследованных больных, подобранных с учетом разработанных критериев включения, адекватным подбором методов исследования, а также высокоточной статистической обработкой результатов с использованием пакета профессиональных программ статистического анализа.

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 диссертации 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 ГБОУ ВПО Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации.

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.

Внедрение результатов в практику

Уточнена роль иммунной системы в процессе имплантации эмбриона в полости матки. Предложен комбинированный метод лечения воспалительных заболеваний органов малого таза, как самой частой причины нарушений в репродуктивной сфере. Предложены принципы ведения пациенток с различными формами бесплодия, включенных в программу ЭКО.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует паспорту научной специальности: 14.01.01 - акушерство и гинекология – область медицинской науки, занимающаяся изучением этиологии, патогенеза, диагностики, лечения и профилактики заболеваний женской репродуктивной системы. Диссертация соответствует областям исследования: пункты № 15, № 20. Отрасль науки: медицинские науки.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, из них 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

Объем и структура диссертации

Диссертация включает в себя введение, 4 главы, выводы, практические рекомендации список сокращений 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).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

За период с 2009 по 2014 годы в рамках 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.

Критерии включения: супружеские пары с женским фактором бесплодия, с воспалительными заболеваниями органов малого таза в анамнезе, супружеские пары с неоднократными безуспешными попытками ЭКО.

Критерии исключения: злокачественные новообразования; тяжелая экстрагенитальная патология; тяжелые нарушения иммунной системы, включая ВИЧ; преждевременное истощение яичников.

По принципу сопоставимости исследуемых групп, пациентки, включенные в исследование были разделены на 2 однородные по возрасту, этиологии бесплодия и сопутствующими заболеваниями группы. Комплексное клиническое обследование женщин проводили по общепринятой схеме. Диагностика инфекционного статуса включала следующие этапы: исключение инфекций, входящих в TORCH-комплекс, микроскопию вагинального мазка, окрашенного по Грамму, посев вагинального отделяемого для выявления и оценки факультативно-анаэробной группы микроорганизмов, ПЦР-диагностику на ИППП. Для оценки состояния влагалищной части шейки матки производили расширенную кольпоскопию и жидкостную онкоцитологию. Функциональное состояние гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы оценивали по уровню гипофизарных (ФСГ, ЛГ, Прл) и половых стероидных гормонов (эстрадиол, прогестерон, тестостерон) в плазме крови. Гистеросальпингографию проводили для оценки состояния полости матки и маточных труб. При показаниях производилась офисная гистероскопия. Проводили УЗИ органов малого таза.

Оценка иммунологического статуса пациенток до и после лечения во всех группах проводилась по следующим показателям: абсолютное количество в крови лейкоцитов, абсолютное и относительное содержание лимфоцитов, а также их субпопуляций: хелперов CD 3+ CD 4+; цитотоксичных Т-клеток CD 3+CD 8+; активированных Т-лимфоцитов CD 3+DR+; В-лимфоцитов CD 19+; естественных киллерных клеток CD 16+CD 56+.

Всем пациенткам основной группы (n=40) за 3 месяца до предполагаемого экстракорпорального оплодотворения производили курс внутривлагалищной аутолимфоцитотерапии (ВАЛТ) по следующей методике:

1. После забора 10-20 мл крови осуществляли получение лейкоцитарной суспензии. Далее проводили подсчет клеток в камере Горяева и проверку препарата на чистоту клеточной популяции и жизнеспособность клеток, концентрацию клеток доводили до 10^6 - 10^7 кл/мл.

2. Полученные клетки ресуспензировали в культуральной ростовой среде или в стерильном изотоническом растворе натрия хлорида. Клетки культивировали совместно с иммуномодуляторами (имунофан) в течение 4-6 часов, при 37°C в атмосфере, содержащей 5% CO₂, и при 95% влажности. Затем клетки двукратно отмывали. Отмытые клетки ресуспензировали в 1 мл стерильного изотонического раствора натрия хлорида (0,9%). Проводился подсчет клеток в камере Горяева и проверка препарата на чистоту клеточной популяции и жизнеспособность клеток.

3. Внутривлагалищное введение аутолимфоцитов, активированных имунофаном, проводилось в условиях дневного стационара под контролем врача гинеколога. Взвесь аутолимфоцитов вводилась в 5,0 мл стерильного физиологического раствора 1-2 раза в неделю, в количестве 6-10 процедур. Экспозиция составляла 40-60 мин. Процедуру начинали с введения 1×10^6 кл/мл клеток 1 раз в неделю, постепенно повышая дозу до 1×10^7 кл/мл.

При выявлении у пациенток обеих групп признаков вульвовагинальной инфекции проводили соответствующее лечение: больные контрольной группы получали только традиционное лечение в зависимости от этиологического

фактора развития инфекции; у пациенток основной группы наряду с традиционными методами лечения применялась ВАЛТ.

Терапевтическую эффективность определяли через 12-14 дней (первое контрольное обследование) и через 28-31 день (второе контрольное обследование) после окончания лечения. Излечение фиксировалось в случае отсутствия жалоб, клинических и лабораторных признаков инфекционного процесса, о положительной динамике свидетельствовало отсутствие жалоб при сохранении лабораторных признаков. Отсутствие эффекта от терапии диагностировали при наличии тех же жалоб или усилении симптомов заболевания.

Всем пациенткам проведено лечение бесплодия методом ЭКО и ПЭ. 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 гонадотропинрилизинг-гормонов) или «короткой» (без них) схеме.

Протокол стандартной схемы ЭКО:

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

Эффективность программы ЭКО оценивали по частоте имплантации из расчета на один эмбрион, частоте наступления беременности на цикл стимуляции овуляции и показателя живой рождаемости.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась на персональном компьютере в табличном процессоре MS EXCEL version 7.0. с использованием программы «Statistic», версия 7.0 StatSoft Inc. (США) с использованием методов параметрической и непараметрической статистики. Для выявления различий средних между группами использовался однофакторный дисперсионный анализ. Две любые группы сравнивались между собой 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).

Результаты исследования и их обсуждение

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.

Изучение акушерского анамнеза пациенток в основной группе показало: наличие беременностей в анамнезе у 18 (45%), из них родов - у 5 (27,78%), искусственных абортов - 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 1).

Таблица 1. 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%)

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 сальпингоофорит или обострение - у 3 (7,5%) и 3 (10%), остатки плодного яйца - у 2 (5%) и 3 (10%), после чего производилось повторное выскабливание.

При изучении гинекологического анамнеза установлена высокая частота перенесенных воспалительных заболеваний органов малого таза (ВЗОМТ) (55% и 53,3% по группам, соответственно), а также специфических и неспецифических вульвовагинитов. Большая часть пациенток имела тенденцию к рецидивирующему течению инфекции – 42,5% (17 пациенток) в основной группе и 46,7% (14 пациенток) в группе сравнения. Возможно, это и послужило основной причиной неудачных попыток ЭКО и ПЭ у данного контингента пациенток. Это дает основание полагать, что бактериальный вагиноз и специфические инфекции следует считать фактором высокого риска неудач при попытках ЭКО. 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 (Рисунок 1).



Рисунок 1. Особенности гинекологического анамнеза.

Исследование видового и количественного состава микроценоза цервикального канала и полости матки показало, что наиболее характерной особенностью микробиотипов у пациенток с хроническими ВЗОМТ является преобладание в них полимикробных ассоциаций, включающих факультативных анаэробов: кишечная палочка - у 17,1% больных, стафилококки – у 11,4%, энтерококки – у 7,1%, стрептококки группы В – у 7%. В последнее время ряд публикаций свидетельствуют о высокой частоте обнаружения анаэробных бактерий типа гарднерелл – 20-60% (Байрамова Г. Р., 2012), что соответствует нашим данным (17,1%). По современным данным значимую роль в развитии ВЗОМТ занимает условно-патогенные организмы, что соответствует нашим результатам (Бондаренко К.Р., 2014; Sharma H., Tal R., 2014). В развитии заболевания имеет значение не наличие перечисленных микроорганизмов, а их количество, что приводит к дисбиозу и снижению местной резистентности.

Следует отметить, что в микробных ассоциациях, ответственных за развитие хронических ВЗОМТ, удельный вес генитальных микоплазм составил 17,2%, уреоплазм 28,6%, что соответствует эпидемиологическим показателям распространенности (10-30%). Степень патогенности данных инфекций до сих пор дискуссионна. Исследования последних лет показывают, что их патогенность реализуется при достижении достаточного уровня роста и диссеминации, а также играет значение вирулентность конкретного штамма. К провоцирующим факторам относятся: сопутствующая ко-инфекция, нарушения в синтезе гормонов, беременность, изменения в системе иммунитета и интерферонового статуса (Кубанова А.А., 2009; Карапетян Т.Э., 2011). Среди здоровых лиц широко распространенным является бессимптомное носительство микоплазм. Во многих случаях они вызывают латентную инфекцию, которая под влиянием различных стрессовых факторов может перейти в хроническую рецидивирующую или острую форму. 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 (Рахматулина М.Р., 2011; Zhang J.J., 2012). 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 (Кисина В.И., 2012).

В 20% случаев единственным инфекционным агентом при хронических ВЗОМТ был вирус простого герпеса. По данным ряда авторов (Glinšek Biškur U, 2015), отмечается выраженная тенденция к росту этиологического влияния вирусной инфекции (у 28% больных хроническими эндометритами выявляется только вирусный антиген, у 56% больных он сочетается с бактериями), что может объясняться частым приемом антибактериальных и глюкокортикоидных препаратов, приводящих к угнетению иммунитета (Рисунок 2).

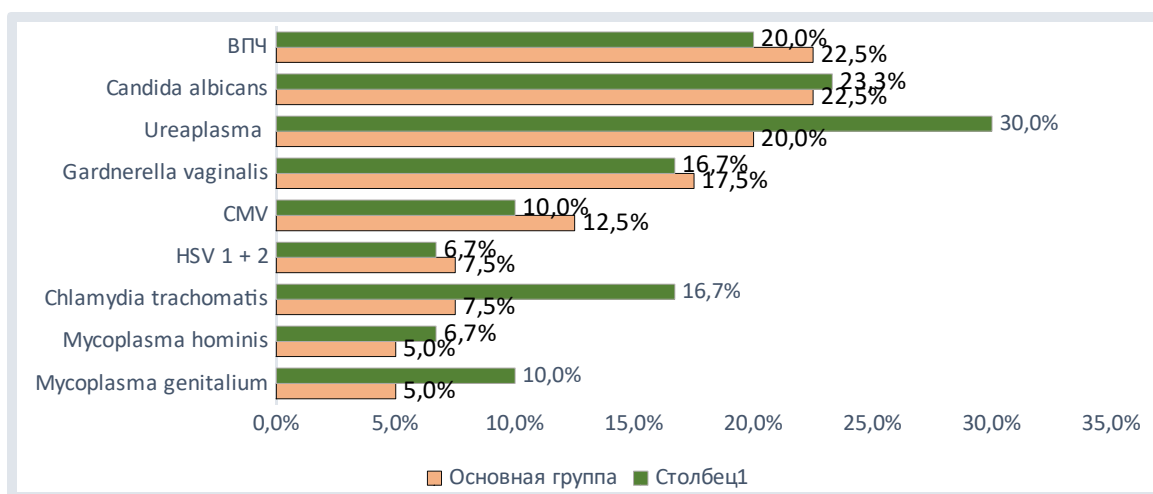


Рисунок 2. Инфекционный профиль пациенток обеих групп.

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. Поэтому этиотропная антибактериальная терапия хронических воспалительных заболеваний женских половых органов представляется малоэффективной и зачастую нецелесообразной из-за отсутствия объекта воздействия и дополнительного напряжения защитных сил организма.

Сравнивая эффективность традиционной терапии ВЗОМТ и комплексного лечения с использованием технологии ВАЛТ, можно наглядно продемонстрировать ряд преимуществ последнего.

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%). 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 повторного курса специфического лечения. Таким образом, комплексная терапия с применением аутолимфоцитов достоверно эффективнее традиционной этиотропной терапии.

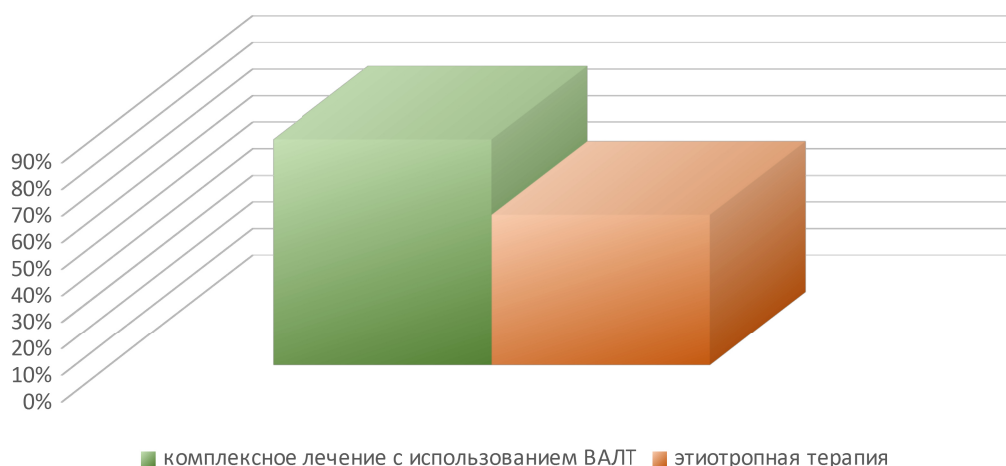
При втором контрольном исследовании из всех пациенток какие-либо проявления инфекции было выявлено у 3 (7,5%) пациенток основной группы и у 7 (23,3%) группы сравнения. Заслуживает внимания тот факт, что указанные пациентки страдали рецидивирующим течением вульвовагинальной инфекции и у 66,7% из них была выявлена смешанная форма инфекции (Таблица 2).

Таблица 2. Терапевтическая эффективность традиционного и комплексного лечения вульвовагинальной инфекции.

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)

При изучении микробной флоры влагалищного отделяемого после курса лечения нормализация микрофлоры произошла у 34 (85%) пациенток основной и у 17 (56,7%) группы сравнения (p<0,05). Таким образом, с позиции микробиологических критериев излеченности эффективность комплексного метода выше (Рисунок 3).



p<0,05

Рисунок 3. Эффективность комплексной и этиотропной терапии по результатам микробиологического исследования.

Таким образом, применение комплексной терапии с использованием ВАЛТ позволило достоверно снизить количество осложнений медикаментозной этиотропной терапии, показатель частоты рецидивирования вульвовагинальной инфекции по сравнению с традиционными методами лечения и может быть признано целесообразным у больных с рецидивирующим течением вульвовагинитов, особенно при смешанных формах.

Общеизвестно, что одним из ключевых звеньев патогенетического механизма развития хронических воспалительных заболеваний женских половых органов является нарушение функции иммунной системы (Медяникова И.В., Кравченко Е.Н., 2010; Летяева О.И., Гизингер О.А., 2013; Leyssens A., Vanhoenacker F.M., 2011). В комплексе традиционной терапии в дополнение к этиотропным препаратам обычно используются различные методы иммуностимуляции, как специфические, так и неспецифические (Леваков С.А., Кедрова А.Г., 2013). Однако, зачастую они носят императивный характер. Реакция же организма на их введение бывает неоднозначной.

В настоящем исследовании была оценена динамика показателей различных звеньев иммунной защиты в результате традиционного лечения и комплексного с использованием одного из вариантов экстракорпоральной иммунотерапии у пациенток с хроническими воспалительными заболеваниями органов малого таза и бесплодием.

Иммунные реакции оценивали по трем эффекторным звеньям: фагоцитарному, клеточному и гуморальному. При иммунологическом контроле до начала терапии установлено, что хронические воспалительные заболевания органов малого таза не сопровождались лейкоцитозом. Аналогично этому, абсолютное и относительное содержание нейтрофилов существенно не отличалось от нормы. В то же время, фагоцитарная активность нейтрофилов, отражающая поглотительную способность данных клеток, оказалась сниженной. Это согласуется с результатами ранее проведенных исследований (Бондаренко К.Р., Озолина Л.А., 2014), свидетельствующих о выраженном угнетении как поглотительной, так и микробиоцидной активности нейтрофилов при наличии длительно текущего воспалительного процесса.

Изучение состояния клеточного звена показало, что у пациенток с хроническим воспалительным процессом гениталий имел место относительный и абсолютный лимфоцитоз на фоне выраженного дисбаланса субпопуляций Т-клеток: снижения как абсолютного, так и относительного содержания Т-лимфоцитов, изменения иммунорегуляторного индекса за счет преобладания Т-

хелперов, повышения количества нулевых лимфоцитов. Таким образом, у большинства больных не было реакции Т-лимфоцитов на воспалительный процесс, что, по-видимому, связано с блокадой рецепторов на поверхности клеток продуктами метаболизма микроорганизмов, циркулирующими иммунными комплексами и другими факторами. Снижение Т-лимфоцитов может быть и генетически детерминировано, что само по себе предрасполагает к хронизации воспалительного процесса (Бессмертная В.С., 2009). Рост числа нулевых лимфоцитов, в свою очередь, объясняется стимуляцией лимфопоэза или задержкой созревания лимфоцитов. Чаще это наблюдается при длительно текущих воспалительных заболеваниях, когда в очаг воспаления уходят наиболее функционально активные Т- и В-лимфоциты, а менее активные, незрелые или стареющие, формы остаются в кровотоке и увеличивают удельный вес нулевых клеток (Лесков В.П., Чередеев А.Н., 2005).

Кроме того, у больных с хроническими воспалительными заболеваниями органов малого таза отмечалось некоторое снижение абсолютного и относительного количества В-лимфоцитов, что можно связать с истощением пула этих клеток или блокадой рецепторов продуктами иммунных реакций или метаболитами микроорганизмов. Очевидно, именно регрессия количественного уровня в сочетании с угнетением секреторной функции В-лимфоцитов определяет относительную гипоиммуноглобулинемию, выявленную более чем у половины (51,7%) пациенток с хроническим воспалительным процессом гениталий.

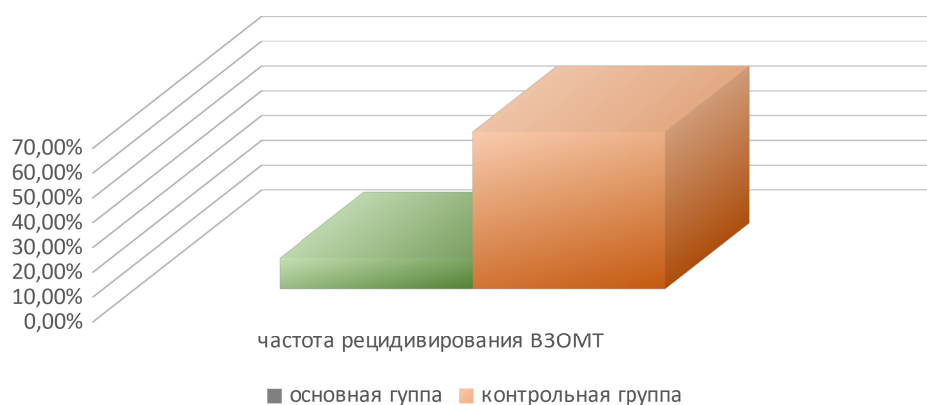
Следует отметить, что в результате проведенного лечения у 85% пациенток основной группы наблюдалась стимуляция клеточного звена иммунитета, увеличилась фагоцитарная активность нейтрофилов, количество В-лимфоцитов, снизилось количество иммуноглобулинов М (Таблица 3). Очевидно, комплексное влияние активированных лимфоцитов, а также стимуляция процессов, запускающих каскад клеточных и гуморальных иммунных реакций, направленных на усиление защитных способностей организма. Это приобретает особое значение в условиях иммунодепрессии, вызванной хроническими и вялотекущими воспалительными процессами.

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	236,4±14,2	241,3±15,7	278,5±19,8	265,9±21,3
IgM, mg%	50-250	276,1±15,6	267,3±14,2	152,6±15,3	257,7±12,7
IgG, mg%	700-2200	1442,5±17,6	1431,6±12,5	1780,9±12,3	1345,6±11,2
Лейкоциты, тыс.	4,3-10	9,2±0,68	8,4±0,72	7,7±0,23	7,9±0,31
Лимфоциты, %	25-40	21,6±2,1	22,7±2,5	22,1±1,8	22,5±1,9
Лимфоциты, abs	1,1-4,0	1,8±0,16	2,1±0,29	1,7±0,32	1,9±0,21
Моноциты, %	2-8	2,4±0,7	2,3±0,6	5,7±1,2	2,4±0,5
Моноциты, abs	0,1-0,8	0,12±0,03	0,12±0,05	0,36±0,06	0,13±0,03
Гранулоциты, %	55-80	54,1±1,2	53,9±0,9	64±1,5	55,1±1,7
Гранулоциты, abs	2,4-8,0	2,3±0,9	2,2±1,3	3,8±1,1	2,4±0,7
T-cell (CD3+), %	60-85	62,3±2,4	64,3±2,1	67,3±1,9	68,2±1,7
T-cell(CD3+), abs	800-2200	1111±29,4	1126±32,7	1341±24,3	1178±28,6
T-help(CD3+CD4+), %	29-60	27,3±2,8	27,7±3,4	39,4±4,3	28,1±1,7
T-help(CD3+CD4+), abs	600-1600	506,5±5,3	520,7±5,7	1230±5,6	607,3±6,1
T-sup(CD3+CD8+), %	11-38	22,3±1,6	23,5±1,5	24,6±1,2	23,9±2,1
T-sup(CD3+CD8+), abs	300-800	429,6±17,3	467,7±13,6	502,3±12,7	498,4±11,2
B-cell(CD19+), %	6-22	24,2±1,1	24,8±0,8	18,3±2,1	23,1±0,7
B-cell(CD19+), abs	100-500	523,5±10,1	519,3±12,3	321,3±9,1	517,4±11,8
NK cell (CD3-CD16+56+), %	5-30	4,6±1,8	3,9±1,1	11,5±1,9	6,1±1,7
NK cell (CD3-CD16+56+), abs	100-600	98,9±9,3	91,1±11,2	345,7±12,6	234,3±11,9
T-NK cell (CD3+CD16+CD56+), %	0-5	3,1±0,6	3,8±0,7	3,9±0,5	3,7±0,9

Таблица 3. Изменения иммунного статуса у больных с инфекцией органов малого таза на фоне традиционного лечения и комплексного лечения.

$p < 0,05$

При оценке отдаленных клинических результатов комплексного применения аутолимфоцитотерапии в лечении ВЗОМТ заслуживает особого внимания отсутствие признаков обострения в течение полугода у 87,5% пациенток в сравнении с 36,6% женщин, получавших традиционную терапию. Длительный стойкий противорецидивный эффект комплексного лечения обусловлен, вероятно, именно адекватной коррекцией вторичных полисистемных нарушений, повышающей сопротивляемость организма в целом (Рисунок 4).



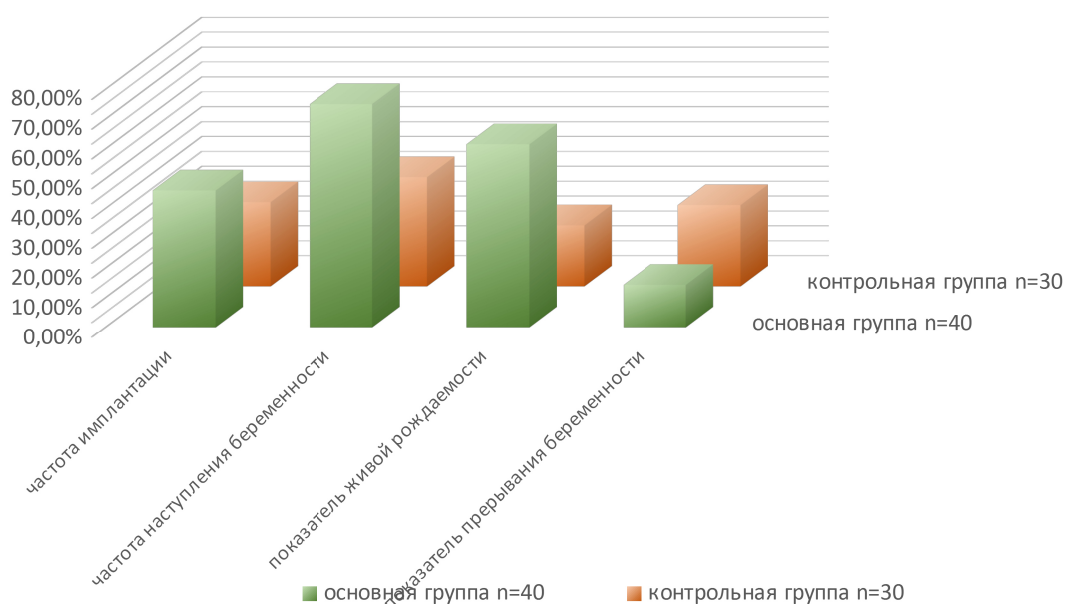
$p < 0,05$

Рисунок 4. Частота рецидивирования ВЗОМТ у пациенток обеих групп после проведенного лечения.

Следуя поставленным задачам исследования пациенткам основной группы в рамках подготовки к процедуре ВРТ, проводился курс ВАЛТ. Процедура ЭКО была произведена в 68 случаях в обеих группах (в основной группе у 2 пациенток наступила самопроизвольная беременность). 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.

Частота имплантации (на перенос эмбриона) в основной группе составила 46%, в группе сравнения – 28,3%, при этом различия между данными показателями оказались статистически значимыми ($p=0,04$).

Проведенное лечение в основной группе привело к наступлению беременности у 26 пациентки (65%), у троих из них - многоплодная беременность. 2 беременности наступили самопроизвольно в период подготовки к ЭКО. Возможно, комплексный подход к обследованию и лечению данных пациенток привел к нормализации гомеостаза, улучшению имплантации, спонтанной овуляции, а также условий для вынашивания плода. Таким образом, 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. Из чего следует, что проведение курса ВАЛТ в основной группе достоверно повысило результат успешного исхода программы ЭКО (Рисунок 5).



$p < 0,05$

Рисунок 5. Результаты лечения бесплодия.

Большая часть наступивших беременностей 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 и своевременную комплексную сохраняющую терапию у 7 пациенток (у 17,9% из пациенток с наступившей беременностью) пролонгировать беременность не удалось. 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.

Данные результаты так же свидетельствуют о благоприятном влиянии ВАЛТ на вынашивание беременности. Возможно, это связано с долгосрочным подавлением воспалительных процессов, что обеспечивает полноценную имплантацию, а также достаточную рецепторную активность эндометрия.

Полученные данные говорят о тесной взаимосвязи между функциональным состоянием иммунной и репродуктивной систем. Результаты проведенных исследований позволили нам разработать алгоритм ведения пациенток с бесплодием в программе ВРТ, который позволит оптимизировать лечение у данного контингента больных (Рисунок 6).

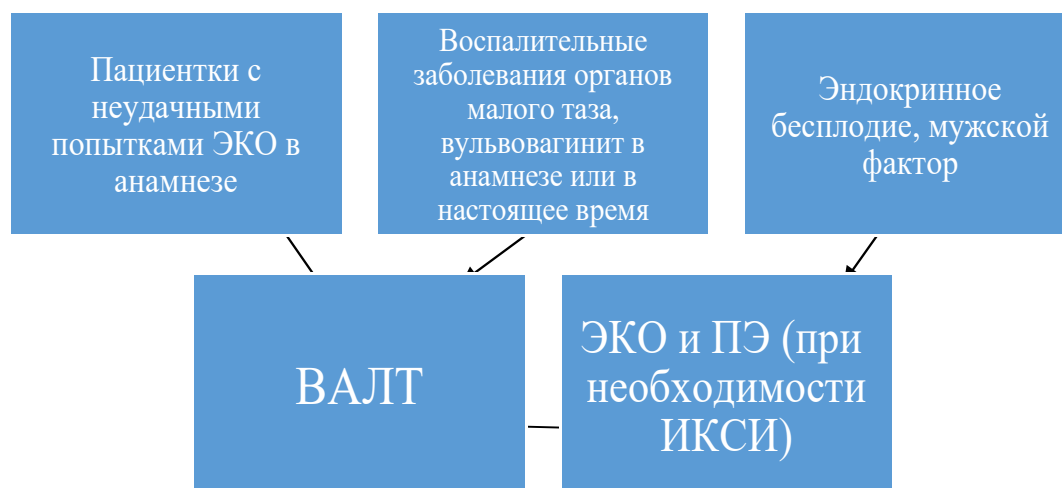


Рисунок 6. Алгоритм ведения пациенток с бесплодием в цикле ВРТ

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.

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* имунофаном 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Esina E.V.**, Alyautdina O. S. An Experience of Intravaginal Auto Lymphocyte Therapy in Treatment of Female Patients with Infertility: A Case Report // British Journal of Medicine & Medical Research – 2012 - 2(2): P.150-156
2. **Есина Е.В.**, Аляутдина О.С. Роль иммунных взаимодействий в развитии бесплодия: обзор литературы // **РМЖ** – 2013 - №1 – С.44
3. **Есина Е.В.**, Аляутдина О.С. Иммунологический подход к лечению женщин с бесплодием: метод внутривлагалищной иммунотерапии // **Врач** – 2015. – № 8. - С. 55-57
4. **Есина Е.В.**, Аляутдина О.С. Новые методы в решении проблемы бесплодия: применение внутривлагалищной аутолимфоцитотерапии // **Естественные и технические науки** – 2015 - №4 – С.55-60
5. **Есина Е.В.**, Аляутдина О.С. Применение метода внутривлагалищной иммунотерапии в лечении женщин с бесплодием // Sciences of Europe – 2016 - №6(6): 52-54
6. Аляутдина О.С., **Есина Е.В.** Метод внутривлагалищной иммунотерапии в лечении женщин с бесплодием // International Journal of Applied and Fundamental Research – 2016 - №3(4): P.552-555
7. **Есина Е.В.**, Аляутдина О.С. Иммунологические методы лечения женщин с вульвовагинальной инфекцией в период предгравидарной подготовки. // **Врач** – 2019. – № 1. - С. 50-55

Список сокращений

ВАЛТ	внутривлагалищная аутолимфоцитотерапия
ВЗОМТ	воспалительные заболевания органов малого таза
ВРТ	вспомогательные репродуктивные технологии
ИППП	инфекции, передающиеся половым путем
ПЦР	полимеразно-цепная реакция
ПЭ	перенос эмбрионов
УЗИ	ультразвуковое исследование
ЭКО	экстракорпоральное оплодотворение