

**ВАРТАНЯН ЭММА ВРАМОВНА**

**ПРЕОДОЛЕНИЕ ПОВТОРНЫХ НЕУДАЧ ВРТ**

14.01.01- акушерство и гинекология

**А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**

**диссертации на соискание ученой степени**

**доктора медицинских наук**

Москва  
2011

Работа выполнена на кафедре акушерства и гинекологии с курсом перинатологии ГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов» и Клиники вспомогательных репродуктивных технологий «Дети из пробирки».

**Научный консультант -**

заведующий кафедрой акушерства  
и гинекологии с курсом перинатологии  
ГБОУ ВПО РУДН заслуженный деятель  
науки, д.м.н., профессор

**Радзинский В.Е.**

**Официальные оппоненты:**

Главный научный сотрудник ГУ МОНИИАГ  
д.м.н., профессор

**Назаренко Т.А.**

профессор кафедры акушерства и гинекологии  
педиатрического факультета ГБОУ ВПО РНИМУ  
им.Н.И.Пирогова Минздравсоцразвития  
д.м.н., профессор

**Каппушева Л.М.**

заведующая отделением вспомогательных  
технологий в лечении бесплодия ФГБУ НЦ АГ и П  
им. В.И. Кулакова Минздравсоцразвития России  
д.м.н., профессор

**Калинина Е.А.**

**Ведущая организация:** ГБОУ ВПО Первый московский государственный  
медицинский университет имени И.М. Сеченова

Защита диссертации состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2011 г. в \_\_\_ часов  
на заседании диссертационного совета Д212.203.01 в Российском  
университете дружбы народов по адресу: 117333, г. Москва, ул. Фотиевой,  
д.б.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке Российского  
университета дружбы народов (117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.б).

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2011 года.

**Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор медицинских наук,  
профессор**

**И.М. Ордянец**

## **ВВЕДЕНИЕ.**

**Актуальность проблемы.** Нобелевская премия 2010 года была присуждена 85-летнему британскому ученому Роберту Эдвардсу и стала признанием того факта, что методы вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) открыли новую эру в демографии всего человечества.

Тем не менее, к началу XXI века проблема infertility супружеских пар с каждым годом увеличивается, и их число колеблется от 12 до 30,0% (Кулаков В.И., 2007; Акопян А.С., 2008), а также приобретает существенное социально-демографическое и экономическое значение (В.И. Кулаков, 2006; В.Е. Радзинский, 2009; Амирова А.А., Назаренко Т.А., Мишиева Н.Г., 2010).

Методы ВРТ являются наиболее эффективными в преодолении различных форм мужского и женского бесплодия. Они развиваются и совершенствуются, с их помощью в мире родилось более 2 млн детей. Однако, несмотря на все достижения, частота развития беременности все еще остается сравнительно низкой и составляет 25-30% на цикл лечения, причем за последние 10 лет этот показатель значительно не изменился (А.N. Andersen и соавт., 2005; K. Dietrich, B.C.J.M. Fauser, P. Devroey, G.Griesinger, 2007).

По всей видимости, это связано с большим числом разнообразных факторов, влияющих на репродуктивный процесс. Ряд авторов, разделяя мнение о влиянии мужского и женского факторов на зачатие и развитие эмбриона, обращают внимание, что сочетание этих составляющих может колебаться от 40 до 80% (Охтырская Т.А. и соавт., 2010).

Поиск прогностических критериев эффективности ВРТ представляет широкое поле для научно-практических исследований, что подтверждают материалы 27-й ежегодной конференции Европейского общества репродукции и эмбриологии человека (Стокгольм, 2011).

В литературе, посвященной проблемам ЭКО и невынашивания беременности, описаны различные венозологические структурно-функциональные изменения в эндометрии, которые могут быть самостоятельной причиной нарушений репродуктивной функции: расстройства субэндометриального кровотока (Алиева К.У., 2007; Белоусов Д.М., 2007; Келлет Е.П. и соавт., 2010), несоответствие структуры эндометрия дню менструального цикла (Задорожная Т.Д., 2006; Гайворонская О.С, 2007; Серебренникова К.Г., 2007), склеротические (Урлев В.А. и соавт., 2010) и иммунологические изменения в эндометрии (Линде В.А. и соавт., 2008).

В Российской Федерации, в структуре внутриматочной патологии преобладает хронический эндометрит, более чем в два раза превышая распространенность других заболеваний (Феоктистов А. А., 2006). Его частота наиболее высока (17,2-67,7%) у пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием, в т.ч. с имеющимися в анамнезе неудачами экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) (Корсак В.С., 2005; Feghali J., 2003), при невынашивании беременности (34-73,1%) (Сидельникова В.М., Сухих Г.Т., 2010; Казарян С.М., 2003; Серова О.Ф., 2005). Вместе с тем нет четких критериев эффективности лечения эндометрита, что связано с недостаточной изученностью этиологии и патогенеза данной нозологии.

Лекарственная терапия хронического эндометрита также недостаточно результативна, о чем свидетельствует его высокая частота у женщин с нарушением репродуктивной функции, многократно применявших медикаментозное лечение (Дубницкая Л.В., Назаренко Т.А.,) Включение физических методов в алгоритмы реабилитации после гинекологических операций и лечения хронического эндометрита повышает частоту наступления и вынашивания беременности, оказывает позитивное влияние на состояние рецепторного аппарата эндометрия и маточную гемодинамику. Однако эти методы лечения, широко распространенные ранее, на сегодняшнем этапе развития медицины, оказались незаслуженно забытыми

(Стругацкий В.М., 2005; Кузьмичев Л. Н., 2006; Серов В.Н., 2006; Радзинский В.Е., 2007).

В связи с изложенным становится очевидной необходимость выявления значимых диагностических критериев и внесения обоснованных уточнений в представлении о патогенезе структурно-функциональных изменений эндометрия, препятствующих реализации репродуктивной функции женщин с различными формами женского бесплодия.

В ходе естественного оплодотворения приходится полагаться лишь на суммарные показатели, характеризующие состояние половой системы в момент обследования – параметры спермограмм, характеристики циклической работы яичников, уровни гормонов и т.д.

Функционирование репродуктивной системы, как мужчин, так и женщин осуществляется при взаимодействии иммунной и эндокринной систем (Яманова М.В., Салмина А.Б., 2009; Айзикович Б.И., 2009), но единого понимания этих механизмов нет. У женщин происходящие во время менструального цикла и беременности изменения контролируются гипоталамо-гипофизарной системой и являются прямым результатом индуцированного гормонами ремоделирования тканей яичника и слизистой матки. Действие гормонов на клеточном уровне реализуется через вовлечение множества пептидных ростовых факторов, среди которых особая роль отводится цитокинам. Наряду с регуляцией овариальной функции клетки иммунной системы и продуцируемые ими цитокины выполняют важную роль в подготовке эндометрия к имплантации эмбриона, а впоследствии – в сохранении беременности ( Norwitz M.D. et al., 2001; Jones R.L. et al., 2004). В связи с этим в нашей работе исследование цитокинового профиля проведено для определения прогностических критериев эффективности программ ВРТ.

В последние годы особое внимание уделяли изучению влияния системы HLA у бесплодных супружеских пар с позиции повышения результативности методов ВРТ (Цатурова К.А, 2010): достоверно доказано,

что сенсбилизация беременных к отцовским HLA-антигенам плода, сходство супругов по HLA, присутствие в HLA-фенотипе родителей определенных антигенов приводит к спонтанным выкидышам, тяжелым формам гестоза, врожденным порокам развития плода, снижению сопротивляемости потомства к неблагоприятным факторам окружающей среды, что и явилось причиной изучения HLA-системы в нашей работе, для уточнения влияния роли HLA-системы II класса в формировании бесплодия и неудач ЭКО.

Особая роль в изучении этиологии и патогенеза нарушений функции репродукции (НФР) принадлежит анализу генетических факторов. С учетом увеличивающейся популяционной частоты генетических вариаций возрастает частота браков, где нарушенная репродуктивная функция супругов связана с генетическими факторами. Примерно в половине случаев мужское бесплодие связано с нарушениями сперматогенеза, обусловленное мутациями отдельных генов (Осадчук Л.В., и соавт., 2011; Joffe M., 2010). Исходя из несомненной значимости этой проблемы, мы решили изучить отдельные аспекты генетических нарушений при патоспермии у супружеских пар с неудачными программами ЭКО-ИКСИ в анамнезе.

**Цель работы:** разработать и внедрить систему лечебно-диагностических мероприятий по преодолению неудач ВРТ у супружеских пар.

**Задачи исследования:**

1. На основании клинико-анамнестической оценки супружеских пар с неудачными попытками ВРТ выявить причины неудач и определить клинические факторы риска для прогнозирования будущей беременности.
2. Исследовать состояние эндометрия у женщин с различными формами бесплодия (ультрасонографические, доплерометрические исследования, гистероскопическая визуализация слизистой матки, морфологическое исследование эндометрия).
3. Определить экспрессию рецепторов эндометрия к эстрогенам и

прогестерону во время предполагаемого «окна имплантации» иммуногистохимическим методом исследования и оценить изменения гормонального профиля у этих женщин.

4. Определить взаимосвязь аллельной принадлежности супружеских пар с неудачными попытками ЭКО в анамнезе по антигенам гистосовместимости II класса HLA-системы.

5. Провести анализ содержания про- и противовоспалительных цитокинов в фолликулярной жидкости женщин с неудавшимися попытками ВРТ в анамнезе и на этой основе оценить роль цитокинов в прогнозировании эффективности ВРТ.

6. Изучить влияние генетических факторов бесплодия (хромосомные вариации, мутации AZF, AR и CFTR) у мужчин с патоспермией на эффективность ВРТ.

7. Разработать и внедрить алгоритм обследования и лечения супружеских пар с длительным бесплодием в анамнезе и неудачными попытками ЭКО.

8. Определить информативность и прогностическую значимость изучаемых показателей в оценке эффективности разработанного алгоритма оптимизации программ ВРТ.

#### **Научная новизна исследования.**

Расширены представления о патогенетических механизмах формирования неудач использования программ ВРТ у женщин с бесплодием различного генеза. Получены новые данные о морфологии эндометрия и рецепции к стероидным гормонам в период предполагаемого «окна имплантации» при различных формах бесплодия.

На основании клинических, ультразвуковых, гормональных, микробиологических и морфологических исследований выявлены типовые структурно-функциональные нарушения эндометрия, снижающие частоту наступления и вынашивания беременности у пациенток с различными формами женского бесплодия.

Установлены изменения (снижение или повышение) экспрессии рецепторов (ЭР) слизистой оболочки матки к стероидным гормонам у пациенток с неудавшимися попытками ВРТ.

Показано, что одним из факторов, определяющих эффективность или неудачу ВРТ, является нарушение цитокин-опосредованных и клеточно-опосредованных механизмов регуляции репродуктивного процесса в организме: дисбаланс регуляторных цитокинов в сторону доминирования медиаторов с иммуносупрессорной, провоспалительной и проапоптогенной активностью, который происходит на пике стимулированной суперовуляции и свидетельствует о супрессорной реорганизации иммунорегуляторных механизмов фолликулогенеза.

Впервые дана характеристика цитокинового профиля микроокружения фолликула у женщин с двумя и более неудачными попытками ВРТ. Установлено, что усиление провоспалительного и иммуносупрессорного потенциала фолликулярных факторов ассоциируется со снижением уровня IL-8, IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, G-CSF цитокинов.

Впервые установлена частота встречаемости различных хромосомных вариаций у мужчин с патоспермией. Показана взаимосвязь генетических изменений, таких как различные хромосомные вариации, выявление мутаций в звене *AZF*, *AR*, *CFTR* с неудачными попытками ЭКО.

В результате выполненной работы получены новые данные, позволяющие расширить существующие научные представления о роли морфофункциональных характеристик эндометрия, системных нарушений иммунного и цитокинового статуса и комплекса гистосовместимости HLA у супружеских пар, а также значение генетических аномалий в регуляции фертильной функции мужчин с патоспермией, что позволило уточнить патогенетические механизмы неудач ВРТ.

На основании полученных результатов разработаны научно-методические подходы к прогнозированию, диагностике и лечению репродуктивных нарушений у супружеских пар с бесплодием и неудачными

попытками ЭКО в анамнезе, основанные на оценке морфофункционального состояния эндометрия, иммунологических исследований цитокинов и HLA-системы, а также изучении генетических изменений у мужчин с патоспермией.

### **Практическая значимость исследования.**

Показано, что у всех женщин с различными формами бесплодия имеют место однотипные структурно-функциональные изменения эндометрия, которые необходимо учитывать при подготовке к ВРТ.

Оптимизирована оценка готовности эндометрия к имплантации, в том числе в циклах ЭКО, что позволяет объективизировать формирование групп пациенток с учетом морфологического и ИГХ-исследования биоптатов, соскобов, аспириатов эндометрия и разработать рекомендации и новые стандарты подготовки к ВРТ.

Для коррекции структурно-функциональных нарушений эндометрия у женщин с различными формами бесплодия обоснован комплекс мероприятий, включающий: активную иммунотерапию, коррекцию биоценоза влагалища, гипосенсибилизирующую терапию, улучшение микроциркуляции и трофики, восстановление двухфазного менструального цикла, с широким использованием физиобальнеотерапевтических методов, для планирования беременности после устранения выявленных нарушений.

Используемый в нашей работе метод подготовки к программе ЭКО, включающий комплексную патогенетически обоснованную терапию с использованием иммунотерапии иммуноглобулином для внутривенного введения достаточно эффективен для достижения беременности у супружеских пар с совпадениями по HLA системе гистосовместимости II класса.

Разработан дифференцированный подход к выбору методов лечения при мужском бесплодии, заключающийся в следующем алгоритме: ЭКО/сперма донора – при азооспермии; ЭКО/ИКСИ – при астенотератозооспермии и олигоастенотератозооспермии; ЭКО/ИКСИ/ПГД –

при астенотерато- и олигоастенотератозооспермии; ЭКО/TESA – при obstructивной форме азооспермии; ЭКО/TESA/ПГД – при азооспермии, ассоциированной с нарушениями генов *AZF* и *AR*. Представленная тактика позволила значительно улучшить результаты лечения при бесплодии, обусловленном тяжелой патоспермией.

#### **Положения, выносимые на защиту.**

1. У пациенток с неудавшимися попытками ВРТ в анамнезе, при различных формах бесплодия, отмечаются системные однотипные нарушения репродуктивного здоровья.
2. Экспрессия рецепторов эндометрия к эстрогенам и прогестерону является прогностическим критерием наступления и сохранения беременности, а также основанием выбора методов подготовки пациенток к программам ВРТ.
3. Совместимость супружеских пар (50% и более) по аллелям генов системы HLA является маркером иммунных нарушений у женщин с бесплодием, коррекция которых повышает эффективность программ ВРТ.
4. Дисбаланс про- и противовоспалительных цитокинов в фолликулярной жидкости является патогенетическим звеном различных форм бесплодия и может быть прогностическим критерием эффективности программ ВРТ.
5. Особенности хромосомных вариантов и различных генетических нарушений, в частности, хромосомные вариации, мутации в звене *AR*, *AZF*, *CFTR* у мужчин с патоспермией определяют выбор метода ЭКО.
6. Разработанный лечебно-диагностический алгоритм подготовки к ВРТ позволяет выявить и провести эффективную коррекцию системных нарушений infertility, что снижает частоту неудач последующих программ ВРТ.

#### **Апробация работы**

Апробация работы состоялась 1.07.2011 на совместном заседании сотрудников кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии медицинского факультета и кафедры акушерства, гинекологии и репродуктивной медицины ФПК МР РУДН, протокол №21.

Участие автора в сборе материала и его обработке – более 90%, обобщении, анализе и внедрении в практику результатов работы – 100%. Все научные результаты, представленные в работе, автором получены лично.

Материалы диссертации доложены и обсуждены на: XIV международной конференции Российской ассоциации репродукции человека (РАРЧ) «Репродуктивные технологии сегодня и завтра» (Москва, 2004); 2 международном конгрессе «Актуальные вопросы вспомогательных репродуктивных технологий (проблемы и решения)(Москва, 2005); XVI международной конференции РАРЧ «Вспомогательные репродуктивные технологии сегодня и завтра» (Ростов-на-Дону, 2006); Втором международном конгрессе по репродуктивной медицине «Репродуктивное здоровье семьи» (Екатеринбург, 2008); Международной научно-практической конференции «Иммунологические аспекты репродукции человека» (Новосибирск, 2008); XX Ежегодной международной конференции РАРЧ «Репродуктивные технологии сегодня и завтра» (Нижний Новгород, 2010); Научно-практическом семинаре «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии», (Сочи, 2010); Современные аспекты репродуктивного здоровья, (Ереван, 2010); Международной научно-практической конференции «Инновационные технологии репродуктивной медицины» (Новосибирск, 2010); Научно-практической конференции с международным участием «Социально значимые проблемы в уроандрологии» (Москва, 2010); XXI Ежегодной международной конференции РАРЧ «Репродуктивные технологии сегодня и завтра» (Санкт – Петербург, 2011). По материалам диссертации опубликована 21 работа, в том числе 15- в изданиях, рекомендованных ВАК.

### **Объем и структура диссертации.**

Диссертация состоит из введения; обзора литературы; 5 глав, которые включают материалы и методы исследования, клинико-статистическую характеристику пациентов, результаты собственных исследований, обсуждение полученных результатов; заключения и выводов, практических рекомендаций, указателя использованной литературы. Диссертация изложена на 256 странице машинописного текста, содержит 62 таблицы и 8 рисунков. Указатель литературы состоит из 343 источников (162 из них на русском, 181 - на других языках).

### **Основное содержание работы .**

В соответствии с целью и задачами исследования все пациенты были разделены на 3 когорты: I – с женскими факторами бесплодия (323 супружеские пары с неудачными попытками ЭКО в анамнезе); II – с иммуногенетическими факторами бесплодия (238 супружеских пар с неудачными попытками ЭКО и с выявленной аллогенностью по HLA – системе); III – с превалированием мужских факторов бесплодия (243 супружеские пары, в которых мужья имеют признаки патоспермии). Всего обследовано 1608 пациентов.

Женщины, страдающие различными формами женского бесплодия, были обследованы в ГКБ №12, отделении вспомогательных репродуктивных технологий ЦКБ РАН, клинико-диагностической лаборатории «ФертиЛаб» и Клинике вспомогательных репродуктивных технологий «Дети из пробирки» в 2005-2010 гг. Группу сравнения составили 72 женщины без нарушений фертильности. У этих женщин была подтверждена нормальная структура эндометрия.

*Критерии включения:* супружеские пары с двумя и более неудачными попытками ЭКО в анамнезе.

*Критерии исключения:* женщины старше 45 лет, тяжелые сопутствующие заболевания.

### **Программа, материалы и методы исследования.**

После стандартного общеклинического обследования и получения информированного согласия супружеской пары нами проведены специализированные методы исследования.

Ультразвуковое исследование проводилось всем 804 женщинам по стандартной методике с применением датчиков (5 МГц) на аппаратах *Aloka SSD 1400, Aloka Rosound SSD 3500 SX* (Япония).

Эндоскопическое исследование (гистероскопия) проводилось 323 пациенткам с использованием оборудования фирмы *STORZ HALOGEN 150 201123 20* (Германия).

Спектральную доплерометрию сосудов матки проводили 804 женщинам по общепринятой методике с помощью аппарата *MyLab 70 XVision* на дни менструального цикла до лечения и после окончания лечения.

Спермиологический анализ эякулята у всех 804 обследуемых мужчин проводили в соответствии с критериями, изложенными в рекомендациях ВОЗ (WHO, 1999).

Определение гормонов в сыворотке крови у женщин осуществляли микроиммунофлуоресцентным методом. Гормональное исследование проводили на 5-7 и 21-22 дни менструального цикла.

Проводилась световая (обзорная) микроскопия биоптатов эндометрия на 8-10 и 21 день менструального цикла.

ДНК-типирование генов *DRB1, DQB1, DQA1* проводили методом ПЦР у 238 супружеских пар.

Цитогенетическое исследование проводили 238 супружеским парам второй когорты, по методике 72-часового культивирования ФГА-стимулированных лимфоцитов периферической крови с последующим дифференциальным окрашиванием (G-окраска), при использовании светового микроскопа *Axiophat Opton* с кратным увеличением объектива 100x и окуляров 15x. У каждого пациента было проанализировано не менее 13 метафаз.

Оценку иммунного и интерферонового статуса проводили 238 женщинам. Иммунный статус оценивали методом иммунотипирования лимфоцитов периферической крови и проточной цитофлуориметрии на аппарате “FACSCalibur” производства Becton Dickinson, США, с использованием соответствующих этим лимфоцитам моноклональных антител производства «Сорбент-Сервис», Россия.

В третьей когорте, у двух мужчин с патоспермией, для поиска микроделений хромосомы Y была применена методика мультиплексной ПЦР (мПЦР). Тест-система частичных *AZFc* делеций была разработана в лаборатории ДНК-диагностики ГУ МГНЦ РАМН с учетом основного набора Y-специфичных маркеров, использованных при детальном картировании микроделений *AZFc* региона (Kuroda-Kawaguchi et al., 2001; Repping et al., 2002). В качестве “внешнего положительного” контроля использовали ДНК фертильного мужчины, не имеющего микроделений Y-хромосомы.

Иммунологические исследования осуществлялись совместно с сотрудниками лаборатории клеточной иммунотерапии ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН, г. Новосибирск (руководитель лаборатории д.м.н., проф. Черных Е.Р.). В качестве исследуемого материала использовалась фолликулярная жидкость (ФЖ). Содержание в фолликулярной жидкости цитокинов (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-17, G-CSF, GM-CSF, MCP-1, MIP-1 $\beta$ ) оценивали методом проточной флуориметрии на 2-х лучевом лазерном автоматизированном анализаторе Bio-Plex Protein Assay System (Bio-Rad, США) с использованием тест-систем 17-Plex.

ИГХ реакции проводили в ступенчатых парафиновых срезах пероксидазно-антипероксидазным методом с демаркировкой антигенов в СВЧ - печи. Для визуализации реакций применяли универсальный пероксидазный набор LSAB+kit («Dako», США). Негативные контрольные реакции проводили с мышиной и кроличьей сывороткой (нормальный мышинный и кроличий иммуноглобулин). Ядра докрашивали гематоксилином

Майера. Использовали мышинные моноклональные антитела к ЭР (клон 1D5, «Dako», PPG5/10 «Diagnostic BioSystems», США) и прогестероновым (P) (клон 1A6 «Dako», США) рецепторам.

Для анализа наличия генетических дефектов эмбриона (ПГД) проводилась биопсия единичного blastomera на 6-8 клеточной стадии развития на 3 сутки развития. Для биопсии эмбриона использовался инвертированный микроскоп Olympus IX71, снабженный оптикой для наблюдения в контрасте Хоффмана и микроманипуляторами Narishige. Генетический анализ производился 20 пациентам при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Сперматозоиды получали путем использования открытых хирургических методов на яичке (TESA – тестикулярная экстракция/аспирация сперматозоидов).

Оплодотворение ооцитов методом ИКСИ (интрацитоплазматическая инъекция сперматозоидов) производилось при помощи инвертированного микроскопа Olympus IX70, оснащенного микроманипуляторами Narishige на стандартных средах.

Для индукции суперовуляции в лечебных целях использовались стандартные протоколы. У 508 женщин применялся «короткий» протокол с использованием диферелина (Ipsen, 0,1 мг) и пурегона (Organon, 100–300 ME) или меногона (Ferring, 75 ME). В оставшихся 121 случаях стимуляция суперовуляции проводилась по «длинному» протоколу с использованием тех же препаратов.

Трансвагинальная пункция (ТВП) фолликулов проводилась под ультразвуковым контролем с использованием аппаратов «Aloka SSD 1400».

После подсчета количества полученных ооцитов и оценки их качества по общепринятой балльной шкале (нормальные ооциты хорошего качества – 4-5 баллов; измененные – менее 4 баллов), ооциты и эмбрионы культивировали в 6-луночных планшетах в среде IVF (MediCult, Дания) при температуре 37<sup>0</sup>C во влажной атмосфере, содержащей 5% CO<sub>2</sub>.

Обработку спермы проводили методом *swim-up* с использованием среды Sperm preparation (MediCult, Дания). Процедура ИКСИ включала в себя оплодотворение с помощью инъекции единичного сперматозоида в ооцит (158 супружеских пар), когда снижена подвижность и нарушена морфология сперматозоидов у мужчин.

Перенос эмбрионов проводили под УЗ контролем на 3-4 день культивирования. Для переноса отбирали эмбрионы с наиболее высокой оценкой их качества.

Наступление клинической беременности диагностировали через 2 недели после эмбриопереноса у 804 женщин путем определения гормона беременности в-ХГЧ, и через 3 недели при ультразвуковом исследовании устанавливали число и локализацию имплантированных эмбрионов (312 женщинам).

Математическая обработка полученных результатов проводилась методами описательной, параметрической и непараметрической статистики на персональном компьютере с использованием программы STATISTICA ® 6.0.

### **Результаты исследования и обсуждение.**

В результате проведенного исследования установлено, что пациенты всех когорт с неудачными попытками ЭКО в анамнезе были сопоставимы по основным анализируемым параметрам. Выявлены патогенетические маркеры прогнозирования неудачных попыток ЭКО (и бесплодия в целом) в группах пациенток первой когорты.

Так, женщины первой группы первой когорты (трубно-перитонеальное бесплодие) отличаются следующими характеристиками: возрастной интервал от 36 до 39 лет; превалирование в анамнезе ОРВИ, хронических тонзиллитов, детских инфекций и заболеваний сердца; начало половой жизни – с 16 лет с одним половым партнером (78,2%); наибольшее число в анамнезе искусственных абортов (77%); более 3 попыток ЭКО в анамнезе (70%);

начало менархе после 14 лет (56,3%), чаще без нарушений (53%), длительность бесплодия более 5-10 лет (48,9%); преобладание операций по поводу диагностики и восстановления проходимости маточных труб (44,8% и 13,8% соответственно); преобладание вторичного бесплодия (44,6%); эктопических беременностей (35,6%), тубэктомии (31%); эндометриоза (26,4%); а также родов (25,3%). Среди инфектов наиболее часто были выявлены *C.albicans* и *Chl.trachomatis*.

Во второй группе первой когорты (эндокринное бесплодие) были более молодые женщины, в возрасте от 30 до 35 лет; с нарушениями менархе (86%); ранним началом половой жизни - до 16 лет, но в основном, с одним половым партнером (82,5%); у них отмечено превалирование первичного бесплодия (57,9%), длительность которого более 5-10 лет (68,4%); полименорея и межменструальные выделения отмечались у 50%; у каждой третьей имела место резекция яичников в анамнезе (29,8%); кисты яичников, эндометриоз и аденомиоз (21,5%, 19,3% и 16% соответственно); эндокринные нарушения (19%). В этой группе зарегистрировано наименьшее число перенесенных искусственных абортов (8,7%). Именно у этих женщин с эндокринным бесплодием практически, у каждой третьей, фиксировался длительный и нерегулярный цикл, что согласуется с представлениями о влиянии измененного гормонального фона на фертильную функцию (Яманова М.В., Салмина А.Б., 2009).

Для третьей группы первой когорты (эндометриоз) характерными являются: преобладание в анамнезе гастритов и циститов; наличие болезненного менструального цикла; оперативные вмешательства на органах брюшной полости и малого таза (67% и 31,6% соответственно); более 3-х попыток ЭКО в анамнезе (63,3%); превалирование первичного бесплодия (43%); в анамнезе до первых попыток ЭКО уже диагностировали эндометриоз (24%), миома матки с преобладанием субсерозных и интерстициальных узлов (20,2%); у них же было наибольшее число выкидышей в анамнезе (10,7%).

Для четвертой группы первой когорты (сочетанные факторы бесплодия) характерными являются: возрастной интервал от 26 до 29 лет; преобладание операций по поводу диагностики и восстановления проходимости маточных труб (89,2%); менархе до 14 лет (78,5%); превалирование в анамнезе кист яичников (67,8%); заболеваний шейки матки (64,3%); до 2-х попыток (в среднем 1,74) ЭКО в анамнезе (64,3%); нарушения цикла у половины пациенток; наличие более одного сексуального партнера (57,2%); длительность бесплодия 2-4 года (57,1%); детских инфекций (57%); превалирование в анамнезе эндокринных нарушений (39%); эндометриоза (32,1%); постоянное выделение в содержимом влагалища *S.albicans*, *G.vaginalis*, *U.urealiticum* в различных титрах; наибольшее число аборт (32%); хронических бронхитов (25%) и выкидышей (10,7%) в анамнезе.

Представленные данные убедительно свидетельствуют о том, что несмотря на различные формы бесплодия, определяемые у пациенток по доминирующим факторам бесплодия, четко прослеживается общность системных нарушений репродуктивного здоровья: длительное бесплодие, оперативные вмешательства на органах малого таза, порой неоднократные, большое число внутриматочных операций, наличие эндометриоза у значительной части пациенток, высокий инфекционный индекс. Кроме этого, длительное и неуспешное лечение бесплодия само по себе является негативным фактором, усугубляющим имеющиеся нарушения.

Анализ клинико-anamнестических данных позволяет предположить, что эти факторы риска способствуют срыву адаптационно-гомеостатических резервов организма, хронизации воспаления, усилению анатомо-функциональных дефектов репродуктивной системы, что, в свою очередь, снижает репродуктивный потенциал пациенток первой когорты.

У мужчин, состоящих в браке с обследуемыми женщинами первой когорты, обнаружено: средний возраст мужчин составил  $30,5 \pm 4,5$  лет, при этом достоверных межгрупповых различий по этому показателю выявлено не было; в целом контингент мужчин был представлен рабочими и

служащими, ведущими, в основном, сидячий образ жизни; среди обследуемых мужчин 65% курят и 32% регулярно (примерно 1-2 раза в месяц) употребляют спиртные напитки; все мужчины переболели в детстве детскими инфекциями: каждый третий (30,7%) болел ветряной оспой, каждый пятый (20,16%) - корью, а каждый десятый (10,1%) перенес краснуху. Каждый третий мужчина отмечал у себя частые (в среднем 2-3 раза в год) ОРВИ. Каждый пятый указывал на наличие у него хронического гастрита. У каждого шестого в анамнезе - хронический тонзиллит.

Таким образом, можно судить о практическом отсутствии экстрагенитальных факторов infertility у этих мужчин, но нельзя не учитывать такие отягощающие моменты как курение, употребление алкоголя и высокий инфекционный индекс.

Интересными представляются данные, полученные при обследовании второй когорты супружеских пар (аллогенных по HLA-антигенам II класса). Объединяющим признаком для этой группы явилось наличие совместимости супругов по системе HLA, кроме того, общими признаками у пациенток были: средний возраст  $34,29 \pm 0,31$  лет; в анамнезе детские инфекции, хронические воспалительные заболевания верхних дыхательных путей, ожирение; среди причин бесплодия - ТПФ; самопроизвольные выкидыши.

Из женщин второй когорты были выделены группы по преимущественному фактору бесплодия. Ниже представлены характерные признаки пациенток выделенных групп.

Для первой группы (сингенные по HLA-системе) второй когорты характерно: в анамнезе гиперпролактинемия у 56%; хронический сальпингоофорит у 39,5%; хронический пиелонефрит у 31%; у 25% эндометриоз и маточный фактор; у 20% неразвивающиеся беременности; эктопия шейки матки у 18,8%, аденомиоз у 14,6%.

Для второй группы второй когорты (частично аллогенные по HLA-системе) было характерно: неразвивающиеся беременности у 20,5%;

отсутствие гинекологических заболеваний воспалительного генеза у 20%, сальпингоофорит у 11,5%.

Для третьей группы второй когорты (аллогенные по HLA-системе) было характерно: наличие в анамнезе гинекологических заболеваний у 62%, сальпингоофорит у 24,4%; но наименьшее количество неразвивающихся беременностей.

В структуре причин бесплодия у обследованных женщин при вторичном бесплодии преобладают ТПФ и маточный фактор, тогда как при первичном – эндокринный и иммунологический факторы.

Однако кроме системных, общих для всех когорт причин неудач ВРТ, мы выявили и характерные как для когорт, так и групп одинаковые по характеру и эквивалентные по результату, но различные по выраженности структурно-функциональные изменения эндометрия, снижающие его имплантационный потенциал и препятствующие успешному развитию беременности, такие как нарушения микробиоценоза цервикального канала и полости матки, расстройства субэндометриального кровотока, склеротические изменения в эндометрии, иммунологические нарушения, включая дисбаланс цитокинов в ФЖ.

Проведенный анализ продемонстрировал выраженные различия клинико-anamnestических характеристик пациенток I и II когорт. У пациенток 2 когорты выявленный ведущий фактор бесплодия, скорее всего, являлся вторичным, сформировавшимся вследствие лечения уже существующего бесплодия. На первостепенное значение аллогенности по HLA-антигенам в генезе репродуктивных нарушений у этих супружеских пар указывает факт наличия беременностей и рождение детей в предыдущих браках, а также большое число неразвивающихся беременностей в настоящем браке.

Бесспорным подтверждением значения аллогенности системы HLA в генезе репродуктивных нарушений и неудач ЭКО явился тот факт, что у

63,9% пар с бесплодием неясного генеза определена сингенность по HLA-антигенам II класса. Вероятно, совместимость супругов по HLA антигенам II класса может быть самостоятельной причиной бесплодия, или же она усугубляет имеющиеся нарушения, обуславливая неудачи лечения.

Нами выявлена четкая зависимость нарушений репродуктивной функции от сингенности супружеских пар по HLA- антигенам II класса.

У 48% женщин, частично аллогенных с супругом по HLA-антигенам II класса, отмечались эндокринные заболевания. Все виды нарушений менструального цикла преобладали у женщин с первичным бесплодием (20%) и частично аллогенных с супругом по HLA- антигенам II класса. Женщины из этих групп имели сниженный индекс здоровья и у них ЗППП отмечались в анамнезе в два раза чаще, чем у женщин, аллогенных с супругом по HLA- антигенам II класса.

При анализе частоты наступления беременностей у супружеских пар второй когорты нами было выявлено, что беременность у женщин с вторичным бесплодием чаще наступала у супружеских пар, аллогенных по HLA- антигенам II класса (70,1%), чем у супружеских пар, сингенных по HLA- антигенам II класса (46,5%). Важным обстоятельством является то, что у супружеских пар, сингенных по HLA- антигенам II класса, отмечено большее число самопроизвольных выкидышей (12,1%), неразвивающихся беременностей (42,9%) и абортов (20,4%). В группе супружеских пар, аллогенных по HLA- антигенам II класса, достоверно меньше ( $p > 0,05$ ), чем, у сингенных супружеских пар, самопроизвольных выкидышей (10,9%), неразвивающихся беременностей (5,7%) и абортов (24,8%). Представленные данные показали значение аллогенности супружеских пар по системе HLA II класса в формировании иммунологического бесплодия как самостоятельной нозологической формы и как фактора, могущего сопровождать другие формы бесплодия, что прогнозирует неэффективность его излечения. Все это делает необходимым исследование комплекса гистосовместимости супружеской пары при бесплодии неясного генеза, а особенно при неудачах ЭКО.

Третью когорту больных составили супружеские пары с выявленной патоспермией у супруга.

В последние годы отмечается снижение активности сперматогенеза у мужчин различных стран. (Тулупова М.С., Хамошина М.Б., 2011). Примерно у 25% мужчин причину infertility не находят. Во многом это объясняется недостаточной эффективностью стандартных методов исследования мужской половой сферы (Осадчук А.В., Попова А.В, Клещев М.А. и соавт., 2011).

Для обследованных мужчин третьей когорты были характерны следующие показатели спермограмм:

- астенотератозооспермия после 35 лет (33%);
- олигоастенотератоспермия в возрасте от 30 до 35 лет (36%) и после 40 лет (29%);
- азооспермия от 30 до 40 лет (59%);

Анамнестические характеристики были представлены в виде: детских инфекций и частых ОРВИ (практически у каждого обследуемого); инфекционного паротита у каждого третьего; ожирения (практически также у каждого третьего); каждый третий мужчина проходил лечение инфекций, передаваемых половым путем: простатит и эпидидимит в анамнезе у мужчин с астенотератозооспермией и олигоастенотератоспермией отмечен в 40% и 27,5% соответственно.

Возраст женщин, состоящих в браке с мужчинами этой группы, колебался от 19 до 39 лет и в среднем составил  $31,4 \pm 6,1$  лет, причем достоверных различий по этому параметру выявлено не было;

- практически у каждой женщины третьей когорты в анамнезе отмечены детские инфекции, у каждой второй – частые ОРВИ, у каждой пятой - хронические тонзиллиты.

Характерными патогенетическими факторами бесплодия первой когорты являлись:

при трубно-перитонеальном факторе бесплодия (*первая группа*): уменьшение толщины эндометрия (58%); снижение экспрессии рецепторов к эстрогенам (26,4%) и прогестерону (46%); наличие инфектов, передаваемых половым путем (37%); наличие внутриматочных синехий (22%); диффузная неоднородность эндометрия (21%), гиперпластические процессы эндометрия (17%), в том числе и полипы эндометрия (12,8%);

при эндокринном бесплодии (*вторая группа*): помимо уменьшения толщины эндометрия (67%), выявлено нарушение гемодинамики и обедненность сосудистого рисунка в матке (58%); в два раза больше, чем в первой группе выявлена диффузная неоднородность эндометрия (41%), повышено содержание в крови андрогенов и свободных фракций гормонов щитовидной железы (36%); снижение экспрессии рецепторов к эстрогенам (18%) и прогестерону (28%); наличие инфектов, передаваемых половым путем (27%); гиперплазия эндометрия (25%), полипы и внутриматочные синехии (17,9% и 10%); хронический эндометрит (21,4%);

при эндометриозе (*третья группа*): диффузная неоднородность эндометрия (100%); нарушение гемодинамики и выраженность сосудистого рисунка в матке (97% и 73%) в отличие от первой, второй и четвертой групп; - в отличие от первых двух групп - понижение экспрессии рецепторов к эстрогенам (35,85) и повышение к прогестерону (40,2%); в том же соотношении, как и во второй группе, выявлены гиперплазия эндометрия (30,3%) , в том числе и полипы эндометрия (39,4%); внутриматочные синехии (34%); наличие инфектов, передаваемых половым путем (22%); хронический эндометрит (18,2%);

при сочетанных факторах бесплодия (*четвертая группа*): полипы эндометрия (35,1%) и гиперплазия эндометрия (28,5%) выявлялись достоверно чаще ( $p > 0.05$ ) в данной группе пациентов, а наличие инфектов, передаваемых половым путем (34%), выявлялось достоверно реже ( $p > 0.05$ ), чем в предыдущих группах; хронический эндометрит (18,1%); нарушение гемодинамики (16%); наличие внутриматочных синехий (10%).

Таким образом, вне зависимости от формы бесплодия нами выявлены системные нарушения основных звеньев репродуктивной системы, обуславливающие неудачи ВРТ: снижение маточного кровотока; морфофункциональные изменения эндометрия, прежде всего хронический эндометрит; снижение и усиление экспрессии рецепторов эндометрия к эстрогенам и прогестерону; аденомиоз и эндометриоз, внутриматочные синехии.

Изменения цитокинового контура были выявлены у 220 женщин I когорты, что составляет 69% всех обследуемых, преимущественно в I, II и III группах.

**Таблица 1.**

**Комплекс диагностически значимых показателей IL, прогнозирующих неэффективный цикл ВРТ (ЭКО)(абс.).**

Показатели (признак)	Уровень (пкг/мл)	ДК	SN %	SP %	J(Sh)	RR
IL-7 ф/ж (пкг/мл)	≤ 6	- 8,0	55	91,7	2,7	- 13
IL-4 ф/ж (пкг/мл)	≤ 2	- 7,2	66	87,5	2,42	- 14
IL-2 ф/ж (пкг/мл)	≤ 7	- 6,1	70	83,4*	2,09	- 12
IL-8 ф/ж (пкг/мл)	≥ 25	- 4,3*	40*	83,4*	1,32*	- 3,6*

**Примечание:** представлены диагностический коэффициент с отрицательными значениями в порядке убывания информативности. \*- ( $p > 0.05$ ).

Сравнительный анализ пациенток из первой когорты, четырех групп показал (табл.1), что повышенное содержание IL-1в, IFN-γ, IL-2, IL-13, G-CSF, GM-CSF в ФЖ было характерно для женщин с 3 и более неудачными попытками ЭКО; а низкие индивидуальные значения IL-2, IL-4, IL-7 и IL-8 в ФЖ входят в комплекс диагностически значимых показателей неэффективности ВРТ, что свидетельствует о вовлеченности цитокинов в патогенез как бесплодия, так и резистентности к ЭКО.

Представленный этап работы убедительно продемонстрировал наличие морфофункциональных изменений в эндометрии и нарушение его

рецептивной способности у значительной части пациенток, имеющих неудачные попытки ЭКО в анамнезе. Эти изменения могут быть как самостоятельной причиной инфертильности, так и сопровождать другие формы бесплодия. Диагностически значимыми оказались изменения цитокинового комплекса в фолликулярной жидкости. Эти изменения однозначно указывали на наличие выраженного дисбаланса в сторону преобладания провоспалительных цитокинов, что, в свою очередь, коррелировало с неуспехом ЭКО.

Интерпретация выявленных иммунологических нарушений показала, что женщины, частично аллогенные и сингенные по HLA-системе с супругом, достоверно чаще ( $p < 0,05$ ) имели повышенный показатель сывороточного интерферона и пониженный показатель ИФН-альфа. Кроме того, у супружеских пар, имеющих диагноз «бесплодие неясного генеза», в значительно большем числе случаев (63,9%) выявлена сингенность по HLA-антигенам II класса, а привычное невынашивание беременности имело место у 20,2% и 52,1% женщин. Это может быть связано с аллогенностью по HLA-антигенам II класса.

Важной частью работы явилось изучение патоспермии у мужчин в бесплодном браке (третья когорта). Результаты их обследования на определение генетических мутаций (AR, AZF, CFTR) и хромосомных вариаций, представлены в таблице 2.

**Таблица 2.**

**Результаты цитогенетического исследования мужчин с патоспермией (абс.).**

группы	Спермограмма	Кариотип нормальный (46 XY)	Хромосомные варианты	Хромосомные аномалии
I	нормозооспермия		2 (46, XY, 22ps+)	
II	астено-тератозооспермия	118	9 (46, XY, 9qh+)	
III	олигоастено-тератозооспермия	53	3 (46, XY; qh+)	
IV	азооспермия	47	5 (46,XY,9ph-; 46,XY,9ph+15ph+; 46, XY, 9qh+; 46, XY; qh-; 46, XY; qh+)	6 46,XY, (6:16)(p21.31;q23.2); 46, XY, (p1.1 q1.2); 46, XY; t(5;10)(q15;p13); mos47, XXY [3]/46, XY [97]; 46, X del Y (q11.2 q11.2); 46 XXY.
<b>Всего</b>		218	19	6

Варианты морфологического строения хромосом (вариабельность размеров гетерохроматиновых районов и спутников акроцентрических хромосом) были выявлены у (10,2%) человек (19), аномалии кариотипа (структурные и численные) - у 2,5% пациентов. Во всех случаях цитогенетические изменения ассоциировались с различными по степени выраженности аномалиями спермограммы. Корреляционный анализ выявил сильную положительную связь изменений кариотипа с азооспермией (+0,8;  $p < 0,05$ ), астено-тератозооспермией (+0,7;  $p < 0,05$ ). Наши данные в целом согласуются с ранее проведенными исследованиями, показавшими, что среди мужчин с бесплодием и нарушением сперматогенеза хромосомные аномалии встречаются с частотой 5-15%, из которых аномалии в системе половых хромосом (гоносом) регистрируются у 75%, а аномалии аутосом – у 25% (С.Г. Ворсанова, 1998).

Мутации в локусах *AZF* (азоспермия фактор) сопряжены с нарушением сперматогенеза и обнаруживаются в среднем у 10-15% мужчин с азооспермией и у 5-10% с олигозооспермией тяжелой степени (В.Б. Черных, 1999). Таким образом выявленная нами частота мутации *AZF* встречалась только у мужчин третьей когорты с азооспермией (7,4%), что не противоречит данным литературы и определяет патогенез формирования неудач ВРТ.

Наиболее распространенной мутацией *CFTR* (ген муковисцидоза) является делеция трех нуклеотидов в 10 экзоне, приводящая к потере остатка фенилаланина в 508 положении молекулы белка (*F508del*). И хотя существует межпопуляционная вариабельность относительной распространенности муковисцидоза, полагают, что доля ее составляет около 66%. В нашем исследовании значительная доля тяжелой патоспермии, как фактора мужского бесплодия, определяется носительством мутаций *F508del* в гене *CFTR* и составляет 56,3%. Как показал анализ литературы, именно *F508del* составляет наиболее высокую долю среди других мутаций гена *CFTR* – до 62% (F. Robert, 1999). В последнее время большое внимание уделяется аллелю 5T. В общей популяции частота этого аллеля невелика (примерно 5%), некоторые комбинации этого аллеля сопряжены с серьезными нарушениями фертильной функции у мужчин. В нашем исследовании носительство аллеля 5T выявлено у 4,9% человек (12), что, тем не менее, составило в структуре выявленных в гене *CFTR* полиморфных и мутационных вариантов частоту в 37,5%.

При молекулярно-генетической диагностике гена AR-рецептора (андрогенный рецептор), было выявлено 5 мужчин с подобными нарушениями, из них у двух наблюдалась астенотератозооспермия, у троих – азооспермия. У пациентов с астенотератозооспермией было выявлено измененное число повторов нуклеотидов в гене, кодирующем AR-рецептор, что явилось причиной нарушения сперматогенеза.

Таким образом, тяжелая (по степени выраженности) форма патоспермии у мужчин третьей когорты ассоциировалась во всех случаях с генетическими изменениями.

Следует подчеркнуть тот факт, что исследуемые нами пациенты относились к разряду малоперспективных для успешной реализации репродуктивной функции, т.к. имели в анамнезе 2 и более неудачных попыток ЭКО. Деление пациенток на группы базировалось на установлении преимущественного фактора бесплодия и оказалось традиционным: трубно-перитонеальное бесплодие, эндокринное, ассоциированное с эндометриозом и группа, имеющая сочетание нескольких факторов бесплодия. Мы предположили, что причинами неудач ЭКО могут быть: нарушения рецептивности эндометрия, обусловленные его морфо-функциональной неполноценностью, аллогенность комплекса гистосовместимости и связанные с этим иммунологические нарушения и молекулярно-генетические нарушения у мужчин, имеющих тяжелые формы патоспермии. Углубленное обследование пациентов подтвердило высказанные предположения.

Нами предпринята попытка разработки алгоритма диагностических мероприятий при обследовании всех супружеских пар с неудачными попытками ЭКО в анамнезе, для выявления описанных выше системных нарушений репродуктивной функции (рис.3)

Данные нашего исследования показывают, что комплексное изучение анамнестических данных, гормонального профиля, УЗ и доплерометрических, гистологических характеристик эндометрия у пациенток с различными факторами бесплодия, позволяют наиболее точно оценить изменения, происходящие в день предполагаемого “окна имплантации,” дают возможность проведения коррегированной подготовки данного контингента женщин и в определенной степени прогнозировать эффективность программ ВРТ.

С учетом того, что в патогенезе неудачных попыток ЭКО лежат системные нарушения, однотипные для всех когорт исследования, нами был

разработан алгоритм лечения супружеских пар. Следует отметить, что основной задачей было оздоровление супружеской пары в целом с дальнейшим углублением по факторам бесплодия в зависимости от когортного распределения (рис. 4).

Практически всем женщинам на первом этапе лечения мы проводили противовоспалительную терапию (АБ или НПВП), терапию направленную на восстановление микроциркуляции сосудов матки, ФЗТ, метаболическую и иммуномодулирующую. Следующим этапом мы дифференцированно подбирали лечение по когортам. Для пациенток первой когорты, где доминировали внутриматочные болезни и структурно-функциональные нарушения эндометрия мы проводили дополнительно РДВ, удаление полипов и внутриматочных синехий, восстановление гормонального гомеостаза (КОК), плазмоферез. Во второй когорте во время стимулированного цикла мы проводили иммуноглобулинотерапию на 12, 14 и 16 день менструального цикла. В третьей когорте, где преобладали мужские факторы бесплодия практически у всех мужчин с астенотератозооспермией и олигоастенотератозооспермией использовался метод ЭКО/ИКСИ. При азооспермии методом выбора стали ЭКО/TESA/ИКСИ и ЭКО/со спермой донора.

Результаты проведенного комплексного лечения у пациенток с наличием воспалительных процессов, в частности эндометрия (68%), ПЦР-типирование содержимого цервикального канала у обследуемых женщин подтвердило восстановление нормобиоценоза.

У пациенток с нарушением микроциркуляции (33,7%) после проведенного лечения при контрольном доплерометрическом исследовании выявлено, что комплексная противовоспалительная и физиотерапия с иммуномодуляторами привела к восстановлению маточного кровотока у 97% женщин и практически во всех группах толщина эндометрия приблизилась к нормальным параметрам.

У пациенток с гиперпластическими процессами и полипами эндометрия и внутриматочными синехиями (33% и 22,4%) предложенное нами лечение (хирургическое, противовоспалительное, иммуномодулирующее, физиотерапевтическое, гормональное) привело к устранению образования полипов эндометрия и гиперпластических процессов. Хронический эндометрит купировался у 50% женщин, сохранившись у 10,8%. А частота аденомиоза в третьей группе не претерпела изменений, но его клинические проявления стали менее выраженными.

У пациенток с нарушениями рецепции к эстрогенам и прогестерону и изменением цитокинового профиля (69%) после лечения восстановление рецепции к прогестерону и эстрогенам наблюдалось у 93% женщин: отсутствие или понижение ЭР наблюдается при трубно-перитонеальном в 25,9%, при эндометриоз-ассоциированном – в 19,5%, а при эндокринном – в 11,1%.

Стимуляцию овуляции проводили по короткому и длинному протоколу в зависимости от факторов бесплодия (с учетом оперативных вмешательств, состояния матки и яичников, а также возраста пациентки). Короткий протокол с антагонистами РГ (цитротид, оргалутран) назначали с эндокринными нарушениями (мультифолликулярные яичники), длинный протокол с агонистами РГ с (19-21 дня цикла) проводили преимущественно женщинам с маточными формами бесплодия (эндометриозом, миомой матки)<sup>1</sup>.

Что касается эффективности ЭКО, то количество перенесенных эмбрионов статистически не различалось по группам, но общее количество беременностей было больше в группе пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием (38%) и минимальным – (19,5%) при эндокринном бесплодии, тогда как самостоятельные беременности максимально отмечались в группе больных с эндометриозом (12%), минимально при эндокринном бесплодии (5%) и отсутствовали у больных с трубно-перитонеальной формой бесплодия

---

<sup>1</sup> См. страницу 15.

и при сочетании факторов бесплодия. Отдельно следует отметить, что после рассечения внутриматочных синехий беременность наступала лишь в 5% случаев.

Таким образом, практическое применение предложенного подхода предварительной коррекции морфофункциональных нарушений в эндометрии и нормализации гормонально-иммунологического статуса организма, индивидуальный подбор индукторов овуляции позволили повысить частоту наступления беременности у пациенток с бесплодием различного генеза, преодолев предыдущие неудачи ЭКО.

### Таблица 3.

#### Результаты программ ВРТ в обследуемых группах I когорты. (абс/%).

Группы	Протоколы		Количество программ ВРТ		Количество полученных ооцитов	Количество полученных эмбрионов	Кол-во беременностей
	короткий	длинный	ЭКО	ЭКО/ ИКСИ			
I	79* (54,4%)	8* (9,0%)	54* (40,9%)	33 (29,4%)	427* (30%)	348* (29,4%)	47 (65,3%)
II	49** (33,6%)	3** (3,5%)	21** (16,1%)	31 (27,7%)	327** (23%)	28**7 (24,3%)	29 (50,8%)
III	5*** (3,7%)	62*** (69,7%)	42*** (31,7%)	25*** (22,3%)	397*** (28%)	346*** (29,2%)	41 (51,9%)
IV	12^ (8,3%)	16 ^ (18,8%)	15^ (11,3%)	13^ (11,6%)	268^ (19%)	203^ (17,1%)	12 (42,8%)
Всего	145	89	132	112	1419	1184	129 (39,9%)

Примечание: \*- достоверность различий между I и II группой ( $p < 0,05$ ); \*\* - достоверность различий между II и III группой ( $p < 0,05$ ); \*\*\* - достоверность различий между III и IV группой ( $p < 0,05$ ), ^ - достоверность различий между I и IV группой ( $p < 0,05$ ).

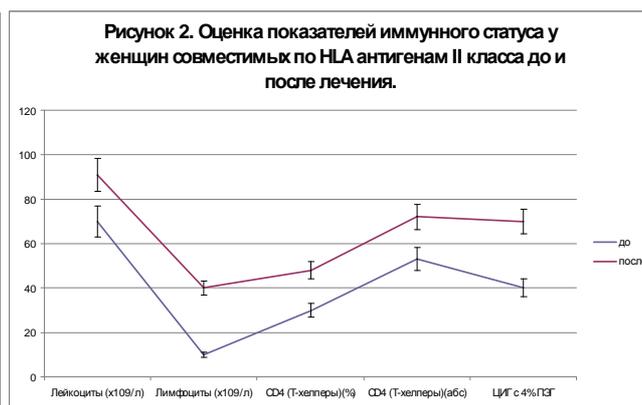
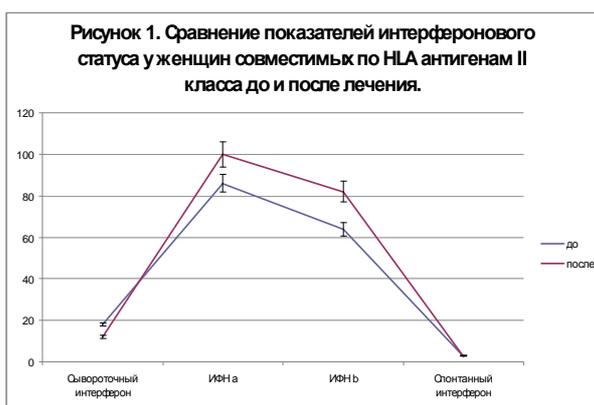
При проведении программ ВРТ у первой когорты нами получены следующие результаты (таблица 3): проведено 234 протокола ВРТ, получено 1419 ооцитов, из них получено 1184 эмбриона. Беременности наступили у 129 женщин, что составило 39,9%, из них самостоятельных 17 (5,3%).

Выбор метода лечения супружеских пар 2 когорты (совместимых по HLA антигенам II класса) был основан на литературных данных, в том числе работе Clark D.A. et al, 2005. Данная группа авторов пришла к выводу, что введение иммуноглобулинов у пациенток с иммуно-генетическими формами

бесплодия способствует иммуномодуляции через реализацию следующих патогенетических механизмов: снижение активности и цитотоксичности НК клеток в периферической крови, эндометрии и децидуальной ткани; блокада Т клеточных рецепторов; снижение уровней провоспалительных цитокинов Th1 происхождения; повышение активности Т-супрессоров; блокада Т рецепторов В клеток и снижение выработки антител (в том числе и аутоиммунных); индукция апоптоза моноцитов и Т-лимфоцитов. Однако, убедительных результатов клинических исследований авторами представлено не было.

Поэтому для второй когорты пациентов, имеющих совпадение по HLA-системе, в рамках подготовки к проведению программ ВРТ была проведена иммуноглобулинотерапия иммуноглобулином человеческим 25 мл внутривенно капельно трехкратно через день в 2 этапа: первый в процессе стимуляции суперовуляции, а второй – при наступлении беременности на 5-7 неделе.

После первого этапа лечения проводился контроль интерферонового и иммунного статусов, согласно результатам которого, после проведенного лечения произошло улучшение иммунного и интерферонового статусов (Рис. 1, Рис. 2).



Вероятнее всего данный эффект связан с влиянием иммуноглобулинов на формирование локальной иммуносупрессии. Отсутствующие молекулы CD200 связываются с рецепторами на клетках эндометрия и запускают весь

каскад реакций, обеспечивающих материнскую толерантность к отцовским антигенам (Carp H.J.A, 2000).

**Таблица 4.**

**Эффективность программ ВРТ в обследуемых группах II когорты, аллогенных по HLA-системе (абс/%).**

Группы	Протоколы		Количество программ ВРТ		Количество полученных эмбрионов	Количество полученных беременностей.
	короткий	длинный	ЭКО	ЭКО/ИКСИ		
I	35* (29,2)	13 (40,6)	22* (24,7)	26 (41,3)	2128 (29,6)	22%
II	85 (70,8)	19 (59,4)	67 (76,3)	37 (58,7)	503 (70,4)	24%
всего	120	32	89	63	715	46%

Примечание: \* - достоверность различий между группами ( $p < 0,05$ ).

Как видно из таблицы 4, во второй когорте было проведено 152 цикла ВРТ, получено 715 эмбрионов, было перенесено в полость матки не более двух эмбрионов, наступило 70 беременностей (46%).

Практически у всех мужчин третьей когорты с астенотератозооспермией и олигоастенотератозооспермией использовалось ЭКО/ИКСИ. При азооспермии методом выбора стали ЭКО/TESA/ИКСИ и ЭКО/донорская сперма. При азооспермии, связанной с паротитом и хромосомными вариациями, нами в качестве метода лечения был выбран ЭКО/донорская сперма. ЭКО/ИКСИ и ЭКО/TESA/ИКСИ использовались преимущественно у мужчин с нарушением генов *AR* и *CFTR*. ЭКО/TESA был востребован у мужчин с нарушениями генов *AZF* и *AR*. Следует признать, что наиболее эффективным оказался метод ЭКО/донорская сперма (80%). Практически не отличаются по эффективности друг от друга ЭКО/ИКСИ и ЭКО/TESA/ИКСИ (44% и 40% соответственно). Меньшую эффективность показали ЭКО/ИКСИ/ПГД и ЭКО/TESA/ИКСИ/ПГД (20% и 15% соответственно). Суммарная эффективность выбранных нами методов лечения мужского бесплодия составила 46,9% (таблица 5).

**Таблица 5.****Результат проведения программ ВРТ III когорты (абс/%).**

группы	Количество яйцеклеток	Оплодотворение яйцеклеток	Количество эмбрионов	Количество беременностей
I-ЭКО/ИКСИ	1352 <sup>*+</sup> (68,8%)	1325 <sup>*+</sup> (68,8%)	1219 <sup>*+</sup> (76,4%)	75 <sup>*+</sup> (44%)
II-ЭКО/ИКСИ/ ПГД	126 <sup>**</sup> (6,0%)	124 <sup>**</sup> (6,4%)	50 <sup>**</sup> (3,1%)	3 <sup>**</sup> (20%)
III- ЭКО/TESA/ ИКСИ	160 <sup>###</sup> (8,0%)	156 <sup>###</sup> (8,3%)	94 <sup>###</sup> (5,9%)	8 <sup>###</sup> (40%)
IV- ЭКО/TESA/ ИКСИ/ПГД	54 <sup>##,++</sup> (3,0%)	53 <sup>##,++</sup> (2,7%)	20 <sup>##,++</sup> (1,3%)	1 <sup>##,++</sup> (15%)
V –ЭКО/ донорская сперма	272 <sup>***</sup> (14,2%)	266 <sup>***</sup> (13,8%)	213 <sup>***</sup> (93,3%)	27 <sup>***</sup> (80%)
всего	1964	1924	1596	114 46,9%

Примечание: \* - достоверность различий между I и II группой ( $p < 0,05$ ); \*\* - достоверность различий между II и V группой ( $p < 0,05$ ); \*\*\* - достоверность различий между I и V группой ( $p < 0,05$ ); # - достоверность различий между III и V группой ( $p < 0,05$ ); ## - достоверность различий между IV и V группой ( $p < 0,05$ ); ### - достоверность различий между III и IV группой ( $p < 0,05$ ); + - достоверность различий между I и III группой ( $p < 0,05$ ); ++ - достоверность различий между I и IV группой ( $p < 0,05$ ).

В результате частота наступления беременности составила 15-38% на попытку и зависела от степени выраженности повреждения репродуктивной системы, длительности бесплодия и возраста пациентов. Тем не менее, в ряде случаев оказалось, что наступление беременности с использованием собственных гамет невозможно, это касается, прежде всего, ситуаций, когда тяжелые формы патоспермии сопряжены с генетическими дефектами. В других ситуациях, при наличии грубых внутриматочных синехий частота наступления беременности составила лишь 5%, что делает необходимым обсуждение вопроса об использовании суррогатной матери. В целом мы

считаем, что наличие в анамнезе многократных неудачных попыток ЭКО и прогнозируемая эффективность лечения бесплодия этим методом не более 10%, предопределяет необходимость обсуждения вопросов использования гамет донора или суррогатной матери.

Проведенное исследование показало, что, невзирая на ведущий фактор бесплодия, имеющий место у пациенток выделенных групп, все больные имеют сходные нарушения иммунной системы, гормональной регуляции, метаболических процессов. Это своего рода «лицо» длительного и безуспешного лечения бесплодия, включающее в себя помимо специфических характеристик, присущих каждой форме бесплодия, ряд общих неспецифических изменений, которые, порой, выходят на первый план.

В рамках обсуждения мы считаем возможным предложить следующую гипотезу: особенности базисного метаболизма, в том числе и эндокринного, и цитокинового контуров, определяют прогноз эффективности ВРТ. Такой подход позволяет изначально определять «группу резистентности» к ЭКО.

Представленный в настоящей работе системный подход к преодолению неудачных попыток ЭКО у супружеских пар, позволяет оптимизировать диагностические и лечебные мероприятия в целом и в значительной степени решить проблему преодоления неудач ВРТ.

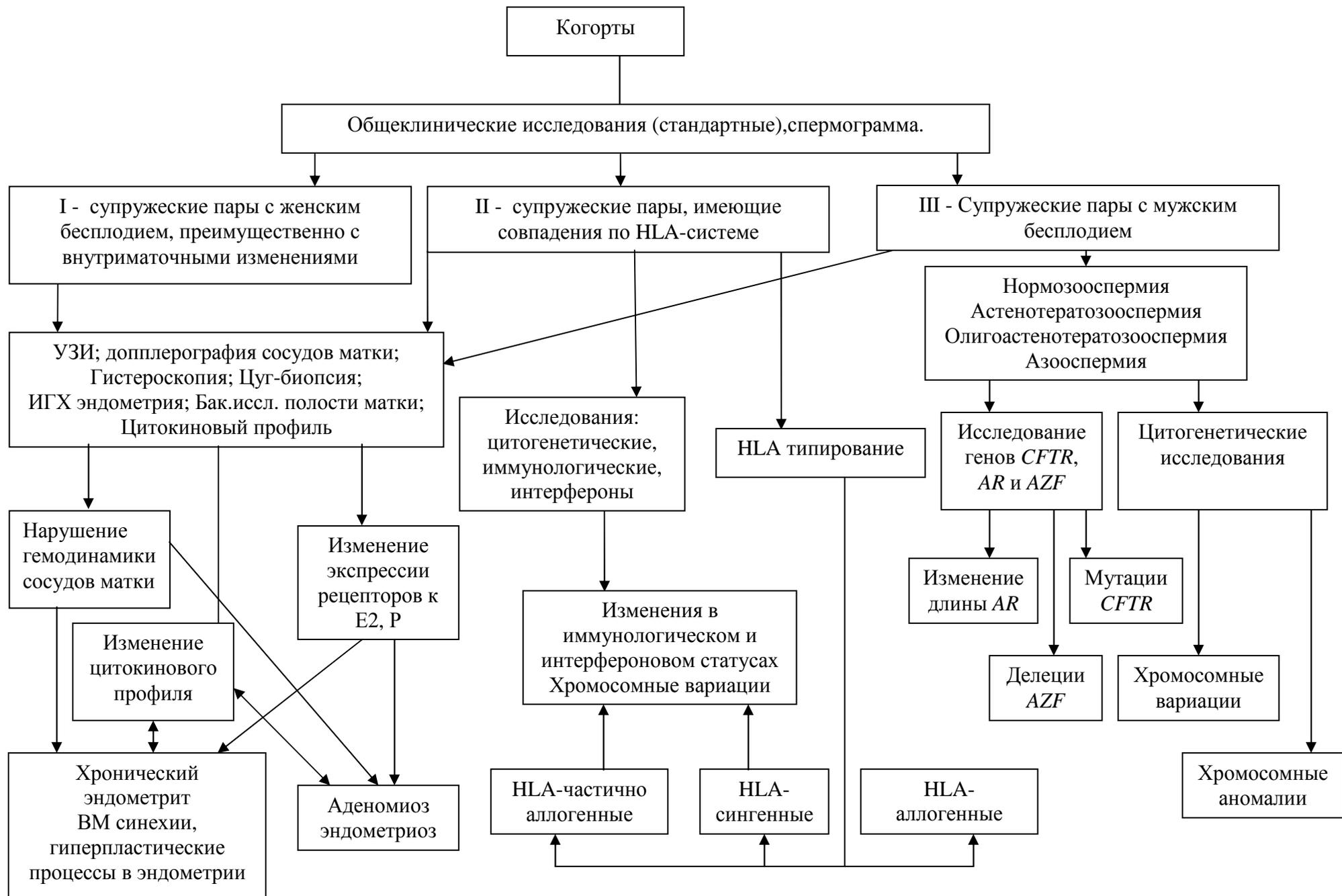
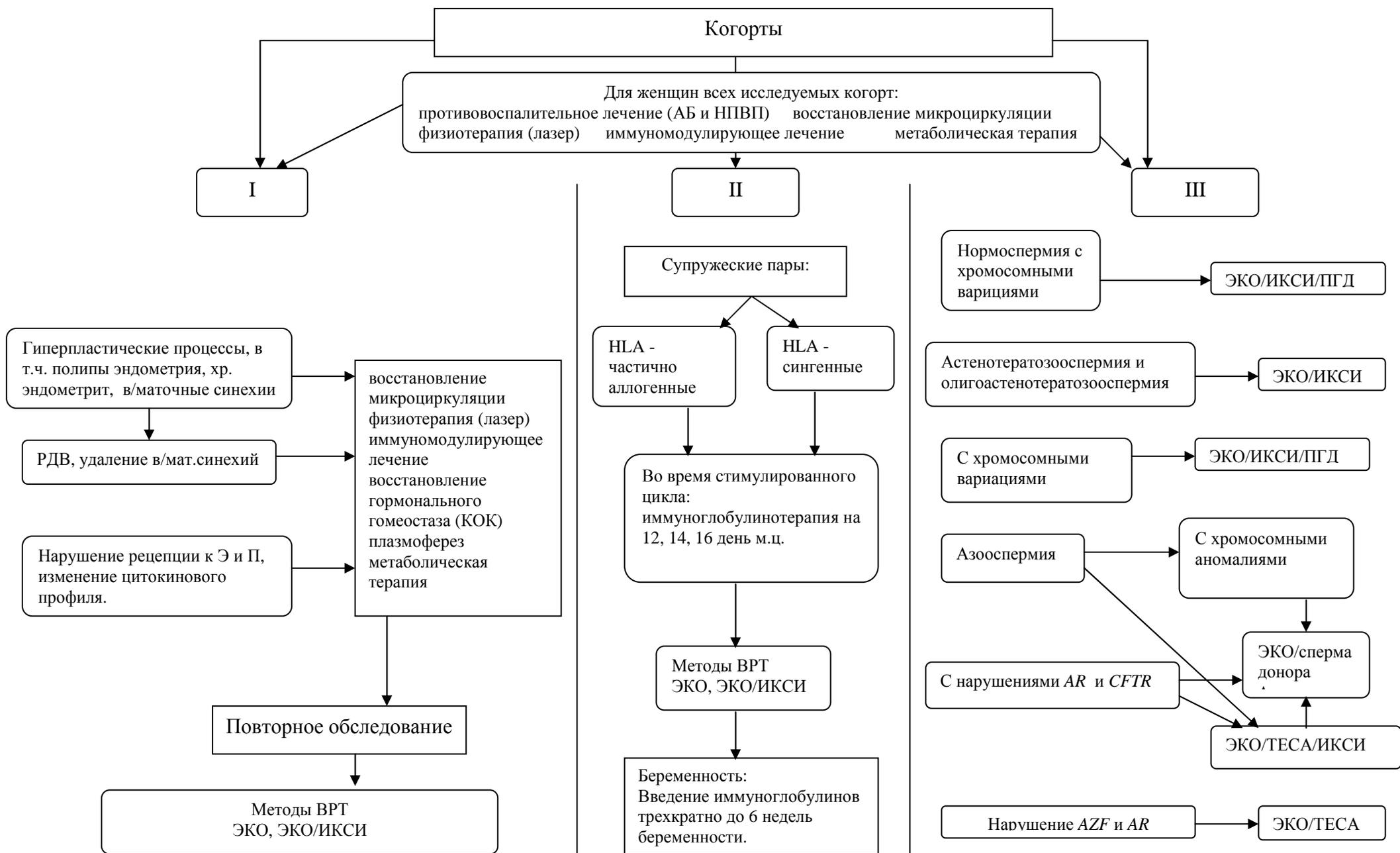


Рисунок 3. Алгоритм обследования супружеских пар с неудачными попытками ЭКО



**Рисунок 4.** Алгоритм дифференцированного подхода к выбору методов преодоления неудач ЭКО.

## ВЫВОДЫ.

1. Клиническими факторами риска неудачных попыток ЭКО и бесплодия в целом, имманентными для всех супружеских пар, являются: воспалительные заболевания репродуктивной сферы, длительность бесплодия более 5 лет, нарушения менструального цикла, аборты и выкидыши в анамнезе, оперативные вмешательства на органах брюшной полости и малого таза, наличие инфекций, передаваемых половым путем.

2. Гинекологическая заболеваемость пациенток с неудачными попытками ЭКО весьма велика. У пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием с неудавшимися попытками ВРТ в анамнезе чаще всего отмечается хронический сальпингооофорит и эндометриоз (56% и 26,4%); при эндокринном бесплодии - кисты яичников (21,5%) и эндометриоз - ассоциированные причины – аденомиоз, миома матки и кисты яичников (24%, 20,2% и 21,5%), при сочетанных формах бесплодия – кисты яичников и заболевания шейки матки (67,8% и 64,3%), оперативные вмешательства на органах малого таза (81,5%).

3. Структурно-функциональные изменения эндометрия имеют место практически у всех пациенток с различными формами женского бесплодия. Трансформация эндометрия представлена: расстройством субэндометриального кровотока, несоответствием структуры эндометрия дню менструального цикла, склеротическими и иммунологическими изменениями у 100% женщин, с трубно-перитонеальным у 85,4% - с маточным и у 73,4% - с эндокринным бесплодием.

4. Структура внутриматочных заболеваний отличается по группам: при трубно-перитонеальном - ХЭ в 12,8%; эндокринном – гиперпластические процессы эндометрия (ПЭ и ГЭ) в 17,9% и 25% соответственно, при эндометриозе - аденомиоз в 100% наблюдений. Неполноценная секреторная трансформация эндометрия встречается у 26,9% всех женщин и преобладает в группе с эндокринными факторами бесплодия - 45%.

5. Нарушение экспрессии рецепторов эндометрия к стероидным гормонам (эстрогенам и прогестерону) определяется у 56,5% женщин с маточными формами бесплодия: отсутствие и/или понижение ЭР наблюдается при трубно - перитонеальном в 25,9%, при эндометриоз - ассоциированном - в 19,5%, а при эндокринном - в 11,1%.

6. Эндокринные нарушения имеют место более, чем у половины женщин с неудачными ЭКО в анамнезе. У женщин с маточным фактором бесплодия отмечается снижение концентрации эстрадиола в периовуляторный период и уменьшение продукции прогестерона в лютеиновую фазу цикла. У пациенток с эндокринным бесплодием отмечаются наиболее глубокие нарушения гормонального гомеостаза (повышение андрогенов - ДГАЭ-SO<sub>4</sub>- 34,4±28,2 нмоль/л и Т4- 19,9±1,1 пмоль/л) и снижение уровня П до 25,7 нмоль/л).

7. 65% супружеских пар с иммуногенетическими факторами бесплодия являются частично аллогенными по антигенам гистосовместимости II класса, причем у 50% исследуемых супружеских пар имеет место совпадение по 3 и более аллелям. Совпадения по аллелям 15(02) и 15 гена *DRB1*, 0501.0102, 0301.0201 гена *DQA1* и аллелям 0602-8, 0301 гена *DQB1* являются дополнительным прогностическим критерием бесплодия у супружеских пар.

8. Снижение концентраций в фолликулярной жидкости ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-7 и ИЛ-8 у женщин первой когорты с неудавшимися попытками ВРТ является информативным признаком возможной неэффективности ЭКО, что подтверждается результатами математического анализа диагностически значимых диапазонов содержания цитокинов. Разработанная методика раннего прогноза успешности программ вспомогательных репродуктивных технологий (ЭКО) отражает патогенетическую роль нарушений цитокинового контура в регуляции фолликулогенеза.

9. Наиболее вероятной причиной неудач ВРТ, обусловленные мужскими формами бесплодия, являются генетические изменения. В группе

пациентов с олигозооспермией хромосомные варианты выявлены в 5,7%, а хромосомные абберации в виде структурных и численных аномалий при азооспермии достигает 12,8%. Изменения кариотипа у мужчин имеют сильную положительную связь с азооспермией (+0,8;  $p < 0,05$ ), астенотератозооспермией (+0,7;  $p < 0,05$ ). Указанные исследования являются необходимыми для прогнозирования исходов ВРТ. Выбор программы ЭКО с использованием спермы донора является оправданным в случаях азооспермии, связанной с паротитом и хромосомными вариациями.

10. Разработанный алгоритм диагностики состояния репродуктивной системы каждой супружеской пары с неудачными попытками ВРТ в анамнезе, позволил добиться оздоровления (устранения причин неудач ЭКО) у 65,3% с трубно-перитонеальным бесплодием, 50,8% с эндокринным, у 51,9% - с аденомиозом, 42,8% - с сочетанными формами (I когорты). Результативность ВРТ в данной когорте составила 39,9%. У пациентов II когорты 46% наступления беременности, из них с сингенностью по HLA – системе наступление беременности достигает 22%, с частичной аллогенностью – 24%. У пациентов III когорты (мужчины с патоспермией) достигались положительные результаты в 46,9%: при использовании методов ЭКО/ИКСИ – 44%, ЭКО/ИКСИ/ПГД – 20%, ЭКО/TESA/ИКСИ – 40%, ЭКО/TESA/ИКСИ/ПГД – 15%, ЭКО/донорская сперма – 80%

### **Практические рекомендации.**

1. При двух и более неудачных попытках ЭКО в анамнезе необходимо провести комплексную оценку состояния репродуктивной системы супружеской пары, включающее исследование состояния эндометрия и исключение внутриматочной патологии; тестирование по локусам комплекса гистосовместимости II класса, обязательные молекулярно-генетические исследования у мужчин с патоспермией.
2. Исходя из того, что морфофункциональные изменения выявлены у всех женщин с неудачными попытками ЭКО в анамнезе, целесообразно

проводить подготовку эндометрия в соответствии с алгоритмом, представленным в настоящей работе (рис.2).

3. При обнаружении совпадений в 3 и более локусах системы HLA II класса целесообразным является проведение подготовительных мероприятий с использованием иммуноглобулинотерапии.
4. При обнаружении внутриматочных изменений в виде грубых, длительно существующих синехий, хирургическое лечение и последующая подготовительная терапия обеспечивает наступление беременности в программах ЭКО лишь у 5% таких супружеских пар, что диктует необходимость обсуждения вопроса об использовании суррогатного материнства у этого контингента больных.
5. Мужчинам с тяжелой формой патоспермии необходимо проводить цитогенетическое и молекулярно-генетическое обследование. При обнаружении изменений в кариотипе, связанных с хромосомными вариациями, равно как перенесенный эпидемический паротит, могут приводить к необратимым нарушениям сперматогенеза (у 20,8% ) мужчин, что требует использования спермы донора.
6. Значение цитокинов IL-2, IL-4, IL-7 и IL-8 в фолликулярной жидкости ниже 7,0; 2,0; 6,0; 25,0 пкг/мл соответственно может служить прогностическим маркером неудачи ЭКО, что следует учитывать при планировании переноса эмбрионов.

#### **Список научных работ по теме диссертации.**

1. Вартамян Э.В., Маркин А.В., Разгуляева Е.А.. Опыт применения иммунокоррекции препаратами иммуноглобулинов у женщин, имеющих HLA-совместимость с партнером. // «Репродуктивные технологии сегодня и завтра» «Проблемы репродукции». -2004. -№5. - Стр. 90-92.
2. Вартамян Э.В., Петухова Н.Л., Маркин А.В., Курносова Т.Р. Иммуноглобулиновая коррекция бесплодия у HLA-совместимых супружеских пар. // Материалы XVI международной конференции

- РАРЧ «Вспомогательные репродуктивные технологии сегодня и завтра». - Ростов-на-Дону. -2006.- Стр.25-26
3. Вартанян Э.В., Сэпп О.Н., Курносова Т.Р., Маркин А.В. Роль генетической диагностики в коррекции мужского бесплодия. // Материалы XVI международной конференции РАРЧ «Вспомогательные репродуктивные технологии сегодня и завтра». - Ростов-на-Дону. -2006. -Стр.48
  4. Вартанян Э.В., Сэпп О.Н., Маркин А.В., Курносова Т.Р. Роль генетической диагностики в коррекции мужского бесплодия. // Вестник РГМУ. -2007. -№6. -Стр.44-49.
  5. Вартанян Э.В., Маркин А.В., Курносова Т.Р., Цатурова К.А. Генетические факторы бесплодия у мужчин с тяжелой олигозооспермией и азооспермией. // Бюллетень СО РАМН. Приложение №1. -2008. -Стр.23-26
  6. Вартанян Э.В., Курносова Т.Р., Цатурова К.А. Значение HLA-системы в ведении супружеских пар в программах ЭКО. // Материалы международной научно-практической конференции «Иммунологические аспекты репродукции человека». - Новосибирск. 2008. -Стр.47
  7. Вартанян Э.В., Маркин А.В., Курносова Т.Р., Цатурова К.А. Хромосомные факторы бесплодия у мужчин с олигозооспермией и азооспермией. // Проблемы репродукции. -2008. -Стр.374
  8. Вартанян Э.В., Курносова Т.Р., Цатурова К.А. Исходы ЭКО у супружеских пар с совпадением по HLA-системе. //Проблемы репродукции -2008. -Стр.374.
  9. Вартанян Э.В., Маркин А.В., Курносова Т.Р. Бесплодие, обусловленное генетическими причинами у мужчин с тяжелой олигозооспермией и азооспермией. // Вестник Уральской медицинской академической науки -2008. -№2. -Стр8.

- 10.Вартанян Э.В., Цатурова К.А., Мазур С.И., Аникина Т.А. Иммуногенетические факторы неудачных попыток ЭКО. // Вестник Российского университета дружбы народов. -2009. -№5. -Стр. 86-90
- 11.Вартанян Э.В., Цатурова К.А. Беременность у женщин с совместимостью по HLA-системе с супругом. // Вестник российского университета дружбы народов. -2009. -№7. -Стр.137-141.
- 12.Вартанян Э.В., Маркин А.В., Цатурова К.А., Кибардинаи Н.В., Аникина Т.А. Влияние мужского фактора бесплодия на эффективность применения вспомогательных репродуктивных технологий. // Вестник Российского университета дружбы народов. -2009. -№5, -Стр.91-96
- 13.Вартанян Э.В., Серебренникова К.Г., Чмырь Е.Н., Лапшихин А.А., Самойлов М.В., Бессмертная В.С. Эндометрий пациенток с бесплодием и методы его коррекции. // Вестник Российского университета дружбы народов. -2010. -№5. -Стр.166-174.
- 14.Вартанян Э.В., Петрин А.Н., Курносова Т.Р. Генетические факторы мужского бесплодия. // Проблемы репродукции. -2010. -№2. -Стр. 74-77.
- 15.Вартанян Э.В., Самойлов М.В., Серебренникова К.Г., Цатурова К.А. Особенности экспрессии рецепторов эндометрия к стероидным гормонам у пациенток с бесплодием. // Вестник Новосибирского государственного университета. -2010. -Т.8. -Вып.4. -Стр.52-56.
- 16.Вартанян Э.В., Цатурова К.А., Мазур С.И. Значение степени аллогенности супружеских пар по антигенам гистосовместимости 2 класса при бесплодии неясного генеза. // Проблемы репродукции -2010. -Стр. 220-221.
- 17.Вартанян Э.В., Айзикович И.В., Антонов А.Р. Причины неудач ЭКО. // Проблемы репродукции. -2010. -№3. -Стр. 57-61.
18. Вартанян Э.В., Цатурова К.А., Маркин А.В. Преодоление неудач вспомогательных репродуктивных технологий при лечении бесплодных супружеских пар. // Доктор.Ру. - 2011. -№9(68) -Стр. 31-34

- 19.Вартанян Э. В., Цатурова К. А., Айзикович И. В. Цитокиновый профиль фолликулярной жидкости у женщин с длительным бесплодием в анамнезе. // Доктор.Ру. - 2011. -№9(68) -Стр. 39-42
20. Вартанян Э.В., Мартышкина Е.Ю., Цатурова К.А. Роль сочетанной патологии в неудачных протоколах ЭКО. // Акушерство.Гинекология.Репродукция -2011. -№4 том 5. –Стр. 40-43
- 21.Вартанян Э. В., Цатурова К. А., Айзикович И. В. Влияние цитокинов в фолликулярной жидкости на качество ооцитов у женщин с длительным бесплодием. // Вестник РГМУ. - 2011. -№6 -Стр. 45-49

В диссертации представлены концепция новых лечебно-диагностических мероприятий для преодоления повторных неудач вспомогательных репродуктивных технологий. В результате выполнения работы получены новые данные, позволяющие расширить существующие научные представления о роли морфофункциональных характеристик эндометрия, системных нарушений иммунного и цитокинового статуса и комплекса гистосовместимости HLA у супружеских пар, а так же в регуляции фертильной функции мужчин с патоспермией, и раскрыть патогенетические механизмы неудач ВРТ. Обоснованы лечебно-диагностические мероприятия при различных формах женского бесплодия. Особенности экспрессии рецепторов (ЭР) к стероидным гормонам слизистой оболочки матки у пациенток с неудавшимися попытками ВРТ явились прогностическим критерием наступления и сохранения беременности. Показано, что одним из факторов, определяющих эффективность или неудачу ВРТ, является нарушение цитокин-опосредованных механизмов регуляции репродуктивного процесса в организме. При выявлении совпадений в трех и более локусах HLA-системы II класса у супружеских пар разработана комплексная иммуноглобулинотерапия, которая повысила эффективность методов ВРТ практически вдвое. Впервые проведена оценка взаимосвязи генетических нарушений с патоспермией у мужчин с бесплодием. На основании полученных результатов разработаны научно-методические подходы к прогнозированию, диагностике и лечению репродуктивных нарушений у супружеских пар с бесплодием и неудачными попытками ЭКО в анамнезе.

The thesis presents the concept of new therapeutic and diagnostic measures to overcome the repeated failures of assisted reproductive technologies. As a result of the work were obtained new data that enables to expand existing scientific understanding of the role of morpho-functional characteristics of the endometrium, systemic disorders of immune and cytokine status and histocompatibility complex in couples, as well as in regulating the function of the fertile men with patospermia, and disclose the pathogenetic mechanisms failure of ART. In this work were grounded diagnostic and treatment activities in various forms of female infertility. Features of receptor expression (ER) to the steroid hormones in the endometrium in patients with failed attempts to ART were predictors of the onset and maintaining pregnancy. It is shown that one of the factors determining the effectiveness or failure of assisted reproduction is a violation of cytokine-mediated mechanisms of regulation of the reproductive process in the body. It was developed a comprehensive therapy with immunoglobulins, if found to match three

or more loci of HLA-class II married couples, which increased the efficiency of methods of ART nearly doubled. For the first time assessed the relationship of genetic disorders with patospermia in men with infertility. Based on the results of this work are developed scientific and methodological approaches to the prediction, diagnosis and treatment of reproductive disorders in couples with infertility and unsuccessful attempts at IVF in history.