

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Российский университет дружбы народов
имени Патриса Лумумбы»

На правах рукописи

Барина Эбеча Кебедовна

**ПРОГНОЗИРОВАНИЕ НЕУДАЧ ИМПЛАНТАЦИИ ПРИ БЕСПЛОДИИ,
АССОЦИИРОВАННОМ С АДЕНОМИОЗОМ**

3.1.4. Акушерство и гинекология

3.3.2. Патологическая анатомия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук,

Оразов Мекан Рахимбердыевич

доктор медицинских наук, профессор,

заслуженный деятель науки Российской

Федерации, член-корреспондент РАН,

Михалева Людмила Михайловна

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1. БЕСПЛОДИЕ И АДЕНОМИОЗ: АКТУАЛЬНОСТЬ И ПЕРСПЕКТИВЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	11
1.1. Бесплодие и аденомиоз: современные возможности диагностики, лечения и ведения пациенток.....	11
1.2. Причины аденомиоз-ассоциированного бесплодия	20
1.3. Морфофункциональные особенности эутопического эндометрия при бесплодии, обусловленном аденомиозом	36
Глава 2. ДИЗАЙН И МЕТОДОЛОГИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	49
2.1. Дизайн исследования и характеристика его объектов.....	49
2.2. Методы исследования.....	52
2.3. Методы статистического анализа.....	57
Глава 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ ЖЕНЩИН	59
Глава 4. РЕЗУЛЬТАТЫ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЙ ЭНДОМЕТРИЯ В ПЕРИОД ОКНА ИМПЛАНТАЦИИ.....	70
4.1. Морфологические особенности эндометрия в период окна имплантации у пациенток изучаемой когорты	71
4.2 Результаты иммуногистохимического исследования эндометрия в период «окна имплантации» (на 7-й день после пика концентрации ЛГ) в средней фазе секреции.....	74
4.3 Роль иммуногистохимических маркеров в патогенезе неудач имплантации при аденомиоз-ассоциированном бесплодии	85
Глава 5. МОДЕЛИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ИСХОДОВ ВРТ У ПАЦИЕНТОК С ДИФфузным аденомиозом и неудачами имплантации в АНАМНЕЗЕ	88
5.1 Математическая модель прогнозирования успешности имплантации на основании клиничко-анамнестических факторов.....	88
5.2 Математическая модель прогнозирования успешности имплантации на основании морфологических и иммуногистохимических критериев	92
Глава 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	97
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	115
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	118
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	121

Приложение А (справочное). Перечень обязательных обследований и сроки годности результатов обследования для оказания медицинской помощи с использованием вспомогательных репродуктивных технологий и искусственной инсеминации	140
--	-----

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Бесплодие у супружеских пар остается значительной медицинской и социальной проблемой. Согласно Всемирной организации здравоохранения, число пар с этой проблемой составляет от 48 до 186 миллионов человек в мире [55, 69]. Доля бесплодия среди пар репродуктивного возраста на глобальном уровне составляет от 12,6% до 17,5% [55]. В Российской Федерации причины бесплодия в 50% случаев связаны с женскими факторами, в 20–30% случаев – с мужскими, а в 20% случаев – с их комбинацией [55].

В настоящее время эффективность программ вспомогательной репродуктивной технологии оценивается примерно в 30–40% [38], несмотря на совершенствование протоколов. Согласно различным исследованиям, частота встречаемости эндометриоза составляет от 12 до 50% [4, 7], но, несмотря на многочисленные научные изыскания, этиология и патогенез данного заболевания до сих пор остаются не до конца выясненными. Это приводит к существованию разнообразных подходов в диагностике и терапии эндометриоза. Особый интерес представляет аденомиоз, также известный под названием «внутренний эндометриоз». Распространенность аденомиоза колеблется в широких пределах от 9 до 70%, а по данным некоторых авторов, может достигать даже 70–90%. Диффузный аденомиоз встречается у женщин в различных возрастных группах и остается объектом активного изучения для более полного понимания его характеристик.

В современном обществе количество женщин в возрасте от 18 до 30 лет, столкнувшихся с проблемой бесплодия, составляет 34%, тогда как среди женщин с бесплодием, не доживших до 40-летнего возраста, соотношение составляет 22%. На сегодняшний день аденомиоз остается загадочным заболеванием, этиология которого пока еще не до конца изучена. Существует целый ряд теорий, пытающихся объяснить происхождение аденомиоза и его воздействие на женское репродуктивное здоровье. Вопрос о влиянии эндометриальных аспектов на успешность вспомогательных репродуктивных технологий при аденомиозе пока остается открытым

и требует дальнейших исследований. Исследования выявляют существенное влияние эндометриальных факторов на результаты процедур вспомогательных репродуктивных технологий. В настоящее время особое внимание исследователей привлекают три научные работы, целью которых является раскрытие фундаментальных патофизиологических процессов, приводящих к нарушению рецептивности эндометрия у пациенток с аденомиозом, страдающих бесплодием.

Изучение отдельных биомаркеров в качестве потенциальных мишеней для терапевтического воздействия представляется многообещающим направлением научного поиска. Как в отечественной, так и в зарубежной научной литературе имеется значительное число публикаций, посвященных анализу влияния аденомиоза на исходы программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ).

Исследование влияния аденомиоза на результаты вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток поможет улучшить прогнозы успешности программ ВРТ. Это подчеркивает необходимость более глубокого изучения негативных аспектов аденомиоза в контексте бесплодия и разработки новых стратегий для повышения эффективности [3, 10, 15, 51].

Степень разработанности темы

Следует отметить, что в настоящее время существует недостаточное понимание современной концепции патогенеза бесплодия при аденомиозе. Причины и механизмы развития аденомиоза также остаются плохо изученными. Активное внедрение методов вспомогательных репродуктивных технологии позволили не только разработать эффективные стратегии решения мультидисциплинарных проблем, мешающих естественной беременности, но и выявить значительные пробелы в нашем текущем научном понимании. Исследователи подчеркивают, что процесс имплантации, по словам нобелевского лауреата Роберта Эдвардса, остается нерешенной проблемой в области репродукции и главным препятствием для успеха методов ВРТ [84].

Проблема эндометриальной патологии при аденомиозе до сих пор является одной из самых обсуждаемых и недоказанных. Имеются контroversии в

отношении влияния функциональной недостаточности эндометрия на процесс имплантации [83, 94, 152].

Современные исследования отечественных [16, 17, 19, 21, 32, 49] и зарубежных ученых [122, 123, 126, 151] показывают, что у женщин с аденомиозом эндометрий обладает уникальными морфофункциональными особенностями, оказывающими негативное воздействие на его способность к имплантации. Тем не менее механизм этих изменений до конца не исследован. Клинические наблюдения свидетельствуют о повышенной частоте неудач имплантации у женщин с аденомиозом, что значительно снижает эффективность использования методов вспомогательной репродукции [132, 137].

До настоящего момента отсутствуют всеобщие стандарты для оценки потенциала имплантации эндометрия, и ни один из доступных маркеров не продемонстрировал абсолютной эффективности в оценке готовности этой ткани к прикреплению [77].

Высочайшей важностью является более глубокое изучение морфофункциональных характеристик эндометрия при бесплодии, связанном с аденомиозом. Расширение понимания патогенеза, поиск биологических индикаторов исхода лечения бесплодия, присущих исключительно этой уникальной ткани, представляют собой неиспользованные ресурсы для повышения эффективности методов высоких репродуктивных технологий. Исходя из вышеизложенного, осуществление выбора темы для предстоящего научного исследования было обусловлено не только актуальностью данной проблематики, но также стремлением следовать за современными тенденциями в медицине.

Цель исследования: улучшить исходы лечения бесплодия при аденомиозе

Задачи исследования

1. Выявить клинико-anamнестические факторы риска неудач имплантации при бесплодии, ассоциированном с аденомиозом.

2. Установить отличия экспрессии маркеров рецептивности (прогестероновые рецепторы, пиноподии и белок MUC1) в эутопическом эндометрии у пациенток с аденомиозом и бесплодием в сравнении с фертильными.

3. Определить особенности экспрессии белков Cyclin E и BCL6 в эутопическом эндометрии в период «имплантационного окна» и оценить их возможную взаимосвязь с неудачами имплантации при бесплодии, ассоциированном с аденомиозом.

4. Выявить предикторы риска неудач имплантации у пациенток с бесплодием, ассоциированным с аденомиозом.

5. Разработать математические модели прогнозирования риска неудач имплантации у пациенток с бесплодием, ассоциированным с аденомиозом.

Научная новизна исследования

На основании полученных результатов дополнены сведения о патогенезе неудач имплантации при бесплодии, обусловленном аденомиозом. Впервые исследована экспрессия белков Cyclin E и BCL-6 в период «окна имплантации» в эутопическом эндометрии инфертильных пациенток с диффузным аденомиозом.

Выявлены закономерности, дополняющие современную концепцию патогенетической роли пиноподий, MUC1 и прогестероновых рецепторов, в также белков Cyclin E и BCL6 в формировании нарушений имплантационной состоятельности эндометрия.

Установлены новые предикторы риска неудач имплантации у пациенток изучаемой когорты. Разработаны эффективные модели математического прогноза риска неудач имплантации у пациенток с бесплодием, обусловленным аденомиозом, с использованием клиничко-анамнестических (Модель 1: чувствительность – 77,8%, специфичность – 90,0%) и иммуногистохимических предикторов (Модель 2: чувствительность – 88,9%, специфичность – 80,0%).

Теоретическая и практическая значимость исследования

На основании полученных в ходе исследования данных, позволяющих существенно дополнить и углубить имеющиеся представления о механизмах формирования имплантационной несостоятельности эндометрия при бесплодии, обусловленном аденомиозом подтверждена взаимосвязь стероидного профиля и имплантационного потенциала эндометрия инфертильных пациенток с аденомиозом.

Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс современных высокоинформативных морфологических и иммуногистохимических (ИГХ) методов исследования. Обоснована целесообразность выполнения в период «имплантационного окна» пайпель-биопсии эндометрия с последующим ИГХ-исследованием всем пациенткам, страдающим аденомиозом и имеющим неудачи имплантации в анамнезе.

Научно обоснован комплексный персонифицированный предиктивный подход к ведению пациенток с аденомиозом и неудачами имплантации в анамнезе, предусматривающий стратификацию женщин на группы высокого и низкого риска неудач ВРТ перед ЭКО и ПЭ, а также углубленное обследование группы высокого риска и дополнительную оценку персонального риска неудач имплантации. Практическому здравоохранению предложена модификация рутинного алгоритма ведения пациенток, страдающих аденомиозом и неудачами имплантации в анамнезе на этапе оказания медицинской помощи с использованием ВРТ, с использованием математических моделей.

Методология и методы исследования

В рамках исследовательской программы осуществлялся анализ как анамнестических, так и клинических факторов риска, связанных с неуспешным исходом ВРТ, параллельно с этим проводилось исследование состояния эндометрия. Методология исследования включала в себя использование открытой обсервационной стратегии, а также сочетание ретроспективного и проспективного подходов. Для ретроспективного этапа подбирались группы, соответствующие установленным критериям, после чего другие изучаемые параметры выбирались случайным образом. На проспективном этапе участвовали пациентки, которым была выполнена пайпель-биопсия в период окна имплантации, с последующим анализом эндометрия методами патоморфологии и иммуногистохимии. Для проведения исследования использовались различные методы: клинико-эпидемиологический, сонографический, патоморфологический, иммуногистохимический, а также математико-статистические анализы, включая многофакторный анализ с построением математических моделей.

Положения, выносимые на защиту

1. Предикторами риска неудач имплантации у пациенток с бесплодием, ассоциированным с аденомиозом, следует считать: наличие в анамнезе морфологически верифицированного хронического эндометрита (ОШ=44,15; 95% ДИ: 4,21 – 462,66), внутриматочных оперативных вмешательств (ОШ= 16,01; 95% ДИ: 1,04 – 246,16), гиперплазии эндометрия без атипии (ОШ=7,16; ДИ: 1,23 – 41,47) и дисменореи (ОШ=6,06; 95% ДИ 1,07 – 34,48), а также выявление выраженной ядерной экспрессией белков Cyclin-E (ОШ=0,97; 95% ДИ: 0,96 – 0,99) и BCL6: (ОШ=2,98; 95% ДИ: 1,20 – 7,42) и снижением числа пиноподий (ОШ=0,95; 95% ДИ: 0,92 – 0,98).

2. Одним из ключевых механизмов нарушений рецептивности эндометрия у инфертильных пациенток с аденомиозом и неудачами имплантации в анамнезе является задержка секреторной трансформации эндометрия, проявляющаяся уменьшением числа пиноподий, снижением экспрессии прогестероновых рецепторов и MUC1, а также повышением экспрессии белков Cyclin E и BCL6, ответственных за персистенцию пролиферативных и апоптотических нарушений.

3. Предложенные математические модели позволяют результативно прогнозировать исход программы вспомогательных репродуктивных технологий [Модель 1 – на основании клиничко-анамнестических предикторов (чувствительность - 77,8%, специфичность - 90,0%), Модель 2 – на основании иммуногистохимических предикторов (чувствительность - 88,9%, специфичность - 80,0%)] и предупредить нежелательные эмбриотрансферы у пациенток изучаемой когорты.

Степень достоверности и апробация результатов работы

В рамках нашего исследования были проведены обширные статистические анализы с использованием как параметрических, так и непараметрических методов. Обработка полученных данных была осуществлена при помощи программного обеспечения Microsoft Office Excel 2016 для их структурирования и коррекции. Для проведения статистических расчетов мы прибегли к использованию программы IBM SPSS Statistics версии 26 от компании IBM Corporation.

Данное исследование выполнено в рамках основного научного проекта кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии Медицинского института РУДН. Апробация диссертационной работы прошла 15 апреля 2024 г. на совместном заседании кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии РУДН с участием специалистов из «НИИМЧ им. акад. П.А. Авцына» и «РНЦХ им. ак. Б.В. Петровского», протокол № 24.

Исследовательские находки были интегрированы в повседневную работу городской больницы № 31, особенно в патологоанатомическое отделение, и принесли пользу учебному процессу на различных медицинских факультетах, включая те, что специализируются на акушерстве, гинекологии и репродуктивном здоровье. Обследование включало анализ 113 амбулаторных карт пациенток, ультразвуковое исследование органов малого таза и процедуру забора аспирата эндометрия. Автор лично сформулировал ряд научных выводов и практических рекомендаций, основанных на результатах диссертации. Эти работы нашли отражение в 14 публикациях, которые были размещены как в отечественных, так и международных научных журналах, в списке рекомендованных ВАК России и РУДН, а также включены в базу данных Scopus.

Глава 1. БЕСПЛОДИЕ И АДЕНОМИОЗ: АКТУАЛЬНОСТЬ И ПЕРСПЕКТИВЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Бесплодие и аденомиоз: современные возможности диагностики, лечения и ведения пациенток

Современное определение бесплодия характеризует это состояние как заболевание, при котором супружеская пара не может достичь беременности после 12 месяцев регулярных половых актов, в ходе которых партнеры не применяют никакие методы контрацепции [47].

Формы бесплодия могут быть различными. Для первичного бесплодия характерно, если женщина никогда не была беременна, даже если вела активную регулярную половую жизнь без использования контрацептивных методов. В случае, если пациентка когда-то уже была беременна, но дальнейшие попытки зачать ребенка при наличии регулярных сексуальных контактов без средств предохранения в течение одного года не приводят к какому-либо успешному результату, то говорят о вторичном бесплодии [47].

Женщина, мечтающая стать матерью, может воспринимать бесплодие как серьезную трагедию. Невозможность достичь этой цели, многолетние попытки забеременеть, множество испробованных методов лечения, оставшихся безуспешными, нередко становятся причиной психологических проблем. Пациентки испытывают постоянный стресс и депрессивные расстройства, у них повышена тревожность, снижены самооценка, сексуальная удовлетворенность и качество жизни. Зачастую все это неизбежно тянет за собой изменения характера, ухудшение отношений с мужем, близкими, семьей и другие психосоциальные проблемы. Нередко бесплодные женщины не удовлетворены браком, сексуальными отношениями и своим качеством жизни и подвержены более высокому риску психических расстройств по сравнению с фертильными [67].

Такому положению дел также способствует давление социума, в котором от женщины традиционно ожидают обязательной реализации репродуктивной функ-

ции, а если этого не происходит, то ее считают неполноценной и виноватой в сложившейся ситуации. Причем такие предрассудки зачастую относятся именно к женщине, а второго участника процесса – мужчину – в расчет не принимают.

Тем не менее, причиной infertility может быть не только состояние женского здоровья. В последние годы специалисты репродуктивной медицины все чаще обсуждают вопросы мужского фактора бесплодия. Именно поэтому при желании семейной пары, имеющей трудности с зачатием, родить ребенка необходимо тщательно обследовать как потенциальную мать, так и потенциального отца. Интересно, что порой причиной infertility у женщин и мужчин могут стать совсем не очевидные факторы. Например, избыточный вес и ожирение у потенциальных родителей влияют на частоту и нормальные показатели оплодотворения, снижая количество доступных и высококачественных эмбрионов [122]. В связи с этим к ведению бесплодных пар в зависимости от конкретной ситуации следует привлекать также специалистов других направлений – андрологов, сексологов, репродуктологов, эндокринологов, диетологов и др.

В научной литературе можно найти результаты различных исследований, посвященных этому вопросу, в которых проанализированы обширные данные. Так, в 2022 году специалисты ESHRE провели анализ, в ходе которого установили, что причиной 20–30% случаев infertility выступает именно отцовский фактор, при этом на долю материнского приходится 20–35%, а на совместное воздействие – около 40%. Остальные варианты infertility (10–20%), причины которых установить не удалось, относят к идиопатическому бесплодию [122].

Определить истинные масштабы проблемы бесплодия представляется весьма сложной задачей несмотря на то, что различные статистические данные указывают на тревожные цифры. Согласно информации, предоставленной Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ), с трудностями в плане продолжения рода сталкиваются приблизительно 10–25% супружеских пар, находящихся в репродуктивном возрасте, что составляет около 48 млн семей во всем мире (!) [55]. По оценкам экспертов, распространенность бесплодного брака колеблется в диапазоне от 8% до 29%: примерно 10% – в странах Европы, 8–15% – в США, около 17% – в Канаде.

Что касается ситуации в России, то, по данным эпидемиологических исследований, частота бесплодия в нашей стране варьирует в зависимости от региона, но в среднем составляет от 17% до 24% [55].

Насколько высокими считать эти цифры? Для того, чтобы человечество не провалилось в демографическую «яму», уровень бесплодия не должен быть выше 15% – таковы рекомендации ВОЗ. Что же происходит в действительности? Россия уже значительно вышла за предельные рамки, и это можно расценивать как серьезную национальную угрозу: рождаемость населения критически снижается [10]. Смертность, наоборот, усиливает свои позиции, количество пожилых людей начинает преобладать над количеством молодых. Весьма вероятная причина этого – эколого-репродуктивный диссонанс [49, 55].

В течение последних 150 лет можно четко проследить тенденцию к росту заболеваний женской репродуктивной системы. Кроме того, наши прародительницы не стремились сделать карьеру, рано выходили замуж, рожали и выкармливали несколько детей – многодетность была в порядке нормы. Что же мы наблюдаем у наших современниц? Женщины откладывают рождение ребенка на более поздний срок, пока не закончат учебу, не устроятся на хорошую работу и не обеспечат все условия для рождения и воспитания ребенка. К тому же существует тенденция к снижению количества детей у супружеской пары, и в настоящее время многодетная семья – более редкий вариант по сравнению с одним-двумя детьми. Печальный итог всех этих обстоятельств – рождаемость значительно падает либо из-за нежелания женщин становиться матерями, либо попросту из-за отсутствия у них такой возможности в связи с накопленным багажом гинекологических и экстрагенитальных заболеваний.

Однако демографическую ситуацию усугубляют и акушерские осложнения, связанные с потерями уже имеющейся беременности или гибелью матерей. К невосполнимым утратам можно отнести и выкидыши на ранних сроках, и внутриутробную гибель плода, и материнскую смертность [19]. Нерешенной и нерешаемой проблемой во всем мире остаются преждевременные роды, повлиять на предупреждение которых не в силах даже самые прогрессивные медицинские методы и

разработки. Однако именно преждевременные роды напрямую связаны с большим риском инфекционных осложнений для матери, а для ребенка – с высокой вероятностью травматизма в родах и тяжелых неврологических нарушений в будущем. Все это в отдаленной перспективе может ухудшить и так пошатнувшуюся демографическую ситуацию.

Именно поэтому сегодня особое внимание специалистов репродуктивной медицины должно быть направлено на сохранение и укрепление репродуктивного потенциала страны и изучение проблемы бесплодия. В последние годы стратегически важную цель повышения рождаемости в стране призваны поддерживать национальные демографические программы [60]. Благодаря им удалось добиться значительных успехов в этом вопросе. Так, согласно данным российской статистики, показатель бесплодия в период с 2015 по 2020 годы снизился на 67%.

Безусловно, позитивный вклад в укрепление демографии вносят вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) [9, 27]. Они дают возможность реализовать репродуктивную функцию тем пациенткам, которые по различным причинам, связанным с нездоровьем, не могут зачать ребенка естественным путем. В частности, благодаря ВРТ за последние 20 лет показатели женского бесплодия в нашей стране снизились примерно в 1,3 раза, достигнув отметки 21% [58]. Вполне вероятно также, что все силы, брошенные на борьбу с пандемией коронавирусной инфекции в 2019–2021 годы, также позволили добиться определенных достижений в укреплении здоровья людей, в частности репродуктивного.

Организация Объединенных Наций прогнозировала рост рождаемости в мире с 7,7 млрд в 2019 году до 9,7 млрд к 2050 году. Тем не менее, говорить о невероятных успехах в преодолении бесплодия будет неправильным: сегодня нет никаких подтверждений о снижении распространенности бесплодного брака [55, 122]. И дальнейшие перспективы весьма пессимистичны. Как было сказано выше, людей, достигших пенсионного возраста, значительно больше, чем подростков и молодежи, и в дальнейшем ситуация будет только усугубляться [55]. Иными словами, репродуктивный потенциал страны становится слабее показателей старения

и смертности населения: особей репродуктивного возраста для воспроизведения новых людей элементарно не хватает.

Впрочем, критичность ситуации с бесплодием во многом зависит от так называемого территориального признака, поскольку уровень инфертильности может быть связан с экологическими и географическими факторами, а также с традициями и культурой [47, 104]. Традиционно в менее развитых странах (страны Африки, Азии, Ближнего Востока и др.) в семьях всегда было много детей, поскольку это считают признаком плодородия. К тому же регулирование рождаемости с помощью различных методов контрацепции, как правило, не применяют в связи с незнанием людей об их существовании или из-за недоступности подобных средств. В РФ чаще всего встречаются трубно-перитонеальную форму бесплодия – это состояние выявляют у 40–74% россиянок [50]. По мнению исследователей, трубный фактор становится причиной инфертильности у 30–85% пациенток, тогда как перитонеальная форма характерна для 9,4–34% женщин [50].

Медицинские возможности преодоления бесплодия доказали свою эффективность уже несколько десятилетий назад. Первая девочка «из пробирки» – Луиза Браун (Louise Brown) – родилась более 45 лет назад, в 1978 году. «Искусственное воспроизведение» не помешало женщине самой стать матерью. За последние четыре десятилетия экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) и другие методы ВРТ помогли появиться на свет более 10 млн детям [42]. В современных условиях вспомогательные репродуктивные технологии ВРТ активно используются в системе здравоохранения и клинической практике. На территории Российской Федерации наблюдается устойчивая тенденция к увеличению числа медицинских центров, специализирующихся на применении методов ВРТ [19, 75]. Все эти годы методы ВРТ, начиная от классического ЭКО до интрацитоплазматической инъекции сперматозоидов (ИКСИ), постоянно развивались [9]. Использование искусственного интеллекта открывает для науки новые возможности и может привести к революционным достижениям в области репродукции.

Россия не отстает от международной практики. В нашей стране продолжает расти количество медицинских организаций, занимающихся проблемами бесплодия, клиник ЭКО и центров репродукции, и с каждым годом потребность в подобных консультациях и помощи специалистов репродуктивной медицины становится все более очевидной [9, 19, 75]. Интересную и наглядную статистику представила РАРЧ. В 2020 году в России появилось на свет более 1,4 млн детей, из них 2,3% – с помощью программ ВРТ. Возможно, это показатель покажется совсем не высоким, однако это дало стране более 34 тыс. новых граждан, что можно считать весьма неплохим достижением. Всего же за период с 1995 года было проведено более 1,3 млн циклов ВРТ, с помощью которых родилось более 333 тыс. детей [27]. Согласно статистическим данным за 2020 год, общее количество проведенных циклов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) достигло 148 660, а число выполненных внутриматочных инсеминаций составило 9500. При этом на долю экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) пришлось 21,8% от общего числа циклов ВРТ, причем частота наступления беременности в расчете на один цикл ЭКО составила 28,9%. Удельный вес интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ) достиг 30,6%, а доля циклов с использованием донорских ооцитов – 6,2% от общего количества процедур ВРТ.

В качестве причин бесплодия могут выступать разнообразные факторы. В этой связи в последние годы большое внимание исследователей и специалистов репродуктивной медицины привлекает аденомиоз. Есть ряд предположений о влиянии этого патологического состояния на развитие инфертильности, однако в настоящее время этот вопрос недостаточно изучен [2].

Существует несколько гипотез о возможном патогенезе бесплодия у женщин, страдающих аденомиозом [74]. Согласно одной из них, изменение толщины переходной зоны между слизистым и мышечным слоями матки, характерное для заболевания, не дает матке сокращаться должным образом и препятствует правильному продвижению сперматозоидов в ней [116].

В описанной переходной зоне между телом и шейкой матки возникают сократительные волны, распространяющиеся от цервикального канала к дну матки.

В период овуляции эти контрактильные движения усиливаются и учащаются, способствуя продвижению сперматозоидов и обеспечивая процесс оплодотворения. Одна из гипотез, объясняющих развитие инфертильности, основана на предположении о негативном влиянии аденомиоза на эти физиологические процессы [70].

Еще одна гипотеза позволяет предположить о наличии функциональных и биохимических изменениях в гетеротопическом и эктопическом эндометрии, что может способствовать формированию аденомиоза [74]. В результате этого изменяется восприимчивость эндометрия для имплантации – этот факт подтверждает обнаружение дефектов в маркерах имплантации. Подобные научные находки побуждают исследователей искать и разрабатывать новые группы лекарственных средств для лечения заболевания. К ним относят ингибиторы ароматазы, селективные модуляторы рецепторов эстрогена (estrogen receptors, ER), комбинированные оральные контрацептивы (КОК), а также агонисты гонадотропин-рилизинг-гормона (аГнРГ).

По другой гипотезе, нарушение рецептивности эндометрия может быть обусловлено повышенным содержанием свободных радикалов в полости матки и изменениями в процессе децидуальной трансформации [103]. Специалисты полагают, что избыточное количество свободных радикалов способно оказывать неблагоприятное воздействие на оплодотворенные яйцеклетки у пациенток с аденомиозом, что может приводить к ранним репродуктивным потерям и бесплодию [137].

По данным разных исследователей, приблизительно у половины пациенток с идиопатическим бесплодием (у 40–45% – с первичным и у 50–58% – с вторичным) выявляют аденомиоз. Вероятно, именно это заболевание значительно уменьшает вероятность имплантации и становится причиной невозможности реализовать репродуктивную функцию. Однако даже успешное зачатие на фоне аденомиоза не вселяет больших надежд на успешное завершение гравидарного периода, поскольку это патологическое состояние повышает риск неблагоприятных акушерских состояний на ранних этапах гестации, в частности самопроизвольного аборта (по некоторым данным – у 15,3% пациенток [66]), и на более поздних, во II триместре, – преждевременных родов, преэклампсии, аномалий плацентации [2, 100].

Интересны результаты одной из работ 2021 года ($n = 5087$), в которой сравнивали репродуктивные исходы у женщин с бесплодием по трубному фактору в зависимости от наличия или отсутствия сопутствующего аденомиоза [175]:

- 1) основная группа ($n = 193$) – инфертильные пациентки с аденомиозом;
- 2) группа сравнения ($n = 4894$) – инфертильные пациентки без аденомиоза.

Исследователи зафиксировали существенно более высокий уровень ранних потерь беременности в основной группе по сравнению с контрольной (13,3% vs 4,0%; $p = 0,012$), а также большую частоту акушерских осложнений (4,4% vs 0,6%; $p = 0,018$). Коэффициент живорождения был ниже у участниц с аденомиозом (22,8% против 33,3%; $p = 0,026$).

Маточный фактор, выступая самостоятельной причиной или в комбинации с другими факторами, обуславливает возникновение 62% всех случаев бесплодия и является причиной до 77,5% неудачных попыток экстракорпорального оплодотворения ЭКО. При этом морфофункциональные нарушения эндометрия выявляются у 88% пациенток, страдающих бесплодием, и у 77,5% женщин с безуспешными попытками достижения беременности методом ЭКО.

Тем не менее, эндометриальные патологические изменения считают независимым риск-фактором бесплодия, поскольку они повышают вероятность его развития в 4 раза.

Большое значение для успешного достижения беременности имеет качество эмбриона и состояние эндометрия. Ни одно научно-практическое мероприятие с участием специалистов репродуктивной медицины не проходит без обсуждения так называемого «тонкого» эндометрия, который врачи считают серьезным препятствием на пути успешного зачатия и репродуктивных технологии. Это сложное состояние в настоящее время недостаточно изучено и его считают одним из белых пятен в области репродуктивной медицины. Однако следует учитывать, что во взаимодействии эндометрия и эмбриона важна не только толщина, но и структура внутренней слизистой оболочки матки [60].

Таким образом, состояние эндометрия имеет ключевое значение для процесса имплантации и формирования плаценты. Именно этому так важна морфофункциональная оценка слизистой оболочки матки у инфертильных женщин с неудачами ЭКО и привычными выкидышами [6]. Множество научных работ подтверждают взаимосвязь аденомиоза и бесплодия при проведении программ ВРТ. Анализ результатов некоторых немногочисленных исследований помог пролить свет на эту непростую ситуацию [166; 174]. Аденомиоз выявляют у 6,9–34,3% женщин, проходящих процедуры ЭКО или ЭКСИ [127,152], а беременеют после этого только 40,5% (по сравнению с 49,8% женщин без этого заболевания).

Связь между аденомиозом и неудачами имплантации эмбриона определенно существует, хотя и требует более глубокого изучения [127]. Тем не менее, у женщин, вступающих в процедуру ЭКО, изменение характеристик переходной зоны (а именно ее утолщение) уже сейчас можно рассматривать в качестве прогностического фактора – вероятно, выполнение манипуляции окажется неуспешным. Стоит также отметить, что у страдающих аденомиозом пациенток отмечают более высокую частоту выкидышей – у женщин без этого патологического состояния частота подобных осложнений почти в 2 раза ниже [23].

Согласно результатам систематического обзора, у женщин, страдающих аденомиозом, вероятность наступления клинической беременности снижена на треть, а риск прерывания беременности вдвое выше по сравнению с пациентками без данной патологии [23]. Полученные данные служат весомым аргументом в пользу проведения скрининга на наличие аденомиоза перед включением женщины в программу вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), что представляется вполне обоснованной стратегией.

Несмотря на то, что бесплодие чаще всего бывает вызвано репродуктивным или соматическим нездоровьем женщин или мужчин, не следует рассматривать это состояние исключительно как медицинскую проблему, поскольку она гораздо шире и затрагивает другие сферы жизни, включая социальные, психологические, демографические и даже политические и экономические факторы. Преодоление

бесплодия – не пустой звук, а одна из важнейших, сложных и остроактуальных задач в области медицины и социальной сферы. Именно от успешного ее решения в прямом смысле слова зависит будущее человека и его поколений не только в рамках его собственной семьи, но и будущее населения всей нашей страны.

Сегодня возможности забеременеть появляются даже у тех бесплодных пар, которые еще вчера не имели на это ни единого шанса. Это происходит благодаря быстрому развитию методов ВРТ, направленных на повышение эффективности борьбы с бесплодием: разрабатывают и совершенствуют новые эффективные подходы, происходят инновационные открытия, научно-технический прогресс также не стоит на месте, меняя жизнь отдельных людей и общества в целом. Хотя не стоит забывать также и о том, что многие решения, способствующие счастливому родителству, должны приниматься в кабинете акушера-гинеколога и других профильных специалистов. Научно-профилактическая работа, своевременная диспансеризация населения, внимание докторов к своим пациентам позволят значительно снизить заболеваемость, в частности гинекологическую.

1.2. Причины аденомиоз-ассоциированного бесплодия

Эндометриозная болезнь по-прежнему остается серьезной проблемой в области гинекологии. Его называют болезнью-загадкой, поскольку причины и механизмы развития его различных форм до сих пор неясны, и это вызывает трудности при ведении пациенток и выборе диагностических и терапевтических тактик. По данным разных источников, частота встречаемости этого заболевания варьирует от 12 до 50%.

В отдельную нозологию теперь выделен аденомиоз (эндометриоз матки), код в МКБ-10 – N80.0 [3]. Аденомиоз представляет собой гормонально обусловленную патологию, отличительными чертами которой являются усиление воспалительных процессов, нарушение запрограммированной гибели клеток (апоптоза) и избыточный рост нервных и сосудистых элементов. Кроме того, для данного заболевания характерна инвазия аденомиозной ткани за границы переходной зоны с последующей инфильтрацией и прорастанием в миометрий [4, 7].

Каковы же основные различия этих двух похожих патологических состояний? Прежде всего, они отличаются происхождением функционального или базального эндометрия. Кроме того, при эндометриозе поражения расположены снаружи матки, а при аденомиозе – внутри нее [118, 131].

Аденомиоз как внутренний эндометриоз впервые описал австрийский патолог Карл фон Рокитанский (Carl Freiherr von Rokitansky) в 1860 году [131]. Почти 100 лет спустя, в 1962 году, американский гинеколог Людвиг Эмж (Ludwig Augustus Emge) назвал его неуловимым заболеванием. Термин «аденомиоз матки» впервые ввел немецкий гинеколог Оскар Франкл (Oscar Frankl) в 1925 году, а современное используемое определение аденомиоза предложил американский гинеколог Чарльз Берд (Charles C. Bird) с коллегами в 1972 году [69].

Существуют довольно противоречивые данные о распространенности генитального эндометриоза. По разной информации, аденомиоз выявляют у 9–70% женщин, хотя в некоторых научных источниках встречаются даже показатели 70–90%. Выделяют две формы заболевания – узловую и диффузную [10]. Последнюю встречают у 34% 18–30-летних женщин, а также у 22% инфертильных пациенток моложе 40 лет.

Причиной формирования аденомиоза могут стать различные факторы. Прежде всего это внутриматочные вмешательства, неизбежно травмирующие ткани матки [15]. Если у женщины рано начались менструации, нарушен МЦ (например, короткие интервалы между ежемесячными кровотечениями), она старше 35 лет, курит и склонна к депрессивным расстройствам, то все эти факторы могут способствовать развитию аденомиоза [51].

Впрочем, относительно влияния возраста и вредных привычек на развитие патологического состояния нет однозначных мнений. Например, авторы одного из исследований пришли к выводу, что частота аденомиоза ниже у курящих пациенток, чем у некурящих, также они заявили о случаях выявления заболевания у девочек-подростков [140]. Тем не менее ряд научных работ подтверждает теорию о том, что аденомиоз чаще выявляют у курильщиц [34].

Важной проблемой при диагностике аденомиоза считают сочетанные пролиферативные гиперпластические процессы, в частности с полипом и гиперплазией эндометрия, а также раком тела матки [42]. В научной литературе можно встретить информацию о том, что сочетание эндометриоза и аденомиоза возникает у 70% женщин, а наличие миомы обнаруживают у 35–55% [75].

В числе наиболее частых клинических проявлений аденомиоза выделяют аномальное маточное кровотечение (АМК), болевой синдром (который нередко характеризуется диспареунией), а также инфертильность и репродуктивные потери [3, 57].

Существует лишь несколько предположений о развитии этого патологического состояния [31]. Согласно одной из теорий, базальные железы и строма эндометрия выходят за пределы базального слоя, в результате чего матка начинается выражено и несинхронно сокращаться. Как результат, переходная зона, играющая роль соединительного элемента между внутренним слоем матки (эндометрием) и мышечной оболочкой (миометрием), подвергается деструктивным изменениям. В ней активизируются процессы клеточного деления и разрастания тканей, что в конечном счете приводит к увеличению толщины этой области [7, 74, 118, 128, 131, 175].

Впервые понятие «переходная зона» (junctional zone, JZ) описала онколог Хедвиг Хричак (Hedvig Hricak) более 40 лет назад, в 1983 году [128]. В норме толщина JZ составляет от 2 до 5 мм, поэтому изменение этого параметра также можно считать одним из предикторов аденомиоза. Тем не менее, не стоит упускать из внимания тот факт, что JZ изменяется на протяжении всей жизни и на ее состояние могут оказывать влияние различные факторы, например, применение некоторых медикаментов. При диффузном аденомиозе из-за процессов пролиферации JZ неравномерно утолщается на 12 мм и более [152].

Согласно некоторым сведениям, даже физиологический менструальный цикл (МЦ) способен выступать в роли запускающего фактора, приводящего к повреждению эндотелиально-миометриальной зоны и последующей инвазии эндо-

метриальных желез в мышечный слой матки. Причиной запуска этого неблагоприятного процесса могут также служить травматические воздействия на ткани во время беременности и в родах, хотя взаимосвязи в данном случае до конца не изучены [10, 31, 57, 83].

Группа немецких ученых во главе с Герхардом Лейендекером (Gerhard Leyendecker) выдвинули гипотезу о запуске механизма повреждения и восстановления ткани – TIAR [120]. Они определили главную причину повреждений – «аутоотравматизацию». Во время МЦ в матке повышается давление, что вызывает разрыв архимиометрия. В результате этого повреждения развивается хроническое воспаление, структура тканей нарушается и клетки эндометрия «прорастают» в миометрий.

Механизм TIAR также ответственен за развитие порочного круга гиперэстрогенной активности и экспрессии ароматазы P450 [118]: запускаемый синтез интерлейкинов (IL), включая IL-6, способствует развитию аденомиоза различной степени.

Согласно некоторым гипотезам, которые нашли подтверждение при микроскопическом исследовании образцов тканей удаленной матки, в эпителиальных и стромальных элементах эндометрия содержатся стволовые клетки, обладающие способностью формировать клоны. В процессе менструации эти клетки претерпевают любопытные изменения: они трансформируются в железисто-стромальные структуры, напоминающие по своему строению ткань эндометрия, образуя так называемые эндометриальные импланты (ЭМИ). Таким образом, они помогают «залатывать дыры» в эндометрии, восстанавливая его после менструации, а также способны выходить за пределы эндометрия. Если же стволовые клетки преобразуются неправильно, это также может привести к гиперплазии гладкомышечных клеток миометрия. Иными словами, к аденомиозу могут приводить как клетки-предшественники эндометрия, так и эндометриальные и мезенхимальные стволовые клетки [110].

Стволовые клетки-предшественники могут оставаться в матке, превращаясь впоследствии в эндометриальные железы и строму и формируя новые ЭМИ [112].

Это явление также связано с хроническим эндометритом (ХЭ) – известным фактором риска серьезных осложнений со стороны репродуктивной системы, в частности неудач имплантации в ходе процедур ЭКО, проблем с ПЭ, потерь беременности и бесплодия [172]. Коварство этого патологического состояния заключается в его бессимптомном течении – нередко не только сами пациентки, но даже и практикующие специалисты не замечают проблем со здоровьем. Тем не менее врачам следует обращать внимание на морфологические проявления заболевания (отек, кровоизлияния, полипы в эндометрии). Подтвердить диагноз и обнаружить плазматические клетки поможет обследование – иммуногистохимическое окрашивание эндометрия с использованием синдекана-1 (CD138). Хотя и этот метод не лишен недостатков, и продолжаются споры относительно нормативных значений этого маркера плазмоцитов.

Основной причиной возникновения ХЭ считают инфекционный процесс, в связи с чем наиболее эффективной оказывается антибактериальная терапия, способствующая, в частности, элиминации плазматических клеток из эндометрия [79]. Связь эндометриоза и ХЭ и неблагоприятных репродуктивных исходов в этом случае давно доказана [37, 108]. Однако в течение долгого времени не было достоверной информации об ассоциации ХЭ и аденомиоза. Тем не менее, одно из недавних исследований, проведенных в 2021 году, все-таки подтверждает, что примерно у 60% пациенток причиной развития аденомиоза выступает именно ХЭ [109]. Иными словами, на имплантационные возможности эндометрия могут отрицательно повлиять не только аденомиоз, но и некоторые сопутствующие заболевания, такие как ХЭ и эндометриоз.

Немаловажное значение в формировании аденомиоза имеют такие активные молекулы, как гормоны, антигены, цитокины. Например, повышение концентрации пролактина способствует разрушению клеток миометрия, что позволяет эктопическому эндометрию выйти за пределы базальной мембраны [31]. Как известно, уровень этого гормона в организме женщины меняется в течение дня, а скачок показателей может быть вызван различными событиями – он активно вырабатывается при стрессовых ситуациях, депрессивных расстройствах, физических

нагрузках, при сильной боли, голоде, во время секса и сна, при гинекологических и маммологических исследованиях.

Одной из причин аденомиоза, может быть, повышенная секреция женских половых гормонов, обязательно сказывающаяся на состоянии эндометрия. Так, гиперэстрогения способна запустить целый каскад неблагоприятных процессов, приводящих в конечном итоге к формированию аденомиоза: усиление пролиферации в эндометрии, травмирование переходной зоны, способствующее погружению эндометрия в миометрий, активацию TLR, которая, как уже было указано выше, ведет к усилению гиперперистальтики матки и аутоотравматизации [34]. Гиперэстрогения также повышает экспрессию IL-10, который регулирует иммуносупрессию и активирует рост очагов аденомиоза. В патогенезе заболевания также участвуют окислительные процессы: при накоплении активных форм кислорода и экспрессии IL-1 и IL-6 формируются провоспалительные простагландины и циклооксигеназа [34, 161]. Кстати, нередко аденомиоз выявляют у пациенток, которым в рамках лечения рака молочной железы назначали тамоксифен [51].

Активно обсуждают вероятность врожденного аденомиоза. По одной из теорий, он может возникать *de novo*. Объяснение этого таково: при эмбриональном развитии плюрипотентные клетки мюллеровых протоков (именно из них в дальнейшем формируются женские половые пути – верхняя часть влагалища, фаллопиевы трубы и матка) метаплазируют и мигрируют в эндометриальные железы и строму, приводя в дальнейшем к формированию заболевания [166]. Вероятно, именно по этой причине аденомиоидные структуры в соединительной ткани выявляют у пациенток с синдромом Рокитанского – Кустера – Майера – Хаузера, не имеющих матки [83, 158].

По другому предположению, отправной точкой развития патологического состояния становится активация тромбоцитов и их инвазия вдоль лимфатических протоков и узлов. И, конечно, при любом заболевании не стоит сбрасывать со счетов генетический фактор: одной из вероятных причин аденомиоза считают полиморфизм матриксных металлопротеиназ (matrix metalloproteinase, MMP) в промоторной области, в частности MMP-1-1607 1G/2G и MMP-2-1306 C/T [10].

Для диагностики аденомиоза применяют высокоэффективные методы (эффективность составляет от 20 до 90%) – УЗИ, МРТ, гистероскопию и гистеросальпингографию [16].

Как правило, оперативное удаление матки назначают по показаниям, связанным с бессимптомным течением миомы матки. В среднем около 20–30% удаленных органов после гистерэктомии отправляют на гистологическое обследование, в ходе которого порой обнаруживают неожиданные находки. Так, примерно в 60% таких образцов определяют диффузную форму аденомиоза.

Как уже было указано выше, аденомиоз принято считать «заболеванием взрослой жизни», более характерным для женщин старших возрастных групп. Однако это патологическое состояние хоть и редко, но встречаются у пациенток моложе 25 лет, а УЗ-признаки диффузного аденомиоза обнаруживают у 34% 18–30-летних [10].

Нередко для оценки признаков аденомиоза используют такие инструменты как шкалы, позволяющие определить уровень болевых ощущений при патологическом состоянии и оценить качество жизни и эффективность оперативных вмешательств у пациенток после лечения. В частности, в клинической практике применяют визуальную аналоговую шкалу (ВАШ) и вербальную описательную шкалу [49, 143].

Различные классификации аденомиоза предложены как иностранными, так и отечественными экспертами. Первую из них представил Ч. Берд в 1972 году, и она основана на гистологических характеристиках в зависимости от глубины и степени поражения [69]. Другую предложили исследователи во главе с Элке Хауф (Elke A. M. Nauth) в 2007 году, и она основана на данных МРТ с учетом толщины JZ с тремя характеристиками [98, 101]. Классификация глубокого инфильтративного эндометриоза (ENZIaN), появившаяся в 2011 году, учитывает размеры, расположение положений и глубину их «погружения» [99].

В России применяют различные классификации [61. Например, предложенная акад. Г. М. Савельевой (2012 год) основана на результатах гистероскопии [53].

1) I стадия – сохранение рельефа стенок матки, наличие эндометриоидных ходов;

- 2) II стадия – ригидность и неровность контура стенок матки;
- 3) III стадия – наличие выбуханий без четких контуров на внутренней поверхности матки.

Классификация акад. Л. В. Адамян (1998 год) подразделяет аденомиоз на четыре стадии, начиная с поражения подслизистого и мышечного слоев матки и заканчивая широким распространением процесса с вовлечением брюшины и органов малого таза.

Определить стадию аденомиоза у женщин с сохраненной маткой можно с помощью трансвагинального ультразвукового исследования (ТВ-УЗИ) и МРТ [57, 61]. Эти визуализационные методы позволяют значительно улучшить выявление заболевания.

Более предпочтительно назначать ТВ-УЗИ, особенно в комбинации с 2D- и 3D-изображениями, выполняя обследование во II фазу МЦ, за несколько дней до начала менструации [53]. Метод доступен, быстр в исполнении, имеет высокую чувствительность и специфичность (72–82% и 81–85% соответственно). В ходе 2D-ТВ-УЗИ можно обнаружить характерные для аденомиоза признаки, в частности форма матки будет изменена, стенки органа ассиметричны, структура миометрия неоднородна [53]. Выполнение 3D-ТВ-УЗИ, особенно с цветной доплерографией, позволяет увидеть «погружение» эндометрия в миометрий, а также отличить аденомиоз от миомы матки.

Тем не менее, метод МРТ традиционно считают более точным и продвинутым. Его чувствительность достигает 77%, а специфичность – 89%. Кроме того, в T2-изображениях можно лучше идентифицировать картину переходной зоны.

В 2001 году исследователи под руководством Марка Базо (Marc Bazot) предложили использовать следующие диагностические критерии: если толщина JZ превышает 12 мм и более, а соотношение максимальной толщины переходной зоны и толщины миометрия составляет 40% и более [68]. Если при гистероскопии обнаружены эндометриоидные ходы, и есть трудности с расширением полости матки, то это с большой долей вероятности позволяет говорить об аденомиозе [67]. Однако следует учитывать, что любое внешнее травмирующее событие

(например, выскабливание полости матки) повреждает сосуды базального слоя, вследствие чего признаки могут быть сходными, что повлечет за собой неправильный диагноз [10, 53, 59, 65, 118].

Споры о том, какой именно метод диагностики аденомиоза более точный, идут до сих пор. Чувствительность и специфичность УЗИ и МРТ при диагностике заболевания находятся практически на одном уровне. Хотя точность результатов сонографического исследования во многом зависит от опытности и квалификации специалиста, выполняющего обследование. МРТ признан более точным, поскольку позволяет добиться прекрасной визуализации органов малого таза и патологических изменений в них [68].

По мнению разных авторов, информативность УЗИ составляет 20–60%, МРТ (даже на ранних стадиях заболевания) – 64–88%, гистероскопии – 32,9–91,4% [18]. Интересны результаты исследования, посвященного изучению диагностической точности каждого из них. В ходе работы определяли соотношения обследованных пациенток, у которых с помощью этих методов диагностировали аденомиоз еще до оперативного вмешательства. Применение УЗИ позволило заподозрить заболевание у 56,7% женщин, МРТ – у 83,3%, тогда как гистероскопия показала самый высокий результат – у 90%.

УЗ-признаки диффузной формы аденомиоза в зависимости от стадии заболевания.

1) I стадия – наличие тонких полосок, кист и образований неравномерной толщины в эндометрии, миометрии и на границе переходной зоны [16].

2) II стадия – утолщение эндометрия, поперечные узоры на патологических образованиях.

3) III стадия – значительное увеличение матки, значительное утолщение одной из ее стенок матки на 10 мм и более [16, 45].

МРТ-признакам аденомиоза сходны с УЗ-признаками (неоднородность и неравномерное утолщение переходной зоны, неровные ее контуры – «зазубренность», ассиметричность стенок матки, увеличение размера матки), однако на

МРТ также визуализируют множество мелких кист и полостей, наполненных кровью или сгустками [22].

Признаками аденомиоза при выполнении гистероскопии аденомиоза считают обнаружение эндометриoidных ходов, бледно-розового эндометрия, феномена «пчелиных сот» [59]. Диагноз подтверждают гистологически по наличию эктопического эндометрия в миометрии.

Лечение аденомиоза направлено на то, чтобы уменьшить симптомы заболевания и восстановить репродуктивную функцию пациенток. При этом лечение должно быть комплексным и включать фармакотерапию, хирургические методы, профилактические мероприятия.

Фармакотерапия аденомиоза предполагает назначение разных групп лекарственных средств, в частности прогестеронов, аГнРГ, КОК, внутриматочной системы, высвобождающей левоноргестрел (ЛНГ-ВМС), нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП).

В качестве симптоматической терапии аденомиоза применяют НПВП и КОК. Однако говорить об эффективности подобной тактики сложно, поскольку препараты этих групп недостаточно изучены, кроме того, использование некоторых из них может быть ограничено инструкциями по медицинскому применению [59].

Как известно, аденомиотические поражения экспрессируют рецепторы ГнРГ. Именно поэтому свое применение в медикаментозном лечении аденомиоза нашли представители группы аГнРГ. Они воздействуют на рецепторы ГнРГ и оказывают прямое антипролиферативное действие в миометрии, а также оказывают системный и местный гипоэстрогенный эффект, подавляя секрецию гонадотропина.

Для аденомиоза характерны повышение экспрессии ER, активация сульфатазы и ароматазы и уменьшение локального метаболизма эстрогенов, что в конечном итоге становится причиной гиперэстрогении. В противовес этому снижается регуляция рецепторов прогестерона (progesteron receptors, PR), они теряют свои свойства, что тянет за собой рост резистентности к прогестерону.

В числе других механизмов действия аналогов ГнРГ – индуцирование апоптоза в аденомиоидных тканях, уменьшение воспаления и ангиогенеза, подавление экспрессии синтаз оксида азота и пероксинитрита, снижение концентраций метаболитов оксида азота в крови. Применение аналогов ГнРГ способствует уменьшению тяжелых симптомов заболевания и изменению размеров матки.

Однако хорошему лечебному эффекту можно противопоставить побочные действия представителей этих групп. В частности, при их приеме, особенно длительном, отмечают тяжелые вазомоторные и психосоматические нарушения, атрофические изменения половых органов, снижение минеральной плотности костной ткани с повышением вероятности переломов и остеопороза. Это крайне важно для пациенток с высоким риском хирургического вмешательства или не реагирующих на другие медикаменты, поскольку подобные осложнения могут значительно снижать качество жизни женщин. Чтобы минимизировать развитие нежелательных явлений, рекомендовано использовать дополнительную терапию.

Тем не менее, дискуссии о так называемой терапии прикрытия продолжаются, и пока нет четких указаний о том, какие препараты и кому следует назначать совместно с аналогами ГнРГ при развитии тяжелых вазомоторных симптомов или для предотвращения потери костной массы. В одном из исследований изучали длительное использование аналогов ГнРГ в низких дозах. Небольшой группе женщин с аденомиозом ежедневно в течение 2 лет вводили бусерелина ацетат назально. Такая оттягивающая терапия позволила поддерживать концентрацию эстрадиола в крови в пределах «терапевтического окна». При этом результаты работы показали благоприятный профиль безопасности подобной тактики, поскольку удалось достичь терапевтического воздействия на аденомиоз без развития выраженных и тяжелых для пациенток нежелательных явлений [105, 107].

Есть предположения, что аГнРГ могут повлиять на бесплодие и стать безопасным и эффективным выбором для женщин, страдающих аденомиозом и имеющих сложности с имплантацией высококачественных эмбрионов. Для подтвер-

ждения этих возможностей провели несколько работ, в ходе которых использовали длительный протокол ЭКО с назначением указанных препаратов. В итоге частота беременности у пациенток с аденомиозом и без него оказалась сходной.

Однако о грандиозном успехе применения аГнРГ у инфертильных пациенток говорить преждевременно, поскольку исследования были ретроспективными и нельзя исключать влияние других факторов на окончательные итоги.

Работы в этом направлении продолжаются. Исследователи предпринимают попытки выяснить, насколько предварительное назначение некоторых групп препаратов (например, аГнРГ) пациенткам с аденомиоз-ассоциированным бесплодием перед переносом замороженных эмбрионов окажется эффективным для успешного зачатия. Дальнейшее благоприятное течение беременности у участниц работ подтверждает, что подобная тактика работает [127].

В частности, аналогичные результаты были получены и в исследовании А. А. Аксененко (n = 128 с «провальными» попытками ЭКО в анамнезе). Участницам первой группы стимулировали яичники, назначая им аГнРГ, второй – «длинный» протокол с аГнРГ. Эффективность обоих протоколов была одинаковой [73].

Один из мучительных симптомов аденомиоза – болевой синдром. Его развитие связано с различными гистологическими изменениями в тканях матки на фоне этого заболевания, в частности с усилением клеточной пролиферации и экспрессии фактора роста нервов и изменением плотности нервных волокон. Прогестин диеногест оказывает влияние на PR. Препарат угнетает функцию яичников, проявляет антипролиферативные свойства в отношении эндометрия и способствует снижению уровня эстрогенов. Он также индуцирует апоптоз, что становится причиной ингибирования клеточной пролиферации. Прием диеногеста в дозе 2 мг способствует снижению концентрации эстрадиола до уровня «терапевтического окна» (30–50 пг/мл), что позволяет держать под контролем состояние эндометрия без развития побочных эффектов, связанных с недостатком эстрогенов (например, снижение минеральной плотности костей) [38, 39, 40].

Такие свойства препарата открывают новые возможности даже для пациенток с длительным бесплодием и неудачами попыток ЭКО в анамнезе. Для улучшения эффективности циклов ЭКО у женщин с аденомиоз-ассоциированным бесплодием рекомендован прием препарата в течение 4–6 мес перед началом ЭКО (4 мес при аденомиозе I–II степени тяжести, 6 мес – III степени). Это подтверждено в исследовании проф. Э.В. Вартанян, в ходе которого пациенткам назначали диеногест. В результате эффективность ЭКО возросла в 2 раза и достигла 48,6%. После проведенного курса лечения более половины участниц заявили о нормализации МЦ, 74,3% – отметили уменьшение болевого синдрома [8].

Как известно, андрогенная и гипоэстрогенная среда могут как прямо воздействовать на аденомиотические поражения, так и косвенно влиять на проявления заболевания. Прием даназола, которому присущи достаточно выраженные антигонадотропные свойства, позволяет достичь баланса гормонов: снизить выброс лютеинизирующего гормона в середине МЦ и повысить содержание свободного тестостерона в крови. На эндометрий даназол также оказывает благоприятное воздействие, способствуя уменьшению его пролиферации, а также позволяет уменьшить размер матки, кровотечение, боль и диспареунию [165]. Кстати, последнее утверждение доказано в исследованиях *in vitro*: препарат прямо воздействует на пролиферацию клеток и стимулирует апоптоз.

ЛНГ-ВМС, используемые с целью контрацепции, успешно применяют и в лечении аденомиоза. Подобные системы способствуют уменьшению толщины переходной зоны между миометрием и эндометрием. ЛНГ-ВМС также позволяют уменьшить болевые ощущения и менструальную кровопотерю, причем даже у пациенток без аденомиоза. Это обусловлено прямым влиянием левоноргестрела: система выделяет гормон локально, и точкой его приложения становятся эндометрий и окружающие ткани, при этом препарат практически не всасывается в кровь и не оказывает системного действия. Местное высвобождение левоноргестрела усиливает апоптоз в железах эндометрия и стромальных клетках, стимулирует децидуализацию аденомиозных очагов и приводит к их атрофии и уменьшению раз-

меров путём подавления ER. В дальнейшем это позволяет предотвратить стимулирующее влияние эстрогенов и уменьшить вероятность нежелательных эффектов, связанных с приемом препаратов *per os*.

ЛНГ-ВМС можно рассматривать в качестве эффективного и удобного альтернативного метода лечения хронической тазовой боли, ассоциированной с аденомиозом. Систему можно применять длительно, ее эффект обратим (фертильность восстанавливается после удаления), к тому же она подходит для пациенток с тазовой болью на фоне аденомиоза легкой и умеренной степени тяжести, позволяя не допустить осложнения заболевания и снизить необходимость в оперативном вмешательстве.

Использование ЛНГ-ВМС на протяжении 3 лет способствует улучшению самочувствия женщин, у 72% из них снижается выраженность дисменореи и размеров матки по сравнению с теми показателями, которые были до лечения. При этом болевые ощущения уменьшаются довольно быстро, тогда как сокращение объема матки может занять около 2 лет после начала применения системы [164].

Помимо ЛНГ-ВМС, дополнительными неконтрацептивными свойствами обладают также комбинированные оральные контрацептивы (КОК). Они подавляют экспрессию ароматазы в эутопическом эндометрии и в очагах аденомиоза и вызывают индуцированную децидуализацию и последующую атрофию эндометрия, что способствует снижению болевых ощущений. Эти эффекты позволяют использовать КОК в программах лечения заболевания. Вызванная приемом этих препаратов аменорея уже сама по себе значительно облегчит состояние пациенток, поскольку уменьшит выраженность дисменореи и меноррагии.

Впрочем, в настоящее время в инструкциях по применению КОК показание «аденомиоз» отсутствует несмотря на то, что препараты действительно помогают контролировать такие симптомы заболевания, как тазовая боль. К тому же, пока еще нет высококачественных рандомизированных контролируемых исследований, которые бы подтвердили эффективность лечения аденомиоза с помощью КОК [155].

Для симптоматического лечения дисменореи и АМК, ассоциированных с аденомиозом, и облегчения болевого синдрома применяют НПВП. Их обезболивающий эффект при менструальных болях доказан в различных исследованиях, однако зачастую в них отсутствует информация о конкретных препаратах и их безопасности. Некоторые авторы утверждают, что НПВП способствуют уменьшению объема менструальных кровотечений, хотя их эффективность уступает действию гормональных средств или транексамовой кислоты. Тем не менее достоверных подтверждений эффективности применения НПВП при аденомиозе пока нет [165].

Предпочтение хирургическому лечению следует отдавать только в том случае, если фармакотерапия оказалась неэффективной, вне зависимости от того, планирует ли женщина беременность или нет. К тому же, что касается оперативных вмешательств (перевязки маточных артерий, аблации, электрокоагуляции миометрия), то при аденомиозе эти консервативные методы не имеют высокой эффективности. Наиболее действенным методом признана гистерэктомия.

Для хирургического лечения при диффузной или очаговой форме заболевания применяют аденомиомэктомию, циторедуктивную операцию. Использование неэксцизионных методов может вызвать некроз тканей, что недопустимо у пациенток, не реализовавших свою репродуктивную функцию. Женщинам с локализованной формой аденомиоза (аденомиомой) может быть рекомендована аденомиомэктомия, в ходе которой удаляют патологически измененные ткани, а от аблации эндометрия, терапии высокоинтенсивным сфокусированным ультразвуком и эмболизации маточных артерий (ЭМА) лучше отказаться.

Наиболее распространенным методом лечения аденомиоза у пациенток моложе 40 лет, у которых попытки забеременеть с помощью программ ВРТ оказались безуспешными, признана лапароскопическая или открытая хирургия. Разрезы в этом случае могут быть поперечными, продольными, клиновидными и Н-образными – конкретный вариант выбирают в зависимости от размера и расположения очага поражения. Методы выполнения разрезов и последующего изшивания также могут отличаться, например, при аденомиомэктомии используют двух- и трехлокутные подходы.

При диффузной форме заболевания выполняют циторедуктивную операцию, приоритетные цели которой – сохранить матку и максимально удалить аденомиотическую ткань. Это позволяет сохранить функциональные свойства миометрия. Однако в случае с диффузным аденомиозом непросто определить, где проходит граница между здоровой и патологической тканью.

Врачу необходимо принимать решение о выполнении оперативного вмешательства по поводу аденомиоза совместно с пациенткой, учитывая ее индивидуальные особенности, пожелания, психологическое состояние и особенно репродуктивные планы [127].

Как показывают результаты одного из исследований, у пациенток, которым провели хирургическую манипуляцию, частота родов была выше, чем у тех, кому назначали аГнРГ (33% против 8% соответственно) [169].

Однако по исходам беременности и частоте живорождений результаты совместного медикаментозного и хирургического лечения не отличались. При этом участницы, принимавшие аГнРГ с последующим оперативным вмешательством, были старше, чем подвергшиеся только хирургическому лечению.

При выборе тактики лечения необходимо также учитывать и потенциальные осложнения, которые могут возникнуть в ходе операции или в послеоперационном периоде. В частности, для нормального протекания гравидарного периода у женщин, подвергшихся хирургическому вмешательству по поводу аденомиоза, важным фактором может оказаться толщина стенки матки. Идеальное значение параметра в этом случае должно укладываться в 9–15 мм. Как показали результаты одной из работ, лишь у двух будущих матерей из пяти с толщиной стенки матки 7 мм и менее беременность протекала без осложнений [6].

В научной литературе описано два случая разрыва матки, произошедших после обширного вмешательства по поводу аденомиоза [138].

В исследовании с участием будущих матерей разрыв матки после обширной операции по поводу аденомиоза произошел у двух женщин после циторедуктивных операций.

1.3. Морфофункциональные особенности эутопического эндометрия при бесплодии, обусловленном аденомиозом

Качество ооцитов и эмбриона – важнейшие параметры для успешного зачатия и исхода программ ВРТ. Данное явление во многом обусловлено возрастом пациентки, генетическими факторами, а также морфофункциональным состоянием эндометрия в период имплантации [27, 50, 104]. Роберт Эдвардс (Robert Edwards), признанный авторитет в области изучения эндометриоза и гинекологических онкологических заболеваний, охарактеризовал нерецептивный эндометрий как «финальное препятствие» на пути успешного применения методов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), и это высказывание не утратило своей актуальности и по сей день [10].

Стероидные гормоны яичника регулируют пролиферацию и дифференциацию эндометрия, взаимодействуя с его рецепторами [24]. Кроме того, состояние этой ткани подвержено влиянию гинекологических заболеваний, в связи с чем репродуктивное планирование должно включать тщательное обследование пациентки акушером-гинекологом и назначение соответствующего лечения при необходимости [25].

Многие биохимические и функциональные изменения в эутопическом и в эктопическом эндометрии у пациенток с аденомиозом снижают восприимчивость эндометрия, у них также наблюдают изменение децидуализации и аномальный рост концентраций внутриутробных свободных радикалов. Итогом всех этих патологических изменений становятся трудности с зачатием, а нередко и вовсе его невозможность [83].

По мнению проф. М. Р. Оразова (2020), эндометрий – уникальная высокорегенеративная ткань, изменяющаяся под влиянием половых гормонов, содержание которых изменяется на протяжении МЦ. Изменения могут зависеть от состояния местного микроокружения, которые формируют различные структуры (стромальные, эпителиальные, эндотелиальные и иммунные клетки эндометрия) [35].

Если эндометрий содержит все необходимые структуры, каждая из которых выполняет определенную функцию, то это обеспечивает способность к зачатию,

имплантации эмбриона и поддержанию беременности. В этом случае говорят о рецептивности эндометрия. Основной причиной нарушения рецептивности эндометрия становится его имплантационная неспособность. Именно поэтому в последние годы изучение особенностей влияния аденомиоза на рецептивность эндометрия вызывает большой научный и практический интерес.

Репродуктивные неудачи в своем большинстве связаны именно с изменением рецептивности эндометрия. Если эндометрий не находится в рецептивном состоянии, то даже здоровый полноценный эмбрион не сможет имплантироваться в ткань, и наступление беременности будет невозможным [1, 33, 115].

Изучение биоптатов эндометрия в период максимальной рецептивности, совпадающей с предполагаемым «окном имплантации», подтверждает это предположение [1]. Известно, что имплантация эмбриона может успешно пройти в любом органе человеческого организма, кроме эндометрия, который не находится в рецептивном состоянии [115].

Для того, чтобы плодное яйцо надежно закрепилось в эндометрии, необходим благоприятный момент – так называемое «окно имплантации». «Поймать» его не так просто, поскольку длится этот период около 48 ч и выпадает на приходится на 7–10-й день овуляции или сдвигается на 1–2 дня раньше, если выполняют стимуляцию овуляции [33, 35]

Для определения рецептивности эндометрия создан клинический тест «Матрица рецептивности эндометрия» (endometrial receptivity analysis, ERA) (Igenomix, Испания). Он позволяет узнать индивидуальный период «окна имплантации» на основе молекулярной характеристики биоптата эндометрия. Возможно, в скором времени его можно будет использовать для определения оптимального времени ПЭ при выполнении программ ВРТ [147].

Термин «тонкий эндометрий» ввел израильский специалист Йонатан Гонен (Yonatan Gonen) в 1989 году, подразумевая под этим толщину ткани к началу секреторной фазы МЦ 8 мм и менее [97]. По мнению многих экспертов, именно это состояние становится одной из главных причин неудач беременности и бесплодия

[62]. Действительно, многие исследования в области ВРТ подтверждают, что толщина эндометрия имеет прямую связь с результатами ЭКО [136].

По данным различных работ, вероятность беременности значительно возрастает при пороговом значении толщины эндометрия – 6–8 мм [84, 114]. Тем не менее тема определения пороговой толщины, при которой эндометрий становится «тонким», до сих пор остается дискуссионной.

В числе причин «тонкого» эндометрия называют ХЭ, который нередко протекает бессимптомно [91, 146]. Тем не менее, патологическое состояние запускает воспалительный процесс в полости матки, переходящий в хроническую форму, что ведет к повреждению слизистой оболочки с дальнейшим развитием синдрома Ашермана. В итоге эндометрий становится тоньше и атрофичнее, а раневые поверхности прилипают друг к другу и впоследствии срастаются, образуя таким образом внутриматочные спайки (синехии). В некоторых случаях разрастание соединительной ткани может быть настолько интенсивным, что приводит к деформации и даже полному закрытию полости матки.

Обнаружить спайки внутри матки можно с помощью ТВ-УЗИ по характерным признакам – неправильному контуру эндометрия и изменениям в маточной перфузии во II фазе МЦ [5].

Большое влияние на имплантацию и успешное развитие эмбриона оказывают изменения окружающей среды матки, в частности окислительный стресс. Повышение содержания свободных радикалов в эндометрии и экспрессии синтазы оксида азота может отрицательно сказываться на состоянии яйцеклетки, развитии эмбриона и последующей беременности, а также приводить к бесплодию и аденомиозу.

Для правильного развития эмбриона необходимо, чтобы содержание свободных радикалов находилось в оптимальном диапазоне. Если уровень этих веществ выходит за рамки, это может стать причиной избыточного воздействия оксида азота и атаки макрофагов и Т-клеток на эмбрион, что значительно повышает вероятность выкидыша.

У пациенток, страдающих аденомиозом, нередко выявляют аномальные изменения в развитии эндометрия, и эти нарушения затрагивают всю пролиферативную фазу. Вероятно, причины таких патологических метаморфоз могут быть вызваны изменениями в сосудах слизистой оболочки матки, участвующих в процессах пролиферации, и молекулярных маркеров воспаления эндометрия [51].

В какой-то мере эндометрий можно назвать биосенсором, поскольку он имеет свойства оценивать качество эмбриона по параметрам восприимчивости и селективности. Селективность эндометрия – это генетически обусловленный механизм, позволяющий «отсеивать» эмбрионы с низким потенциалом к дальнейшему развитию, своеобразный естественный фильтр, препятствующий имплантации нежизнеспособных зародышей. В противоположность этому, восприимчивость эндометрия подразумевает его способность создавать благоприятную микросреду, необходимую для полноценного развития эмбриона и формирования плацентарной ткани [36].

В 2019 году был проведен метаанализ, охвативший 163 исследования с участием 88 834 женщин, целью которого являлось изучение основных показателей, отражающих готовность эндометрия к имплантации эмбриона [82]. К числу таких показателей относились ультразвуковые маркеры, определяемые в день овуляции и в день переноса эмбриона (ПЭ), а также потенциальные маркеры, выявляемые в гистологических образцах эндометрия и призванные прогнозировать неудачные попытки экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). В их число вошли НОХА10, BCL6, P450, PEG-a2, hCG-LH, β -ингибин, β -гликан, количество пиноподий, профиль экспрессии генов эндометриальной рецептивности (ERA) и другие. Кроме того, в аспирате эндометрия были обнаружены маркеры, включенные в анализ (ФНО- α , hDP 200, LIF, IL-18 и др.), а также оценивались гистероскопические характеристики, такие как расположение желез и наличие разветвленных сосудов [36].

Наиболее благоприятный период для имплантации эмбриона – 6–10-й день после овуляции, когда эндометрий достигает зрелости [21] и на его поверхности появляются пиноподии [146]. По этапам развития эти структуры разделяют на «развивающиеся», «зрелые» и «регрессирующие»: они начинают формироваться на

5-й день после овуляции, достигая пика на 7-й день и снижаясь в течение 2 дней. В программах ВРТ эти значения несколько отличаются, что зависит от влияния гормонов. Например, в циклах стимуляции яичников пиноподии формируются на 4-й день после введения ХГЧ и достигают пика на 6-й день, а в циклах ПЭ на фоне приема прогестерона – на 7-й и 8-й дни, соответственно.

На качество и количество пиноподий влияет трансформация секреторных клеток, включая четыре степени, от нулевой, когда пиноподии полностью отсутствуют, до третьей, для которой характерно наличие множества этих структур, занимающих 50% и более площади поверхности.

Есть данные, что успех имплантации во многом зависит от зрелости и количества пиноподий, а также от площади контакта эпителиальных клеток, покрытых ими. Хотя есть сведения, что иногда бластоциста способна прикрепиться к идеально ровной поверхности, на которой нет структурных выростов. Нарушение формирования пиноподий наблюдают при различных патологических состояниях – гиперплазии эндометрия, миоме матки, аденомиозе и ХЭ, и в конечном итоге все это может стать причиной снижения рецептивности эндометрия [5, 21, 82].

Для успешной имплантации и наступления беременности необходимо поддерживать определенный уровень цитокина LIF (лейкемия-ингибирующий фактор), который взаимодействует со своим рецептором LIF-R. После овуляции концентрации LIF и LIF-R постепенно увеличиваются, достигая максимальных значений в определенные фазы менструального цикла (МЦ): для LIF пиковые концентрации отмечаются в период с 7-го по 12-й день после овуляции, а для LIF-R – в интервале между 19-м и 25-м днями МЦ, что создает благоприятные условия для повышения вероятности имплантации эмбриона. LIF активирует сигнальный путь STAT3 (Signal transducer and activator of transcription 3 – сигнальный белок и активатор транскрипции 3), который, в свою очередь, оказывает влияние на рецептивность эндометрия.

Еще один потенциальный маркер рецептивности эндометрия – экспрессия miR-223-3p (представляет собой короткую молекулу рибоксинуклеиновой кис-

лоты), который может влиять на формирование пиноподий и экспрессию LIF в эндометрии [85]. Если экспрессия этого маркера повышена при открытии «окна имплантации», это снижает вероятность беременности [13, 14].

Муцины – это семейство высокомолекулярных гликопротеинов, находящихся на поверхности эпителиальных клеток. Муцин-1 (mucin-1, MUC1) считают интегральным мембранным белком. Ранее предполагали, что MUC1 способствует рецептивности эндометрия, поскольку его экспрессия возрастает в период «имплантационного окна». Позже, благодаря экспериментам на животных моделях (мышьях), ученые пришли к выводу, что MUC1 напротив создает определенный барьер для имплантации, не давая возможности трофобласту прикрепиться к эпителию [13].

Уровень муцина изменяется в зависимости от фазы МЦ. Обычно уровень экспрессии MUC1 выше у женщин в перимплантационном периоде, а у пациенток, страдающих эндометриозом, экспрессия MUC1 снижена. В научной литературе также можно встретить работы, посвященные изучению влияния генетических полиморфизмов гена муцина-2 (MUC2) на риск эндометриоза и бесплодия и подтверждающие такую связь [76].

Нельзя не отметить важную функцию маточных НК-клеток – uNK, которые участвуют в формировании иммунного ответа и инвазии. uNK, имеющие маркер CD56+, способны распознавать аналогичные фенотипы эмбриона (CD117+, CD94, CD3–), благодаря чему не активируют иммунный ответ при имплантации [154].

В ходе имплантации uNK подают сигналы, стимулируя тем самым эпителиальные клетки эндометрия и выработку различных факторов, например, IL-15 и фактора роста эндотелия сосудов, участвующих в пролиферации и имплантации. Измерить уровень uNK представляется довольно сложной задачей, поскольку показатели изменяются в течение МЦ под влиянием гормонов, что в конечном итоге может отражаться на имплантации и развитии трофобласта и исходе беременности [154].

Имеющиеся к настоящему времени научные работы не подтверждают предположения, что низкий уровень НК-клеток приводит к неудачам имплантации и развитию инфертильности. В любом случае, прежде чем использовать оценку НК-

клеток в качестве диагностического инструмента в контексте женского бесплодия, необходимы дальнейшие исследования в этом направлении [159].

Определение уровня uNK и периферических NK-клеток с помощью биопсии эндометрия может быть полезным маркером – их уровень выше у женщин с повторными неудачами имплантации (ПНИ) ($13,4 \pm 1,2\%$ против $8,4 \pm 0,7\%$ в группе сравнения) [154]. Более чем у половины участниц с неудачами в имплантации количество uNK было значительно повышено, в то время как в группе контроля этот показатель составил лишь 5%.

Противоположные результаты показал метаанализ, проведенный в 2014 году: у женщин с неудачами имплантации содержание периферических NK-клеток выше как в процентном соотношении, так и в общем количестве по сравнению с фертильными пациентками. Причем чувствительность проведенного теста достигла только 11%. По мнению исследователей, экспрессию NK-клеток не следует рассматривать в качестве предиктора неудач имплантации. Однако этот параметр может быть полезен в случае, когда выставлен диагноз бесплодия [150].

На рост эндометрия и связанную с этим последующую успешную имплантацию эмбриона (его прикрепление к эндометрию и «погружение» в стромальный слой ткани) наиболее значительное влияние оказывают эстрадиол и прогестерон [27, 157]. Точная регуляция выработки эстрогенов и прогестерона влияет на циклический рост эндометрия и, как следствие, на его готовность к приему эмбриона. uNK могут воздействовать на эти процессы, однако серьезных подтверждений этому пока что не найдено. Некоторые исследователи выдвигают предположение о том, что количество натуральных киллеров (NK-клеток) повышено у пациенток, страдающих бесплодием. Однако авторы метаанализа, проведенного в 2019 году, не выявили статистически значимых различий в содержании NK-клеток в периферической крови между фертильными и бесплодными женщинами [113]. Аналогичная ситуация наблюдается и в отношении T-клеточных гранулярных лимфоцитов (CD3+, CD8+, CD57+) в периферической крови: корреляции между их уровнями и частотой повторных неудач имплантации (ПНИ) также не было обнаружено [113, 150, 159].

Для успешной имплантации необходимы пролиферация, дифференцировка и выработка секреторных белков в матке, и особое участие в этом принимают женские половые гормоны [42]. Молекулярные механизмы, регулирующие связанные со стероидами процессы, также активно изучают специалисты. По мнению исследователей, активация стероид-регулируемых путей происходит через рецепторы ER (α и β) и PR (A и B), состояние которых может изменяться [27]. Например, после овуляции и при беременности наблюдают рост концентрации прогестерона, что приводит к пролиферации эндометриальных клеток и создаёт благоприятные условия для прикрепления и погружения эмбриона [124, 133]. Эстрогеновое влияние еще больше усиливает этот процесс [133]. Несмотря на то, что эстрогены играют важную роль в успешной имплантации эмбриона, в некоторых ситуациях они могут отрицательно воздействовать на этот процесс имплантации и даже препятствовать [48, 93, 94, 118, 124, 133].

Децидуальные клетки эндометрия, также сформированные под влиянием прогестеронового сигнала, обеспечивают гистотрофическое питание, создают иммунотолерантную среду, защищают от неблагоприятных факторов, а также предотвращают чрезмерное погружение эмбриона в матку и отбирают нежизнеспособные эмбрионы [94].

На женскую фертильность способны повлиять многие факторы, включая различные гинекологические и экстрагенитальные заболевания, процессы старения, условия окружающей среды, психологические аспекты и другие. Способность к размножению и зачатию закладывается еще задолго до рождения, поэтому не стоит сбрасывать со счетов и генетические поломки и врожденные аномалии. Например, при дефекте мюллерова протока во время эмбрионального развития женская репродуктивная система (маточные трубы, матка, цервикальный канал и верхняя часть влагалища) может сформироваться неправильно, что в отдаленной перспективе может стать причиной infertility женщины.

Важную роль в развитии женских репродуктивных путей еще на этапе эмбрионального развития играют гомеобоксные гены (*HOX*-гены), они же во многом определяют состояние эндометрия женщин в течение МЦ, принимают участие в

процессах созревания фолликулов в яичниках и имплантации эмбриона [86]. В частности, *HOX*-гены контролируют морфогенез и дифференциацию клеток в процессе нормального развития эмбриона и влияют на различные гены, участвующие в процессе имплантации (интегрин β_3 и *EMX2*).

HOX-гены могут располагаться в разных частях женских половых путей. Например, *HOXA10* обнаруживаются в матке, *HOXA11* – в нижней части матки и цервикальном канале, а *HOXA13* – в эктоцервиксе и верхней части влагалища [132]. Для успешной имплантации эмбрионов критическое значение имеют гены *HOXA10* и *HOXA11*. Их экспрессия изменяется в зависимости от фазы МЦ: они активны в пролиферативной фазе и усиливаются – в секреторной. Как показали исследования на мышах, дефекты этих генов приводили к уменьшению эндометриальных желез и низкому показателю LIF, а также к бесплодию, при этом животные были нормально развиты физически. Уровень экспрессии *HOXA10* и *HOXA11* в различных фазах МЦ, особенно секреторной, также может влиять на рецептивность эндометрия и на успех имплантации [132]. Например, у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием экспрессия этих генов возрастает в период «окна имплантации» и остается высокой в секреторной фазе, при этом у женщин, страдающих аденомиозом, подобного роста не наблюдают [132, 151, 157].

У 95% женщин бесплодие может быть вызвано ХЭ, связанного с воздействием «коалиции» различных инфекционных агентов, включая анаэробные бактерии и вирусы [46]. Зачастую именно это патологическое состояние вследствие воспаления и развития инфекционного процесса становится причиной морфологических изменений эндометрия и многократных неудач в программах ЭКО [89]. В настоящее время не существует четких критериев диагностики заболевания, в связи с чем в большинстве случаев непросто выставить диагноз и начать соответствующее лечение.

Патологический процесс приводит к снижению местного иммунитета, что проявляется усиленной выработкой Т-лимфоцитов, НК-клеток, CD138, макрофагов и титров иммуноглобулинов IgM, IgA и IgG с дальнейшим развитием воспалительной реакции [52]. В результате патологических изменений повреждаются

ткани, ухудшается восприимчивость эндометрия, развиваются такие симптомы как кровотечения, болевой синдром, а также повышается вероятность бесплодия и невынашивания беременности.

Отек слизистой оболочки, очаговая или диффузная гиперемия эндометрия и наличие микрополипов может указывать на эндометрит. Для точного и надежного выявления воспалительных процессов в эндометрии используют метод выявления маркера плазматических клеток CD138 [79]. С целью анализа биоматериала выполняют Пайпель-биопсию. Обнаружение плазматических клеток при иммуногистохимическом исследовании (ИГХ) свидетельствует о воспалении, а их количество – о степени и активности патологического процесса. Диагноз можно подтвердить также с помощью гистероскопии [96].

Молекулярные факторы BCL6, циклин E и p27 играют ключевую роль в развитии воспалительных и пролиферативных изменений в эндометрии. Определение степени их экспрессии с помощью ИГХ исследования эндометрия, полученного в период "имплантационного окна", позволяет с высокой специфичностью установить характер воспалительно-пролиферативных процессов у женщин с эндометриоз-ассоциированным бесплодием и оценить готовность эндометрия к восприятию эмбриона [31, 35].

Циклин E, будучи регулятором клеточного цикла, вносит вклад в регуляцию основных биохимических процессов, ведущих к прогрессированию неблагоприятных трансформаций в эндометрии [83, 87]. Это обусловлено тем, что эндометрий представляет собой ткань, состояние которой динамически изменяется в ходе менструального цикла под воздействием эстрогенов и прогестерона. В течение пролиферативной фазы уровень экспрессии циклина E существенно возрастает под влиянием эстрогенов. Однако в секреторную фазу, на фоне увеличения концентрации прогестерона и экспрессии ингибитора циклина E (p27), происходит постепенное снижение его активности [78, 83].

Циклин E выполняет ряд других физиологических функций, например, участвует в регуляции функции печени, сперматогенезе и нейрофизиологических процессах, способствует поддержанию стволовых клеток. Такое разнообразие

свойств циклина E можно объяснить активацией или ингибированием циклин-зависимых киназ (cyclin-dependent kinases, CDKs).

Высокая и нерегулируемая экспрессия циклина E может вызывать неконтролируемую пролиферацию раковых клеток, устойчивых к действию противоопухолевых препаратов. Именно поэтому дальнейшее изучение этого белка – ключевого компонента основного механизма клеточного цикла – может открыть новые возможности для поиска эффективных стратегий в лечении онкологических заболеваний [78]. Результаты одного из научных исследований свидетельствуют о том, что при раке эндометрия наблюдается повышенная экспрессия циклина E. В то же время, в карциномах эндометрия отмечаются пониженные уровни p27, гена, который предположительно обладает опухоль-супрессорными свойствами.

Белок 6 В-клеточной лимфомы (BCL6) может быть не только физиологически активным, регулируя гуморальный иммунитет и выживаемость при лимфоме, но и оказывать патологическое действие на плаценту и эндометрий.

BCL6 – ключевой онкоген в лимфомагенезе В-клеток, главный регулятор дифференцировки В-клеток в зародышевых (герминативных) центрах (germinal centres, GCs). Его также обнаруживают в различных тканях – скелетных мышцах, предстательной и молочных, и железах. Многочисленные исследования подтверждают его злокачественные характеристики (пролиферацию опухолевых клеток, выживаемость, миграцию, инвазию и устойчивость к лечению), а также участие в формировании солидных опухолей (хотя в этом случае точные молекулярные механизмы онкогенности пока неизвестны). В частности, есть данные о повышенной экспрессии BCL6 при онкологических заболеваниях молочной железы, яичников, желудка, немелкоклеточном раке легких и глиобластоме. Также высокие уровни экспрессии белка отмечают при эндометриозе в период «окна имплантации» [90, 121, 134].

BCL6 имеет большое значение для нормального развития эндометрия и плаценты. Так, повышение экспрессии BCL6 может стать причиной такого осложнения беременности, как преэклампсия. Кроме того, его можно считать диагностическим маркером эндометриоза и ассоциированного с ним бесплодия [64, 90, 121,

134, 173]. При гиперэкспрессии VCL6 повышается вероятность нарушения процессов пролиферации и дифференцировки [33].

Гиперэкспрессию VCL6 можно использовать для диагностики эндометриоза перед ЭКО в качестве неинвазивного теста, имеющего высокую прогностическую ценность [64, 134]. Результат по шкале HScore как 1,4 и более ассоциирован с неблагоприятными репродуктивными исходами и повторными выкидышами. Именно поэтому перед вступлением женщин в программу ЭКО необходимо предварительно обследовать женщину и пролечить выявленные заболевания (в частности эндометриоз, а также ХЭ, воспалительные процессы), используя хирургические и медикаментозные методы. Такая тактика позволит значительно повысить успех программы ЭКО, улучшить показатели благоприятного течения беременности и живорождений [121, 134].

Для диагностики эндометриоза можно также использовать показатели экспрессии VCL6 и сиртуина-1 (SIRT1) – их более высокие уровни обнаруживают при эндометриозе III–IV стадии по сравнению с I–II [64]. Оба белка подавляют промотор GLI1, участвующий в так называемом сигнальном пути Hedgehog (Hedgehog signaling pathway), регулируемом прогестероном [173]. Известно, что помимо VCL6 в эндометрии также присутствует белок сиртуин-1 (SIRT1). Совместно оба белка. Вероятно, связь экспрессии VCL6 в эндометрии и менее успешных результатов ВРТ можно объяснить снижением реакции на прогестерон [90].

Резюме

Взаимосвязь аденомиоза и бесплодия в настоящее время не вызывает сомнений, хотя в этом вопросе по-прежнему остается немало «белых пятен», связанных с этиологией и патогенезом этого патологического состояния и его влиянием на репродуктивное здоровье.

Тем не менее обширное количество научных данных, накопленных к настоящему времени, указывает на наличие структурных и функциональных изменений в эндометрии пациенток, страдающих этим патологическим состоянием. В связи с этим на первый план выходят исследования, в ходе которых изучают глубокие ме-

ханизмы, становящиеся причиной нарушений рецептивности у женщин с бесплодием, ассоциированным с аденомиозом, а также поиск перспективных чувствительных и специфических маркеров для лечения этого состояния и эффективно оценки имплантационных возможностей эндометрия у пациенток.

Изучение публикаций мировых и отечественных экспертов в области репродуктивной медицины дает возможность модифицировать известные рутинные алгоритмы диагностики и лечения и прогнозировать успех в программах ВРТ у пациенток с аденомиозом и бесплодием. Вышеприведенные факты акцентируют внимание на значимости настоящего исследования и его практической ценности.

Глава 2. ДИЗАЙН И МЕТОДОЛОГИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Дизайн исследования и характеристика его объектов

Исследование выполнено в период 2021–2023 гг. на клинических базах кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии Медицинского института РУДН (зав. кафедрой – д. м. н., проф., член-корр. РАН В. Е. Радзинский, ректор РУДН – д. ю. н., д. э. н., проф. О. А. Ястребов) – ГБУЗ «Городская клиническая больница № 29 им. Н. Э. Баумана» г. Москвы в отделении гинекологии (зав. отделением к. м. н. Арютин Д. Г.) и на базе ГБУЗ «Городская клиническая больница №36 им. Ф. И. Иноземцева г. Москвы в отделении ВРТ (зав. отделением – к. м. н. Бесман И. В.). Исследование проводилось в два этапа (ретро- и проспективное). Критериями включения в первую группу являлись: репродуктивный возраст от 24 лет до 43 лет; женское бесплодие неуточненное (N97.8); отсутствие противопоказаний для проведения программы ЭКО (Приказ Минздрава России № 107н от 30 августа 2012 г.); наличие диффузного аденомиоза (N80.0), подтвержденного на основании сонографического исследования; наличие в анамнезе одной и более неудач ЭКО; регулярный менструальный цикл 21–35 дней; отсутствие гормонотерапии в течение шести и более месяцев; информированное добровольное согласие на включение в исследование.

Критериями включения во вторую группу послужили: репродуктивный возраст от 24 лет до 43 лет; реализованная репродуктивная функция, наличие в анамнезе двух и более своевременных родов в течение последних трех лет; наличие диффузного аденомиоза (N80.0); регулярный менструальный цикл 21–35 дней; отсутствие гормонотерапии в течение шести и более месяцев; информированное добровольное согласие на включение в исследование. Критериями включения в группу сравнения(морфологического контроля) составили: репродуктивный возраст от 24 лет до 43 лет; реализованная репродуктивная функция, наличие в анамнезе двух и более своевременных родов; регулярный менструальный цикл от 21–35 дней; отсутствие гормонотерапии в течение шести и более месяцев; информированное доб-

ровольное согласие на включение в исследование. Критериями исключения из исследования явились: другие формы бесплодия по МКБ-10 (N46, N97.3, N97.0, N97.4, N97.1); использование гормональной терапии в течение шести месяцев, а также острые гнойно-воспалительные заболевания любой этиологии и локализации; наличие тяжелых соматических заболеваний в стадии суб- и декомпенсации, некомпенсированные эндокринопатии; онкологические заболевания, беременность и период лактации, отказ от участия в настоящем исследовании, пролиферативные гинекологические заболевания (лейомиомы матки, наружный генитальный эндометриоз, наличие узловой формы аденомиоза, требующего хирургического лечения).

Дизайн диссертационного исследования представлен на Рисунках 1, 2.



Рисунок 1 – Дизайн ретроспективного этапа диссертационного исследования

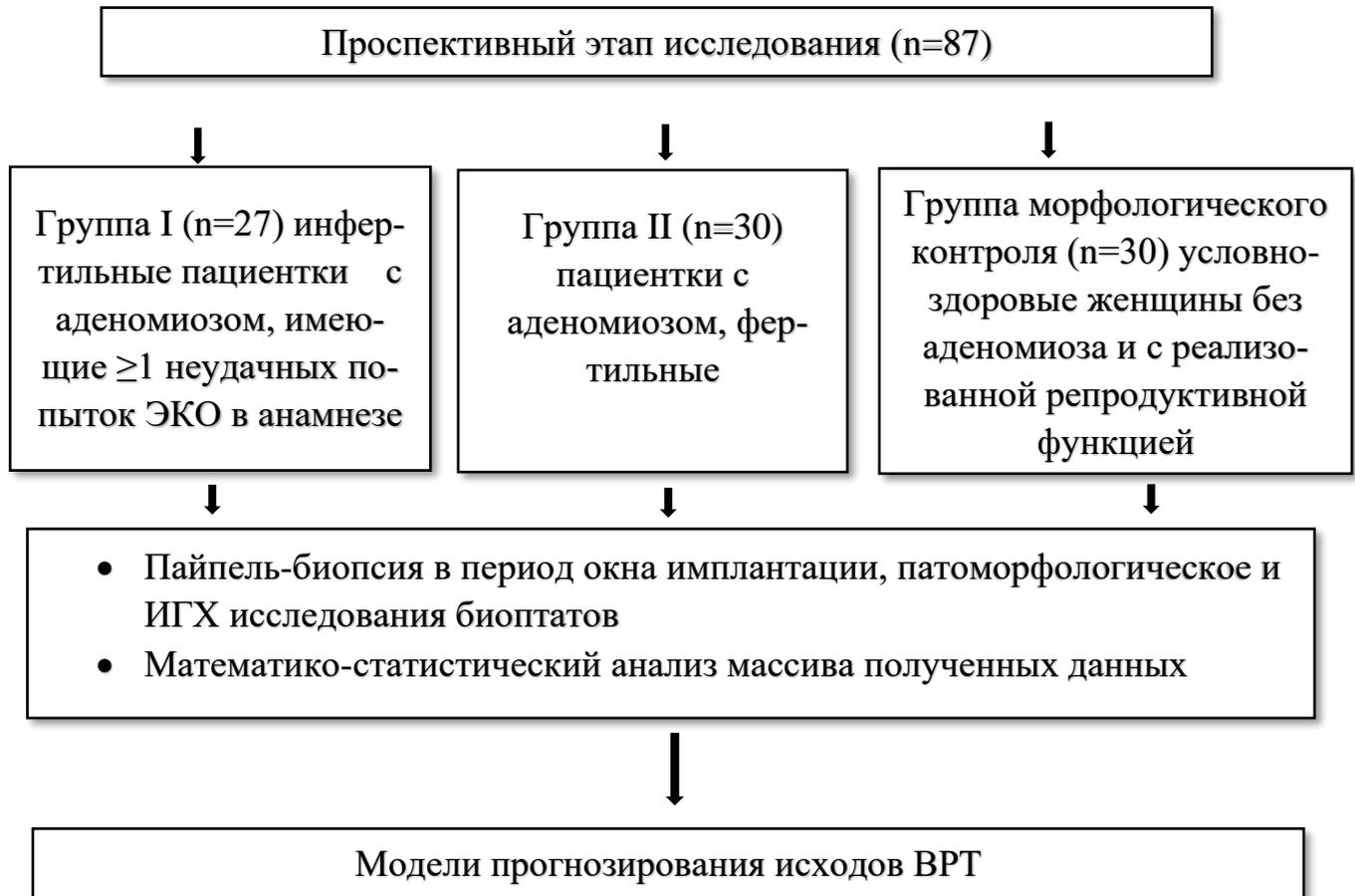


Рисунок 2 – Дизайн проспективного этапа диссертационного исследования

В исследование были включены пациентки репродуктивного возраста ($n = 113$), обратившиеся за помощью в клинические базы, указанных выше в период 2021–2023 гг. В ходе исследования были разделены на группы: I группа ($n = 53$) – инфертильные пациентки с диффузной формой аденомиоза, подтвержденным на основании сонографического исследования (N80.0) и ≥ 1 неудачных попыток переноса эмбриона (ПЭ) в анамнезе, II группа ($n = 30$) вошли женщин с диффузным аденомиозом без нарушений фертильности и группа сравнения ($n = 30$) составили условно-здоровые женщины с самостоятельной беременностью и родами в анамнезе. Первый этап – ретроспективный – включал анализ данных из первичной медицинской документации и поиск клинико-anamнестических факторов риска неудач имплантации у женщин с диффузной формой аденомиоза (N80.0).

Объектом проспективного этапа исследования были женщины с неудачами в ЭКО в анамнезе и диффузной формой аденомиоза, которые составили I группа (n = 27). В I группу были включены пациентки с аденомиозом и реализованной фертильностью (n = 30), и группа сравнения (морфологический контроль) (n = 30) – условно-здоровые женщины без нарушения фертильности, общее количество – 87 пациенток. Проводилось как гистологическое, так и иммуногистохимическое исследование эндометрия в фазе секреции, полученного путем пайпель-биопсии в дни предполагаемого окна имплантации, которое рассчитывали предварительно на основании регистрации дня овуляции по пику ЛГ в крови/моче и данным ультразвукового мониторинга. Забор материала проводили не ранее 7-го дня после зарегистрированной овуляции. Оценивали морфологическое состояние эндометрия, а также иммуногистохимическую экспрессию рецепторов эстрогена (ER) и прогестерона (PR), MUC-1, CD138, CD56, BCL-6, Cyclin E. Сформированный массив данных, включающих информацию о клинико-анамнестических, морфологических и иммуногистохимических факторах, использовали для построения математической модели прогнозирования персонального риска неудач и преодоления бесплодия с помощью ВРТ

2.2. Методы исследования

В соответствии с целью и задачами диссертационного исследования на первом этапе было проведено определение статистически значимых клинико-анамнестических факторов риска, которые приводят к неудачным попыткам имплантаций у пациенток, страдающих бесплодием, причиной которого является аденомиоз. На основании этого фактора была выделена когорта женщин, входящих в исследуемую группу.

На данном этапе были собраны анамнез и клинические данные на основании, указанные в медицинской документации. Все полученные данные были объединены в полифакторную таблицу, включающую следующие критерии:

- 1) опрос пациентов и выяснение жалоб;

2) сбор анамнеза, который включает такую информацию как краткие биографические данные, семейное положение и трудовой статус, опрашивают пациенток о наличии или отсутствии вредных привычек, перенесенные соматические заболевания);

3) длительности бесплодия, а также проводится временная оценка периода от верификации аденомиоза до того, как пациентка обратилась к ВРТ;

4) проводится подсчет количества переносов эмбрионов как свежих, так и размороженных, уточняется наличие либо отсутствие неудачных попыток переносов эмбрионов в полость матки пациентки;

5) акушерско-гинекологический анамнез (заболевания репродуктивной системы, соматические заболевания, менархе, коитархе, оценивается характер менструации, в том числе продолжительность и регулярность цикла, длительность кровотечения; уточняется количество беременностей и родов, особенности их протеканий, в том числе исходы, либо осложнения, возникшие в течение данного периода; проводится опрос пациентки о гинекологических заболеваниях, а также заболеваний молочных желез; уточняется информация об гинекологических оперативных вмешательствах, если они имели место);

б) антропометрические данные проводится подсчет индекса массы тела (ИМТ) по формуле Кетле: $ИМТ = \text{масса (кг)} / \text{рост (м}^2\text{)}$. Полученные данные интерпретируются исходя из полученного коэффициента, так полученный результат меньше $18,5 \text{ кг/м}^2$ говорит о дефиците массы тела нормальная масса тела соответствует показателю от $18,5$ до $24,9 \text{ кг/м}^2$, если коэффициент больше $25-29,9 \text{ кг/м}^2$, то можно говорить об избыточной массе тела, показатель $30-34,9 \text{ кг/м}^2$ свидетельствует об ожирении I степени, II степени присваивается при $35-39,9 \text{ кг/м}^2$, III степени – при $\geq 40 \text{ кг/м}^2$.

Далее проводится осмотр пациенток, используя следующие методики:

1. Визуальное изучение молочных желез, их ощупывание, включая лимфоузлы.

2. Специальное гинекологическое исследование, включающее осмотр наружных половых органов, влагалища и шейки матки с помощью зеркал, а также вагинальное и ректовагинальное исследование с оценкой общепринятых параметров.

3. Лабораторные обследования, согласно Приложению А.

4. Обследование органов малого таза с применением ультразвукового исследования, проводимого в разные дни цикла:

4.1) мониторинг овуляторной функции проводится на этапе планирования ВРТ;

4.2) проведение пайпель-биопсии эндометрия проводится в день ВРТ.

Ультразвуковое исследование проводится аппаратом «GE Voluson E8» с использованием абдоминального (2–8 МГц) и трансвагинального (9–13 МГц) датчиков.

В Приложении А приведен перечень обследований, которые должны быть проведены обязательно, учитывается срок хранения результатов обследования, эта информация необходима для оказания медицинской помощи, при этом используется ВРТ и искусственная инсеминация. Проводится учет ограничений для проведения ВРТ, при этом рассматриваются отклонения, выявленные при лабораторных обследованиях, в случае выявления пациентки будут включены в программу ЭКО только при нормализации состояния, в иной ситуации данные пациентки были исключены из группы исследования.

5. Оценка овуляторной функции была проведена на ультразвуковом аппарате, с учетом мониторинга роста доминантного фолликула. На первом этапе проведена ультразвуковая фолликулометрия в первую фазу МЦ. В случае обнаружения доминантного фолликула исследования продолжались. В случае отсутствия – повторялись этапы уже в период следующего МЦ. Пик ЛГ идентифицировали в моче с помощью коммерческих тест-полосок за 1–2 дня до овуляции, то есть за несколько дней до предполагаемого разрыва доминантного фолликула. На втором этапе, то есть через 2–3 дня после подтверждения овуляции, то есть при положительном тесте, пациентки проходили повторное ультразвуковое исследование, целью которого является выявление стигм овуляции или желтого тела. Также проводился анализ на уровень прогестерона, показатель которого должен быть больше 10 нмоль/мл, таким образом,

это подтверждает факт овуляции [18]. Непосредственно наличие стигм овуляции или желтого тела говорит о том, что у женщины сохранена овуляторная функция, напротив, если в последних трёх менструальных циклах у пациентки отсутствует овуляция, то это говорит за овуляторную дисфункцию. Если в группе исследования пациентка по уважительной причине не проходила УЗИ на этом этапе, то на 5–7 день предполагаемой овуляции проводили анализ и определяли уровень прогестерона по сыворотке крови.

6. Проведение аспирационной биопсии эндометрия было организовано в предполагаемый период окна имплантации. Данный период рассчитывался как 7 день после овуляции, либо 20–22 дням менструального цикла. На этапе получения биоптата пациенткам было проведено ультразвуковое исследование, во время которого уточнялась толщина и структура эндометрия, подтверждалось наличие желтого тела.

При строгом соблюдении правил асептики и антисептики в надлежащих условиях шейка матки обнажалась в зеркалах с возможной последующей фиксацией пулевыми щипцами. Инструмент Pipelle де Корнье® вводился через цервикальный канал в полость матки таким образом, чтобы поршень располагался у внутреннего зева от дна матки. Процедура повторялась трехкратно или четырехкратно с формированием отрицательного давления. После извлечения инструмента полученный биоптат переносился в контейнер с 10% нейтральным раствором формалина и в дальнейшем хранился при температуре от +2 до +4 градусов в холодильнике. На протяжении следующих суток осуществлялась фиксация биоптатов эндометрия с последующей стандартной гистологической проводкой и заливкой в парафиновые блоки. Гистологические срезы толщиной 4 мкм изготавливались посредством ротационного микроскопа производства компании Sacura с дальнейшим окрашиванием гематоксилином и эозином. Определение фазы менструального цикла на основании гистологических данных выполнялось согласно критериям Нойса.

Патоморфологическое и иммуногистохимическое исследование эндометрия проводится на базе «НИИ МЧ им. акад. А. П. Авцына» ФГБНУ «РНЦХ им. акад.

Б. В. Петровского» и патологоанатомическом отделении ГБУЗ города Москвы «ГКБ № 31 ДЗМ» при участии и наблюдении патологоанатомов к. м. н. А. Е. Бирюкова и к. м. н. Н.А. Грачевой.

8. Иммуно-гистохимическое (ИГХ) исследование проводилось с антителами к ER, PR, MUC-1, CD138, CD56, BCL-6, Cyclin E. Полученные данные об антителах приведено в Таблице 1.

Таблица 1 – Сведения об антителах, использованных для ИГХ-исследования

№	Наименование антитела	Клон антитела	Разведение	Фирма производитель
1	ER	6F11	ready for use	Leica Bond
2	PR	16	ready for use	Leica Bond
3	CD138	B-A38	ready for use	Cell Marque
4	CD56	CD564	ready for use	Leica Bond
5	Cyclin E	HE12	1:100	Diagnostic Bio System
6	BCL-6	LN22	ready for use	Leica Bond

Проведение данного исследования осуществляется в автоматическом режиме. Срезы толщиной 4 мкм подготовлены, расположены на высокоадгезивных стеклах, а предварительно высушены в термостате при соблюдении температурного режима (70 °С) и временной экспозиции (2 часа). Системы «Bond Polymer Refine Detection [DS9800]» и «ultraView Universal DAB» были использованы в качестве детекционной системы, в качестве хромогена использовали диаминобензидин. На аппаратах иммуногистостейнерах «Leica Bond-MAX» и «Ventana Bench Mark ULTRA» в автоматическом режиме проводятся данные реакции.

Иммуно-гистохимическое (ИГХ) исследование, проведенное ручным методом направлено на анализ с антителом к GATA6 и использует N-Histofine Simple Stain MAX PO (MULTI). Метод включает следующие действия:

1. В течение 15 минут проводится выдержка исследуемого материала в 3%-й перекиси водорода.
2. Трижды промывают препарат в PBS буфере, выдерживая в растворе по 5 минут.

3. Проводится нанесение первичных антител, выдержка осуществляется при комнатной температуре, в течение 1 часа, после этого препарат размещают во влажной камере при 4 °C на 12 часов.

4. Повторная тройная промывка препарата в PBS буфере, выдерживая в растворе по 5 минут.

5. Выдерживание в течение 30 минут препарата с нанесенным на срезы по 2 капли N-Histofine Simple Stain MAX PO (MULTI).

6. Окраска проводилась одной каплей DAB Plus Chromogen, который был разведен в 2 мл DAB Plus Substrate. Обработка среза проводилась в течение 5 до 20 минут. Если была необходимость, то проводилось окрашивание ядер гематоксилином.

7. На заключительном этапе проводилось промывание препарата под водопроводной водой или дистиллированной.

Дальнейшее изучение полученных препаратов осуществлялось с использованием микроскопа «Leica DMLB». Анализ окрашенных образцов проводился в два этапа: сначала оценивались ядра желез, а затем стромальные клетки эндометрия. Экспрессия антител к ER, PR и антител к CD138, CD56 учитывалась в строме эндометрия (в мембранах клеток), в то время как экспрессия VCL6 оценивалась в ядрах клеток, а экспрессия cyclin E – отдельно в ядрах и цитоплазме клеток. Окрашивание антителом к MUC-1 анализировалось в поверхностном эпителии эндометрия. Подсчет количество пиноподий на поверхности апикальной части эндометрия (в процентах, от 0 до 100) сопоставляя с MUC-1.

Производится подсчет количества CD138-, CD56-позитивных клеток в строме эндометрия сплошным методом и на 1 поле зрения с использованием микроскопа при увеличении $\times 400$. С помощью микроскопа Leica DMLB выполнено микрофотографирование с цветной цифровой камерой DFC420.

2.3. Методы статистического анализа

Данные были обработаны при помощи методов статистического анализа. Для систематизации и хранения информации использовалась программа Microsoft

Office Excel 2016. Визуализация результатов проводилась с применением различных программ и онлайн-инструментов, таких как Microsoft Office Word (2016), Microsoft Office Excel (2016), IBM SPSS Statistics v.26 и StatTech v. 2.8.8 (<https://stattech.ru/>). При анализе количественных данных использовались разнообразные статистические методы, которые подбирались в зависимости от объема выборки. Для сравнения статистических характеристик выборок разного размера были использованы различные методы. Если объем выборок был меньше 50 объектов, то применялся тест Шапиро – Уилка для проверки на нормальность и использовалась медиана. Если же выборки были больше, то применялся метод Колмогорова – Смирнова для проверки на нормальность, а также среднее значение (Me) квартилей (Q1 – Q3) и доверительные интервалы (ДИ) на уровне 95%.

Для сравнения различий между группами использовался t-критерий Стьюдента, если распределение было нормальным, и U-критерий Манна – Уитни, если распределение отклонялось от нормального.

Для анализа многопольных таблиц применялись тесты Пирсона χ^2 и Фишера. Значимость результатов определялась на уровне $p < 0,05$. Для оценки вероятностей методом отношения шансов и для создания моделей прогнозирования использовался анализ логистической регрессии с оценкой точности модели по коэффициенту детерминации R^2 Найджелкирка.

С целью достижения оптимального соотношения между чувствительностью и специфичностью, проведен анализ ROC-кривой. Путем оптимизации количественных параметров был определен наивысший показатель количественной характеристики при помощи индекса Юдена, устанавливая при этом пороговое значение.

Глава 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ ЖЕНЩИН

Сравнительный анализ анамнестических данных был проведен в соответствии с поставленными задачами исследования. В I группу ($n = 53$) были включены пациентки с аденомиозом и неудачами ЭКО в анамнезе, во II группу ($n = 30$) – фертильные женщины с аденомиозом, а в группу сравнения (морфологический контроль) ($n = 30$) – условно-здоровые женщины без аденомиоза и с реализованной фертильностью. При сборе анамнеза особое внимание уделялось таким факторам, как возраст, ИМТ, особенности менструальной и репродуктивной функций, наличие экстрагенитальных и гинекологических заболеваний, информация о перенесенных оперативных вмешательствах, данные инструментальных методов исследований и применение гормональной контрацепции.

Общее число исследуемых пациенток составило 113 пациенток. Все пациентки были в репродуктивном, средний возраст составил ~36 лет. Сравнительные данные пациенток возрасту представлены в Таблице 2 и на Рисунке 3.

Таблица 2 – Распределение обследованных женщин по возрасту

Показатель	Категории	II группа ($n = 30$)		I группа ($n = 53$)		Группа сравнения ($n = 30$)		p
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Возрастные группы	от 20 до 29 лет	2	6,7	7	13,2	2	6,7	0,734
	от 30 до 39 лет	18	60,0	33	62,3	18	60,0	
	от 40 до 45 лет	10	33,3	13	24,5	10	33,3	
Примечание – * – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)								

Сравнительный анализ возрастных характеристик обследованных женщин не выявил статистически значимых различий между группами ($p = 0,734$).

Большинство пациенток, изучаемой когорты, имели нормальную массу тела. ИМТ – 24 кг/м^2 . Средний вес женщин с аденомиозом и с нереализованной фертильностью составил 64 кг ($Q_1 - Q_3$: 55–81), рост 165 см ($Q_1 - Q_3$: 162–168), ИМТ 23 кг/м^2 ($Q_1 - Q_3$: 20–23). Анализ антропометрических параметров, включающих массу тела и ИМТ, не продемонстрировал наличия статистически значимых различий между исследуемыми группами ($p > 0,05$) (Таблица 3).

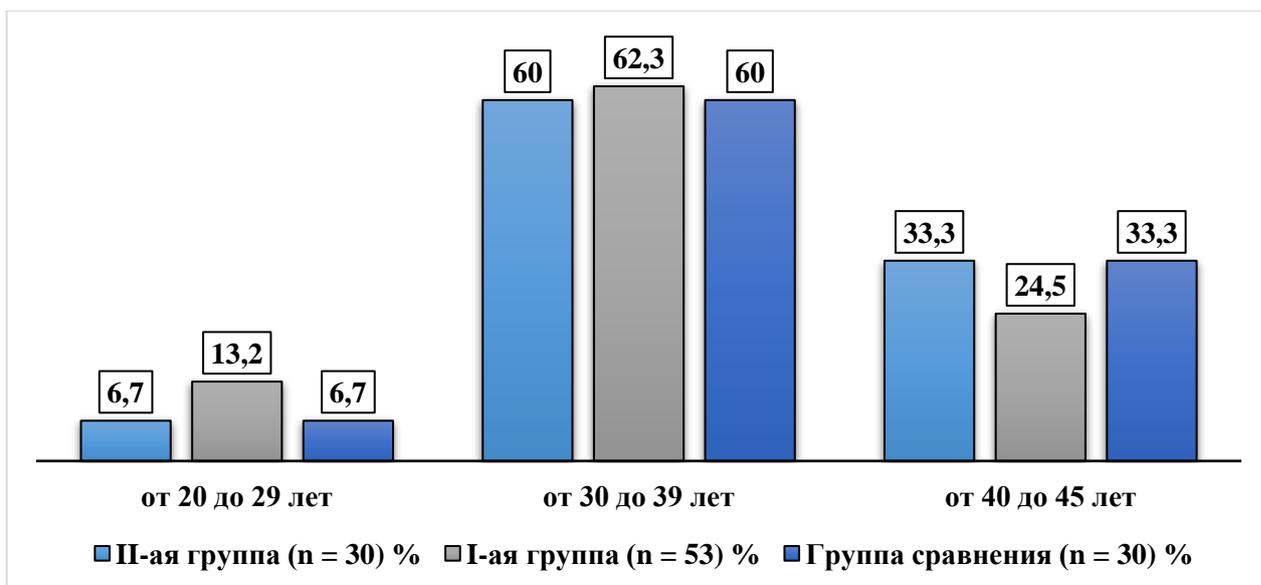


Рисунок 3 – Распределение обследованных женщин по возрасту

Таблица 3 – Антропометрические данные пациенток изучаемой когорты

Показатели	I группа (n = 53)		II группа (n = 30)		Группа сравнения (n = 30)		p
	Me	Q ₁ –Q ₃	Me	Q ₁ –Q ₃	Me	Q ₁ –Q ₃	
Масса тела (кг)	64	55–81	68	65–75	68	65–75	0,719
Рост (м)	165	162–168	169	168–170	169	168–170	0,006
ИМТ (кг/м ²)	23	22–30	24	22–26	24	22–26	0,812

Примечание – * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

Как следует из Таблицы 4, при оценке трудового статуса значимых различий в группах не выявлено (p = 0,436).

Таблица 4 – Профессиональная занятость женщин в исследуемых группах

Показатель	Категории	I группа (n = 53)		II группа (n = 30)		Группа сравнения (n = 30)		p
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Трудовой статус	Домохозяйка	19	35,8	13	43,3	8	26,7	0,436
	Работница умственного труда	26	49,1	10	33,3	17	56,7	
	Работница физического труда	8	15,1	4	23,3	5	16,7	

Примечание – * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

Все группы были сопоставимы по трудовому статусу. Распределение трудового статуса пациенток представлено на Рисунке 4. Согласно полученным данным,

основным контингентом всех групп явились «работницы умственного труда». Следует отметить, что в меньшем количестве отмечались женщины, занимающиеся работой, сопряженной с физической активностью и неработающие.

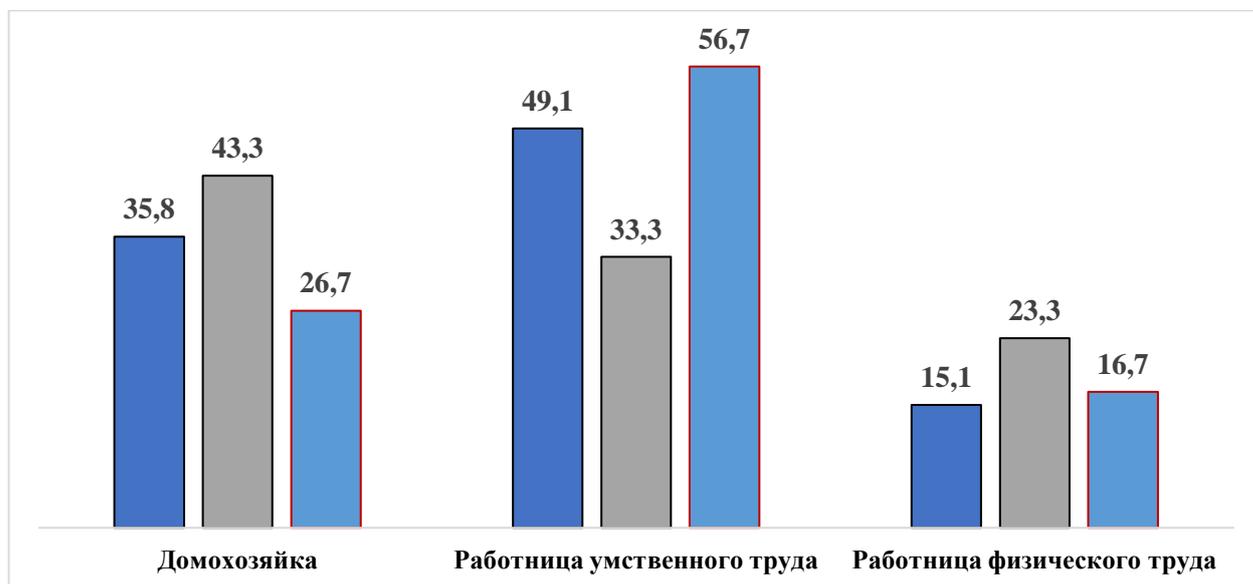


Рисунок 4 – Профессиональная занятость женщин в исследуемых группах

Данные об образовании обследуемых женщин продемонстрированы в Таблице 5. При сравнении групп достоверно значимых различий выявлено не было ($p = 0,224$). Большая часть пациенток в основной группе 26 (49,1%) имело высшее образование.

Таблица 5 – Социальный статус женщин в исследуемых группах

Показатель	Категории	I группа (n = 53)		II группа (n = 30)		Группа сравнения (n = 30)		p
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Образование	Высшее	49	92,5	24	80,0	25	83,3	0,224
	Среднее	4	7,5	6	20,0	5	16,7	
Примечание – * – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)								

Сведения о вредных привычках отражены в Таблице 6, из которого видно, что нам не удалось установить статистически значимых различий как для курения ($p = 0,901$), так и для злоупотребления алкоголем ($p = 0,504$).

Таблица 7 содержит информацию о распространенности хронических экстрагенитальных заболеваний среди пациенток первой группы, второй группы и группы сравнения.

Таблица 6 – Вредные привычки обследованных пациенток в зависимости от групп

Показатель	Категории	I группа (n = 53)		II группа (n = 30)		Группа сравнения (n = 30)		p
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Курение	Отсутствие	22	41,5	15	50,0	13	43,3	0,901
	Наличие	31	58,5	15	50,0	17	56,7	
Алкоголь	Отсутствие	46	86,8	28	93,3	28	93,3	0,504
	Наличие	7	13,2	2	6,7	2	6,7	

Примечание – * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

Таблица 7 – Распространенность хронических экстрагенитальных нозологий среди пациенток исследуемых групп

Показатели	Категории	I группа (n = 53)		II группа (n = 30)		Группа сравнения (n = 30)		p
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
Болезни органов пищеварения (МКБ-10: XI)	Отсутствие	37	69,8	24	80,0	27	90,0	0,098
	Наличие	16	30,2	4	20,0	3	10,0	
Болезни мочевыделительной системы (МКБ-10: XIV)	Отсутствие	44	83,0	26	86,7	24	80,0	0,780
	Наличие	9	17,0	4	13,3	6	20,0	
Болезни вен, лимфатических сосудов и узлов, не классифицированные в других рубриках (МКБ-10: I83.9)	Отсутствие	41	77,4	26	96,7	28	93,3	0,216
	Наличие	12	22,6	4	13,3	2	6,7	
Болезни эндокринной системы (МКБ-10: IV)	Отсутствие	41	77,4	20	66,7	23	76,7	0,531
	Наличие	12	22,6	10	33,3	7	23,3	
Болезни органов дыхания (МКБ-10: X)	Отсутствие	45	84,9	23	79,3	24	80,0	0,709
	Наличие	8	15,1	6	20,7	6	20,0	

Примечание – * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)

Болезни органов пищеварения (МКБ-10: XI) наблюдались чаще у женщин с диффузным аденомиозом и нереализованной фертильностью (30,2%) по сравнению с группой с реализованной фертильностью (20,0%) и с группой условно-здоровых женщин с реализованной фертильностью и без аденомиоза (10,0%), хотя различия не достигли статистической значимости (p = 0,098). Болезни вен, лимфатических сосудов и узлов (МКБ-10: I83.9) встречались чаще у женщин с диффузным аденомиозом и бесплодием (I группа) (22,6%) по сравнению с II группой (13,3%) и группой сравнения (6,7%), однако различия не были статистически значимыми (p = 0,216; ОШ = 3,27; 95%-й ДИ: 0,806–6,895). Для болезней мочевыделительной системы (МКБ-10: XIV), болезней эндокринной системы (МКБ-10: IV) и болезней органов дыхания (МКБ-10: X) не было обнаружено существенных различий в распространенности между группами (p > 0,05).

Особое внимание заслуживает характер и становление менструальной функции, что представлено в Таблице 8. Средний возраст менархе у обеих групп статистически не различался. Также не удалось обнаружить связь между продолжительностью и длительностью менструального цикла и началом половой жизни у исследуемых групп ($p > 0,05$).

Таблица 8 – Менструальная и половая функции женщин в исследуемых группах

Показатели	I группа (n = 53)		II группа (n = 30)		Группа сравнения (n = 30)		P
	Me	Q ₁ –Q ₃	Me	Q ₁ –Q ₃	Me	Q ₁ –Q ₃	
Коитархе (лет)	19	18–21	19	18–21	17	17–20	0,819
Продолжительность МЦ (дни)	29	28–29	28	28–29	28	28–30	0,086
Длительность МЦ (дни)	5	5–6	5	4–5	5	5–6	0,076
Менархе (лет)	14	13–14	13	12–14	13	13–14	0,827
<i>Примечание – * – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)</i>							

Таблица 9 – Сравнительный анализ объёма менструальной кровопотери у обследованных пациенток

Показатели	I группа (n = 53)		II группа (n = 30)		Группа сравнения (n = 30)		P
	Me	Q ₁ –Q ₃	Me	Q ₁ –Q ₃	Me	Q ₁ –Q ₃	
Скудные	7	13,2	6	20,0	5	16,7	0,713
Умеренные	23	43,4	21	70,0	26	86,7	0,039
Обильные	14	46,7	9	30,0	5	16,7	0,016
<i>Примечание – * – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)</i>							

Анализ объёма менструальной кровопотери не имел статистически различий ($p > 0,05$).

Исходя из данных, представленных в Таблице 10, у женщин с аденомиозом и нереализованной фертильностью (I группа) выявлена статистически значимо более высокая распространенность двух нарушений менструальной функции по сравнению с II группой и сравнения. Во-первых, аномальные маточные кровотечения (АМК) в анамнезе наблюдались у 45,3% женщин I группы, что в 2,7 раза чаще по сравнению с II группой и группой сравнения (23,3% в обеих группах). Различия шансов были статистически значимы (ОШ = 4,53; 95%-й ДИ: 1,79–11,49; $p = 0,048$).

Во-вторых, вторичная дисменорея в анамнезе была зарегистрирована у 35,8% женщин I группы, что также значимо превышало распространенность с II группой (16,7%) и сравнения (13,3%) (ОШ = 4,13; 95%-й ДИ 1,19–11,59; $p = 0,036$). Другие заболевания репродуктивной системы, упомянутые в Таблице 10, не продемонстрировали статистически значимых различий между группами.

Таблица 10 – Встречаемость гинекологических заболеваний у пациенток изучаемой когорты, n (%)

Показатели	I группа (n = 53)		II группа (n = 30)		Группа сравнения (n = 30)		P
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Другие невоспалительные заболевания влагалища (МКБ-10: N89) в анамнезе	10	18,9	9	30,0	6	20,0	0,476
ИППП в анамнезе	7	13,2	2	3,3	1	3,0	0,154
Слабовыраженная дисплазия шейки матки (МКБ-10: N87.0) в анамнезе	10	18,9	7	23,3	3	10,0	0,382
Подслизистая миома матки (МКБ-10: D25.0) в анамнезе	17	32,3	10	33,3	9	30,0	0,972
Хронический сальпингит, сальпингоофорит (МКБ-10: N70.1) в анамнезе	5	9,4	3	10,0	4	12,0	0,995
Доброкачественная дисплазия молочной железы (МКБ-10: N60) в анамнезе	15	28,3	5	16,7	5	16,7	0,331
Доброкачественные образования яичников (МКБ-10: D27) в анамнезе	14	26,7	5	16,7	6	17,7	0,450
Дисменорея (по МКБ -10: N94.5) в анамнезе	19	35,8	5	16,7	4	13,3	0,036*
Аномальные маточные кровотечения (по МКБ -10: N92.0, N92.1.) в анамнезе	24	45,3	7	23,3	7	23,3	0,048*
<i>Примечание – * – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)</i>							

Данные, представленные в Таблице 11, демонстрируют структуру и частоту оперативных вмешательств на органах малого таза у женщин изучаемых групп. Наиболее примечательным является статистически значимо более высокая частота внутриматочных оперативных вмешательств в анамнезе у женщин I группы с аденомиозом и нереализованной фертильностью по сравнению с II группой и сравнения. В I группе 93,3% женщин перенесли внутриматочные оперативные вмешательства, такие как миомэктомия по поводу субмукозной миомы матки и отдельное диагностическое выскабливание слизистой полости матки. Этот показатель

был значительно выше, чем во II группе (66,7%) и в группе сравнения (58,0%). Различия были статистически значимы ($p = 0,001$; ОШ = 10,79; 95%-й ДИ 2,99–38,86). Что касается лапароскопической резекции яичника, то ее частота была выше в I группе (37,3%) по сравнению с II группой (30,3%) и с группой сравнения (13,3%), однако эти различия не достигли статистической значимости ($p = 0,063$; ОШ = 2,19; 95%-й ДИ 0,957–5,015). Для лапароскопической аднексэктомии не было обнаружено статистически значимых различий между группами.

Таблица 11 – Частота и структура оперативных вмешательств на органах малого таза у женщин изучаемых групп

Показатели	I группа (n = 53)		II группа (n = 30)		Группа сравнения (n = 30)		P
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Лапароскопическая резекция яичника в анамнезе	20	37,3	9	30,3	4	13,3	0,063
Лапароскопическая аднексэктомия в анамнезе	6	11,3	3	10,0	3	10,0	0,974
Внутриматочные оперативные вмешательства в анамнезе	35	93,3	28	66,7	17	58,0	0,001*
<i>Примечание – * – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)</i>							

Множественные оперативные манипуляции в полости матки, представленные в Таблице 11, приводят к травматическому повреждению эндометрия.

Таблица 12 – Структура болезней эндометрия у женщин в зависимости от групп.

Показатели	I группа (n = 53)		II группа (n = 30)		Группа сравнения (n = 30)		P
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Гиперплазия эндометрия без атипии в анамнезе (МКБ-10: N85.6)	36	67,9	11	36,7	10	34,9	0,004*
Полип тела матки в анамнезе (МКБ-10: N84.0)	31	58,5	23	76,7	23	76,7	0,117
Внутриматочные синехии в анамнезе (МКБ-10: N85.6)	26	49,1	4	13,3	3	10,0	0,001*
Хроническая воспалительная болезнь матки в анамнезе (МКБ-10: N71.1)	27	50,9	1	3,3	4	8,0	0,001*
<i>Примечание – * – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)</i>							

Анализируя Таблицу 12 и Рисунок 5, мы отметили, что в анамнезе у пациенток с диффузным аденомиозом и бесплодием статистически значимо чаще регистрировались заболевания эндометрия: внутриматочные синехии (ОШ = 2,82; 95%-й ДИ 1,12–7,08), хронический эндометрит (ОШ = 3,04; 95%-й ДИ 1,31–7,07), гиперплазии эндометрия без атипии (ОШ = 6,19; 95%-й ДИ 2,42–15,86).

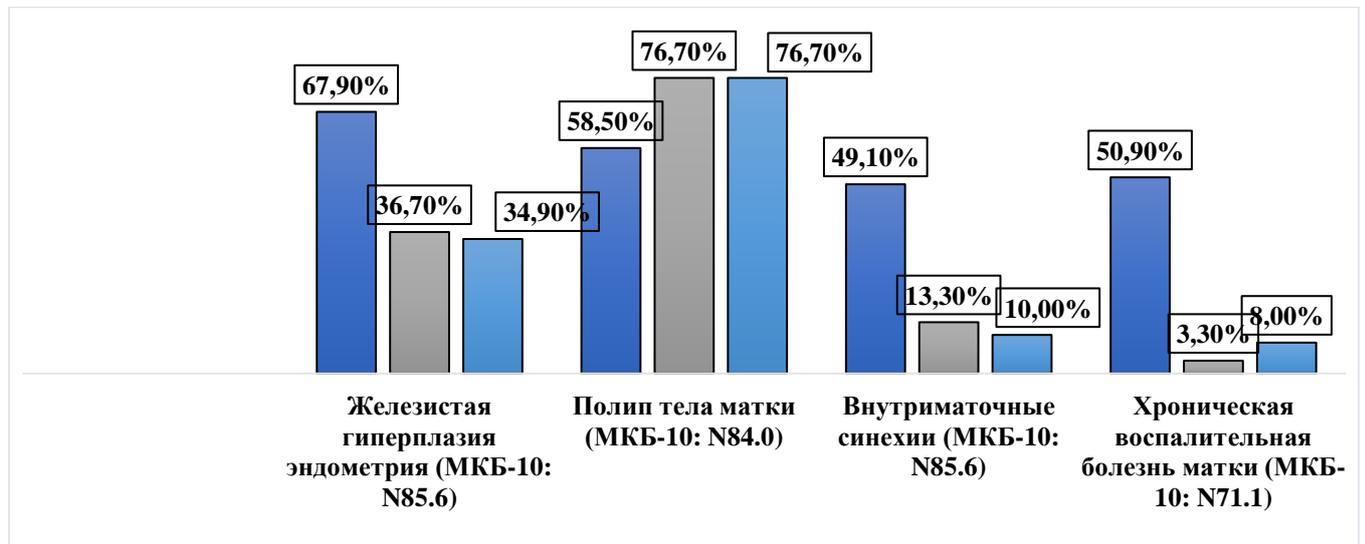


Рисунок 5 – Структура болезней эндометрия у женщин в зависимости от групп

Таблица 13 – Объем оперативных вмешательств у женщин исследуемых групп

Показатели	I группа (n = 53)		II группа (n = 30)		Группа сравнения (n = 30)		P
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Лапароскопическая аппендэктомия в анамнезе	7	13,2	1	3,3	8	14,0	0,170
Лапароскопическая холецистэктомия в анамнезе	13	24,5	2	6,7	4	10,0	0,007
Лапаротомия в анамнезе	1	1,9	1	3,3	0	0,0	0,892
Операция на молочных железах в анамнезе	6	11,3	1	3,3	2	4,0	0,255
Операция на венах нижних конечностей в анамнезе	2	3,8	2	6,9	3	7,0	0,768
<i>Примечание – * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)</i>							

Данные об оперативных вмешательствах в анамнезе представлены в Таблице 13. Следует отметить, что при сравнении групп по объёму оперативных вмешательств достоверно значимых различий выявлено не было. Наличие лапароскопических холецистэктомий в группе с нереализованной фертильностью было в 5 раз

выше по сравнению с группами с реализованной фертильностью, секторальной резекции молочных желез по поводу фиброаденом в I группе встречалась у 6 пациенток. Лапароскопических аппендэктомии в анамнезе у пациенток из группы неудачами с ЭКО и в группе сравнения встречалось на много чаще, чем в II группе, но статистически значимых различий выявлено не было ($p = 0,170$).

Таблица 14 – Репродуктивный анамнез женщин из I группы

I группа (n = 53)	M ± SD	Min – max
Количество попыток ЭКО	2±1	1–2
Длительность бесплодия (лет)	4±3	3–5
<i>Примечание – * – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)</i>		

Исходя из данных, представленных в Таблице 15, следует отметить, что у женщин с неудачными попытками в ЭКО в анамнезе средний период бесплодия составил 4±3 лет, количество попыток реализации беременности при помощи экстракорпорального оплодотворения в анамнезе составило около двух.

Данные, представленные в Таблице 15, отражают результаты анализа размеров и объема матки и яичников у женщин в исследуемых группах. При сравнении этих показателей между группами были выявлены следующие статистически значимые различия:

Продольный размер матки был больше в I группе (аденомиоз и нереализованная фертильность) по сравнению с группами сравнения и II группой. Медиана продольного размера матки в I группе составила 56 мм (Q1 – Q3: 55–57 мм), в то время как в сравнения и II группой этот показатель был равен 55 мм (Q1 – Q3: 48–57 мм в обеих группах) ($p = 0,006$).

Поперечный размер матки также был значимо больше в I группе с медианой 54 мм (Q1 – Q3: 52–55 мм) по сравнению с II группой (медиана 47 мм, Q1 – Q3: 45–54 мм) и сравнения (медиана 48 мм, Q1 – Q3: 45–54 мм) ($p = 0,007$).

Объем матки был статистически значимо выше в I группе (76 см³, Q1 – Q3: 74–79 см³) по сравнению с II группой и сравнения (64 см³, Q1 – Q3: 59–70 см³, в II группе, 66 см³, Q1 – Q3: 60–74 см³ в группе сравнения) ($p = 0,006$).

Таблица 15 – Анализ размеров и объема матки и яичников у женщин в исследуемых группах

Показатели	I группа (n = 53)		II группа (n = 30)		Группа сравнения (n = 30)		P
	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃	
Продольный размер матки (мм)	56	55–57	55	48–57	55	48–57	0,006
Поперечный размер матки (мм)	54	52–55	47	45–54	48	44–56	0,007
Переднезадний размер матки (мм)	55	54–58	56	48–58	56	47–56	0,436
Объем матки (см ³)	76	74–79	64	59–70	66	60–74	0,006
Диаметр правого яичника 1 (мм)	20	17–25	22	20–22	22	21–24	0,282
Диаметр правого яичника 2 (мм)	20	15–24	19	18–20	19	18–20	0,800
Диаметр правого яичника 3 (мм)	19	17–21	19	17–20	19	17–20	0,471
Объем правого яичника (см ³)	31	26–58	44	42–51	44	44–50	0,293
Диаметр левого яичника 1 (мм)	20	19–22	19	17–20	21	20–22	0,637
Диаметр левого яичника 2 (мм)	19	17–21	19	17–20	18	17–19	0,471
Диаметр левого яичника 3 (мм)	20	19–22	21	19–22	21	20–22	0,637
Объем левого яичника (см ³)	45	37–57	43	38–48	42	35–50	0,996
Толщина эндометрия (мм)	11	11–12	11	11–12	11	11–12	0,967
<i>Примечание</i> – * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)							

Для остальных показателей, включая размеры и объем яичников, а также толщину эндометрия, не было обнаружено статистически значимых различий между группами (p > 0,05).

Таким образом, у женщин с аденомиозом и нереализованной фертильностью наблюдались увеличенные продольный и поперечный размеры матки, а также больший объем матки по сравнению с II группой и сравнения.

Стоит также отметить, что не было статистических различий между группами в таком показателе, как толщина эндометрия, который считается одним из главных факторов развития неудач в программах ЭКО (p > 0,05).

На основе ретроспективного анализа клинико-анамнестических характеристик были выявлены следующие факторы, значимо (p < 0,05) ассоциированные с повышенным риском неудач экстракорпорального оплодотворения при аденомиоз-ассоциированном бесплодии:

Нарушения менструальной функции, такие как аномальные маточные кровотечения (МКБ-10: N92.0, N92.1) и дисменорея (МКБ-10: N94.5). Наличие АМК в анамнезе повышало риск в 4,53 раза (ОШ = 4,53; 95%-й ДИ 1,79–11,49), а дисменореи – в 4,13 раза (ОШ = 4,13; 95%-й ДИ 1,19–11,59).

Патология эндометрия, включая гиперплазию эндометрия без атипии (МКБ-10: N85.6), внутриматочные синехии (МКБ-10: N85.6) и хроническую воспалительную болезнь матки (МКБ-10: N71.1) в анамнезе. Риск был повышен в 6,19 раз (ОШ = 6,19; 95%-й ДИ 2,42–15,86), 2,82 раза (ОШ = 2,82; 95%-й ДИ 1,12–7,08) и 3,04 раза (ОШ = 3,04; 95%-й ДИ 1,31–7,07) соответственно.

Перенесенные внутриматочные оперативные вмешательства, такие как миомэктомия по поводу субмукозной миомы матки и раздельное диагностическое выскабливание слизистой полости матки, повышали риск в 10,79 раз (ОШ = 2,82; 95%-й ДИ 1,12 –7,08).

Следует отметить, что исследуемые группы были сопоставимы по трудовому статусу, антропометрическим данным и соматическим заболеваниям, а также вредным привычкам.

Таким образом, наличие в анамнезе патологии эндометрия, нарушений менструальной функции (АМК и дисменореи), а также перенесенных внутриматочных оперативных вмешательств оказывало негативное влияние на успех ЭКО при аденомиоз-ассоциированном бесплодии в репродуктивном возрасте.

Глава 4. РЕЗУЛЬТАТЫ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЙ ЭНДОМЕТРИЯ В ПЕРИОД ОКНА ИМПЛАНТАЦИИ

На втором (проспективном) этапе исследования, проведенном в ФГБНУ «НИИ Морфологии человека им. ак. А. П. Авцына» и патологоанатомическом отделении ГБУЗ «ГКБ № 31 им. академика Г. М. Савельевой ДЗМ», была выполнена патоморфологическая диагностика аспириатов из полости матки, полученных в предполагаемое «окно имплантации». Целью этого исследования было расширить понимание патогенеза нарушений имплантации в эндометрии у женщин с диффузным аденомиозом и неудачными попытками ЭКО в анамнезе. Мы использовали строгие критерии отбора, включая отсутствие аномалий полости матки или эндометрия, отсутствие гормональной терапии за последние полгода, и получения биоптатов эндометрия в период «окна имплантации» 19–22 дня менструального цикла, а также возраст до 45 лет. Мы стремились получить точные и надежные результаты для определения маркеров имплантации у инфертильных женщин с диффузным аденомиозом и неудачными попытками ЭКО в анамнезе (I группа $n = 27$). II группу составили ($n = 30$) фертильные женщины до 45 лет с диффузным аденомиозом, имевшие в анамнезе роды доношенными здоровыми детьми и не имеющие нарушений фертильности, давшие добровольное информированное согласие на участие в исследовании, и группа сравнения (морфологический контроль) ($n = 30$) условно-здоровые женщины с самостоятельно реализованной беременностью в анамнезе. Все женщины в исследовании находились в возрастном диапазоне от 25 до 43 лет, со средним возрастом 36 ± 37 лет, и не было обнаружено статистически значимых различий ($p = 0,743$). В дальнейшем женщинам из изучаемой группы было проведено морфологическое и иммуногистохимическое исследование в предполагаемый день (19–22 день менструального цикла), соответствующий наибольшему имплантационному потенциалу эндометрия («окно имплантации»). С целью идентификации данного временного интервала осуществлялся ультразвуковой контроль развития доминантного фолликула, начиная с 9–11-го дня менструаль-

ного цикла. При достижении фолликулом диаметра 18–20 мм применялись мочевые тесты для определения овуляции, которые выполнялись два раза в день до момента получения положительного результата. Спустя 7 суток (168 часов) после регистрации пика лютеинизирующего гормона производилась биопсия эндометрия с последующим проведением комплексного анализа, включающего патоморфологическое, иммуногистохимическое и морфометрическое исследования полученного биоптата. Для проведения ИГХ-анализа изучалась экспрессия гормонов и маркеров, ответственных за воспаление, пролиферацию и дифференцировку клеток эндометрия.

4.1. Морфологические особенности эндометрия в период окна имплантации у пациенток изучаемой когорты

В результате исследования были установлены признаки морфологического несоответствия эндометрия. Вероятность выявления средней стадии фазы секреции у пациенток основной группы была в 3,8 раза ниже по сравнению с женщинами с реализованной фертильностью. Различия в шансах обнаружения данной стадии между группами оказались статистически значимыми ($p = 0,001$) с отношением шансов 0,260 и 95%-м доверительным интервалом от 0,078 до 0,869. Полученные результаты указывают на несоответствие средней фазы секреции и более позднее формирование рецептивного эндометрия у инфертильных женщин с диффузной формой аденомиоза и неудачными попытками ЭКО в анамнезе (Таблица 16 и Рисунок 6).

У большинства пациенток из инфертильной группы ($n = 27$) наблюдалась начальная(ранняя) стадия фазы секреции согласно патоморфологическим данным. Примечательно, что хронологические сроки менструального цикла, в которые осуществлялся забор биоптатов эндометрия, соответствовали средней стадии секреторной фазы. Однако фактическая патоморфологическая картина у большей части обследованных женщин (51,2%) демонстрировала признаки начальной стадии секреторной трансформации эндометрия. Данное наблюдение может свидетельствовать о наличии асинхронности в процессе преобразования эндометрия, что создает определенные трудности для специалистов в области

репродуктологии при выборе оптимального времени для проведения процедуры переноса эмбрионов.

Таблица 16 – Результаты морфологического исследования биоптатов пациенток по стадиям фазы секреции в сравниваемых группах

Фаза секреции	II группа (n = 30)		I группа (n = 27)		Морфологический контроль (n = 30)		P
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Ранняя стадия	12	27,9	22	51,2	9	20,9	<0,001
Средняя стадия	18	40,9	5	11,4	21	47,7	

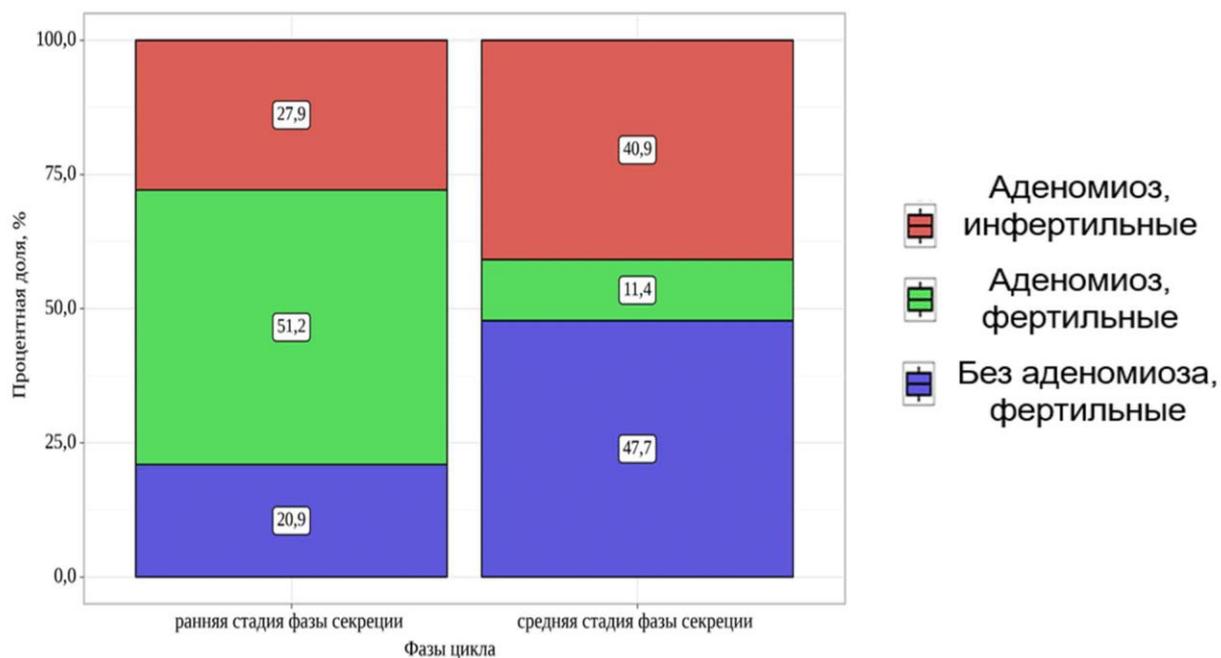


Рисунок 6 – Результаты морфологического исследования биоптатов пациенток по стадиям фазы секреции в сравниваемых группах

Рисунок 7 демонстрирует микроскопические изображения образцов эндометрия, полученных от пациентки, принадлежащей к первой исследуемой группе. Несмотря на то, что забор биоптата был осуществлен на 7-й день после зарегистрированной овуляции, морфологические характеристики данного образца соответствовали лишь 3-му дню постовуляторного периода, что, согласно критериям Нойса, является признаком ранней стадии секреторной фазы менструального цикла. Данное наблюдение подчеркивает несоответствие между хронологическими сроками и фактическим состоянием эндометрия у обследованной женщины.

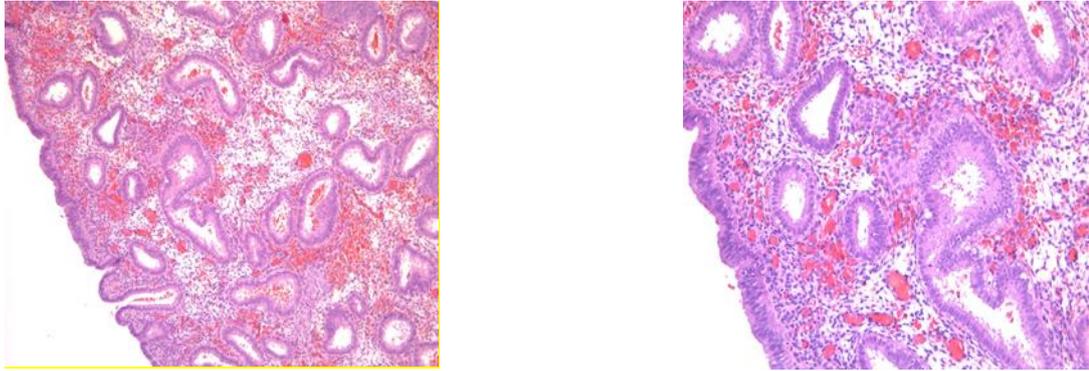


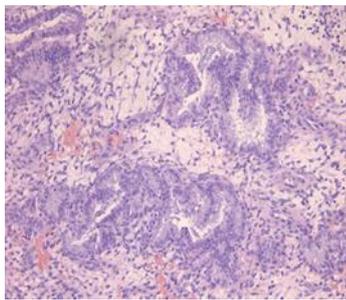
Рисунок 7 – Морфологическая картина эндометрия пациентки из первой группы, в период «окна имплантации», окраска гематоксилином и эозином

На изображениях (Рисунок 8а, 8б) представлены микрофотографии эндометрия пациентки из двух групп: второй и сравнительной .

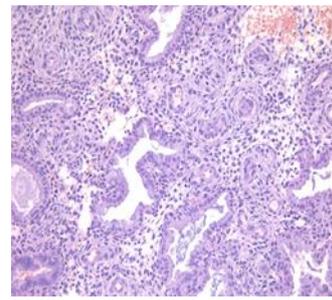
Снимки были сделаны на 7-й день после овуляции и соответствуют морфологическим характеристикам 5–6-го дня после овуляции (средняя стадия фазы секреции) согласно критериям Нойса.

На микроскопических изображениях видны железы с широким просветом, заполненные секретом. Некоторые из них имеют пилообразную форму, а верхушки желез в основном неровные, с признаками апокринной секреции. Ядра эпителиоцитов круглой формы расположены в основании.

В ткани присутствует неравномерный отек, небольшие очаги фиброза и кластеры спиральных артерий с реакцией децидуоподобной стромы.



а



б

Рисунок 8 – морфологическая картина пациенток из сравниваемых групп с самостоятельно реализованной фертильностью соответствующий средней стадии фазы секреции (5–6-й дни после овуляции по критериям Нойса), окраска гематоксилином и эозином

4.2. Результаты иммуногистохимического исследования эндометрия в период «окна имплантации» (на 7-й день после пика концентрации ЛГ) в средней фазе секреции

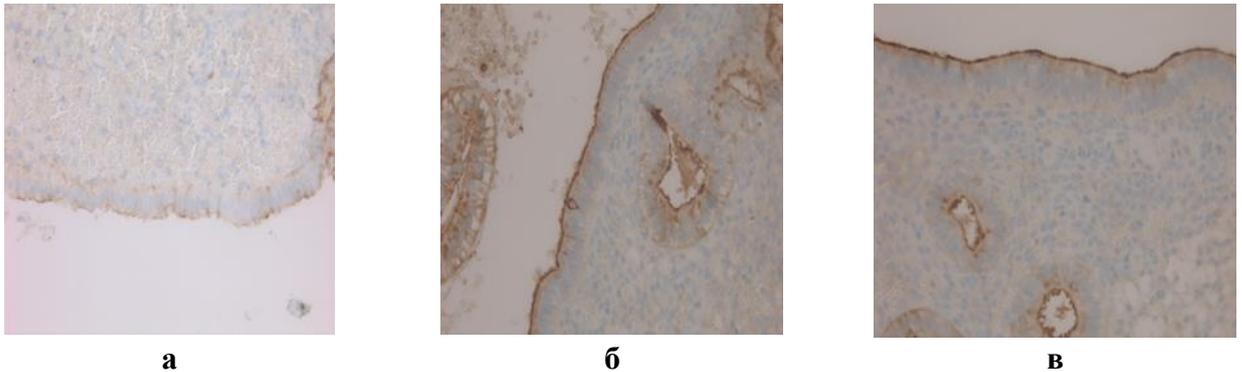
Морфологический анализ эндометрия у пациенток с бесплодием, ассоциированным с аденомиозом, выявил ряд характерных изменений. На гистологических срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, отмечалось снижение количества зрелых и развивающихся пиноподий на апикальной поверхности эндометрия. В некоторых случаях, соответствующих начальной стадии секреторной фазы согласно морфологическим критериям, наблюдалось полное отсутствие данных структур. (см. Рисунок 9а), в отличие от женщин с реализованной фертильностью (см. Рисунок 9б, 9в), у которых наблюдалась положительная реакция на апикальной поверхности эндометрия.

Для количественной оценки полученных результатов исследования было оценено среднее количество пиноподий (%) и произведен статистический сравнительный анализ с MUC1 для выявления различий между группами (Таблица 17).

Таблица 17 – Сравнительный анализ количество пиноподий и уровня экспрессии MUC1

Категории	MUC1 (%)		p	Пиноподии (%)		p
	Me	Q ₁ – Q ₃		Me	Q ₁ – Q ₃	
I группа (n = 27)	32	11–12	< 0,001	30	27–32	< 0,003
II группа (n = 30)	52	16–70		54	16–60	
Группа морфологического контроля (n = 30)	58	25–69		58	25–70	
<i>Примечание – * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)</i>						

Результаты сравнительного анализа показали, что при оценке количества пиноподий в первой группе было в 1,4 раза меньше, чем во второй группе и группе контроля (p < 0,001). Также обнаружены статистически значимые различия в уровне экспрессии пиноподий с реакцией MUC1: у женщин с бесплодием, связанным с аденомиозом и неудачами в ЭКО в анамнезе она была вдвое ниже, чем у женщин с нормальной фертильностью (p < 0,003).



Примечание – На представленных изображениях можно наблюдать существенные различия в экспрессии пиноподий на апикальной поверхности эндометрия у пациенток из разных исследуемых групп. У женщины, принадлежащей к первой группе (а), отмечаются очаговые участки, характеризующиеся отсутствием или значительным снижением количества пиноподий. В то же время, у пациенток из второй группы (б) и группы контроля (в) наблюдается равномерное распределение пиноподий по всей апикальной поверхности эндометрия

Рисунок 9 – Иммуногистохимическая картина, эндометрия средней стадии фазы секретиции с экспрессией MUC1, ув. $\times 400$.

Также был проведен корреляционный анализ взаимосвязи показателя «MUC1(%)» и показателя «пиноподии (%)», результаты представлены в Таблице 18.

Таблица 18 – Результаты корреляционного анализа взаимосвязи показателя «MUC1(%)» и показателя «пиноподии (%)»

Показатель	Характеристика корреляционной связи		
	ρ	Теснота связи по шкале Чеддока	p
MUC1(%) – пиноподии (%)	0,725	Высокая	< 0,001*
<i>Примечание</i> – * – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)			

В ходе статистического анализа была установлена высокой тесноты прямая корреляционная взаимосвязь показателя «пиноподии (%)» и «MUC1(%)». При увеличении показателя «MUC1(%)» на 1 следует ожидать увеличение показателя «пиноподии (%)» на 0,779. Полученная модель объясняет 59,7% наблюдаемой дисперсии показателя «пиноподии (%)».

Оценка зависимости показателя «MUC1(%)» от количественных факторов была выполнена с помощью метода линейной регрессии. Число наблюдений составило 87. Приведенные выше данные указывают на нарушение процесса созревания пиноподий и недостаточность секреторной трансформации эндометрия у женщин, принадлежащих к первой исследуемой группе. Эти изменения могут быть обусловлены наличием аденомиоза и ассоциированных с ним патологических процессов,

которые оказывают негативное влияние на морфофункциональное состояние эндометрия. Выявленные иммуногистохимические особенности свидетельствуют о формировании признаков имплантационной несостоятельности эндометрия у пациенток с бесплодием на фоне аденомиоза, что может объяснять причины неудач в программах вспомогательных репродуктивных технологий у данной категории женщин.

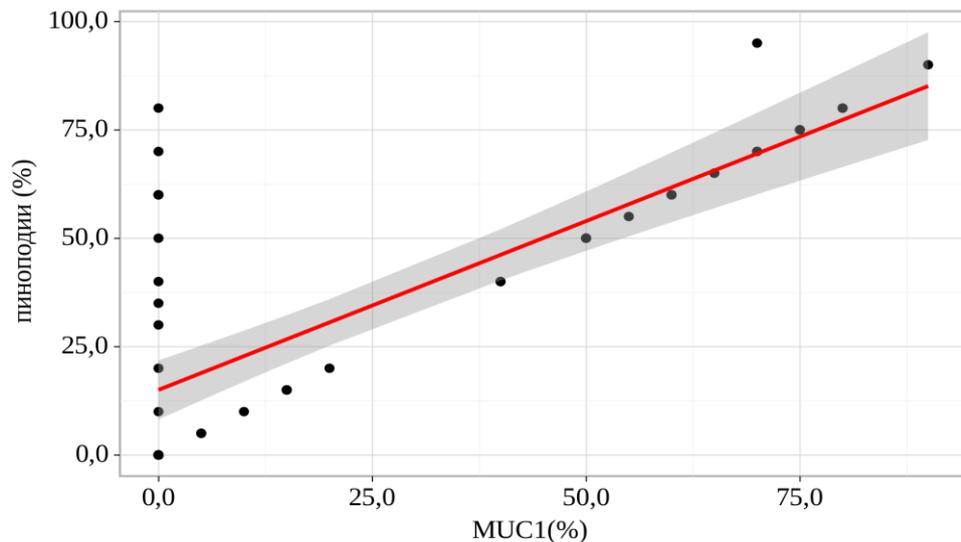


Рисунок 10 – График регрессионной функции, характеризующий зависимость показателя «пиноподии (%)» от показателя «MUC1(%)»

Следующим этапом был анализ уровней экспрессии стероидного профиля в эутопическом эндометрии в сравниваемых группах (Таблица 19).

Таблица 19 – Анализ ИГХ экспрессии ER и PR в среднюю стадию фазы секреции биоптатов эндометрия пациенток изучаемой когорты

Показатели (баллы)	I группа (n = 27)		II группа (n = 30)		Группа морфологического контроля (n = 30)		p
	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃	Me	Q ₁ – Q ₃	
ER железы	130	80–202	80	80–110	100	80–110	0,001
ER строма	150	110–228	122	96–198	118	96–198	0,471
PR железы	250	120–280	280	260–280	280	261–280	< 0,004
PR строма	270	260–280	282	249–290	285	262–290	< 0,039
Примечание – * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)							

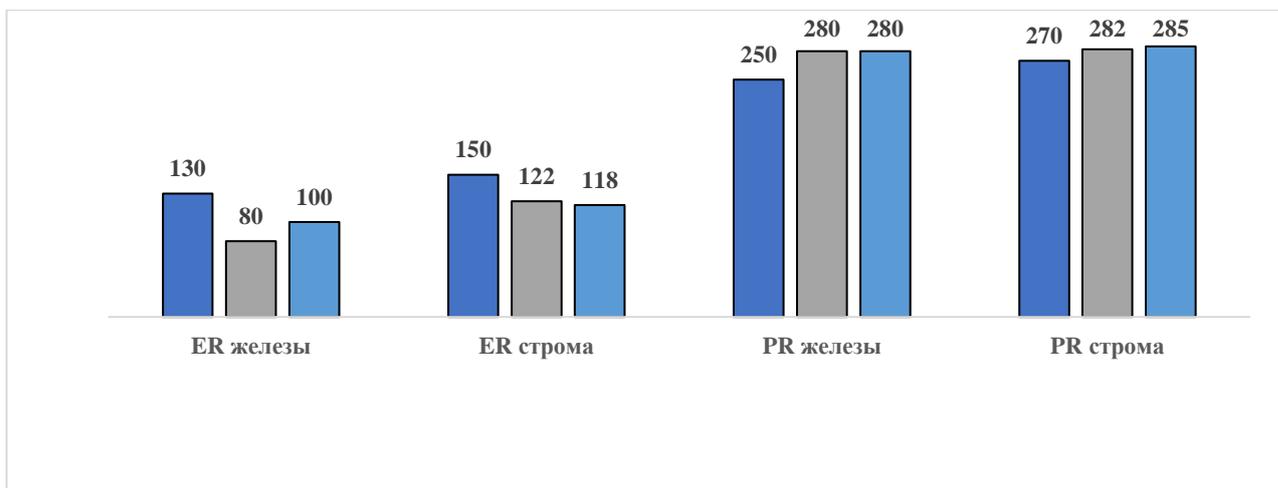
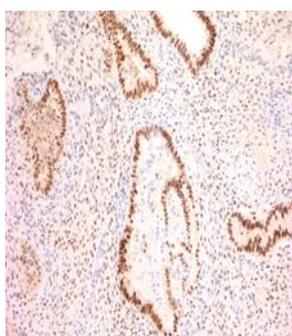
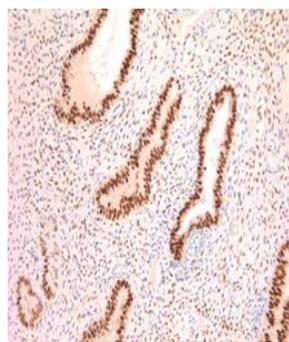


Рисунок 11 – Анализ ИГХ экспрессии ER и PR в среднюю стадию фазы секреции биоптатов эндометрия пациенток изучаемой когорты

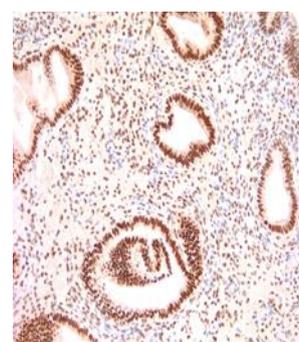
Согласно полученным данным анализа уровня экспрессии маркеров PR в строме и железах эндометрия у пациенток исследуемых групп, были обнаружены достоверно значимые различия ($p < 0,004$, $p < 0,039$). На Рисунке 12 (г, д, е) отмечается более выраженная положительная экспрессия PR как в железах, так и в строме эндометрия у пациенток из второй группы и группы контроля (Рисунок 12д, 12е) в отличие от инфертильной группы (г). Заметно увеличение экспрессии ER в строме у пациенток с реализованной фертильностью из второй группы и группы контроля по сравнению с женщинами с бесплодием и диффузным аденомиозом из первой группы ($p < 0,005$). Однако статистически значимых различий в уровне экспрессии ER в железах эндометрия между группами не обнаружено ($p = 0,471$). На Рисунке 12 отмечается положительная экспрессия ER в железах и в строме эндометрия как у пациенток из первой (Рисунок 12 а), так и во второй группе, и в группе контроля (Рисунок 12 б, 12в).



а



б



в

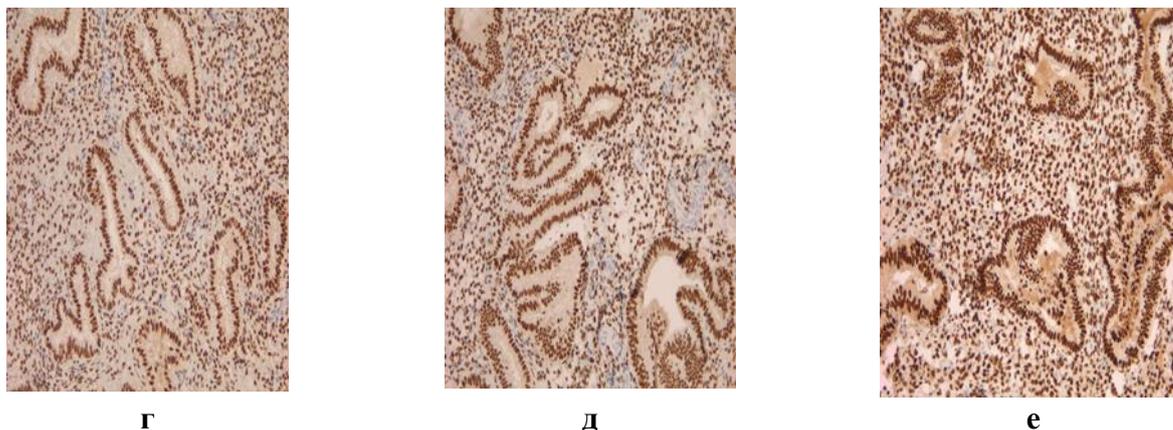


Рисунок 12 – Результаты иммуногистохимического в эндометрии в средней стадии фазы секреции пациенток изучаемой когорты: **а, б, в** – с антителами к ER; **г, д, е** – с антителами к PR

В рамках последующего этапа исследования была проведена оценка местного иммунитета в эндометрии у женщин с бесплодием, у которых в анамнезе были неудачные попытки ЭКО, в сравнении с женщинами, с самостоятельно реализованной фертильностью. Исследование включало морфологическую оценку средней стадии фазы секреции, CD56+ клеток NK и CD-138. Также на этом этапе было проведено иммуногистохимическое исследование с использованием указанных выше маркеров в период «окна имплантации» (средняя стадия фазы секреции), Таблицы 20, 21, Рисунки 13, 14, 15, 16.

Таблица 20 – Экспрессия CD56+NK клеток в образцах эндометрия пациенток исследуемых групп в период «окна имплантации»

Показатель	Категории	CD56 (NK- лимфоциты)		P
		Me	Q ₁ – Q ₃	
Группы	I группа (n = 27)	22	12–32	0,695
	II группа (n = 30)	18	11–36	
	Группа морфологического контроля (n = 30)	18	11–23	

Таблица 21 – Сравнительный анализ уровня экспрессии CD138 в биоптатах пациенток изучаемых когорт в период окна имплантации

Показатель	Категории	CD138		P
		Me	Q ₁ – Q ₃	
Группы	I группа (n = 27)	1	0–1	0,849
	II группа (n = 30)	1	0–1	
	Группа морфологического контроля (n = 30)	1	0–1	

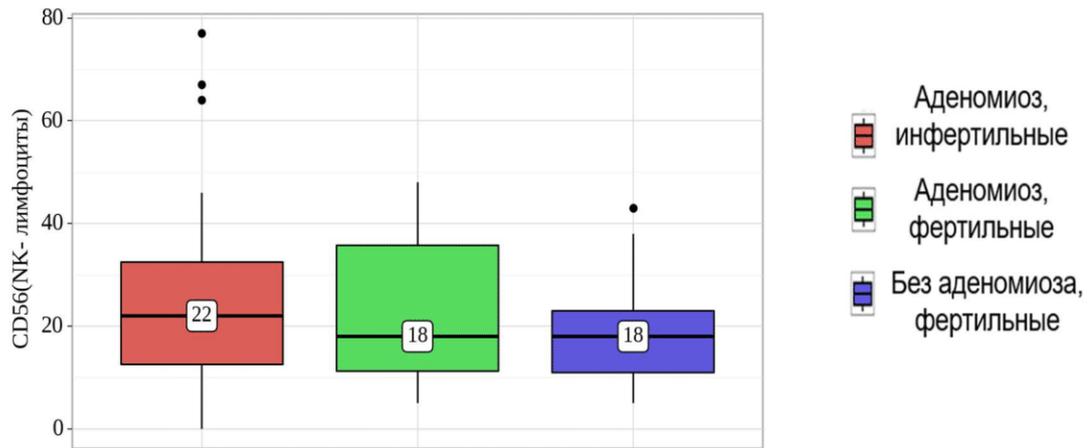
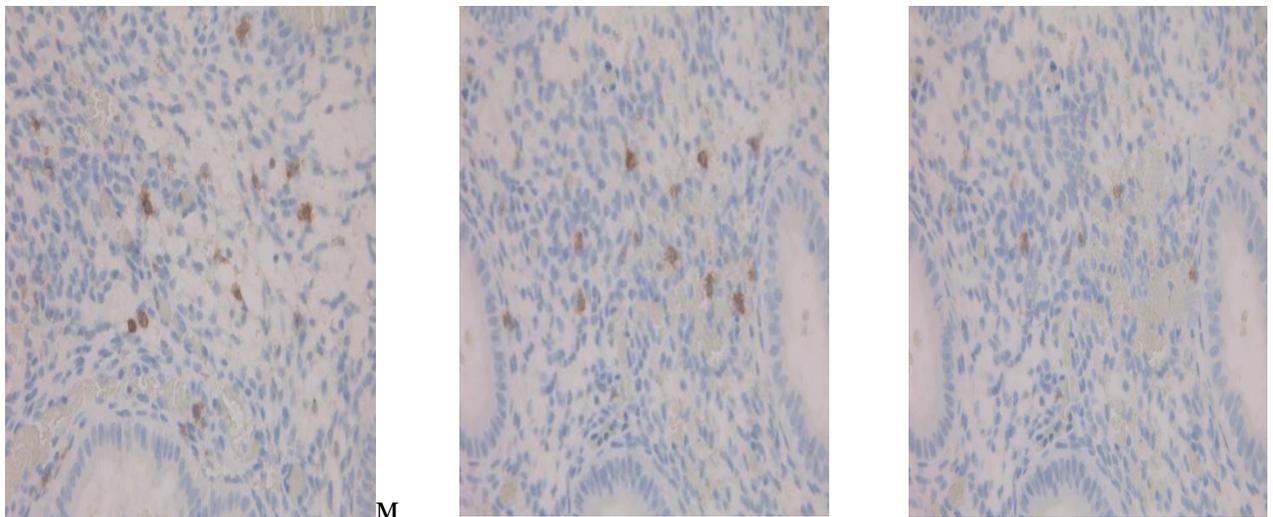


Рисунок 13 – Анализ уровня экспрессии в эндометрии показателя «CD56 (NK-лимфоциты)» в зависимости от групп



А – I группа

В – II группа

С – группа контроля

Рисунок 14 – Сравнительная характеристика уровня экспрессии CD56. Иммуногистохимическое окрашивание антителами к CD56, размер масштабной шкалы – 200 мкм

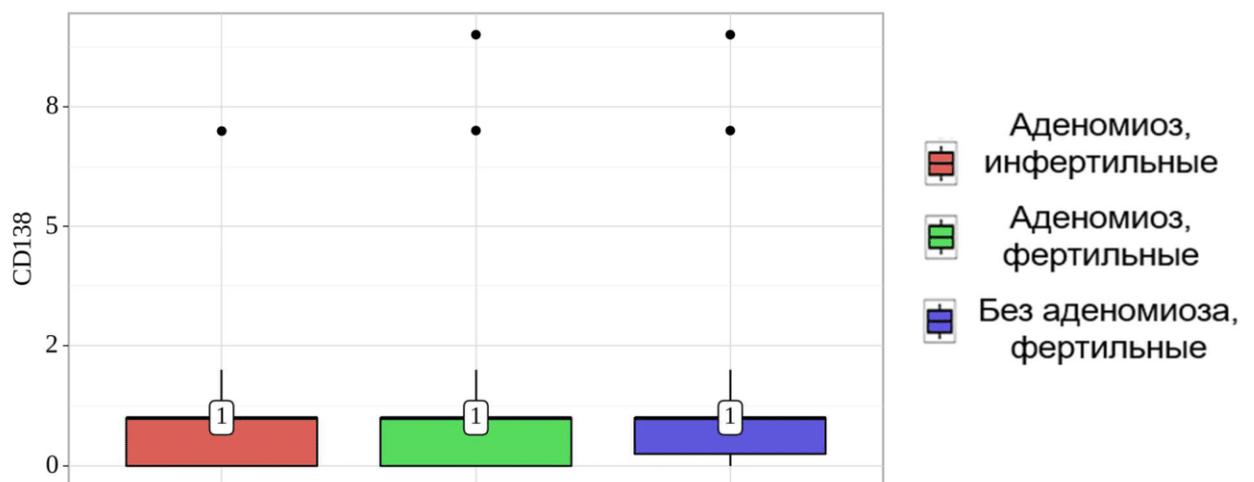
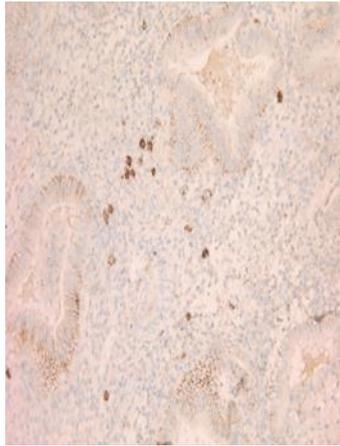


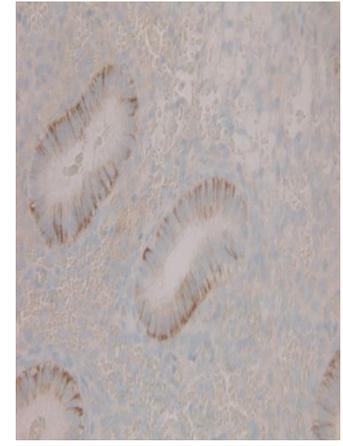
Рисунок 15 – Анализ уровня экспрессии показателя «CD138» в зависимости от групп



А – I группа



В – II группа



С – Группа контроля

Рисунок 16 – Сравнительная характеристика уровня экспрессии CD138. Иммуногистохимическое окрашивание антителами к CD138, размер масштабной шкалы – 200 мкм

При сравнении уровня экспрессии в эндометрии показателя CD56 (NK-лимфоциты) в зависимости от групп, нам не удалось установить статистически значимых различий ($p = 0,695$). При анализе показателя CD138 в зависимости от исследуемых групп статистически значимых различий выявлено не было ($p = 0,849$).

В рамках данного исследования был проведен сравнительный анализ иммуногистохимического окрашивания пролиферативно-апоптотических факторов, таких как Cyclin-E в ядрах и цитоплазме желез и стромы, а также BCL-6. Результаты сравнительного анализа уровня экспрессии «Cyclin-E» в биоптатах эндометрия пациенток изучаемых когорт в период «окна имплантации» представлены в Таблице 22 и на Рисунках 17, 18, 19, 20. Эти данные могут предоставить ценную информацию о потенциальной роли данных факторов в регуляции рецептивности эндометрия и их связи с неудачами имплантации у женщин с аденомиозом.

Согласно представленной Таблице 22 при анализе уровня ИГХ экспрессии показателя Cyclin-E цитоплазмы желез, нам не удалось выявить значимых различий ($p = 0,948$). При сравнении показателя Cyclin-E ядро желез, также не установили статистически значимых различий ($p = 0,074$). Однако при иммуногистохимическом анализе уровня экспрессии показателя Cyclin-E цитоплазме стромы в зависимости от исследуемых групп, были выявлены статистически значимые различия ($p < 0,044$, $p < 0,05$).

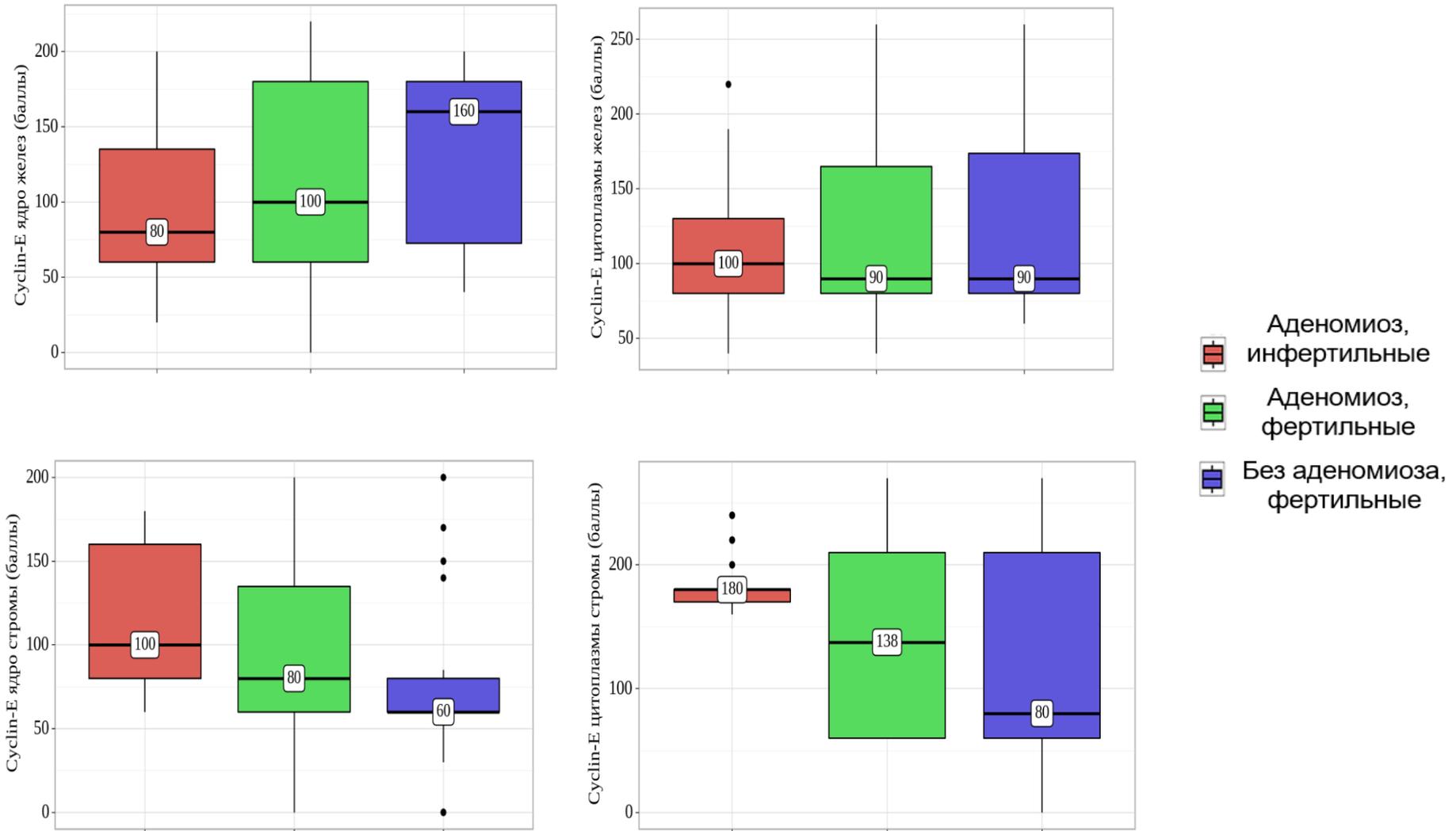
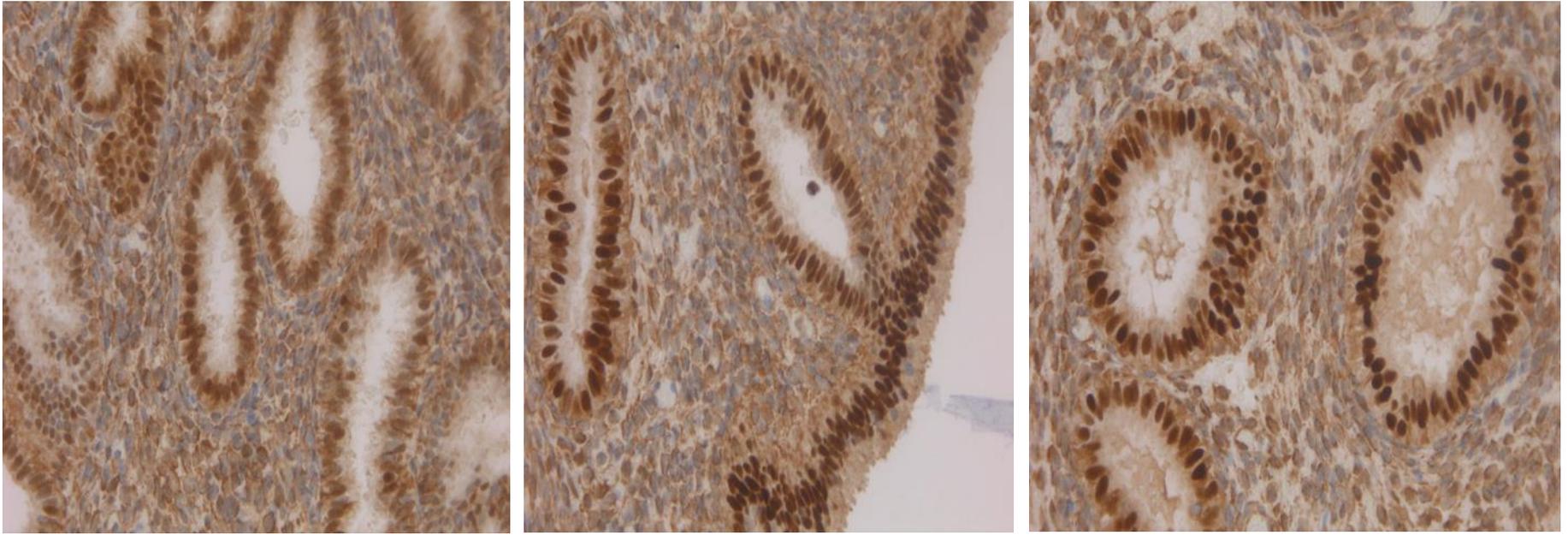


Рисунок 17 – Результаты иммуногистохимической исследований экспрессии Cyclin E в биоптатах эндометрия пациенток изучаемой когорты: А) ядро – железы; Б) ядро – стромы; В) цитоплазма – железы; Г) цитоплазма–stroma



А
Б
Г
Рисунок 18 – Иммуногистохимическое окрашивание антителами к Cyclin-E у пациенток из I группы (А) и II группы (Б), группы морфологического контроля (Г)

Таблица 22 – Сравнительный анализ экспрессии «Cyclin-E» в биоптатах пациенток изучаемых когорт в период окна имплантации

Показатель	Категории	Cyclin-E цитоплазмы желез (баллы)			p
		Me	Q ₁ – Q ₃	n	
Группы	I группа (n = 27)	100	80–130	27	0,948
	II группа (n = 30)	90	80–165	30	
	Группа морфологического контроля (n = 30)	90	80–174	30	
Показатель	Категории	Cyclin-E ядро желез (баллы)			p
		Me	Q ₁ – Q ₃	n	
Группы	I группа (n = 27)	80	60–135	27	0,074
	II группа (n = 30)	100	60–180	30	
	Группа морфологического контроля (n = 30))	160	72–180	30	
Показатель	Категории	Cyclin-E цитоплазмы стромы (баллы)			p
		Me	Q ₁ – Q ₃	n	
Группы	I группа (n = 27)	180	170–180	27	< 0,044
	II группа (n = 30)	138	80–120	30	
	Группа морфологического контроля (n = 30)	80	60–110	30	
Показатель	Категории	Cyclin-E ядро стромы (баллы)			p
		Me	Q ₁ – Q ₃	n	
Группы	I группа (n = 27)	100	80–160	27	< 0,005
	II группа (n = 30)	80	60–135	30	
	Группа морфологического контроля (n = 30)	60	60–80	30	

*Примечание – * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)*

Аналогично достоверные различия Cyclin-E ядро стромы были установлены при сравнении биоптатов эндометрия инфертильной группы с фертильными группами, полученные результаты были статистически значимыми ($p < 0,005$, $p < 0,05$).

Согласно представленной Таблице 22 при анализе уровня ИГХ экспрессии показателя Cyclin-E цитоплазмы желез, нам не удалось выявить значимых различий ($p = 0,948$). При сравнении показателя Cyclin-E ядро желез, также не установили статистически значимых различий ($p = 0,074$). Однако при иммуногистохимическом анализе уровень экспрессии показателя Cyclin-E цитоплазме стромы в зависимости от исследуемых групп, были выявлены статистически значимые различия ($p < 0,044$, $p < 0,05$), аналогично достоверные различия Cyclin-E ядро стромы были установлены при сравнении биоптатов эндометрия инфертильной группы с

фертильными группами, полученные результаты были статистически значимыми ($p < 0,005$, $p < 0,05$).

Далее был проведен анализ показателя «BCL6(%)» в зависимости от групп (Таблица 23 и Рисунки 19, 20).

Таблица 23 – Сравнительный анализ уровня экспрессии «BCL6» в биоптатах пациенток изучаемых когорт в период окна имплантации

Показатель	Категории	BCL6(%)		P
		М ± SD	95%-й ДИ	
Группы	I группа (n = 27)	1,048±0,749	0,752–1,344	0,019*
	II группа (n = 30)	0,563±0,652	0,320–0,807	
	Группа морфологического контроля (n = 30)	0,640±0,631	0,405–0,875	

Примечание – * – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)

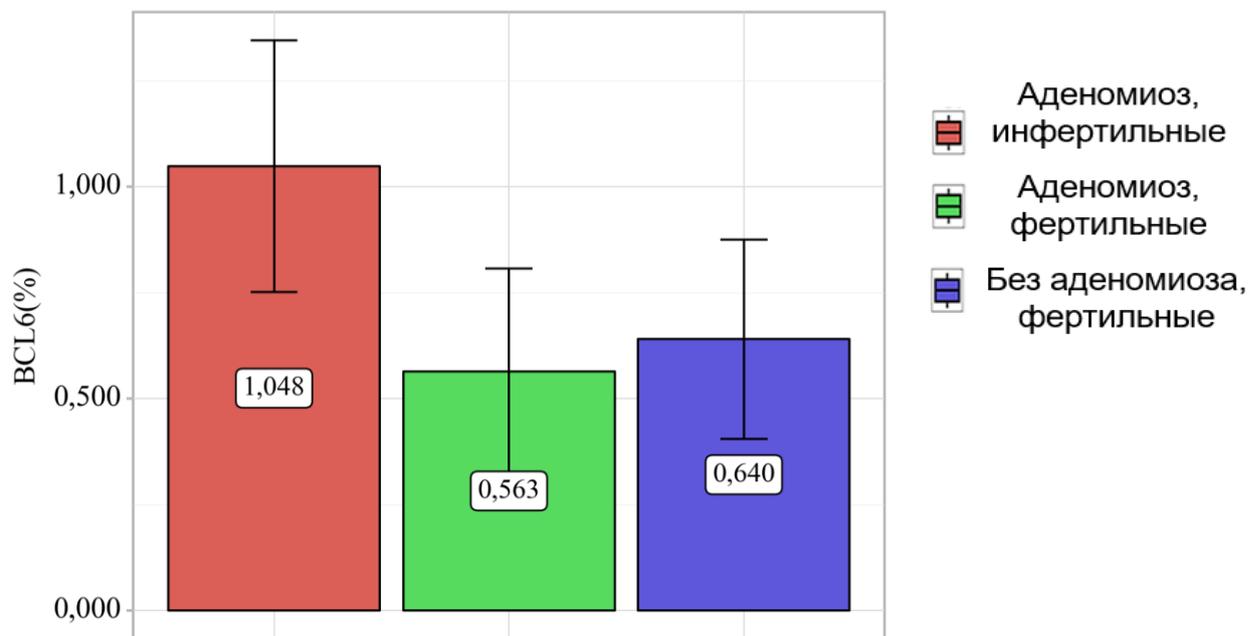


Рисунок 19 – Анализ показателя «BCL6(%)» в зависимости от групп

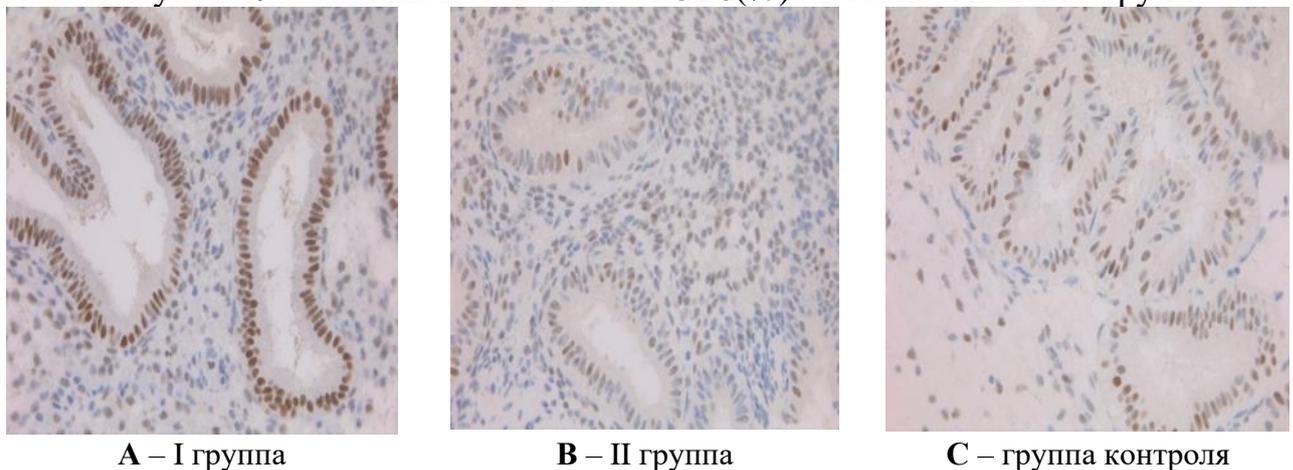


Рисунок 20 – Сравнительная характеристика уровня экспрессии VCL6. Иммуногистохимическое окрашивание антителами к VCL6, размер масштабной шкалы – 200 мкм

Было проведено иммуногистохимическое исследование экспрессии VCL6 в образцах эндометрия, полученных от пациенток исследуемых групп в среднюю стадию секреторной фазы менструального цикла. Сравнительный анализ результатов окрашивания выявил следующие уровни экспрессии маркера VCL6: $[1,048 \pm 0,749; 95\% \text{-й ДИ } 0,752 \text{--} 1,344]$ в первой группе $[0,563 \pm 0,652; 95\% \text{-й ДИ } 0,320 \text{--} 0,807]$ во второй группе и $[0,640 \pm 0,631; 95\% \text{-й ДИ } 0,405 \text{--} 0,875]$ в группе сравнения. Отличия между группами оказались статистически значимыми ($p = 0,019; p < 0,05$). Положительная экспрессия маркера VCL6 в результате иммуногистохимического исследования встречалась достоверно чаще в биоптатах у пациенток с бесплодием, обусловленным аденомиозом и с неудачными попытками ЭКО в анамнезе, что наглядно продемонстрирована в Таблице 23 и на Рисунках 19 и 20. Исходя из данного исследования можно сделать вывод, что одной из причин снижения имплантационного потенциала в первой группе, является нарушение пролиферации, дифференцировки клеток эндометрия.

4.3 Роль иммуногистохимических маркеров в патогенезе неудач имплантации при аденомиоз-ассоциированном бесплодии

С целью изучения роли иммуногистохимических маркеров в патогенетических механизмах нарушения имплантации у пациенток с бесплодием, ассоциированным с аденомиозом, в рамках данного исследования впервые был проведен корреляционный анализ между всеми изученными иммуногистохимическими показателями в образцах секреторного эндометрия инфертильных женщин. Результаты корреляционного анализа представлены в Таблице 24.

Результаты, отраженные в Таблице 24, демонстрируют наличие прямой связи высокой тесноты между MUC1 и пиноподиями, умеренными связями между иммуномаркерами, отвечающими за воспалительные процессы в эндометрии (CD 56 и CD 138) и их влияние на развитие пиноподии и синтез муцина. В ходе исследования

выявлена умеренная связь между иммуномаркерами (BCL6 и Cyclin-E), ответственными за пролиферативно-апоптотические механизмы. Не стоит оставлять без внимания и связь между стероидными рецепторами (эстрогенов и прогестерона), которые отражают синергичность и единство механизма их действия на рецептивный профиль эндометрия.

Таблица 24 – Корреляционные связи между исследуемыми иммуногистохимическими показателями

Показатели	Характеристика корреляционной связи		
	г	Теснота связи по шкале Чеддока	Р
ER строма – ER железы	0,565	Заметная	< 0,001*
ER строма – PR строма	0,376	Умеренная	< 0,001*
ER строма – PR железы	0,436	Умеренная	< 0,001*
ER строма – CD56(НК- лимфоциты)	0,416	Умеренная	< 0,001*
PR строма – MUC1	0,328	Умеренная	< 0,001*
Cyclin-E ядро строма– Cyclin-E цитоплазма стромы	0,406	Умеренная	< 0,001*
Cyclin-E ядро стромы– Cyclin-E ядро желез	0,631	Заметная	< 0,001*
Cyclin-E ядро стромы – Cyclin-E цитоплазмы желез	0,510	Заметная	< 0,001*
Cyclin-E ядро стромы – MUC1	0,413	Умеренная	< 0,001*
BCL6 – Cyclin-E цитоплазмы стромы	0,379	Умеренная	< 0,001*
BCL6– Cyclin-E цитоплазмы желез	0,353	Умеренная	< 0,001*
MUC1 – CD56(НК- лимфоциты)	0,307	Умеренная	< 0,002*
MUC1 – пиноподии	0,725	Высокая	< 0,001*
CD138 – CD56(НК- лимфоциты)	0,456	Умеренная	< 0,001*
CD56(НК- лимфоциты) – Cyclin-E цитоплазмы стромы	0,362	Умеренная	< 0,001*
CD56(НК- лимфоциты) – пиноподии (%)	0,499	Умеренная	< 0,001*
<i>Примечание – * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)</i>			

Выявленные корреляционные связи свидетельствуют о том, что исследуемые транскрипционные факторы оказывают комплексное негативное влияние на рецептивность эндометрия, тем самым обуславливая механизмы развития имплантационной несостоятельности. Кроме того, были обнаружены опосредованные взаимодействия между уровнями экспрессии BCL6 и Cyclin-E, а также ER и PR, которые, как известно, играют ключевую роль в процессе имплантации эмбриона. Эти находки подчеркивают сложность и многофакторность молекулярных механизмов, лежащих в основе нарушений рецептивности эндометрия у женщин с аденомиозом.

ассоциированным бесплодием, и указывают на необходимость дальнейшего изучения взаимодействий между различными регуляторными факторами для лучшего понимания патогенеза имплантационной несостоятельности.

Глава 5. МОДЕЛИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ИСХОДОВ ВРТ У ПАЦИЕНТОК С ДИФФУЗНЫМ АДЕНОМИОЗОМ И НЕУДАЧАМИ ИМПЛАНТАЦИИ В АНАМНЕЗЕ

5.1 Математическая модель прогнозирования успешности имплантации на основании клинико-anamнестических факторов

В результате проведенного сравнительного анализа, направленного на оценку зависимости наступления беременности с помощью высоких репродуктивных технологий у женщин с бесплодием, обусловленным диффузным аденомиозом, на основании клинико-anamнестических данных (Глава 3), были выявлены следующие факторы риска неудач в преодолении бесплодия (Таблица 25).

Таблица 25 – Клинико-anamнестические факторы риска неудач ВРТ

<i>Фактор риска</i>	<i>p</i>	<i>ОШ; 95%-й ДИ</i>
Аномальные маточные кровотечения (МКБ-10: N92.0, N92.1) в анамнезе	0,048*	4,53; 1,79–11,49
Дисменорея (МКБ-10: N94.5), в анамнезе	0,036*	4,13; 1,19–11,59
Внутриматочные оперативные вмешательства (ГС-РДВ и миомэктомии) в анамнезе	0,001*	10,79; 2,99–38,86
Железистая гиперплазия эндометрия в анамнезе (МКБ-10: N85.6)	0,004*	6,19; 2,42–15,86
Внутриматочные синехии в анамнезе (МКБ-10: N85.6)	0,001*	2,82; 1,12–7,08
Хроническая воспалительная болезнь матки в анамнезе (МКБ-10: N71.1)	0,001*	3,04; 1,31–7,07
<i>Примечание – * – различия показателей статистически значимы (p < 0,05)</i>		

На основании клинических и анамнестических данных, которые были выявлены как статистически значимые при применении метода бинарной логистической регрессии, была создана математическая модель для прогнозирования успешной имплантации в программе ЭКО. После учета других предикторов и применения метода пошагового отбора с расчетом скорректированного отношения шансов были выявлены четыре фактора:

- 1) наличие вторичной дисменореи в анамнезе,
- 2) гиперплазия эндометрия без атипии в анамнезе,
- 3) внутриматочные вмешательства (РДВ, миомэктомия),
- 4) хронический эндометрит в анамнезе.

$$P = \frac{1}{1 + e^{-z}} \times 100\%; \quad (5)$$

$$z = -1,298 + 1,799X_{\text{Наличие}} + 2,773X_{\text{ММ}} + 1,970X_{\text{ГЭ}} + 3,788X_{\text{ХЭ}},$$

где P – вероятность наступления успешной имплантации;

$X_{\text{Наличие}}$ – вторичная дисменорея в анамнезе (по МКБ-10, N94.5): (0 – нет, 1 – есть);

$X_{\text{ММ}}$ – наличие внутриматочных оперативных вмешательств в анамнезе (РДВ, миомэктомия): (0 – нет, 1 – есть);

$X_{\text{ГЭ}}$ – железистая гиперплазия эндометрия в анамнезе (МКБ-10: N85.6): (0 – нет, 1 – есть);

$X_{\text{ХЭ}}$ – хроническая воспалительная болезнь матки (МКБ-10: N71.1): (0 – нет, 1 – есть).

Представленная модель регрессии демонстрирует высокую статистическую значимость ($p < 0,01$). Основываясь на величине коэффициента детерминации, рассчитанного по методу Найджелкерка, можно констатировать, что разработанная модель позволяет интерпретировать 63,9% вариативности исследуемых групп.

При наличии вторичной дисменореи в анамнезе шансы на успешную имплантацию уменьшались в 6,5 раза, при РДВ, миомэктомий в 16,1 раза, при железистой гиперплазии эндометрия в 7,2 раза и при наличии показателя хронического эндометрита (МКБ-10: N71.1) в 44,2 раза.

Параметры, отражающие степень взаимосвязи независимых переменных, включенных в модель, с вероятностью благоприятного исхода имплантации, приведены в Таблице 26.

Таблица 26 – Параметры, отражающие степень взаимосвязи независимых переменных, включенных в модель, с вероятностью благоприятного исхода имплантации

<i>Предикторы</i>	<i>Unadjusted</i>		<i>Adjusted</i>	
	COR; 95%-й ДИ	p	AOR; 95%-й ДИ	p
Дисменорея МКБ-10, N94.5): Наличие	2,915; 0,981–8,696	0,005	6,06; 1,076–34,482	0,004*
Внутриматочные оперативные вмешательства в анамнезе: Наличие	12,211; 1,412–105,636	0,002*	16,010; 1,042–246,164	0,005*
Железистая гиперплазия эндометрия в анамнезе (МКБ-10: N85.6): Наличие	4,102; 1,351–12,453	0,001*	7,167; 1,239–41,471	0,004*
Хроническая воспалительная болезнь матки в анамнезе (МКБ-10: N71.1): Наличие	36,249; 4,293–306,127	0,001*	44,150; 4,212–462,663	0,001*
<i>Примечание</i> – * – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)				

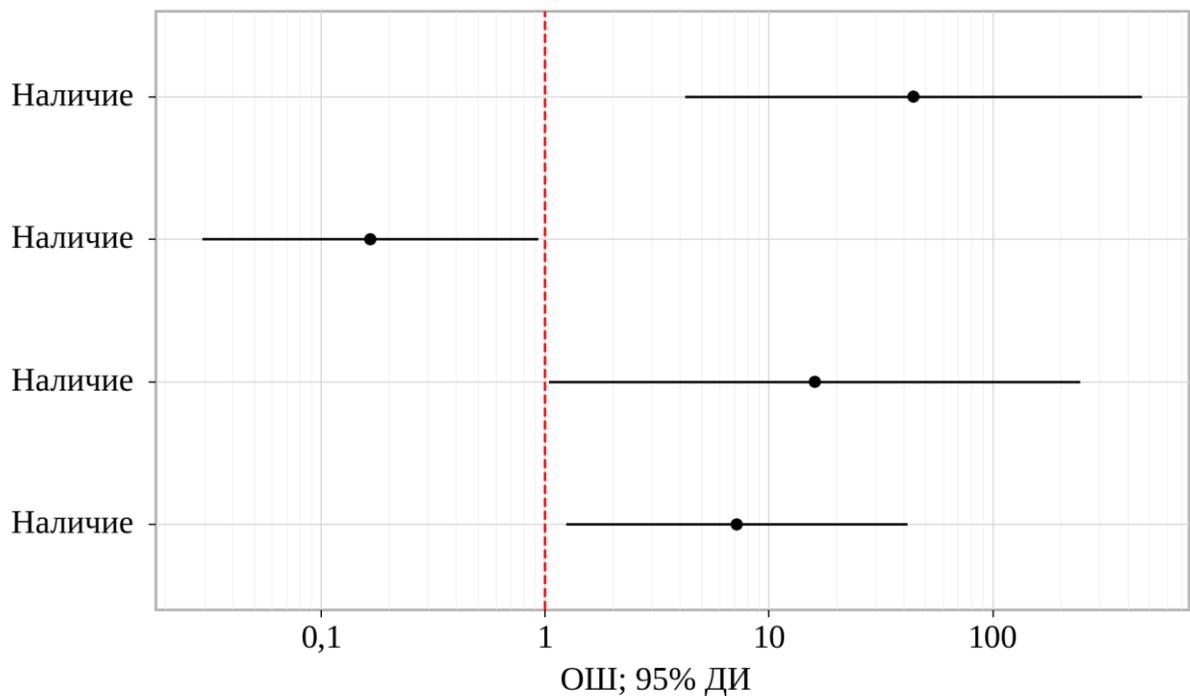


Рисунок 21 – Значения отношения шансов и соответствующие 95%-е доверительные интервалы для анализируемых независимых переменных, ассоциированных с исследуемыми группами

Для определения взаимосвязи между вероятностью успешной имплантации и значениями логистической функции P был применен ROC-анализ, результаты которого графически отображены на Рисунке 22. Численное значение площади, ограниченной ROC-кривой, равнялось $0,906 \pm 0,042$ при 95% доверительном интервале, простирающемся от 0,823 до 0,989. Разработанная модель продемонстрировала высокую статистическую значимость ($p < 0,01$).

Максимальному значению индекса Юдена соответствует оптимальный порог отсечения логистической функции P , равный 0,662. Прогнозирование принадлежности пациента к первой группе осуществлялось при значениях логистической функции P , превосходящих данную пороговую величину либо эквивалентных ей. Чувствительность разработанной модели достигла 77,8%, в то время как ее специфичность составила 90,0%.

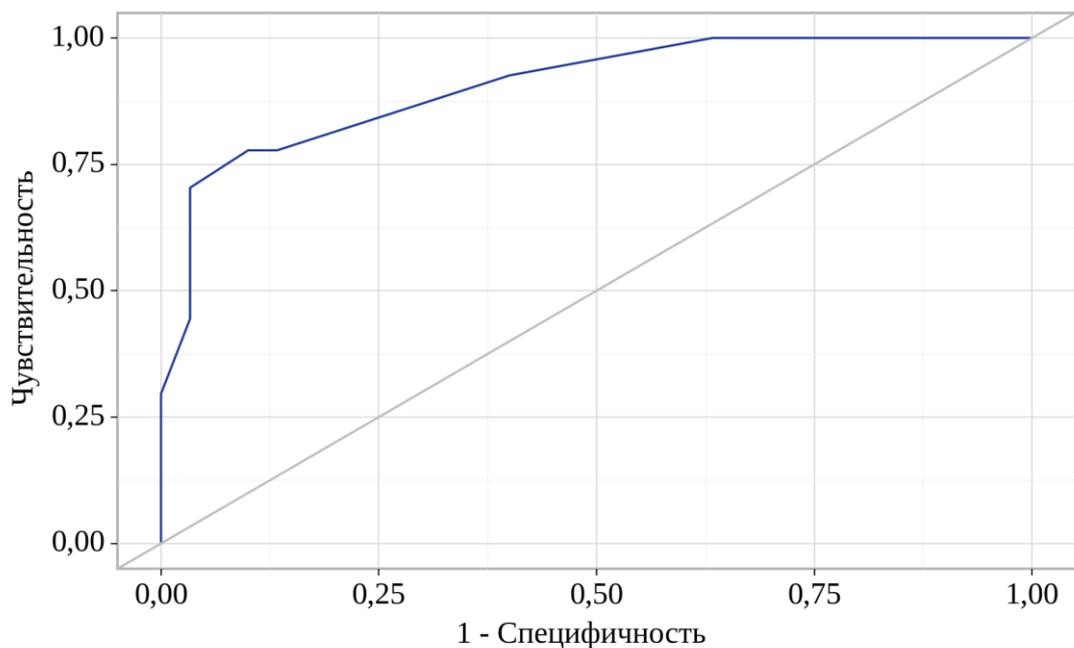


Рисунок 22 – ROC-кривая, отражающая взаимосвязь между вероятностью успешной имплантации и значениями логистической функции P

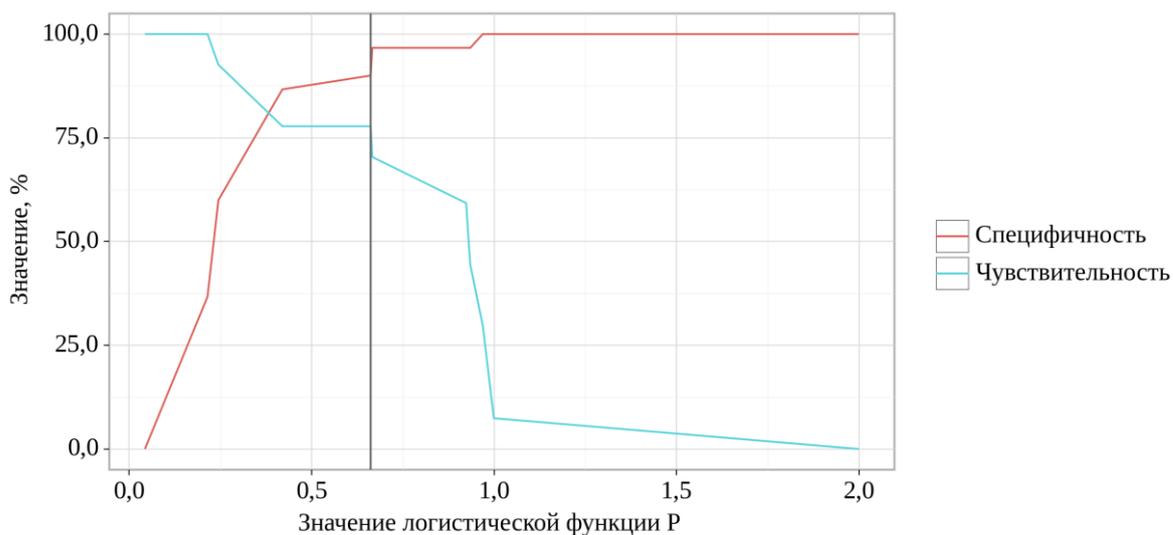


Рисунок 23 – Исследование зависимости чувствительности и специфичности модели от изменения порогового значения логистической функции P

Таблица 27 – Пороговые значения логистической функции P

Порог	Чувствительность (Se), %	Специфичность (Sp), %	PPV	NPV
0,923	59,3	96,7	94,7	70,4
0,666	70,4	96,7	95,5	76,5
0,662	77,8	90,0	88,6	80,2
0,420	77,8	86,7	85,4	79,6
0,245	92,6	60,0	69,8	89,0

5.2 Математическая модель прогнозирования успешности имплантации на основании морфологических и иммуногистохимических критериев

В рамках предварительно выполненного сравнительного статистического анализа данных, полученных в результате морфологических и иммуногистохимических исследований в период «окна имплантации» (глава 4), был идентифицирован ряд прогностически значимых маркеров, демонстрирующих ассоциацию с повторными неудачами имплантации. В перечень данных маркеров вошли следующие параметры:

- процентное содержание пиноподий;
- уровень экспрессии MUC1(%);
- интенсивность экспрессии рецепторов прогестерона (PR) в железистом и стромальном компонентах (%);
- показатели ядерной экспрессии Cyclin E в железах и строме;
- интенсивность цитоплазматической экспрессии Cyclin E в железистых структурах;
- уровень экспрессии BCL-6.

Основываясь на совокупности статистически значимых маркеров, была разработана математическая модель, позволяющая прогнозировать вероятность успешной имплантации в циклах экстракорпорального оплодотворения с переносом эмбрионов, посредством применения метода бинарной логистической регрессии. С целью построения оптимальной прогностической модели, характеризующейся максимальной эффективностью в отношении предсказания успешности имплантации, был задействован метод пошагового отбора предикторных переменных с последующим расчетом скорректированного отношения шансов и учетом потенциального влияния других факторов, включенных в модель. По итогам реализации данного методологического подхода в финальную версию прогностической модели были включены 3 маркера: «интенсивность ядерной экспрессии Cyclin-E в железистых структурах», «уровень экспрессии BCL6(%)» и «процентное содержание пиноподий». Суммарное количество клинических наблюдений, вошедших в анализ, составило 87 случаев.

Наблюдаемая зависимость описывается уравнением:

$$P = \frac{1}{1 + e^{-z}} \times 100\%;$$

$$z = 2,146 - 0,021X_{\text{Суclin-E ядро желез (баллы)}} + 1,095X_{\text{BCL6(\%)}} - 0,048X_{\text{пиноподии (\%)}} \quad (6)$$

где P – вероятность наступления успешной имплантации;

$X_{\text{Суclin-E ядро желез (баллы)}}$ – Суclin-E ядро желез (баллы);

$X_{\text{BCL6(\%)}}$ – BCL6(%);

$X_{\text{пиноподии (\%)}}$ – пиноподии (%).

Разработанная регрессионная модель демонстрирует высокую статистическую значимость ($p < 0,01$). Основываясь на величине коэффициента детерминации, рассчитанного по методу Найджелкерка, можно констатировать, что построенная модель обладает способностью объяснять 58,3% вариабельности исследуемых групп.

Анализ влияния отдельных предикторных переменных на вероятность успешной имплантации показал, что при повышении интенсивности экспрессии маркера «ядерная экспрессия Суclin-E в железистых структурах» на 1 балл, шансы благоприятного исхода имплантации снижаются в 1,2 раза. Аналогичным образом, увеличение значения показателя «уровень экспрессии BCL6(%)» на 1 процентный пункт приводит к уменьшению шансов успешной имплантации в 2,98 раза. В то же время снижение процентного содержания пиноподий на 1 единицу ассоциировано с 1,5-кратным снижением шансов успешной имплантации.

Таблица 28 – Параметры, отражающие степень взаимосвязи независимых переменных, включенных в модель, с вероятностью благоприятного исхода имплантации

Предикторы	Unadjusted		Adjusted	
	COR; 95%-й ДИ	p	AOR; 95%-й ДИ	p
Суclin-E ядро желез (баллы)	0,982; 0,969–0,994	0,001*	0,979; 0,964–0,994	0,001*
BCL6(%)	1,690; 0,899–3,180	0,10	2,989; 1,203–7,426	0,002*
Пиноподии (%)	0,960; 0,939–0,981	0,001*	0,953; 0,927–0,980	0,001*
<i>Примечание</i> – * – влияние предиктора статистически значимо ($p < 0,05$)				

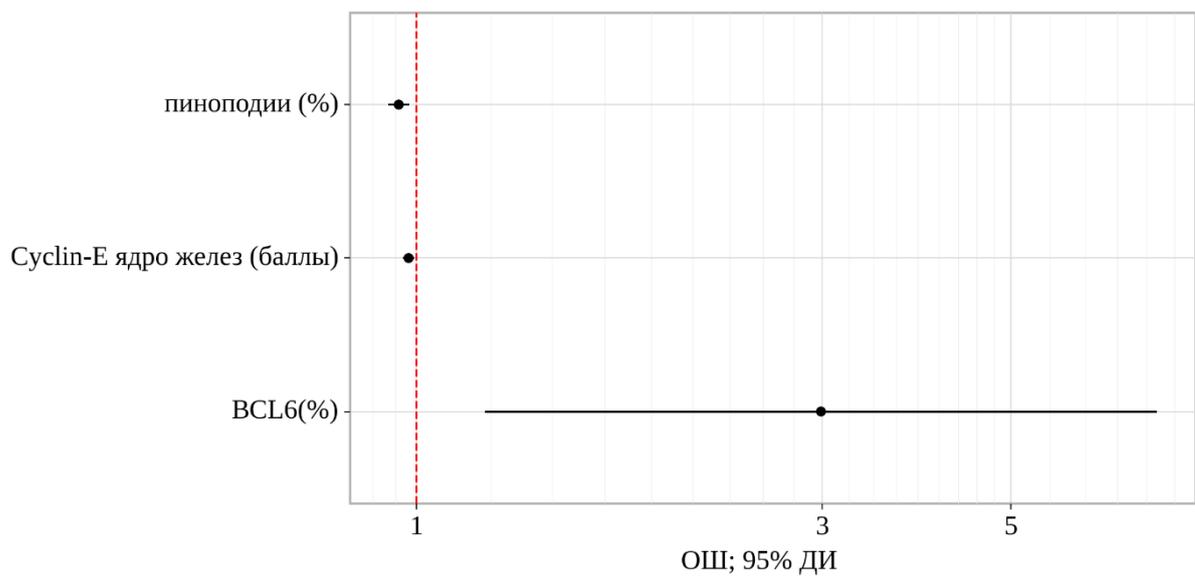


Рисунок 24 – Оценки отношения шансов с 95%-м ДИ для изучаемых предикторов групп

Для исследования взаимосвязи между вероятностью благоприятного исхода имплантации и значениями логистической функции Р был применен метод построения ROC-кривой, графическое представление которой приведено на Рисунке 25.

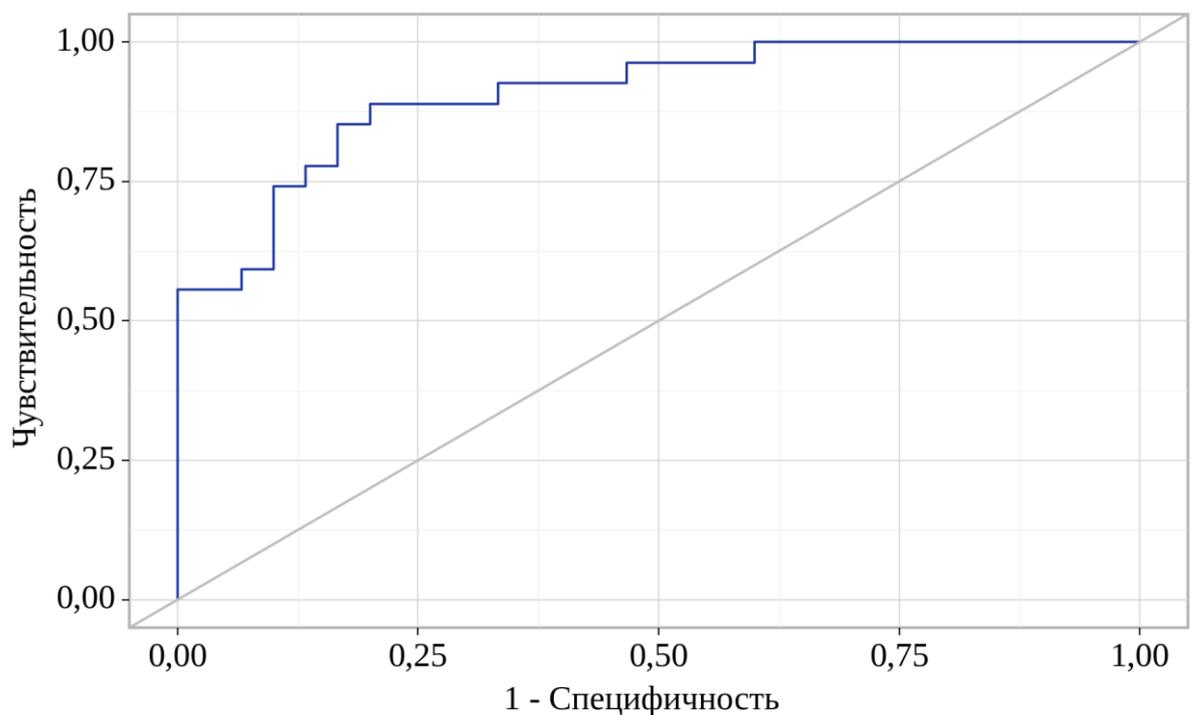


Рисунок 25 – ROC-кривая, отражающая взаимосвязь между вероятностью благоприятного исхода имплантации и значениями логистической функции Р

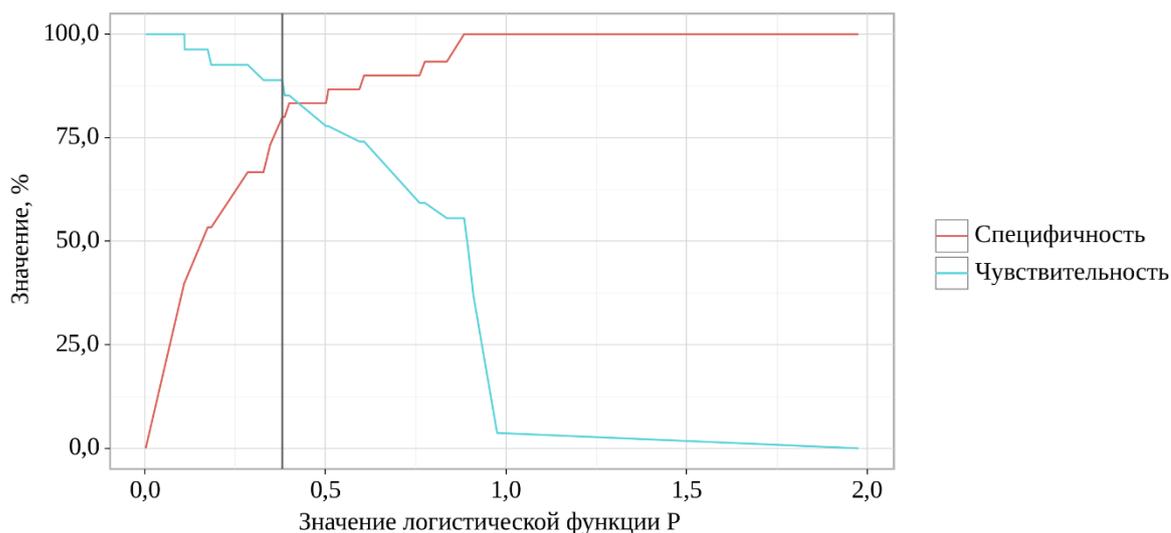


Рисунок 26 – Исследование зависимости чувствительности и специфичности модели от изменения порогового значения логистической функции P

Таблица 29 – Пороговые значения логистической функции P

Порог	Чувствительность (<i>Se</i>), %	Специфичность (<i>Sp</i>), %	PPV	NPV
0,884	55,6	100,0	100,0	69,2
0,836	55,6	93,3	89,3	67,7
0,775	59,3	93,3	89,9	69,6
0,761	59,3	90,0	85,6	68,8
0,607	74,1	90,0	88,1	77,6
0,594	74,1	86,7	84,7	77,0
0,508	77,8	86,7	85,4	79,6
0,502	77,8	83,3	82,4	78,9
0,400	85,2	83,3	83,6	84,9
0,387	85,2	80,0	81,0	84,4
0,381	88,9	80,0	81,6	87,8
0,347	88,9	73,3	76,9	86,8
0,329	88,9	66,7	72,7	85,7
0,285	92,6	66,7	73,5	90,0
0,184	92,6	53,3	66,5	87,8
0,174	96,3	53,3	67,4	93,5

Величина площади под ROC-кривой равнялась $0,906 \pm 0,042$, при этом 95%-й доверительный интервал находился в диапазоне от 0,823 до 0,989.

Разработанная модель продемонстрировала высокую статистическую значимость ($p < 0,01$).

Оптимальный порог отсечения для логистической функции P, соответствующий максимальному значению индекса Юдена, был установлен на уровне 0,381. Прогнозирование успешной имплантации осуществлялось в случаях, когда значение логистической функции P превышало данный пороговый уровень либо было эквивалентно ему. Чувствительность созданной модели достигла 88,9%, в то время как ее специфичность составила 80,0%.

Глава 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Бесплодный брак остается одной из важных медицинских и социальных проблем во всем мире, а распространенность этого состояния достигает 12–17,5%. В структуре бесплодия в России женское занимает 50%, мужское – 20–30%, сочетание обоих факторов встречаются у 20% супружеских пар [9, 27].

Появление программ ВРТ, постоянное усовершенствование протоколов и разработка новых методов позволили добиться значительных результатов. Тем не менее, в течение последних лет эффективность этих методов не изменяется и остается на уровне 30–40% [38]. Именно поэтому так необходимы поиск и разработка новых диагностических и лечебных подходов, направленных на преодоление бесплодия.

На успех в программах ВРТ прежде всего влияет состояние здоровья матери и отца, как общего, так и репродуктивного. От этого во многом зависит качество гамет, эмбриона и способность эндометрия к имплантации бластоцисты (его функциональная зрелость и рецептивность [48]).

Имплантация представляет собой процесс, включающий сложную систему регуляции межмолекулярных и межклеточных взаимодействий, в результате чего происходит адекватное «общение» между эмбрионом и рецептивным эндометрием, а также дальнейшая инвазия эмбриона в децидуальный слой матки с последующей дифференцировкой клеток эмбрио- и трофобласта [75].

Большой преградой на пути женщин, желающих реализовать свою репродуктивную функцию, становится аденомиоз, причины развития которого в настоящее время окончательно не выяснены, как и не найдены специфические прогностические и диагностические маркеры. Это заболевание, сопровождающееся характерными признаками (хронической тазовой болью, дисменореей, диспареунией, развитием железодефицитной анемии), нередко становится причиной инфертильности и значительного снижения качества жизни. Эффективным методом лечения аденомиоза признана гистерэктомия, однако подобная тактика недопустима у пациенток, которые хотят сохранить матку и родить ребенка [12].

Как показывают результаты различных метаанализов, аденомиоз оказывает значительное отрицательное влияние на акушерские исходы и успехи программ ВРТ [81, 174]. Сравнительный анализ эффективности ЭКО у пациенток при аденомиозе ($n = 519$) и без него ($n = 1535$) продемонстрировал, что в группе участниц, страдающих аденомиозом, показатели имплантации, наступления и благоприятного течения беременности и живорождений оказались значительно ниже, а частота ранних репродуктивных потерь – значительно выше [174].

Частота успешных имплантаций эмбриона в программах ВРТ также остается на низком уровне, что также можно объяснить нарушением рецептивности эндометрия в период «окна имплантации». Чтобы определить, насколько эндометрий готов принять эмбрион, применяют различные диагностические методы (гистологический и молекулярно-генетический анализ, электронную микроскопию, ИГХ), однако многие из них имеют невысокую функциональную значимость в решении проблемы.

Поиск идеального маркера для определения наиболее подходящего момента для ПЭ в полости матки в цикле ЭКО продолжается. Омиксные технологии, основанные на изучении генома и закодированной в нем информации, позволили экспертам значительно продвинуться в исследовании культуральной среды эмбриона. Все это дало возможность прогнозировать качество и имплантационный потенциал самих эмбрионов, а также оптимизировать их выбор для переноса в матку. Важно учитывать, что для повышения результативности программ ВРТ у женщин, страдающих аденомиозом, важно не только изучать эмбриональный профиль, но и оценивать рецептивность эндометрия [13]. Приведенные выше результаты исследований наглядно демонстрируют актуальность и значимость выбранной темы.

Основным фокусом нашего исследования являлась разработка подходов к повышению эффективности применения вспомогательных репродуктивных технологий у женщин репродуктивного возраста, страдающих бесплодием, ассоциированным с аденомиозом. Для реализации поставленной цели в рамках исследовательской работы были изучены ключевые причины и потенциальные факторы

риска, связанные с неудачами при проведении циклов ВРТ. Кроме того, были разработаны и всесторонне оценены новые методологические подходы, направленные на повышение результативности преодоления бесплодия у пациенток из целевой группы исследования.

В работу не включали женщин с другими факторами бесплодия (трубно-перитонеальным, маточным, ановуляторным, мужским), а также получающих гормонотерапию.

Исследование проводили в два этапа.

Первый этап (ретроспективный) – изучали данные амбулаторных карт 113 пациенток:

1) I группа – 53 инфертильные пациентки с неудачами ЭКО в анамнезе и с диффузным аденомиозом;

2) II группа сравнения – 30 фертильных пациенток с самостоятельно реализованной беременностью и диффузным аденомиозом;

3) группа сравнения – 30 условно-здоровых женщин с самостоятельно реализованной фертильностью.

Второй этап (проспективный) – у 87 участниц выполняли морфологическое исследование маркеров, влияющих на имплантационную недостаточность (ER, PR, MUC-1, CD138, CD56, BCL6, циклин E).

Далее сравнивали пациенток из разных групп: 27 участниц из первой группы, 30 – из второй группы, 30 – из группы сравнения (морфологический контроль). Статистический сравнительный анализ между выборками женщин показал, что группы были сопоставимы по таким факторам, как возраст, употребление алкоголя, социальный и трудовой статус, наличие профессиональных вредностей ($p > 0,05$). Это позволило сделать вывод, что вышеперечисленные факторы не оказывают влияние на риск неудач ЭКО при аденомиоз-ассоциированном бесплодии.

Тем не менее, существует много исследований, результаты которых подтверждают влияние различных факторов риска (избыточной массы тела, вредных привычек, злоупотребления алкоголем и курения, возраста, тяжелой работы, влияющей на психоэмоциональное состояние) на результаты ЭКО [3, 4, 5, 6, 7, 10, 11, 17].

В нашем исследовании данным показатели не были статистически значимыми ($p > 0,05$).

Возраст матери – один из камней преткновения, становящийся на пути к счастливому материнству. Многие специалисты репродуктивной медицины сходятся во мнении, что чем старше женщина, тем меньше у нее шансов реализовать свою репродуктивную функцию как естественным путем, так и с помощью программ ВРТ. Первые «звоночки» прогрессивного снижения фертильности появляются уже в возрасте 30 лет, поскольку заложенный при внутриутробном формировании овариальный резерв конечен, к тому же качество половых клеток с возрастом значительно ухудшается [168]. При сравнении групп в зависимости от возраста установить статистически значимых различий не удалось ($p = 0,734$). Однако бесплодие в 3 раза чаще встречали у 30–39-летних пациенток, а также у 40–45-летних женщин. Согласно результатам работы, возраст женщин при бесплодии, ассоциированным с диффузным аденомиозом, значимо не влиял на результаты ЭКО.

Средний возраст менархе у женщин всех групп статистически не различался ($Q_1 - Q_3$ 13–14) и данные не были статистически значимыми ($p = 0,827$). Не обнаружили также связи между продолжительностью и длительностью МЦ и началом половой жизни у участниц исследуемых групп ($p > 0,05$). Однако болезненность в течение МЦ отмечали у 81% женщин из первой группы (ОШ = 4,53; 95%-й ДИ 1,79–11,49, $p = 0,001$). Объем менструации статистически не имел различий. В результате исследования выявили, что нарушения МЦ в виде дисменореи и АМК в анамнезе у инфертильных пациенток с диффузным аденомиозом можно рассматривать в качестве предикторов неудач ВРТ. Известно, что аденомиоз становится наиболее частой причиной болезненной симптоматики и расстройств МЦ и этот симптом весьма специфичен для заболевания [1, 6, 7].

Пациентки с аденомиозом и с нереализованной фертильностью не имели ожирения и избыточной массы тела, их средний вес составил 64 кг при росте 165 см (ИМТ 23 кг/м²).

Вредные привычки (курение, употребление алкоголя) способны ухудшить качество яйцеклеток и эмбрионов и снизить вероятность благополучных репродуктивных исходов [160]. При курении в организм попадают различные вредные вещества, продукты горения, смолы, свободные радикалы, канцерогены, которые могут оказывать неблагоприятное влияние не только на здоровье в целом, но и на развитие онкологических заболеваний репродуктивных органов и ранней менопаузы, а также на фертильность и исходы ВРТ. Доказано, что табакокурение снижает частоту наступления клинической беременности у пациенток, вступивших в программу ВРТ, в 1,8 раз, живорождений – в 1,7 раза и повышает вероятность самопроизвольных выкидышей в 2,2 раза [72].

В нашем исследовании данные не были статистически значимыми как для курения ($p = 0,901$), так и для употребления алкоголя ($p = 0,504$). Однако участницы первой группы курили чаще (58,5%), чем во второй группе (50%) и группе сравнения (56,7%). Семь женщин (13,2%) из первой группы заявили о редком употреблении алкоголя, в группе сравнения и во второй группе – две (6,7%).

Высокий риск неудач ЭКО при наружном генитальном эндометриозе может быть связан с наличием экстрагенитальных заболеваний – аутоиммунных, онкологических и сердечно-сосудистых [177]. Однако в нашем исследовании при анализе экстрагенитальных заболеваний не было выявлено статистически значимых различий между группами.

Единого мнения о ПНИ не существует и в разных странах терминология отличается. В клинических рекомендациях «Женское бесплодие», утвержденных Минздравом РФ в 2021 году, указано, что о ПНИ говорят при трех неудачных попытках переноса нативных или размороженных эмбрионов у женщин моложе 35 лет и двух – у женщин 35 лет и старше [18, 43, 170].

Если в анамнезе у женщины уже были неудачи ПЭ, это наталкивает специалистов на мысль, что очередная предпринятая попытка вероятнее всего также не приведет к должному эффекту. Как правило, одна или две неудачных попытки ПЭ в анамнезе предполагает отрицательный результат в ходе последующих попыток. Всех женщин из первой группы длительно наблюдал врач-репродуктолог и ранее

им уже выполняли процедуру ЭКО, но исход был неудачными. Согласно результатам исследования, у пациенток, не преодолевших бесплодие, с диффузным аденомиозом с неудачными попытками ЭКО в анамнезе средний период бесплодия составил 4 ± 3 лет, а количество попыток реализации беременности при помощи ЭКО в анамнезе – около двух.

Различные внутриматочные патологические изменения (например, полипы) могут стать причиной ухудшения рецептивности эндометрия у пациенток репродуктивного возраста [26, 131,167].

Разброс данных по распространённости подобных находок весьма широк: по информации разных исследователей, их выявляют у 6–58,5% инфертильных женщин. Безусловно, они требуют гистероскопической оценки и лечения, поскольку нередко становятся причиной маточного фактора бесплодия. Например, гистероскопическая полипэктомия позволяет значительно увеличить частоту наступления беременности [71]. В нашей работе статистически значимых различий при сравнении трех групп выявлено не было ($p = 0,117$). Результаты ретроспективного исследования показали, что у женщин с диффузным аденомиозом и бесплодием в анамнезе статистически значимо чаще возникали заболевания эндометрия (внутриматочные синехии, ХЭ, гиперплазия эндометрия без атипии).

Любые травмы тканей матки, связанные с диагностическими инструментальными манипуляциями или хирургическими вмешательствами, – это повышение вероятности хронических воспалительных процессов, истончения эндометрия и развития синехий, и в особой группе риска находятся пациентки с аденомиоз-ассоциированным бесплодием, которые нередко подвергаются необоснованным и агрессивным операциям на органах малого таза [156]. В числе подобных манипуляций могут быть миомэктомия по поводу субмукозной миомы матки в анамнезе, лапароскопическая хромосальпингоскопия, тубэктомия или резекция яичника, отдельное диагностическое выскабливание слизистой оболочки полости матки. В свою очередь это способствует развитию хронического воспалительного процесса, что негативно влияет на процессы регенерации, усиливает пролиферацию в эндометрии и приводит к формированию аденомиоза [106].

У пациенток с неудачами ЭКО, у которых в анамнезе есть внутриматочные заболевания, гораздо чаще подвергаются повторным внутриматочным вмешательствам, что влечет за собой повышение вероятности ХЭ и, как следствие, снижение рецептивности эндометрия [106]. Полученные результаты статистического анализа могут быть интерпретированы в контексте рассмотрения процессов формирования полипов эндометрия и субмукозных миоматозных узлов как проявлений патологических изменений, имеющих более глубокие структурные основы. Возникновение полипов эндометрия может быть обусловлено множественными (около 88) провоспалительными сдвигами в составе клеточных элементов локального иммунитета эндометрия, что приводит к существенным отклонениям от нормальной физиологической воспалительной реакции, нарушению присущих ей механизмов самоограничения в функциональном слое и, как следствие, к избыточной пролиферативной активности [139]. Таким образом, предварительное лечение подобных заболеваний перед вступлением пациентки в программу ЭКО позволит значительно улучшить исходы в рамках программ, направленных на преодоление бесплодия.

В настоящее время одной из лидирующих причин бесплодия, ассоциированного с эндометриальными факторами, а также ПНИ и акушерских осложнений считают ХЭ [89]. Это патологическое состояние встречаются практически у каждой второй инфертильной женщины, а при ПНИ его обнаруживают еще чаще [111].

В настоящее время специалисты не пришли к единому мнению относительно патоморфологической и иммуногистохимической диагностики ХЭ. Для выявления заболевания применяют инвазивные методы или определения CD138 в биоптате эндометрия: если выявлена хотя бы одна окрашенная маркером CD138 клетка в 10 полях, то выставляют диагноз ХЭ [126].

У женщин с высокой вероятностью образования полипов эндометрия отмечают аномально высокую экспрессию гликоделина в эндометрии, что также может отрицательно влиять на рецептивность эндометрия даже после удаления структурных аномалий [139]. Исследователи также установили, что полипы эндометрия развиваются в условиях нарушенной экспрессии LIF, *HOXA10* и *HOXA11* – именно они ответственны за рецептивность эндометрия [144].

Есть много работ, посвященных взаимосвязи бесплодия на фоне эндометриоза с ХЭ, что грозит неблагоприятными репродуктивными исходами [37, 110]. Тем не менее, аналогичных данных о встречаемости ХЭ у пациенток с аденомиозом не так много. Например, авторы многоцентрового когортного исследования обнаружили, что у женщин с аденомиозом чаще возникают инфекционные состояния эндометрия, что, в частности, повышает вероятность ХЭ [162].

Проведенный нами ретроспективный анализ позволяет утверждать, что сам факт наличия ХЭ в анамнезе, даже с учетом успешно проведенного лечения, следует считать значимым фактором риска неудачи при процедуре ЭКО у пациенток с аденомиоз-ассоциированным бесплодием (ОШ = 3,04; 95%-й ДИ 1,31–7,07). Хотя на репродуктивных результатах может негативно сказываться и неадекватная лечебная тактика: по предположению некоторых исследователей, слепое кумулятивное назначение антибактериальных препаратов без предварительного выяснения причин и ответственных патогенов приводит к нарушению здорового микробиома матки, что также может ухудшить исходы ЭКО [89].

По результатам сонографических исследований мы пришли к выводу, что объем и поперечный и продольный размеры матки у участниц разных групп отличаются: у женщин с диффузным аденомиозом и бесплодием они больше, чем у фертильных пациенток, однако статистически значимых различий выявлено не было ($p < 0,05$).

По мнению проф. М. Р. Оразова, одной из важных причин неудач имплантации в программах ЭКО следует считать «тонкий» эндометрий. По сонографическим признакам под это понятие попадает определяемая его толщина менее 7 мм в день овуляции или в день введения инъекции ХГЧ в свежих циклах ЭКО и/или в день старта начала применения прогестерона в криопротоколе ЭКО [41]. В нашем исследовании не было статистических различий по этому показателю ($p = 0,967$).

На базе выявленных статистически значимых клинико-анамнестических факторов, используя метод бинарной логистической регрессии, мы сконструировали математическую модель, позволяющую прогнозировать вероятность успешной имплантации в циклах экстракорпорального оплодотворения с переносом эмбрионов

(Модель 1, чувствительность – 77,8%, специфичность – 90%). Она учитывает четыре предиктора:

- 1) дисменорея;
- 2) наличие в анамнезе гиперплазии эндометрия без атипии;
- 3) внутриматочные оперативные вмешательства в анамнезе (раздельное диагностическое выскабливание, миомэктомия);
- 4) морфологически верифицированный ХЭ.

В процессе подготовки к циклам экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов разработанная математическая Модель 1 дает возможность стратифицировать пациенток, страдающих бесплодием маточного происхождения и не имеющих структурных аномалий полости матки, на группы в соответствии с индивидуальным риском неудачной имплантации.

Следующей задачей нашего исследования стал поиск маркеров, ответственных за неудачи имплантации у пациенток с аденомиоз-ассоциированным бесплодием и неудачами ЭКО в анамнезе.

Выполнение биопсии эндометрия на 5-й день после овуляции лишено смысла, поскольку открытие «окна имплантации» происходит на 5–7-й день после овуляции [102], по критериям Нойса (Noise Criterion) – на 6-й день [136]. В итоге результаты обследования нельзя признать точными, и они не будут иметь диагностической ценности. Именно поэтому в нашем исследовании мы назначали Пайпель-биопсию эндометрия после подтверждения овуляции (не ранее 7-го дня), гормональную стимуляцию которой не осуществляли.

Биопсию эндометрия у пациенток с неудачами ЭКО в анамнезе и бесплодием, ассоциированным с диффузным аденомиозом в нашем исследовании, выполняли не ранее 7-го дня после овуляции. Однако «окно имплантации» сместилось в сторону более позднего открытия: шансы средней стадии фазы секреции в первой группе были достоверно ниже (в 3,8 раза).

При бесплодии для созревания эндометрия необходимо 8 дней после овуляции, а не 6, как было установлено ранее согласно критериям Нойса [63]. Это также

подтверждает работа А. В. Кузьминой: более чем у половины пациенток с репродуктивными нарушениями эндометрий, полученный на 6–8-й день после овуляции, не достигал средней стадии фазы секреции [30]. По данным Е. О. Усольцевой, если морфологические характеристики эндометрия не соответствуют дню МЦ, это может негативно повлиять на исход последующей программы ЭКО, что характерно для пациенток с ПНИ [56].

Недостаточные секреторные преобразования эндометрия могут быть признаком бесплодия маточного генеза. Именно поэтому смещение «имплантационного окна» можно также расценивать как причину эндометриального бесплодия и фактор неудачи в программах ВРТ. Выяснения индивидуальных особенностей пациенток (продолжительность МЦ, день наступления овуляции, состояние эндометрия) позволит более точно определить день, подходящий для успешного переноса ПЭ в полость матки [48].

Женские половые гормоны влияют на экспрессию ER и PR в органах-мишенях, а частности в эндометрии, строго регулируя их активность. При нарушении баланса ткани становятся нечувствительны к прогестерону, при этом возрастает концентрация эстрогенов. Подобный дисбаланс повышает вероятность воспалительных и пролиферативных процессов в эндометрии [141].

В нашем исследовании мы оценивали экспрессию маркеров PR в строме и железах эндометрия у пациенток в сравниваемых группах и выявили существенные межгрупповые различия: PR железы 120–280 против 260–280 и 261–281 ($p < 0,004$), PR стромы 260–280 против 249–262 и 262–290 ($p < 0,039$). Более высокую концентрацию прогестерона в период «имплантационного окна» отмечали у женщин фертильной группы, чем у женщин с бесплодием и неудачными попытками ЭКО в анамнезе, что подтверждает асинхронную трансформацию эндометрия. У участниц с реализованной фертильностью отметили достоверное увеличение экспрессии ER в железах и строме эндометрия. Однако статистически значимых различий между группами не выявили: ER железы 86–202 против 80–110 и 80–110 ($p = 0,001$), ER стромы 110–228 против 96–198 и 96–198 ($p = 0,471$).

Для успешной имплантации необходимо, чтобы совпали два фактора – готовый к имплантации эмбрион и рецептивный эндометрий. В качестве одной из причин имплантационной несостоятельности и неспособности эндометрия к имплантации оплодотворенной яйцеклетки рассматривают повышение экспрессии ER с одновременным снижением экспрессии PR в клетках эндометрия в секреторную фазу [21]. Одна из возможностей преодоления – гестагенная поддержка женщин как при подготовке к ПЭ, так и после него.

Многие исследователи признают нарушения в развитии и созревании пиноподий ведущей причиной неудач имплантации [135]. В одной из работ доказали, что оценка экспрессии этих структур позволяет надежно прогнозировать наступление беременности у пациенток с ПНИ [148].

Сканирующая электронная микроскопия позволяет определить количество и морфотипы пиноподий (развивающиеся, развитые, регрессирующие) [32]. Альтернативой этому исследованию может стать определение иммуногистохимической экспрессии гликопротеина MUC1 в поверхностном эпителии в области пиноподий [135]. Если ее показатель окажется низким, то это с большой долей вероятности следует считать признаком вероятных репродуктивных неудач в будущем [171].

Дисбаланс стероидов связан с дисфункцией эндометрия и имплантационной несостоятельностью. Результаты исследований подтверждают, что у бесплодных пациенток с диффузным аденомиозом и с неудачами ЭКО в анамнезе в отличие от фертильных женщин экспрессия маркера адгезии MUC1 происходит неправильно, а также снижено количество пиноподий, которые иногда даже полностью отсутствуют. Экстремально низкий уровень экспрессии MUC1 связан с нарушением рецептивности эндометрия [48]. Регуляция экспрессии MUC1 также обусловлена нарушениями экспрессии ER и PR.

Результаты нашего исследования показали, что у женщин первой группы количество пиноподий драматично снижалось, а их плотность в группе сравнения и во второй группе была в 1,4 раза выше ($p < 0,001$). У инфертильных пациенток с неудачами в ЭКО по сравнению с фертильными участницами количество окрашен-

ных клеток в реакции с маркером MUC1 было в 2 раза ниже. На основании статистического анализа мы установили прямую связь между экспрессией пиноподий и MUC1, а также выявили, что при изменении показателя MUC1 на одну единицу следует ожидать изменение в показателях пиноподий на 0,779. Полученная модель объясняет 59,7% наблюдаемой дисперсии.

В норме в здоровом (фертильном) эндометрии большинство лимфоцитов в пролиферативную фазу представлены Т-клетками, макрофагами и uNK. Последние проявляют низкую цитотоксичность, что подтверждают высокая экспрессия маркера CD56+ и низкая – CD16+. При возрастании концентрации прогестерона экспрессия маркеров и uNK также повышается, что способствует правильному взаимодействию между организмом матери и плода [41].

ХЭ – это персистирующее воспаление базального слоя эндометрия на фоне аномальной инвазии плазматическими клетками. Полноценным триггером иммуногистохимических нарушений считают наличие верифицированных плазматических клеток CD138. Их обнаружение в образцах эндометрия позволяет верифицировать морфологический диагноз ХЭ. Стоит отметить, что до настоящего времени не существует единого мнения о пороговом значении количества экспрессированных плазматических клеток в эндометрии и их корреляции для полноценной морфологической диагностики эндометрия [129].

По мнению некоторых авторов, определение CD138+-клеток методом ИГХ у женщин с повторной потерей беременности в анамнезе подходит не только для выявления ХЭ, но и для прогнозирования последующего репродуктивного исхода [149]. Авторы одной из работ сравнивали состояние эндометрия в среднюю стадию фазы секреции у пациенток с диффузным аденомиозом и неудачами ЭКО в анамнезе и фертильных женщин с самостоятельно реализованной беременностью и не обнаружили статистически значимых различий в группах.

При сравнении показателей CD138 и CD56 (NK-лимфоциты) нам не удалось установить статистически значимых различий в группах ($p = 0,849$; $p = 0,695$). Од-

нако количество uNK напрямую зависит от влияния эстрогенов: гормоны контролируют миграцию NK-клеток и способствуют выработке ангиогенных факторов, например, хемокинового лиганда 2 [95].

Высокая экспрессия CD56 в секреторной эндометрии отрицательно сказывается на наступлении беременности, в том числе в рамках программ ЭКО [56]. Однако по другой версии количество NK-клеток и CD138 в строме эндометрия значительно не влияет на наступление беременности у пациенток с репродуктивными неудачами. Средний период бесплодия у представительниц инфертильной группы составил 4 ± 3 года, количество попыток реализации беременности при помощи ЭКО в анамнезе – около двух.

В идеале стандартная прогрессия маркеров должна нарастать в течение МЦ, чтобы можно было различать уровни клеточной дифференцировки в отдельные его дни. Прогрессирование клетки в митотическом цикле контролируют циклины, CDKs и ингибиторы CDKs. Так, циклин E вместе с CDKs признаны лимитирующими скорость активаторами митотического перехода G1 в S фазу, тогда как ингибитор CDK p27 предотвращает прогрессирование этого клеточного цикла. Активность этих факторов зависит от их взаимодействия и от субклеточной локализации. Например, циклин E требует активности CDK, а пара инактивируется взаимодействием с p27, при этом последний активен только тогда, когда присутствует в ядре.

Эстроген оказывает регулирующее влияние на циклин E, тогда как прогестерон индуцирует переход в состояние, в котором доминирует p27. В различных исследованиях изучали роль циклина E и p27 в развитии неопластических процессов в эндометрии. Так, при раке тела матки обнаруживали повышенную экспрессию циклина E, а в карциномах эндометрия определяли снижение уровня p27 – предполагаемого гена-супрессора опухоли. Оба маркера сильно окрашивают эндотелиальные клетки на протяжении всего МЦ, в связи с чем они полезны в качестве внутреннего положительного контроля. Эти регуляторы клеточного цикла позволяют не только определить стадии развития эндометрия, но и проливают свет на основную регуляцию эндометрия, которая заставляет его переключаться между фазами пролиферации и дифференцировки.

Наши наблюдения за этими циклинами в железах эндометрия согласуются с этой моделью. При этом циклин E обычно обнаруживают только в контролируемой эстрогеном фазе пролиферации и ранней секреторной фазе, а p27 – только в непролиферирующей, P-контролируемой секреторной фазе.

В образцах биопсии с искусственно стимулированным имитационным циклом определяют значительно большее количество циклина E в фолликулярную фазу. Такое наблюдение подтверждает мнение о том, что эстрадиол стимулирует выработку циклина E. Иными словами, эти маркеры, контролирующие развитие эндометрия, также дают представление о фактическом биохимическом состоянии и развитии каждой железы эндометрия.

Экспрессия лютеинового циклина E, особенно ядерного, значительно отличалась в образцах биопсии фертильных и бесплодных пациенток. Сохранение экспрессии свидетельствует о том, что развитие клеток задерживается и происходит это на более ранней стадии МЦ. Такую задержку, названную остановкой железистого развития, определяют также у женщин с бесплодием, что можно считать проявлением дефектной восприимчивости матки. Утверждение о том, что железы действительно задерживаются на ранней стадии развития, подтверждают и другие исследования маркеров [87].

Согласно нашим данным, циклин E цитоплазмы желез не имел статистически значимых различий ($p = 0,948$), при сравнении показателя в ядре желез также не установили различий ($p = 0,074$). Однако при анализе показателя циклин E цитоплазмы стромы в зависимости от исследуемых групп выявили изменения ($p < 0,044$), как и в ядре стромы ($p < 0,005$).

BCL6 изначально считали онкогеном, участвующим в формировании злокачественных лимфом. Однако позже его обнаружили в различных опухолях и при патологических изменениях эндометрия. В нескольких недавних работах изучали взаимосвязь между скоростью экспрессии BCL6 в эпителии желез эндометрия и эндометриозом. Повышенная экспрессия BCL6 была характерна для повторных неудач ЭКО. Высокая экспрессия BCL6 у женщин с эндометриозом способствовала снижению количества рецепторов, активирующих и регулирующих прогестерон, и

инактивации прогестерона в эндометрии. Аномальная экспрессия VCL6 эндометрия может быть ответственна за плохие репродуктивные исходы после ПЭ [64, 77, 119, 130].

Результаты современных исследований свидетельствуют о том, что онкоген VCL6 играет значимую роль в функционировании трофобластических клеток и характеризуется повышенной активностью как в преэкламптической плаценте, так и при эндометриоидных поражениях. Эти данные подтверждают физиологическую и патологическую значимость VCL6 для тканей плаценты и эндометрия.

Примечательно, что экспрессия VCL6 широко распространена в плаценте человека, а увеличение уровня его экспрессии ассоциировано с развитием такого осложнения беременности, как преэклампсия. Кроме того, результаты недавних исследований указывают на возможность использования VCL6 в качестве диагностического маркера эндометриоза и связанного с ним бесплодия [130].

VCL6 связывается с каноническими последовательностями ДНК в регуляторной области различных генов-мишеней и рекрутирует корепрессорные комплексы, подавляющие транскрипцию генов. Данные научных исследований свидетельствуют о повышенном уровне экспрессии белка VCL6 при различных онкологических заболеваниях репродуктивной системы, таких как рак яичников и молочной железы, а также при злокачественных новообразованиях желудка и других органов. Для этих патологических состояний характерны усиленная пролиферативная активность опухолевых клеток, повышенная выживаемость, миграционная и инвазивная способность, а также резистентность к проводимой терапии.

Таким образом, VCL6 выступает в роли значимого онкопротеина в солидных опухолях, хотя точные молекулярные механизмы его действия до конца не изучены и требуют дальнейшего исследования.

В нашем исследовании отмечена более высокая экспрессия VCL6 в образцах эндометрия у инфертильных пациенток с неудачными попытками ЭКО в анамнезе и с диффузным аденомиозом по сравнению с участницами, реализовавшими свою фертильность ($p = 0,019$, $p < 0,05$). Согласно современным данным, комбинация

различных иммунных маркеров – лучший диагностический подход в преодолении бесплодия у женщин с рецидивирующими неудачами имплантации.

Вышеописанное позволило дополнить механизм патогенеза неудач имплантации у пациенток с аденомиозом. Одним из ключевых механизмов нарушений рецептивности эндометрия у инфертильных пациенток с аденомиозом и неудачами имплантации в анамнезе является задержка секреторной трансформации эндометрия, проявляющаяся уменьшением числа пиноподий, снижением экспрессии прогестероновых рецепторов и MUC1, а также повышением экспрессии белков Cyclin E и BCL6, ответственных за персистенцию пролиферативных и апоптотических нарушений (Рисунок 27).

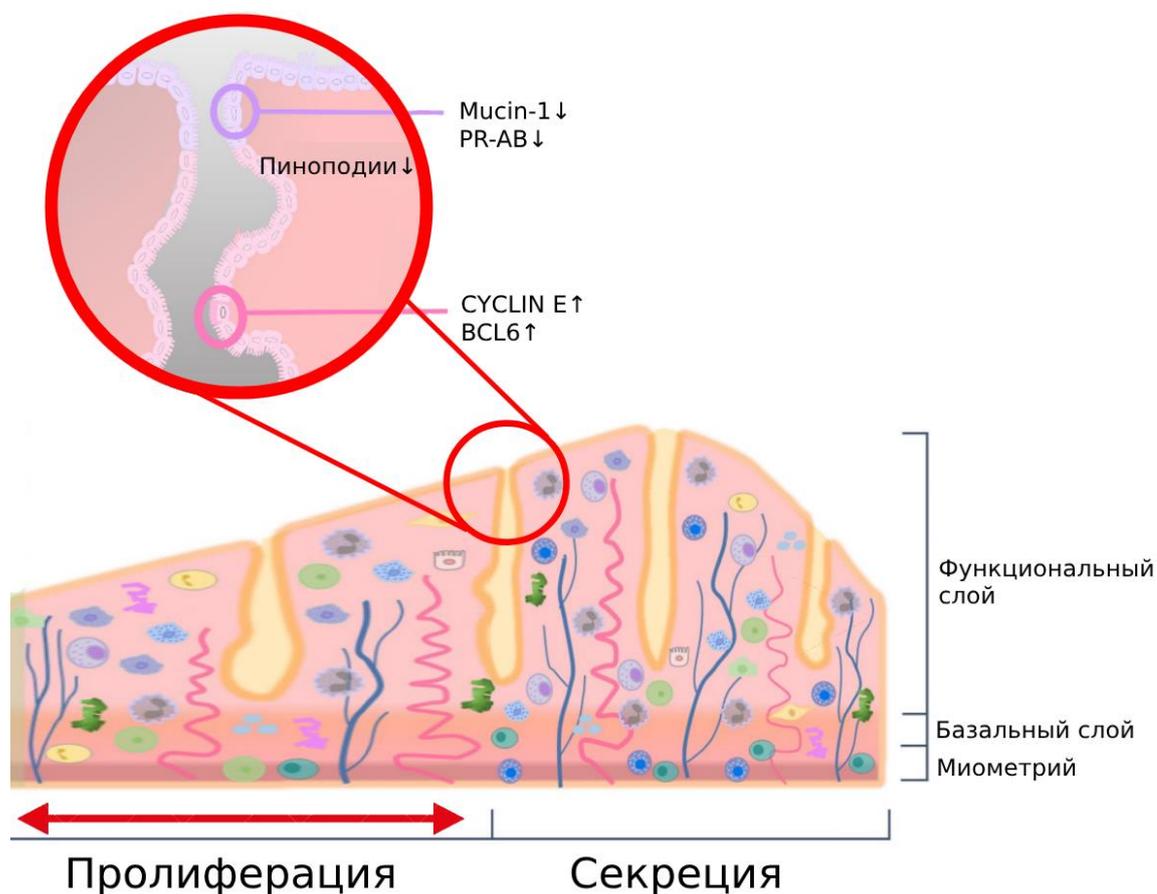


Рисунок 27 – Механизм патогенеза неудач имплантации, обусловленных аденомиозом

Как показали результаты исследований, оценка CD56, BCL6 и CD138 в одном и том же образце эндометрия может быть эффективным методом определения этиологии бесплодия и достижения ранней диагностики и вариантов лечения [127].

На базе статистически значимых иммуногистохимических маркеров, идентифицированных в период «окна имплантации», была сконструирована математическая модель, позволяющая прогнозировать вероятность успешной имплантации в циклах экстракорпорального оплодотворения с переносом эмбрионов (ЭКО с ПЭ). Для разработки данной модели был применен метод бинарной логистической регрессии, а в качестве предикторных переменных были включены три параметра: интенсивность экспрессии циклина E в ядрах железистых структур, уровень экспрессии VCL6 и процентное содержание пиноподий. Чувствительность разработанной модели достигла 88,9%, в то время как ее специфичность составила 80%, при общем количестве проанализированных случаев равном 57. В ситуациях, когда на основании расчетов по математической модели 1 выявляется высокий риск неудачной имплантации, требуется проведение комплексного обследования пациентки, включающего детальную оценку морфофункционального статуса эндометрия в период «окна имплантации» и прогнозирование риска неблагоприятного исхода имплантации с использованием предложенной математической модели 2. Интеграция такого подхода в клиническую практику специалистов в области репродуктивной медицины создаст предпосылки для предотвращения нежелательных переносов эмбрионов, сокращения потребности в повторных и необоснованных хирургических вмешательствах, а также для сохранения овариального резерва у пациенток.

Благодаря проведенной работе, мы разработали алгоритм ведения пациенток с аденомиоз-ассоциированным бесплодием и неудачными попытками ЭКО в анамнезе, в котором учтены индивидуальные особенности каждой женщины (Рисунок 28).

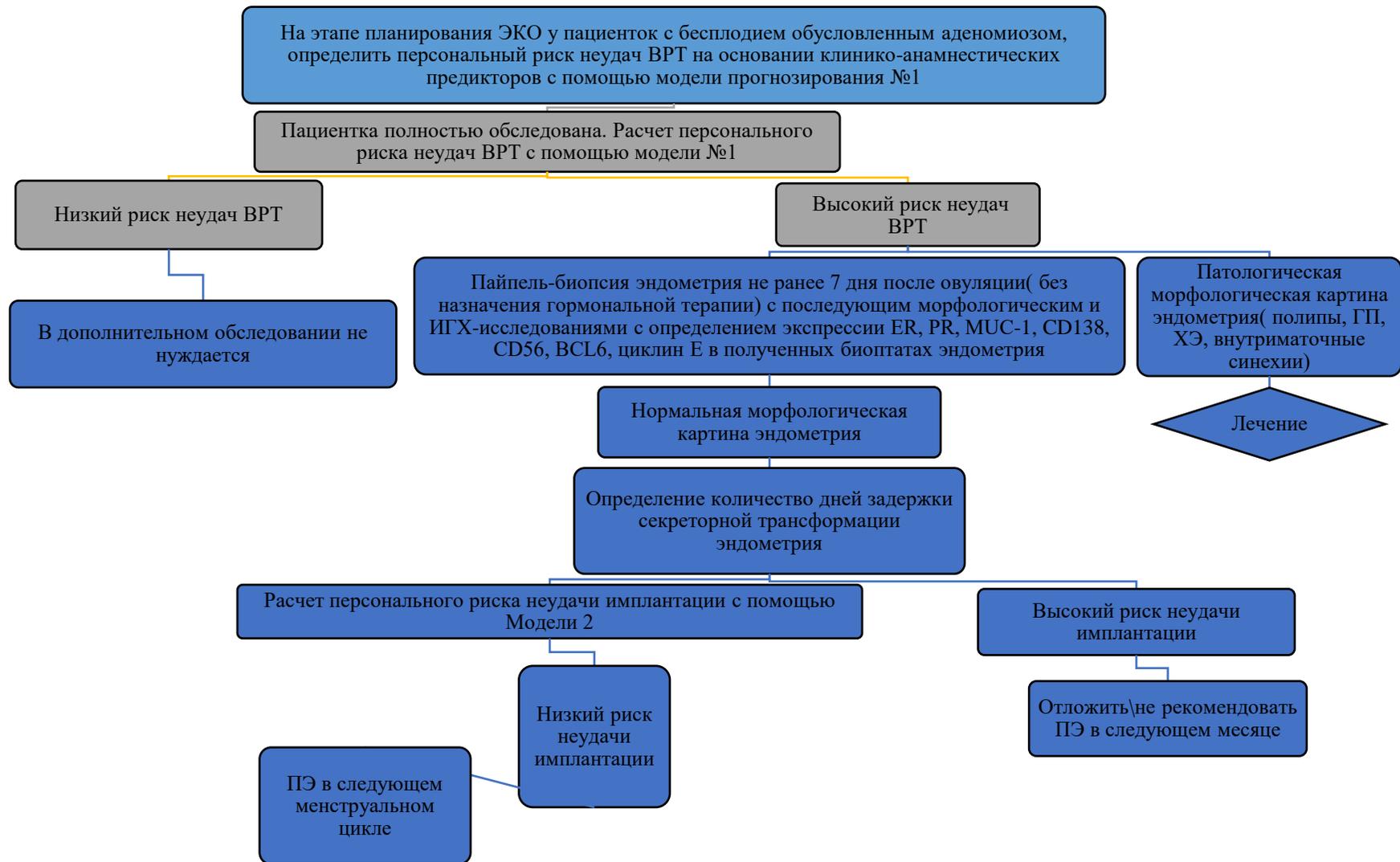


Рисунок 28 – Алгоритм ведения пациенток с бесплодием, обусловленным аденомиозом и неудачными попытками переноса эмбрионов в анамнезе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

XXI век – век персонифицированного подхода ведения пациенток. Каждая женщина имеет право на решение проблем, связанных с бесплодием. Тенденции современного мира, позволяют нам глубоко изучить задачи, которые беспокоят каждого врача акушера-гинеколога. Так согласно нашему исследованию, персонифицированные модели позволят улучшить репродуктивные результаты ВРТ у женщин с неудачами имплантации при аденомиоз-ассоциированном бесплодии.

Проведенное исследование позволяет сделать следующие **выводы**:

1. Клинико-anamнестическими факторами риска неудач имплантации при бесплодии, ассоциированном с аденомиозом, являются: внутриматочные оперативные вмешательства (ОШ=10,79; 95% ДИ: 2,99 – 38,86); гиперплазия эндометрия без атипии (ОШ=6,19; 95% ДИ: 2,42 – 15,86); аномальные маточные кровотечения (ОШ=4,53; 95% ДИ: 1,79 – 11,49); дисменорея (ОШ=4,13; 95% ДИ: 1,19 – 11,59); хронический эндометрит (ОШ=3,04; 95% ДИ: 1,31 – 7,07) и внутриматочные синехии (ОШ=2,82; 95% ДИ: 1,12 – 7,08).

2. Достоверными отличиями когорты пациенток с аденомиозом и бесплодием, в сравнении с фертильными женщинами, следует считать более низкую экспрессию прогестероновых рецепторов, как в строме [соответственно 270,0 усл.ед. (Q1–Q3: 260 – 280) против 282,0 (Q1–Q3: 249 – 290), в контроле - 285,0 (Q1–Q3: 262 – 290), $p_{1-2} = 0,018$, $p_{1-3} = 0,025$], так и в железах эндометрия [соответственно 250,0 усл.ед. (Q1–Q3: 120 – 280) против 280,0 (Q1–Q3: 260 – 280); в контроле - 280,0 (Q1–Q3: 261 – 280), $p_{1-2} = 0,039$, $p_{1-3} = 0,030$], а также снижение числа пиноподий [соответственно 30,0% (Q1–Q3: 27 – 32) против 54,0% (Q1–Q3: 16 – 60), в контроле - 58,0% (Q1–Q3: 25 – 70), $p_{1-2} = 0,014$, $p_{1-3} = 0,009$] и экспрессии MUC1 [соответственно 32,0% (Q1–Q3: 11 – 12) против 52,0% (Q1–Q3: 16 – 70), в контроле - 58,0% (Q1–Q3: 25–69) $p_{1-2} = 0,001$, $p_{1-3} < 0,001$] на фоне асинхронной секреторной трансформации эндометрия.

3. Пациенток с неудачами имплантации при бесплодии, ассоциированном с аденомиозом, отличает значимо более высокая, по сравнению с фертильными женщинами, экспрессия белков Cyclin E и BCL6 в эндометрии в период «имплантационного окна». Для Cyclin E она составляет: в цитоплазме стромы, соответственно 180,0 усл.ед. (Q1–Q3: 170,0 – 180,0) против 138,0 (Q1–Q3: 80,0 – 120,0) у фертильных с аденомиозом [в контроле - 80,0 (Q1–Q3: 60,0 – 110,0), $p_{1-2}=0,037$, $p_{1-3}=0,003$]; в ядре стромы, соответственно 100,0 усл.ед. (Q1–Q3: 80,0 – 160,0) против 80,0 (Q1–Q3: 60,0 – 135,0) [в контроле - 60,0 (Q1–Q3: 60,0 – 80,0), $p_{1-2}=0,008$, $p_{1-3}=0,006$]. Экспрессия белка BCL6 в среднем достигает соответственно $1,048 \pm 0,749$ (95% ДИ: 0,75 – 1,34) против $0,563 \pm 0,652$ (95% ДИ: 0,32 – 0,80) у фертильных с аденомиозом [в контроле - $0,640 \pm 0,631$ (95% ДИ: 0,40 – 0,87), $p_{1-2}=0,022$, $p_{1-3}=0,019$]. Это свидетельствует о персистенции пролиферативных и апоптотических нарушений в эндометрии в период предполагаемого «окна имплантации».

4. Клинико-anamнестическими предикторами риска неудач имплантации у пациенток с бесплодием, ассоциированным с аденомиозом, следует считать: морфологически верифицированный хронический эндометрит (ОШ=44,15; 95% ДИ: 4,21 – 462,66); внутриматочные оперативные вмешательства (ОШ=16,01; 95% ДИ: 1,04 – 246,16); гиперплазию эндометрия без атипии (ОШ=7,16; ДИ: 1,23 – 41,47) и дисменорею (ОШ=6,06; 95% ДИ 1,07 – 34,48). Иммуногистохимическими предикторами риска неудач имплантации у пациенток с бесплодием, ассоциированным с аденомиозом, являются: выраженная экспрессия в ядре стромы белков Cyclin-E (ОШ=0,97; 95% ДИ: 0,96 – 0,99) и BCL6 (ОШ=2,98; 95% ДИ: 1,20 – 7,42), а также снижение числа пиноподий (ОШ=0,95; 95% ДИ: 0,92 – 0,98) по сравнению с этими показателями у пациенток с реализованной репродуктивной функцией.

5. Математические модели, основанные на оценке клинико-anamнестических и иммуногистохимических предикторов, позволяют с высокой точностью прогнозировать риск неудач имплантации в программах вспомогательных репродуктив-

ных технологий при бесплодии, ассоциированном с аденомиозом (Модель 1: чувствительность - 77,8%, специфичность - 90,0%; Модель 2: чувствительность - 88,9%, специфичность - 80,0%).

Полученные результаты позволили сформировать **практические рекомендации:**

1. Современная тактика ведения пациенток с бесплодием, ассоциированным с аденомиозом, и неудачами имплантации в анамнезе, должна быть персонифицирована на основании их пошаговой стратификации в отношении риска неудач имплантации.

2. Разработанные математические Модели 1 и 2 необходимо использовать для выделения контингента риска повторных неудач имплантации в когорте пациенток с аденомиоз-ассоциированным бесплодием (прогнозирование на основе персональных клиничко-анамнестических и иммуногистохимических параметров).

3. Для уточнения степени риска неудач имплантации пациенткам с бесплодием, ассоциированным с аденомиозом, и неудачами имплантации в анамнезе в период «имплантационного окна» целесообразно выполнять пайпель-биопсию эндометрия с целью оценки экспрессии ИГХ-маркеров, имеющих прогностическую ценность (MUC1, рецепторы к прогестерону и эстрогенов, белков Cyclin E и BCL6), а также оценивать количество пиноподий.

Перспективы дальнейшей разработки темы

В ходе нашей работы затронуты не все аспекты изучаемой проблемы. Для решения многих задач требуется дальнейшее изучение данной проблемы: а именно расширение представления о патогенезе бесплодия, обусловленного аденомиозом, с увеличением иммуногистохимической панели и проведения молекулярно-генетического исследования, которые позволили бы точно определить структурно-функциональные изменения эндометрия, а выявить новые предикторы ранней диагностики бесплодия, обусловленной аденомиозом.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- аГнРГ – агонисты гонадотропин-рилизинг гормона
- АМК – аномальные маточные кровотечения
- ВАШ – визуально-аналоговая шкала
- ВМС – внутриматочная система
- ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии
- ГнРГ – гонадотропин-рилизинг-гормон
- ДИ – доверительный интервал
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- ИГХ – иммуногистохимическое исследование
- ИКСИ – интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида
- ИМТ – индекс массы тела
- ИППП – инфекции, передаваемые половым путем
- КОК – комбинированные оральные контрацептивы
- ЛНГ-ВМС – внутриматочная система, высвобождающая левоноргестрел
- МКБ-10 – Международная классификация болезней 10-го пересмотра
- МРТ – магнитно-резонансная томография
- МЦ – менструальный цикл
- НПВП – нестероидные противовоспалительные препараты
- ОР – отношение рисков
- ОШ – отношение шансов
- ПНИ – повторные неудачи имплантации
- ПЭ – перенос эмбрионов
- РАРЧ – Российская ассоциация репродукции человека
- ТВ-УЗИ – трансвагинальное ультразвуковое исследование
- УЗИ – ультразвуковое исследование
- ФНО – фактор некроза опухоли
- ХГЧ – хорионический гонадотропин человека
- ХЭ – хронический эндометрит
- ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение

ЭМА – эмболизация маточных артерий

BCL-2 – apoptosis regulator BCL-2, регулятор апоптоза

BCL6 – B-cell lymphoma 6, белок 6 В-клеточной лимфомы

CD – cluster of differentiation, кластер дифференцировки

CD56 – кластер дифференцировки 56 (маркер естественных маточных киллеров)

CD68 – кластер дифференцировки 68, макросиалин (маркер макрофагов)

CD138 – кластер дифференцировки 138, синдекан 1 (маркер плазмоцитов)

CDKs – cyclin-dependent kinases, циклин-зависимые киназы

ER – estrogen receptors, рецепторы к эстрогену

ERA – endometrial receptivity analysis, анализ рецептивности эндометрия

ESHRE – European society of human reproduction and embryology, Европейское общество репродукции человека и эмбриологии

GCs – germinal centres, зародышевые (герминативные) центры

hCG-LH – human chorionic gonadotropin/ luteinising hormone, рецептор лютеинизирующего гормона/хорионического гонадотропина

hDP 200 – human decidua-associated protein 200, человеческий децидуа-ассоциированный белок 200

HOX – гомеобоксные гены (НОХ-гены)

ICMART – International committee monitoring assisted reproductive technologies, Международный комитет по мониторингу вспомогательных репродуктивных технологий

Ig – иммуноглобулин

IL – interleukin, интерлейкин

JZ – junctional zone, переходная зона

LIF – leukemia inhibitory factor, лейкемия-ингибирующий фактор

MMP – matrix metalloproteinase, матриксные металлопротеиназы

MUC1 – mucin-1, муцин-1

NK – natural killer cells, натуральные или естественные киллеры

PR – progesteron receptors, рецепторы к прогестерону

STAT3 – signal transducer and activator of transcription 3, преобразователь сигнала и активатор ингибирования транскрипции 3

SIRT1 – sirtuin-1, сиртуин-1

TIAR – tissue injury and repair, механизм повреждения и восстановления тканей

uNK – uterine natural killer, маточные естественные/натуральные киллеры

VEGF – vascular endothelial growth factor, фактор роста эндотелия сосудов

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Айламазян, Э. К. Маркеры имплантационной восприимчивости эндометрия: роль и значение в циклах экстракорпорального оплодотворения / Э. К. Айламазян, М. А. Пальцев, Ю. С. Крылова [и др.] // Молекулярная медицина. — 2014. — № 3. — С. 3–8.
2. Аксененко, А. А. Подготовительное лечение перед экстракорпоральным оплодотворением и его эффективность при диффузном аденомиозе / А. А. Аксененко, А. И. Гус, Н. Г. Мишиева, Д. Н. Сенина // Акушерство и гинекология. — 2021. — № 7. — С. 112–113.
3. Аксененко, А. А. Эффективность лечения бесплодия методом ЭКО при внутреннем эндометриозе (аденомиозе) / А. А. Аксененко, М. Х. Ибрагимова, А. А. Гависова, Н. Г. Мишиева // Акушерство и гинекология. — 2021. — № 1. — С. 120–125.
4. Аксененко, А. А. Аденомиоз и бесплодие / А. А. Аксененко, А. И. Гус, Н. Г. Мишиева // Акушерство и гинекология. — 2021. — № 4. — С. 41–47.
5. Афян, А. И. Тонкий эндометрий в клинике вспомогательных репродуктивных технологий (обзор литературы) / А. И. Афян, Н. В. Долгушина // Гинекология. — 2014. — Т. 16, № 5. — С. 78–83.
6. Башмакова, Н. В. Патогенетические аспекты нарушения имплантации человеческого эмбриона в программах ВРТ / Н. В. Башмакова, О. А. Мелкозерова, А. Ю. Храмова, А. А. Гришкина // Лечение и профилактика. — 2022. — Т. 12, № 2. — С. 92–98.
7. Беженарь, В. Ф. Аденомиоз и фертильность: современный взгляд на проблему (обзор литературы) / В. Ф. Беженарь, В. А. Линде, Б. В. Аракелян [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. — 2022. — № 1. — С. 109–118.
8. Вартамян, Э. В. Консервативная терапия эндометриоза при подготовке к лечению бесплодия методом экстракорпорального оплодотворения / Э. В. Вартамян, К. А. Цатурова, Н. Л. Петухова [и др.] // Доктор. Ру. — 2015. — № 1 (102). — С. 21–25.
9. Вспомогательные репродуктивные технологии и искусственная инсеминация. Клинические рекомендации (протокол лечения). — М., 2019.

10. Габидуллина, Р. И. Аденомиоз: клинические аспекты, влияние на фертильность и исходы беременности / Р. И. Габидуллина, А. И. Купцова, Е. А. Кошельникова [и др.] // Гинекология. — 2020. — Т. 22, № 4. — С. 55–61.

11. Гончарук, Д. А. Прошлое, настоящее и будущее магнитно-резонансной томографии рака предстательной железы / Д. А. Гончарук, Е. И. Велиев, А. И. Михайлов // Онкоурология. — 2021. — № 1. — С. 142–152.

12. Горпенко, А. А. Усовершенствование методов хирургического лечения диффузно-узловой формы аденомиоза (обзор литературы) / А. А. Горпенко, В. Д. Чупрынин, Н. А. Буралкин, А. С. Сафронова // Медицинский совет. — 2019. — № 21. — С. 240–245.

13. Гохберг, Я. А. Молекулярные маркеры рецептивности эндометрия в программах вспомогательных репродуктивных технологий / Я. А. Гохберг, А. В. Тимофеева, Е. А. Калинина // Акушерство и гинекология. — 2021. — Т. 11. — С. 56–62.

14. Гришкина, А. А. Морфологические изменения и особенности экспрессии факторов апоптоза в эндометрии женщин с бесплодием, обусловленным эндометриозом / А. А. Гришкина, Г. Н. Чистякова, И. И. Ремизова [и др.] // Современные проблемы науки и образования. — 2019. — № 5. — С. 115–115.

15. Гусейнова, З. С. К. Аденомиоз и нарушения репродуктивной функции / З. С. К. Гусейнова // International scientific review. — 2019. — № LVI. — С. 84–87.

16. Демидов, В. Н. Эхография органов малого таза. Эндометриоз : практическое пособие / В. Н. Демидов, А. И. Гус, Л. В. Адамян, А. К. Хачатрян. — М. : Форза, 2010. — 64 с.

17. Джамалутдинова, К. М. Клинико-морфологические особенности узлового и диффузного аденомиоза / К. М. Джамалутдинова, И. Ф. Козаченко, А. И. Щеголев [и др.] // Акушерство и гинекология. — 2017. — № 9. — С. 86–94.

18. Женское бесплодие. Клинические рекомендации. — М., 2021. — 81 с.

19. Землянова, Е. В. Потери потенциальных рождений в России из-за проблем, связанных со здоровьем / Е. В. Землянова // Социальные аспекты здоровья населения. — 2016. — Т. 48, № 2. — С. 4–15.

20. Калинкина, О. Б. Клинический случай успешного лечения бесплодия у пациентки с неудачными результатами ЭКО в анамнезе / О. Б. Калинкина, Ю. В. Тезиков, И. С. Липатов, О. Р. Аравина // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». — 2020. — Т. 22, № 12. — С. 61–67.

21. Кибанов, М. В. Поиск идеального маркера для оценки рецептивности эндометрия: от гистологии до современных молекулярно-генетических подходов / М. В. Кибанов, Г. М. Махмудова, Я. А. Гохберг // Альманах клинической медицины. — 2019. — Т. 47, № 1. — С. 12–25.

22. Клинышкова, Т. В. Оценка результатов комплексного обследования пациенток с аденомиозом / Т. В. Клинышкова, Н. Б. Фролова, Е. А. Церцанова [и др.] // Российский вестник акушера-гинеколога. — 2019. — Т. 19, № 1. — С. 70–75.

23. Коваль, А. А. Аденомиоз и бесплодие / А. А. Коваль, А. А. Попов, А. А. Федоров [и др.] // Российский вестник акушера-гинеколога. — 2021. — Т. 21, № 4. — С. 35–41.

24. Козаченко, И. Ф. Аденомиоз, миома матки и внутриматочная перегородка: результаты программы ЭКО в зависимости от рецептивности эндометрия / И. Ф. Козаченко, Н. М. Файзуллина, В. Ю. Смольникова, Л. В. Адамян // Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения. — 2021. — Т. 9, № 1 (31). — С. 6–14.

25. Козаченко, И. Ф. Рецептивность эндометрия у больных доброкачественными заболеваниями матки в сочетании с бесплодием до и после оперативного лечения / И. Ф. Козаченко, Н. М. Файзуллина, А. И. Щеголев, Л. В. Адамян // Акушерство и гинекология. — 2020. — № 11. — С. 147–158.

26. Козаченко, И. Ф. Роль малоинвазивных внутриматочных вмешательств в повышении результативности программ ЭКО / И. Ф. Козаченко, А. С. Аракелян, В. Ю. Смольникова, Л. В. Адамян // Акушерство и гинекология. — 2020. — № 9. — С. 97–104.

27. Корсак, В. С. Регистр ВРТ Российской Ассоциации репродукции человека. Отчет за 2017 год / В. С. Корсак, А. А. Смирнова, О. В. Шурыгина // Проблемы репродукции. — 2019. — Т. 25, № 6. — С. 8–21.

28. Корсак, В. С. Регистр ВРТ Общероссийской общественной организации «Российская Ассоциация Репродукции Человека». Отчет за 2020 год / В. С. Корсак, А. А. Смирнова, О. В. Шурыгина // Проблемы репродукции. — 2022. — Т. 28, № 6. — С. 12–27.

29. Кривонос, М. И. Патогенетически обоснованная профилактика неблагоприятных исходов экстракорпорального оплодотворения у женщин с наличием антифосфолипидных антител : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.01 / Кривонос Марина Ивановна. — Санкт-Петербург, 2020. — 172 с.

30. Кузьмина, А. В. Характеристика протеомного уровня рецептивности эндометрия у женщин с нарушениями репродуктивной функции : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.01 / Кузьмина Анастасия Владиславовна. — Санкт-Петербург, 2020. — 145 с.

31. Линде, В. А. Современные представления об аденомиозе / В. А. Линде, М. В. Резник, В. А. Тарасенкова, Э. Э. Садыхова // Вестник Ивановской медицинской академии. — 2018. — Т. 23, № 3. — С. 36–39.

32. Мелкозерова, О. А. Ультроструктурная характеристика покровного эпителия эндометрия в период «окна имплантации» у здоровых женщин и пациенток с репродуктивными неудачами / О. А. Мелкозерова, Г. Н. Чистякова, Е. Е. Брагина [и др.] // Морфология. — 2020. — Т. 157, № 1. — С. 48–54.

33. Михалёва, Л. М. Патогенез имплантационной несостоятельности эндометрия при эндометриоз-ассоциированном бесплодии / Л. М. Михалёва, М. Р. Оразов, С. В. Волкова [и др.] // Доктор.Ру. — 2021. — Т. 20, № 6. — С. 56–61.

34. Оразов, М. Р. Аденомиоз как причина бесплодия: реальная или мнимая связь? / М. Р. Оразов, Л. М. Михалёва, М. Б. Хамошина [и др.] // Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения. — 2023. — Т. 11, № 5. — С. 132–138.

35. Оразов, М. Р. Молекулярногенетические особенности состояния эндометрия при эндометриозассоциированном бесплодии / М. Р. Оразов, М. Б. Хамошина, Л. М. Михалёва [и др.] // Трудный пациент. — 2020. — Т. 18, № 1–2. — С. 23–32.

36. Оразов, М. Р. Тайны патогенеза повторных неудач имплантации / М. Р. Оразов, Р. Е. Орехов, Д. П. Камилова [и др.] // Трудный пациент. — 2020. — Т. 18, № 4. — С. 43–48.

37. Оразов, М. Р. Хронический эндометрит у женщин с эндометриоз-ассоциированным бесплодием / М. Р. Оразов, В. Е. Радзинский, С. В. Волкова [и др.] // Гинекология. — 2020. — Т. 22, № 3. — С. 15–20.

38. Оразов, М. Р. Эндометриоз-ассоциированное бесплодие: патогенез и возможности гормональной терапии в подготовке к ЭКО / М. Р. Оразов, В. Е. Радзинский, Р. Е. Орехов, М. Б. Таирова // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. — 2022. — Т. 21, № 2. — С. 90–99.

39. Оразов, М. Р. Эффективность профилактики рецидивов после хирургического лечения эндометриоза яичников / М. Р. Оразов, В. Е. Радзинский, Р. Е. Орехов, М. Б. Таирова // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. — 2022. — Т. 21, № 3. — С. 53–62.

40. Оразов, М. Р. Тазовая боль и аденомиоз-опасный тандем / М. Р. Оразов, Л. Р. Токтар, П. А. Семёнов // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. — 2020. — Т. 19, № 3. — С. 110–116.

41. Оразов, М. Р. «Проблемный» эндометрий как фактор бесплодия: поиск путей преодоления продолжается / М. Р. Оразов, К. В. Краснопольская, Е. С. Силантьева [и др.] // Трудный пациент. — 2020. — Т. 18, № 8–9. — С. 13–19.

42. Оразов, М. Р. Патент № RU2746643C1 Российская Федерация. Способ повышения рецептивности эндометрия у пациенток с маточной формой бесплодия, обусловленной эндометриальной дисфункцией, при подготовке к проведению процедуры экстракорпорального оплодотворения (эко) по криопротоколу : № 2021101216 : заявл. 20.01.2021 : опубл. 18.04.2021 / Оразов М. Р., Краснопольская К. В., Силантьева Е. С. [и др.].

43. Оразов, М. Р. Повторные неудачи имплантации: этиология и возможности физиотерапии / М. Р. Оразов, Е. С. Силантьева, Р. Е. Орехов [и др.] // Трудный пациент. — 2020. — Т. 18, № 8–9. — С. 20–24.

44. Орехова, Е. К. Роль биометрических показателей соединительной зоны матки в реализации репродуктивной функции у пациенток с аденомиозом / Е. К. Орехова, О. А. Жандарова, И. Ю. Коган // Журнал акушерства и женских болезней. — 2021. — Т. 70, № 3. — С. 41–50.

45. Поморцев, А. В. Спорные вопросы лучевой диагностики аденомиоза при репродуктивных потерях / А. В. Поморцев, Ю. В. Грушевская, Т. Б. Макухина // Кубанский научный медицинский вестник. — 2019. — Т. 26, № 2. — С. 173–190.

46. Попов, А. А. Внутриматочные синехии: век спустя / А. А. Попов, Т. Н. Мананникова, А. С. Алиева [и др.] // РМЖ. — 2017, № 12. — С. 895–899.

47. Радецкая, Л. Е., Лысенко О. В, Бресский А. Г., Мацуганова Т. Н. Женское бесплодие: диагностика проблемы и пути преодоления / Л. Е. Радецкая, О. В. Лысенко, А. Г. Бресский, Т. Н. Мацуганова // Охрана материнства и детства. — 2019. — № 1. — С. 42–47.

48. Радзинский, В. Е. Рецептивность эндометрия пациенток с повторными неудачами имплантации / В. Е. Радзинский, Л. М. Михалёва, М. Р. Оразов [и др.] // Доктор. Ру. — 2022. — Т. 21, № 1. — С. 27–33.

49. Радзинский, В. Е. Бесплодный брак: версии и контраверсии / В. Е. Радзинский ; под ред. В. Е. Радзинского. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2020. — 432 с.

50. Радынова, С. Б. Характеристика основных причинных факторов развития бесплодия / С. Б. Радынова, М. С. Лодырева, А. Г. Кеняйкина, К. А. Горбунова // Colloquium-journal. — 2019. — № 10–34. — С. 70–72.

51. Рудякова, В. С. Аденомиоз как причина бесплодия / В. С. Рудякова, Н. В. Ермолова, Ю. А. Петров // Главный врач Юга России. — 2021. — № 5. — С. 73–76.

52. Сабирова В. Л., Илизарова Н. А. Схема подготовки пациенток с повторными неудачами программ ЭКО на фоне хронического эндометрита к переносу эмбрионов // Медицина. Социология. Философия. Прикладные исследования. — 2021. — № 1. — С. 22–28.

53. Савельева, Г. М. Гистероскопия / Г. М. Савельева, В. Г. Бреусенко, Л. М. Каппушева // Атлас и руководство. — 2-е изд., доп. и перераб. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2018. — 248 с.

54. Сафина, К. Р. Синдром системных аутоиммунных потерь / К. Р. Сафина, Г. Х. Газизова // Медицинский вестник Башкортостана. — 2020. — Т. 15, № 5 (89). — С. 102–106.

55. Тлиашинова, И. А. Глобальные социальные вызовы в проблемах бесплодия / И. А. Тлиашинова, Р. Н. Мингазов // Менеджер здравоохранения. — 2022. — № 3. — С. 49–59.

56. Усольцева, Е. О. Структурно-эндометрия у женщин с повторными неудачами в программах ЭКО, возможные подходы к восстановительной терапии (клинико-экспериментальное исследование) : канд. мед. наук : 14.01.01 / Усольцева Елена Олеговна/ — Санкт-Петербург, 2017. — 171 с.

57. Шалина, М. А. Современные возможности диагностики аденомиоза / М. А. Шалина, М. И. Ярмолинская, Е. И. Абашова // Журнал акушерства и женских болезней. — 2020. — Т. 69, № 1. — С. 73–80.

58. Шаповал, И. Н. Здравоохранение в России : статистический сборник / И. Н. Шаповал, С. Ю. Никитина. – М. : Росстат, 2019. — 170 с/.

59. Шкляр, А. А. Трудности диагностики узловой и диффузной форм аденомиоза / А. А. Шкляр, Л. В. Адамян, Е. А. Коган [и др.] // Акушерство и гинекология. — 2015. — № 3. — С. 67–72.

60. Шмидт, А. А. Эпидемиология бесплодия в России и за рубежом Шмидт А. А., Замятин С. А., Гончар И. С. [и др.] // Клиническая патофизиология. — 2019. — Т. 25, № 1. — С. 9–12.

61. Ярмолинская, М. И. Генитальный эндометриоз / М. И. Ярмолинская, Э. К. Айламазян // Различные грани проблемы. — СПб. : Эко-Вектор, 2017. — 615 с.

62. Alam, V. A prospective study of echographic endometrial characteristics and pregnancy rates during hormonal replacement cycles / V. Alam, L. Bernardini, J. Gonzales [et al.] // J. Assist. Reprod. Genet. — 1993. — Vol. 10, № 3. — P. 215–219.

63. Alfer, J. Endometrial Dating Method Detects Individual Maturation Sequences During the Secretory Phase / J. Alfer, A. Fattahi, N. Bleisinger [et al.] // In Vivo. — 2020. — Vol. 34, № 4. — P. 1951–1963.

64. Almquist L. D. Endometrial BCL6 testing for the prediction of in vitro fertilization outcomes: a cohort study / L. D. Almquist, C. E. Likes, B. Stone [et al.] // *Fertil. Steril.* — 2017. — Vol. 108, № 6. — P. 1063–1069.

65. Andres, M. P. Transvaginal ultrasound for the diagnosis of adenomyosis: systematic review and meta-analysis / M. P. Andres, G. M. Borrelli, J. Ribeiro [et al.] // *J. Minim. Invasive. Gynecol.* — 2018. — Vol. 25, № 2. — P. 257–264.

66. Atabekoğlu, C. S. The association between adenomyosis and recurrent miscarriage / C. S. Atabekoğlu, Y. E. Şükür, E. B. Kalafat [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* — 2020. — Vol. 250. — P. 107–111.

67. Bakhtiyar, K. An investigation of the effects of infertility on Women's quality of life: a case-control study / K. Bakhtiyar, R. Beiranvand, A. Ardalan [et al.] // *BMC Womens Health.* — 2019. — Vol. 19, № 1. — P. 114.

68. Bazot, M. Role of transvaginal sonography and magnetic resonance imaging in the diagnosis of uterine adenomyosis / M. Bazot, E. Daraï // *Fertil. Steril.* — 2018. — Vol. 109, № 3. — P. 389–397.

69. Bird, C. C. The elusive adenomyosis of the uterus — revisited / C. C. Bird, T. W. McElin, P. Manalo-Estrella // *Am. J. Obstet. Gynecol.* — 1972. — Vol. 112, № 5. — P. 583–593.

70. Birnholz, J. C. Ultrasonic visualization of endometrial movements / J. C. Birnholz // *Fertil. Steril.* — 1984. — Vol. 41, № 8. — P. 157–158.

71. Bosteels, J. Hysteroscopy for treating subfertility associated with suspected major uterine cavity abnormalities / J. Bosteels, S. van Wessel, S. Weyers [et al.] // *Cochrane. Database. Syst. Rev.* — 2018. — Vol. 2018, № 12. — P. CD009461.

72. Budani, M. C. Cigarette smoking impairs clinical outcomes of assisted reproductive technologies: A meta-analysis of the literature / M. C. Budani, S. Fensore, M. Di Marzio, G. M. Tiboni // *Reprod. Toxicol.* — 2018. — Vol. 80. — P. 49–59.

73. Bulun, S. E. Adenomyosis pathogenesis: insights from next-generation sequencing / S. E. Bulun, S. Yildiz, M. Adli, J. J. Wei // *Hum. Reprod. Update.* — 2021. — Vol. 27, № 6. — P. 1086–1097.

74. Campo, S. Adenomyosis and infertility / S. Campo, V. Campo, G. Benagiano // *Reprod. Biomed. Online*. — 2012. — Vol. 24, № 1. — P. 35–46.

75. Chambers, G. M. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies world report: assisted reproductive technology, 2014 / G. M. Chambers, S. Dyer, F. Zegers-Hochschild [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2021. — Vol. 36, № 11. — P. 2921–2934.

76. Chang, C. Y. Y. MUC2 polymorphisms are associated with endometriosis development and infertility: a case-control study / C. Y. Y. Chang, Y. Chen, W. C. Lin [et al.] // *BMC Med. Genet.* — 2012. — Vol. 13. — P. 15.

77. Choi, J. Bcl6-mediated transcriptional regulation of follicular helper T cells (TFH) / J. Choi, S. Crotty // *Trends in immunology*. — 2021. — Vol. 42, № 4. — P. 336–349.

78. Chu, C. Cyclin E in normal physiology and disease states / C. Chu, Y. Geng, Y. Zhou, P. Sicinski // *Trends Cell Biol.* — 2021. — Vol. 31, № 9. — P. 732–746.

79. Cicinelli, E. International Working Group for Standardization of Chronic Endometritis Diagnosis. MUM-1 immunohistochemistry has high accuracy and reliability in the diagnosis of chronic endometritis: a multi-centre comparative study with CD-138 immunostaining / E. Cicinelli, S. Haimovich, D. De Ziegler [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* — 2022. — Vol. 39, № 1. — P. 219–226.

80. Clinical guidelines for the treatment of endometriosis / Ministry of Health of the Russian Federation. – M., 2020.

81. Cozzolino, M. The effect of uterine adenomyosis on IVF outcomes: a systematic review and meta-analysis / M. Cozzolino, S. Tartaglia, L. Pellegrini [et al.] // *Reprod. Sci.* — 2022. — Vol. 29, № 11. — P. 3177–3193.

82. Craciunas, L. Conventional and modern markers of endometrial receptivity: a systematic review and meta-analysis / L. Craciunas, I. Gallos, J. Chu [et al.] // *Hum. Reprod. Update*. — 2019. — Vol. 25, № 2. — P. 202–223.

83. Critchley, H. O. D. Physiology of the endometrium and regulation of menstruation / H. O. D. Critchley, J. A. Maybin, G. M. Armstrong, A. R. W. Williams // *Physiol. Rev.* — 2020. — Vol. 100, № 3. — P. 1149–1179.

84. Dain, L. Thin endometrium in donor oocyte recipients: enigma or obstacle for implantation? / L. Dain, D. Bider, J. Levron [et al.] // *Fertil. Steril.* — 2013. — Vol. 100, № 5. — P. 1289.e2–1295.e2.

85. Dong, X. MicroRNA-223-3p suppresses leukemia inhibitory factor expression and pinopodes formation during embryo implantation in mice / X. Dong, C. Sui, K. Huang [et al.] // *Am. J. Trans. Res.* — 2016. — Vol. 8, № 2. — P. 1155–1163.

86. Du, H. The role of Hox genes in female reproductive tract development, adult function, and fertility / H. Du, H. S. Taylor // *Cold. Spring. Harb. Perspect. Med.* — 2015. — Vol. 6, № 1. — P. a023002.

87. Dubowy, R. L. Improved endometrial assessment using cyclin E and p27 / R. L. Dubowy, R. F. Feinberg, D. L. Keefe [et al.] // *Fertil. Steril.* — 2003. — Vol. 80, № 1. — P. 146–156.

88. Ekemen, S. Endometrial staining of CD56 (Uterine Natural Killer), BCL-6, and CD138 (Plasma Cells) improve diagnosis and clinical pregnancy outcomes in unexplained infertility and recurrent IVF failures: Standardization of diagnosis with digital pathology / S. Ekemen, C. Comunoglu, C. K. Kayhan [et al.] // *Diagnostics.* — 2023. — Vol. 13, № 9. — P. 1557.

89. Espinós, J. J. Impact of chronic endometritis in infertility: a SWOT analysis / J. J. Espinós, F. Fabregues, J. Fontes [et al.] // *Reproductive BioMedicine Online.* — 2021. — Vol. 42, № 5. — P. 939–951.

90. Evans-Hoeker, E. Endometrial BCL6 overexpression in eutopic endometrium of women with endometriosis / E. Evans-Hoeker, B. A. Lessey, J. W. Jeong [et al.] // *Reprod. Sci.* — 2016. — Vol. 23, № 9. — P. 1234–1241.

91. Fatemi, H. M. In vitro fertilization pregnancy in a patient with proven chronic endometritis / H. M. Fatemi, B. Popovic-Todorovic, L. Ameryckx [et al.] // *Fertil. Steril.* — 2009. — Vol. 91, № 4. — P. 1293.e9–1293.e11.

92. Fenner, A. Identifying undifferentiated spermatogonia in patients with Klinefelter syndrome / A. Fenner // *Nature Reviews Urology.* — 2022. — Vol. 19, № 11. — P. 634–634.

93. Garcia, E. Use of immunocytochemistry of progesterone and estrogen receptors for endometrial dating / E. Garcia, P. Bouchard, J. De Brux [et al.] // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. — 1988. — Vol. 67, № 1. — P. 80–87.

94. Gellersen, B. Cyclic decidualization of the human endometrium in reproductive health and failure / B. Gellersen, J. J. Brosens // *Endocrine reviews*. — 2014. — Vol. 35, № 6. — P. 851–905.

95. Gibson, D. A. Estrogen-dependent regulation of human uterine natural killer cells promotes vascular remodelling via secretion of CCL2 / D. A. Gibson, E. Greaves, H. O. D. Critchley, P. T. K. Saunders // *Hum. Reprod.* — 2015. — Vol. 30, № 6. — P. 1290–1301.

96. Giulini, S. Chronic endometritis in recurrent implantation failure: Use of prednisone and IVF outcome / S. Giulini, V. Grisendi, G. Sighinolfi [et al.] // *J. Reprod. Immunol.* — 2022. — Vol. 153. — P. 103673.

97. Gonen, Y. Endometrial thickness and growth during ovarian stimulation: a possible predictor of implantation in in vitro fertilization / Y. Gonen, R. F. Casper, W. Jacobson, J. Blankier // *Fertil. Steril.* — 1989. — Vol. 52, № 3. — P. 446–450.

98. Gordts, S. Uterine adenomyosis: a need for uniform terminology and consensus classification / S. Gordts, J. J. Brosens, L. Fusi [et al.] // *Reprod. Biomed. Online*. — 2008. — Vol. 17, № 2. — P. 244–248.

99. Haas, D. Comparison of revised American Fertility Society and ENZIAN staging: a critical evaluation of classifications of endometriosis on the basis of our patient population / D. Haas, R. Chvatal, A. Habelsberger // *Fertil. Steril.* 2011. — Vol. 95, № 5. — P. 1574–1578.

100. Hashimoto, A. Adenomyosis and adverse perinatal outcomes: increased risk of second trimester miscarriage, preeclampsia, and placental malposition / A. Hashimoto, T. Iriyama, S. Sayama [et al.] // *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* — 2018. — Vol. 31. — P. 364–369.

101. Hauth, E. A. M. MR imaging of the uterus and cervix in healthy women: determination of normal values / E. A. M. Hauth, H. J. Jaeger, H. Libera [et al.] // *Eur. Radiol.* — 2007. — Vol. 17, № 3. — P. 734–742.

102. Ifenatuoha, C. Zooming in on the endometrial factor of recurrent implantation failure / C. Ifenatuoha, B. Okewale // *Hum. Fertil. (Camb)*. — 2022. — Vol. 25, № 5. — P. 848–859.

103. Igarashi, S. Involvement of catalase in the endometrium of patients with endometriosis and adenomyosis / S. Igarashi, N. Sato, H. Tanaka, T. Tanaka // *Fertil. Steril.* — 2002. — Vol. 78, № 4. — P. 804–809.

104. Inhorn, M. C. Infertility around the globe: new thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century / M. C. Inhorn, P. Patrizio // *Hum. Reprod. Update*. — 2015. — Vol. 21, № 4. — P. 411–426.

105. Ishihara, H. Gonadotropin-releasing hormone agonist and danazol normalize aromatase cytochrome P450 expression in eutopic endometrium from women with endometriosis, adenomyosis, or leiomyomas / H. Ishihara, J. Kitawaki, N. Kado [et al.] // *Fertil. Steril.* — 2003. — Vol. 79, suppl. 1. — P. 735–742.

106. Karavani, G. Endometrial thickness following early miscarriage in IVF patients - is there a preferred management approach? / G. Karavani, H. Alexandroni, D. Sheinin [et al.] // *Reproductive Biology and Endocrinology*. — 2021. — Vol. 19, № 1. — P. 93.

107. Khan, K. N. Changes in tissue inflammation, angiogenesis and apoptosis in endometriosis, adenomyosis and uterine myoma after GnRH agonist therapy / K. N. Khan, M. Kitajima, K. Hiraki [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2010. — Vol. 25, № 3. — P. 642–653.

108. Khan, K. N. Intra-uterine microbial colonization and occurrence of endometritis in women with endometriosis / K. N. Khan, A. Fujishita, M. Kitajima [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2014. — Vol. 29, № 11. — P. 2446–2456.

109. Khan, K. N. Occurrence of chronic endometritis in different types of human adenomyosis / K. N. Khan, A. Fujishita, K. Ogawa [et al.] // *Reproductive Medicine and Biology*. — 2022. — Vol. 21, № 1. — P. e12421.

110. Khan, K. N. Pathogenesis of human adenomyosis: current understanding and its association with infertility / K. N. Khan, A. Fujishita, T. Mori // *Journal of Clinical Medicine*. — 2022. — Vol. 11, № 14. — P. 4057.

111. Kimura, F. Review: Chronic endometritis and its effect on reproduction / F. Kimura, A. Takebayashi, M. Ishida [et al.] // *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. — 2019. — Vol. 45, № 5. — P. 951–960.

112. Kitaya, K. Endometritis: new time, new concepts / K. Kitaya, T. Takeuchi, S. Mizuta [et al.] // *Fertil. Steril.* — 2018. — Vol. 110. — P. 344–350.

113. Kolanska, K. Proportion of cytotoxic peripheral blood natural killer cells and T-cell large granular lymphocytes in recurrent miscarriage and repeated implantation failure: case–control study and meta-analysis / K. Kolanska, L. Suner, J. Cohen [et al.] // *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. — 2019. — Vol. 67, № 4. — P. 225–236.

114. Kovacs, P. The effect of endometrial thickness on IVF/ICSI outcome / P. Kovacs, S. Matyas, K. Boda, S. Kaali // *Hum. Reprod.* — 2003. — Vol. 18, № 11. — P. 2337–2341.

115. Krylova, Y. S. Endometrial receptivity: the molecular mechanisms regulation of implantation / Y. S. Krylova, I. M. Kvetnoy, E. K. Aylamazyan // *Journal of obstetrics and women's diseases*. — 2013. — Vol. 62, № 2. — P. 63–74.

116. Kunz, G. Adenomyosis in endometriosis — prevalence and impact on fertility. Evidence from magnetic resonance imaging / G. Kunz, D. Beil, P. Huppert [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2005. — Vol. 20, № 8. — P. 2309–2316.

117. Le, A. W. Association of the estrogen receptor- β gene RsaI and AluI polymorphisms with human idiopathic thin endometrium / A. W. Le, Z. H. Wang, R. Yuan [et al.] // *Genet. Mol. Res.* — 2013. — Vol. 12, № 4. — P. 5978–5985.

118. Lee, D. K. Suppression of ER α activity by COUP-TFII is essential for successful implantation and decidualization / D. K. Lee, I. Kurihara, J. W. Jeong [et al.] // *Molecular endocrinology*. — 2010. — Vol. 24, № 5. — P. 930–940.

119. Lee, M. S. J. B cell-intrinsic TBK1 is essential for germinal center formation during infection and vaccination in mice / M. S. J. Lee, T. Inoue, W. Ise [et al.] // *Journal of Experimental Medicine*. — 2021. — Vol. 219, № 2. — P. e20211336.

120. Leyendecker, G. Adenomyosis and endometriosis. Re-visiting their association and further insights into the mechanisms of auto-traumatisation. An MRI study / G.

Leyendecker, A. Bilgicyildirim, M. Inacker [et al.] // Arch. Gynecol. Obstet. — 2015. — Vol. 291. — P. 917–932.

121. Likes, C. E. Medical or surgical treatment before embryo transfer improves outcomes in women with abnormal endometrial BCL6 expression / C. E. Likes, L. J. Cooper, J. Efirid [et al.] // Journal of assisted reproduction and genetics. — 2019. — Vol. 36. — P. 483–490.

122. Liu, X. The influence of male and female overweight/obesity on IVF outcomes: a cohort study based on registration in Western China / X. Liu, S. Shi, J. Sun [et al.] // Reproductive Health. — 2023. — Vol. 20, № 1. — P.3.

123. Louwen F. BCL6, a key oncogene, in the placenta, pre-eclampsia and endometriosis / F. Louwen, N. N. Kreis, A. Ritter [et al.] // Hum. Reprod. Update. — 2022. — Vol. 28, № 6. — P. 890–909.

124. Lydon, J. P. Mice lacking progesterone receptor exhibit pleiotropic reproductive abnormalities / J. P. Lydon, F. J. DeMayo, C. R. Funk [et al.] // Genes & development. — 1995. — Vol. 9, № 18. — P. 2266–2278.

125. Malinowski, A. Antiphospholipid autoantibodies in women treated for infertility / A. Malinowski, M. A. Dyński, E. Głowacka [et al.] // Ginekologia Polska. — 2000. — Vol. 71, № 9. — P. 1011–1016.

126. Margulies, S. L. Chronic endometritis: A prevalent yet poorly understood entity / S. L. Margulies, V. Flores, V. Parkash, L. Pal // International Journal of Gynecology & Obstetrics. — 2022. — Vol. 158, № 1. — P. 194–200.

127. Martí'nez-Conejero, J. A. Adenomyosis does not affect implantation, but is associated with miscarriage in patients undergoing oocyte donation / J. A. Martí'nez-Conejero, M. Morgan, M. Montesinos [et al.] // Fertil. Steril. — 2011. — Vol. 96, № 4. — P. 943–950.

128. Matsuzaki, S. Expression of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27Kip1 in eutopic endometrium and peritoneal endometriosis / S. Matsuzaki, M. Canis, T. Murakami [et al.] // Fertil. Steril. — 2001. — Vol. 75, № 5. — P. 956–960.

129. McQueen, D. B. Pregnancy outcomes in women with chronic endometritis and recurrent pregnancy loss / D. B. McQueen, C. O. Perfetto, F. K. Hazard, R. B. Lathi // *Fertil. Steril.* — 2015. — Vol. 104, № 4. — P. 927–931.

130. Moustafa, S. Diagnostic and therapeutic options in recurrent implantation failure / S. Moustafa, S. L. Young // *F1000Research.* — 2020. — Vol. 9. — P. F1000.

131. Munro, M. G. Classification and Reporting Systems for Adenomyosis / M. G. Munro // *J. Minim. Invasive. Gynecol.* — 2020. — Vol. 27, № 2. — P. 296–308.

132. Nácul, A. P. Aspectos atuais do diagnóstico e tratamento da endometriose / A. P. Nácul, P. M. Spritzer // *Revista Brasileira de ginecologia e obstetrícia.* — 2010. — Vol. 32. — P. 298–307.

133. Namiki T., Ito J., Kashiwazaki N. Molecular mechanisms of embryonic implantation in mammals: Lessons from the gene manipulation of mice / T. Namiki, J. Ito, N. Kashiwazaki // *Reproductive Medicine and Biology.* — 2018. — Vol. 17, № 4. — P. 331–342.

134. Nezhat, C. BCL-6 overexpression as a predictor for endometriosis in patients undergoing in vitro fertilization / C. Nezhat, A. Rambhatla, C. Miranda-Silva [et al.] // *JLS: Journal of the Society of Laparoscopic & Robotic Surgeons.* — 2020. — Vol. 24, № 4. — P. e2020.00064.

135. Nikas, G. Pinopodes as markers of endometrial receptivity in clinical practice / G. Nikas // *Hum. Reprod.* — 1999. — Vol. 14, suppl. 2. — P. 99–106.

136. Noyes, N. Implantation: endometrial thickness appears to be a significant factor in embryo implantation in in-vitro fertilization / N. Noyes, H. C. Liu, K. Sultan [et al.] // *Hum. Reprod.* — 1995. — Vol. 10, № 4. — P. 919–922.

137. Ota, H. Immunohistochemical assessment of superoxide dismutase expression in the endometrium in endometriosis and adenomyosis / H. Ota, S. Igarashi, M. Hatazawa, T. Tanaka // *Fertil. Steril.* — 1999. — Vol. 72, № 1. — P. 129–134.

138. Otsubo, Y. Association of uterine wall thickness with pregnancy outcome following uterine-sparing surgery for diffuse uterine adenomyosis / Y. Otsubo, M. Nishida, Y. Arai [et al.] // *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology.* — 2016. — Vol. 56, № 1. — P. 88–91.

139. Ozyurt, R. Endometrial polyps prevent embryo implantation via creatine and lactate pathways / R. Ozyurt, N. Turktekin // *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. — 2022. — Vol.26, № 9. — P. 3278–3281.

140. Parazzini, F. Epidemiology of endometriosis and its comorbidities / F. Parazzini, G. Esposito, L. Tozzi [et al.] // *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. — 2017. — Vol. 209. — P. 3–7.

141. Patel, B. G. Progesterone resistance in endometriosis: origins, consequences and interventions / B. G. Patel, M. Rudnicki, J. Yu [et al.] // *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. — 2017. — Vol. 96, № 6. — P. 623–632.

142. Penzias, A. Smoking and infertility: a committee opinion / A. Penzias, K. Bendikson, S. Butts [et al.] // *Fertil. Steril.* — 2018. — Vol. 110, № 4. — P. 611–618.

143. Perelló, M. F. Endometriotic pain is associated with adenomyosis but not with the compartments affected by deep infiltrating endometriosis / M. F. Perelló, M. A. Martínez-Zamora, X. Torres [et al.] // *Gynecologic and Obstetric Investigation*. — 2017. — Vol. 82, № 3. — P. 240–246.

144. Pier, B. Large, non-cavity distorting intramural leiomyomas decrease leukemia inhibitory factor in the secretory phase endometrium / B. Pier, C. Crellin, A. Katre [et al.] // *Reproductive Sciences*. — 2020. — Vol. 27. — P. 569–574.

145. Piver, P. Facteurs utérins limitant la prise en charge en AMP / P. Piver // *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.* — 2005. — Vol. 34, № 7–2. — P. 5S30–S33.

146. Polisseni, F. Detection of chronic endometritis by diagnostic hysteroscopy in asymptomatic infertile patients / F. Polisseni, E. A. Bambirra, A. F. Camargos // *Gynecologic and obstetric investigation*. — 2003. — Vol. 55, № 4. — P. 205–210.

147. Prašnikar, E. Determining the molecular background of endometrial receptivity in adenomyosis / E. Prašnikar, T. Kunej, J. Knez [et al.] // *Biomolecules*. — 2020. — Vol. 10, № 9. — P. 1311.

148. Qiong, Z. Clinical validation of pinopode as a marker of endometrial receptivity: a randomized controlled trial / Z. Qiong, H. Jie, W. Yonggang [et al.] // *Fertil. Steril.* — 2017. — Vol. 108, № 3. — P. 513.e2–517.e2.

149. Rimmer, M. P. Quantifying CD138+ cells in the endometrium to assess chronic endometritis in women at risk of recurrent pregnancy loss: a prospective cohort study and rapid review / M. P. Rimmer, K. Fishwick, I. Henderson [et al.] // *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. — 2021. — Vol. 47, № 2. — P. 689–697.

150. Sacks, G. Detailed analysis of peripheral blood natural killer cells in women with repeated IVF failure / G. Sacks, Y. Yang, E. Gowen [et al.] // *American journal of reproductive immunology*. — 2012. — Vol. 67, № 5. — P. 434–442.

151. Sakura, H. The neuropeptide, head activator, in human placenta and serum from pregnant women / H. Sakura, S. Aoki, T. Ozawa [et al.] // *European Journal of Endocrinology*. — 1991. — Vol. 125, № 4. — P. 454–458.

152. Salim, R. Adenomyosis reduces pregnancy rates in infertile women undergoing IVF / R. Salim, S. Riris, W. Saab [et al.] // *Reprod Biomed Online*. — 2012. — Vol. 25, № 3. — P. 273–277.

153. Sammaritano, L. R. Antiphospholipid syndrome / L. R. Sammaritano // *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*. — 2020. — Vol. 34, № 1. — P. 101463.

154. Santillán, I. Where and when should natural killer cells be tested in women with repeated implantation failure? / I. Santillán, I. Lozano, J. Illán [et al.] // *Journal of Reproductive Immunology*. — 2015. — Vol. 108. — P. 142–148.

155. Schindler, A. E. Non-contraceptive use of hormonal contraceptives for women with various medical problems / A. E. Schindler // *J. Pediat. Obstet. Gynecol.* — 2008. — Vol. 34. — P. 183–200.

156. Schlaff, W. D. Preoperative sonographic measurement of endometrial pattern predicts outcome of surgical repair in patients with severe Asherman's syndrome / W. D. Schlaff, B. S. Hurst // *Fertil. Steril.* — 1995. — Vol. 63, № 2. — P. 410–413.

157. Schmidt, V. Wilms-Tumor-Protein (WT1) abhängige Genexpression während der Nierenentwicklung : thesis / V. Schmidt. — 2022.

158. Schwab, K. E. Co-expression of two perivascular cell markers isolates mesenchymal stem-like cells from human endometrium / K. E. Schwab, C. E. Gargett // *Hum. Reprod.* — 2007. — Vol. 22, № 11. — P. 2903–2911.

159. Seshadri, S. Natural killer cells in female infertility and recurrent miscarriage: a systematic review and meta-analysis / S. Seshadri, S. K. Sunkara // *Hum. Reprod. Update*. — 2014. — Vol. 20, № 3. — P. 429–438.

160. Setti, A. S. Maternal lifestyle and nutritional habits are associated with oocyte quality and ICSI clinical outcomes / A. S. Setti, G. Halpern, D. P. de A. F. Braga [et al.] // *Reproductive BioMedicine Online*. — 2022. — Vol. 44, № 2. — P. 370–379.

161. Szubert, M. Adenomyosis and infertility — review of medical and surgical approaches / M. Szubert, E. Koziróg, O. Olszak [et al.] // *International journal of environmental research and public health*. — 2021. — Vol. 18, № 3. — P. 1235.

162. Tamura, H. Complications and outcomes of pregnant women with adenomyosis in Japan / H. Tamura, H. Kishi, M. Kitade [et al.] // *Reproductive Medicine and Biology*. — 2017. — Vol. 16, № 4. — P. 330–336.

163. Tang, W. Pregnancy and fertility-related adverse outcomes associated with *Chlamydia trachomatis* infection: a global systematic review and meta-analysis / W. Tang, J. Mao, K. T. Li [et al.] // *Sexually Transmitted Infections*. — 2020. — Vol. 96, № 5. — P. 322–329.

164. Tosti, C. Long-term vaginal danazol treatment in fertile age women with adenomyosis / C. Tosti, S. Vannuccini, L. Troia [et al.] // *Journal of Endometriosis and Pelvic Pain Disorders*. — 2017. — Vol. 9, № 1. — P. 39–43.

165. Vannuccini, S. Role of medical therapy in the management of uterine adenomyosis / S. Vannuccini, S. Luisi, C. Tosti [et al.] // *Fertil. Steril*. — 2018. — Vol. 109, № 3. — P. 398–405.

166. Vercellini, P. Uterine adenomyosis and in vitro fertilization outcome: a systematic review and meta-analysis / P. Vercellini, D. Consonni Dridi, B. Bracco [et al.] // *Hum. Reprod*. — 2014. — Vol. 29, № 11. — P. 964–977.

167. Vitale, S. G. Endometrial polyps. An evidence-based diagnosis and management guide / S. G. Vitale, S. Haimovich, A. S. Laganà [et al.] // *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. — 2021. — Vol. 260. — P. 70–77.

168. Vollenhoven, B. Ovarian ageing and the impact on female fertility / A. Vollenhoven, S. Hunt // *F1000Research*. — 2018. — Vol. 7, № 1835. — P. 2–6.

169. Wang, P. H. Is the surgical approach beneficial to subfertile women with symptomatic extensive adenomyosis? / P. H. Wang [et al.] // *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. — 2009. — Vol. 35, № 3. — P. 495–502.

170. Wang, Y. The number of previous failed embryo transfer cycles is an independent factor affecting implantation rate in women undergoing IVF/ICSI treatment / Y. Wang, Y. Tian, L. Liu [et al.] // *Medicine*. — 2021. — Vol. 100, № 9. — P. e25034.

171. Wu, F. Decreased MUC1 in endometrium is an independent receptivity marker in recurrent implantation failure during implantation window / F. Wu, X. Chen, Y. Liu [et al.] // *Reproductive Biology and Endocrinology*. — 2018. — Vol. 16, № 1. — P. 60.

172. Xu, Y. Chronic endometritis and reproductive failure: role of syndecan-1 / Y. Xu, J. Mei, L. Diao [et al.] // *American Journal of Reproductive Immunology*. — 2020. — Vol. 84, № 3. — P. e13255.

173. Yoo, J. Y. KRAS activation and over-expression of SIRT1/BCL6 contributes to the pathogenesis of endometriosis and progesterone resistance / J. Y. Yoo, T. H. Kim, A. T. Fazleabas [et al.] // *Scientific reports*. — 2017. — Vol. 7, № 1. — P. 6765.

174. Younes, G. Effects of adenomyosis on in vitro fertilization treatment outcomes: a meta-analysis / G. Younes, T. Tulandi // *Fertil Steril*. — 2017. — Vol. 108, № 3. — P. 483–490.

175. Zhang, D. Effect of previous Chlamydia Trachomatis infection on the outcomes of ivf/icsi treatment: a retrospective study / D. Zhang, Z. Wang, X. Hu [et al.] // *BMC Pregnancy Childbirth*. — 2022. — Vol. 22, № 1. — P. 305.

176. Zhang, X. P. Pregnancy outcomes of infertile women with ultrasound-diagnosed adenomyosis for in vitro fertilization and frozen–thawed embryo transfer / X. P. Zhang, Y. F. Zhang, R. Shi [et al.] // *Arch. Gynecol. Obstet*. — 2021. — Vol. 304. — P. 1089–1096.

177. Zondervan, K. T. Endometriosis / K. T. Zondervan, M. Becker, K. Koga [et al.] // *Nature Reviews Disease Primers*. — 2018. — Vol. 4, № 1. — P. 9.

**Приложение
А (справочное).**

Перечень обязательных обследований и сроки годности результатов обследования для оказания медицинской помощи с использованием вспомогательных репродуктивных технологий и искусственной инсеминации

Таблица А.1 – Перечень обязательных обследований и сроки годности результатов обследования для оказания медицинской помощи с использованием вспомогательных репродуктивных технологий и искусственной инсеминации (порядок использования ВРТ, противопоказаний и ограничений к их применению, утвержденный приказом Российской Федерации от 31 июля 2020 года № 803н)

<i>Наименование обследований</i>	<i>Срок годности</i>
УЗИ матки и придатков трансвагинальное	В течение 2 недель перед использованием ВРТ
Флюорография легких	1 год
Регистрация электрокардиограммы	1 год
УЗИ молочных желез	1 год
Маммография (женщинам 40 лет и старше)	1 год
Исследование уровня антител классов М, G (IgM, IgG) к вирусу иммунодефицита человека-1/2 и антигена р24 (Human immunodeficiency virus HIV 1/2 + Agp24) в крови	3 мес.
Определение антител к поверхностному антигену (HBsAg) вируса гепатита В (Hepatitis B virus) в крови или определение антигена (HbsAg) вируса гепатита В (Hepatitis B virus) в крови	3 мес.
Определение суммарных антител классов М и G (anti-HCV IgG и anti-HCV IgM) к вирусу гепатита С (Hepatitis C virus) в крови	3 мес.
Определение антител к бледной трепонеме (<i>Treponema pallidum</i>) в крови	3 мес.
Общий (клинический) анализ крови	1 мес.
Анализ крови биохимический общетерапевтический	1 мес.
Коагулограмма (ориентировочное исследование системы гемостаза)	1 мес.
Общий (клинический) анализ мочи	1 мес.
Определение иммуноглобулинов класса М и G к вирусу краснухи (<i>Rubella</i>) в крови	При наличии иммуноглобулинов класса М — 1 мес; при наличии иммуноглобулинов класса G — не ограничен
Определение основных групп по системе АВ0 и антигена D системы Резус (резус-фактор)	Не ограничен
Микроскопическое исследование влагалищных мазков	1 мес

Продолжение таблицы А.1

<i>Наименование обследований</i>	<i>Срок годности</i>
Молекулярно-биологическое исследование отделяемого слизистых оболочек женских половых органов на возбудителей ИППП (<i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Trichomonas vaginalis</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Mycoplasma genitalium</i>)	3 мес
Цитологическое исследование микропрепарата шейки матки (мазка с поверхности шейки матки и цервикального канала)	1 год
Исследование уровня фолликулостимулирующего гормона в сыворотке крови на 2–5-й день МЦ	6 мес
Исследование уровня анимюллерова гормона в крови	6 мес
Спермограмма	6 мес
Консультация врача-терапевта	1 год
Консультация врача-уролога (донорам спермы)	1 год
Консультация врача-генетика (по показаниям)	1 год
Справка из психоневрологического диспансера (для доноров и суррогатных матерей)	1 год
Справка из наркологического диспансера (для доноров и суррогатных матерей)	1 год