

Я. А. КОВАЛЕНКО, В. А. КРУТОВА, Н. В. НАУМОВА, Л. М. ЧУПРИНЕНКО

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОГРАММЫ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ И ПЕРЕНОСА ЭМБРИОНОВ У ЖЕНЩИН С ХРОНИЧЕСКИМ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИМ ЭНДОМЕТРИТОМ

Базовая акушерско-гинекологическая клиника ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России,
ул. Зиповская, 4/1, Краснодар, Россия, 350072.

АННОТАЦИЯ

Цель. Определить распространённость хронического эндометрита среди пациенток с повторными неудачами экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов (ЭКО и ПЭ), а также оценить влияние своевременной диагностики и комплексного лечения хронического эндометрита на успешность имплантации.

Материалы и методы. Проведена ретроспективная оценка медицинских карт 55 женщин с двумя и более неэффективными попытками ЭКО и ПЭ в анамнезе. Верификацию диагноза хронического неспецифического эндометрита проводили с помощью гистологических, иммуногистохимических, микробиологических методов исследования биоптатов эндометрия, УЗИ органов репродуктивной системы с 3D-моделированием полости матки. Всем пациенткам проведено комплексное лечение эндометрита с последующим применением методов ВРТ. Эффективность проводимого лечения оценивалась по частоте наступления клинической беременности.

Результаты. Количество пациенток с подтвержденным иммуногистохимическим методом исследования эндометритом составило 96,4%. Из них у 16,9% хронический эндометрит сочетался с наличием гиперпластического полипа эндометрия, что послужило поводом для проведения гистероскопии и удаления полипа. Выраженную степень хронического эндометрита выявили в 54,0%.

После лечения хронического эндометрита всем пациенткам проведена программа ЭКО и ПЭ. Клиническая беременность наступила у 41,2% пациенток.

Заключение. Настоящее исследование подтверждает высокую распространенность хронического эндометрита у пациенток с повторными неудачами в программах ЭКО и ПЭ. Проведение комплексного обследования состояния эндометрия и, при выявлении нарушений, коррекция его патологических изменений повышают эффективность последующих программ ЭКО и ПЭ.

Ключевые слова: хронический эндометрит, экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО), иммуногистохимическое исследование

Для цитирования: Коваленко Я.А., Крутова В.А., Наумова Н.В., Чуприненко Л.М. Эффективность программы экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов у женщин с хроническим неспецифическим эндометритом. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2017; 24(6): 59-64. DOI: 10.25207 / 1608-6228-2017-24-6-59-64

For citation: Kovalenko Y.A., Krutova V.A., Naumova N.V., Tchuprinenko L.M. The effectiveness of in vitro fertilization and embryo transfer in women suffering from non-specific chronic endometritis. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik*. 2017; 24(6): 59-64. (In Russ., English abstract). DOI: 10.25207 / 1608-6228-2017-24-6-59-64

Y. A. KOVALENKO, V. A. KRUTOVA, N. V. NAUMOVA, L. M. TCHUPRINENKO

THE EFFECTIVENESS OF IN VITRO FERTILIZATION AND EMBRYO TRANSFER IN WOMEN SUFFERING FROM NON-SPECIFIC CHRONIC ENDOMETRITIS

Basic obstetric-gynecological clinic, KSMU of the Ministry of Healthcare of Russia,
Zipovskaya str. 4/1, Krasnodar, Russia, 350072.

ABSTRACT

Aim. To estimate prevalence of chronic endometritis among women with repeated implantation failures in vitro fertilization and embryo transfer (IVF and ET), as well as to assess the impact of timely diagnosis and comprehensive treatment of chronic endometritis on the success of implantation.

Materials and methods. 55 women with two or more failed IVF and ET cycles comprised the study group. All patients underwent hysteroscopy and endometrial sampling for histology, immunohistochemistry and microbiological investigations. 3D ultrasound measurements of uterine cavity were applied. All women diagnosed with chronic endometritis underwent complex treatment and the effect of treatment was confirmed by hysteroscopy with biopsy. After

treatment, all women had a further IVF attempt. The effectiveness of treatment was estimated using clinical pregnancy rate.

Results. The diagnosis of chronic endometritis was confirmed by immunohistochemistry in 96,4% of women. In 16,9% of these cases hyperplastic endometrial polyps were also revealed. Those patients underwent another hysteroscopy and polypectomy. In 54,0% of cases intensity of chronic endometritis was estimated as high. Clinical pregnancy had been confirmed in 41,2% of women after complex treatment.

Conclusion. Results of this research demonstrate that chronic endometritis is a state frequently associated with repeated implantation failures. The normalization of the hysteroscopic endometrial pattern was associated with a significant improvement of the reproductive outcome of the IVF and ET cycle performed after treatment.

Keywords: chronic endometritis, in-vitro fertilization (IVF), immunohistochemistry

Введение

Бесплодие одна из актуальных проблем современного общества, в связи с этим вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) привлекают к себе повышенный интерес специалистов. Частота бесплодия в разных регионах России колеблется от 8,0% до 19,0% [1]. Внутриматочная патология является одной из причин женского бесплодия. В 54,0% случаев женское бесплодие сопровождается патологическими изменениями в матке, при этом нарушения функции эндометрия диагностируются у 41,0% женщин. По этой причине при обследовании пациенток с бесплодием особую значимость приобретает изучение структурно-функционального состояния полости матки и эндометрия [1, 2, 3].

Согласно общепризнанному определению хронический эндометрит – это патологический процесс воспалительного генеза с нарушением структуры и функции эндометрия, характеризующийся преимущественно репродуктивными нарушениями: бесплодием, невынашиванием беременности, неудачными попытками экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов (ЭКО и ПЭ) [4, 5, 6].

Сегодня вопросы физиологии и патологии, в частности связанные с подготовкой эндометрия к имплантации плодного яйца, продолжают широко обсуждаться [7]. В литературе рассматривается вторичная роль эндометрия при ановуляции. В то же время справедливо, что стимуляция овуляции далеко не всегда приводит к наступлению беременности, причем главной причиной нарушения инидации бластоцисты и репродуктивной потери в такой ситуации является дисфункциональное состояние эндометрия [8,9,10]. Особенностью нормального эндометрия является то, что имплантация происходит только тогда, когда он может обеспечить оптимальные условия для развития плодного яйца [10, 11, 12]. В связи с выше изложенным вопросы подготовки эндометрия имеют решающее значение в успешности проведения процедуры ЭКО и ПЭ.

Цель исследования: определить распространенность хронического эндометрита среди пациенток с повторными неэффективными попытками ЭКО и ПЭ, а также оценить влияние своевремен-

ной диагностики и комплексного лечения хронического эндометрита на успешность имплантации.

Материалы и методы

Обследованы 54 женщины в возрасте до 40 лет с двумя и более неэффективными попытками ЭКО в анамнезе.

Критерии включения:

- 1) репродуктивный возраст женщин 20-40 лет;
- 2) наличие маточного фактора бесплодия;
- 3) регулярная половая жизнь без применения контрацепции в течение одного года и более;
- 4) фертильность супруга.

Критерии исключения:

- 1) эндокринная, трубно-перитонеальная и/или сочетанная форма бесплодия;
- 2) обострение хронической соматической патологии в стадии обострения, субкомпенсации и декомпенсации в течение года.

Всем пациенткам выполнено комплексное обследование, включающее сбор анамнестических данных, клинико-лабораторные и функциональные методы исследования. Для УЗИ органов малого таза использовали цифровую ультразвуковую систему VolusonE6, позволяющую выполнить 3D-реконструкцию полости матки, проводить фолликулометрию с подсчетом количества антральных фолликулов. Состояние микробиоценоза урогенитального тракта оценивалось методом ПЦР в режиме реального времени набором для исследования Фемофлор-16, ООО «НПО ДНК-Технология».

Биоптаты эндометрия получали на 7-11 день менструального цикла методом аспирационной пайпель-биопсии или штрих-соскобом слизистой оболочки тела матки во время проведения гистероскопии. Фиксацию, проводку, заливку парафином, изготовление срезов ткани с окрашиванием гематоксилином и эозином осуществляли по общепринятой методике. Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование проводили по стандартной методике с помощью двойных антител с предварительной депарафинизацией и демаскировкой антигенов в РТ-модуле (РТ Module ThermoScientific) 0,01M-цитратным буфером с pH 6,0 в течение 10 минут при 97°C. Использовали разведенные и готовые к применению моноклональные антитела к рецепторам

натуральных киллерных клеток CD 56 (клон 123С3.Д), макрофагам CD 68 (клон Кр-1) производство CellMagque (США) и антитела к рецепторам плазматических клеток CD 138 (polyclon) и мультимерную безбиотиновую систему детекции для визуализации антигена REVEAL производство SpringBioScience (США). Ядра клеток докрашивали гематоксилином Майера в течение 5 мин. Для постановки диагноза хронического эндометрита учитывали наличие в эндометрии очаговых или диффузных периваскулярных и перигландулярных лимфо-макрофагальных инфильтратов, фиброз стромы, склеротические изменения стенок спиральных артерий [3, 10]. При ИГХ-исследовании определяли состав воспалительной клеточной инфильтрации в эндометрии, оценивали степень активности воспалительного процесса.

Терапию пациенток с установленным маточным фактором бесплодия осуществляли комбинацией антибактериальных препаратов, иммуномодуляторов в сочетании с физиотерапевтическими процедурами. Эффективность проводимого лечения оценивалась по частоте наступления клинической беременности.

Результаты и обсуждение

Средний возраст обследованных пациенток составил $35,4 \pm 1,5$ года. Нарушения менструальной функции отмечали 66,7% пациенток. Во время диагностической гистероскопии у 70,4% обследованных пациенток были найдены признаки хронического эндометрита. Первичное бесплодие встречалось реже, чем вторичное и отмечено у 31,5 % женщин. Длительность бесплодия в среднем составила $7,6 \pm 2,8$ года.

Проведенное УЗИ с 3D-реконструкцией полости матки позволило обнаружить 11 (20,4%) пациенток – полип эндометрия (рис.1). У 18 пациенток (33,3%) верифицированы внутриматочные синехии (рис.2). В 15 случаях (27,8%) диагностирован хронический метроэндометрит по следующим признакам [13]: несоответствие структуры и эхогенности эндометрия фазе менструального цикла, нечеткий наружный контур М-эха, гиперэхогенный наружный контур М-эха, гиперэхогенные включения в проекции базального слоя, нечеткая или неопределяемая линия смыкания листков слизистой, чрезмерно выраженная линия смыкания листков слизистой, пузырьки газа в эндометрии или субэндометриальном слое, расширение полости матки за счет жидкостного содержимого, атрофия эндометрия, расширение аркуатного сплетения (рис. 3).

По данным ПЦР исследования с помощью набора Фемофлор-16 нарушения микробиоциноза установлено у 81,5 % пациенток.

Биопсия эндометрия в 35,2% случаев была произведена во время диагностической гистероскопии, а в 64,8% случаев получена путем

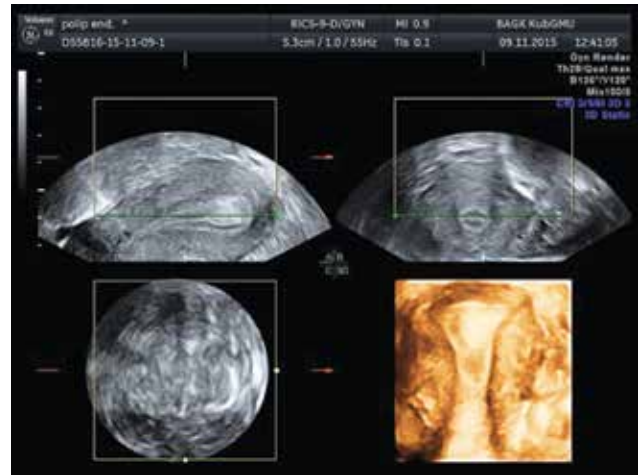


Рис. 1. Полип эндометрия.
Fig. 1. Endometrial polyp.

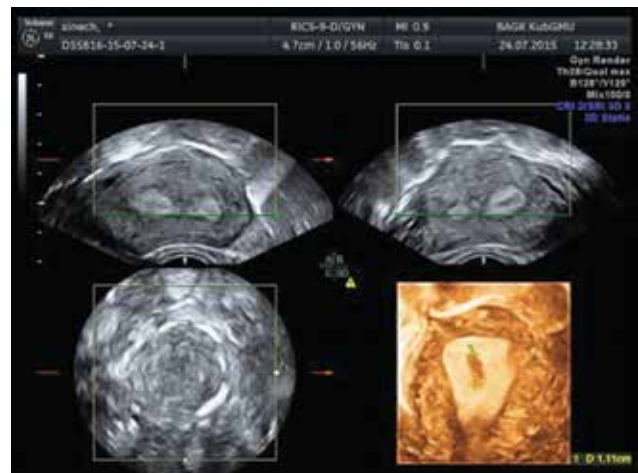


Рис. 2. Внутриматочные синехии.
Fig. 2. Intrauterine adhesions.

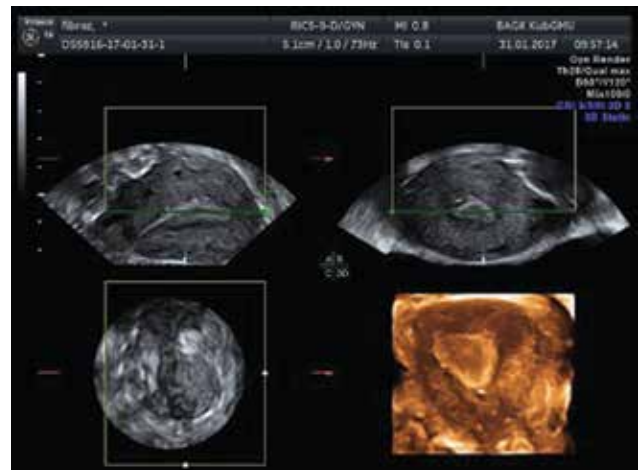


Рис. 3. УЗ-признаки хронического метроэндометрита.
Fig. 3. US-sings of chronic metroendometritis.

пайпель-биопсии. При рутинной окраске срезов гематоксилином и эозином полный комплекс диагностических и морфологических критериев хронического эндометрита обнаружен у 28 пациенток (51,8%). В 22 случаях (40,7%) морфологическая картина заболевания была неполной. У 9 (16,7%)

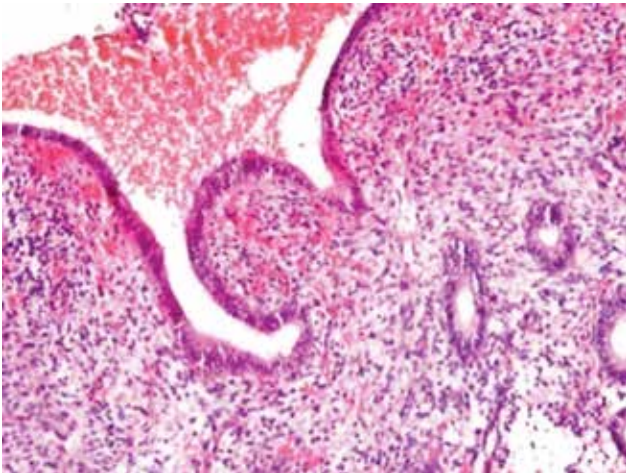


Рис. 4. Микрополипоз эндометрия при хроническом эндометрите. ГЭ, ув. x100.

Fig. 4. Endometrial micropolyposis as a sign of chronic endometritis. H&E stain, magn. x100.

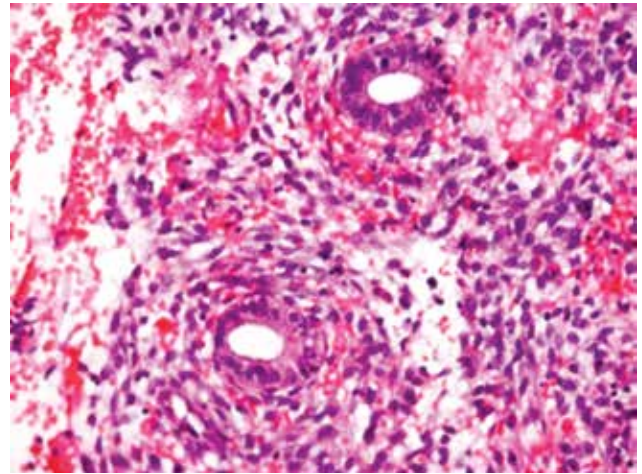


Рис. 5. Перигландулярный фиброз при хроническом эндометрите. ГЭ, ув. x200.

Fig. 5. Periglandular fibrosis as a sign of chronic endometritis. H&E stain, magn. x200.

обследованных пациенток хронический эндометрит сочетался с наличием гиперпластического (железистого или железисто-фиброзного) полипа эндометрия. Микрополипоз слизистой оболочки на фоне хронического воспаления встречался в 2,6 раза чаще (рис. 4). Фиброз стромы со структурной перестройкой сосудистого русла, верифицированной так же при 3D-моделировании, отмечен более чем у половины обследованных – в 59,3% случаев (рис.5).

Проведенное ИГХ-исследование биоптатов эндометрия позволило определить наличие хронического неспецифического эндометрита у 53 пациенток из группы обследованных. У этих больных количество CD138+плазматических клеток составляло от 2 до 10 в поле зрения, ув. x40 (рис. 6).

Выраженную степень активности воспалительного процесса с наличием большого коли-

чества (более 30 клеток в поле зрения при ув. x400) диффузно распределенных в строме эндометрия CD56+ клеток имели 54,0% пациенток (рис. 7).

Лечение хронического эндометрита высокой и умеренной степени активности, в зависимости от обнаруженного методом ПЦР-диагностики этиологического фактора, проводилось комбинациями лекарственных средств: антимикотических, противопаразитарных, фторхинолоны, антибактериальных широкого спектра действия. При верификации слабой степени интенсивности воспалительного процесса на фоне выраженного фиброза с нарушением ангиоархитектоники эндометрия активно использовали физиотерапевтические процедуры.

После лечения у 12 пациенток (22,2%) сохранились нарушения микробиоценоза влагалища. При контрольной пайпель-биопсии степень активности хронического воспалительного процесса

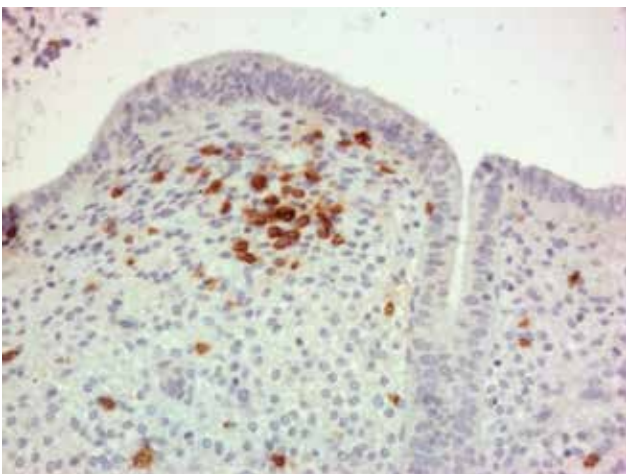


Рис. 6. Экспрессия маркера CD138+ в функциональном слое эндометрия. Безбиотиновый метод детекции, ув x400.

Fig. 6. CD138+ expression in functional endometrial layer. Biotin-Free DAB, magn. x400.

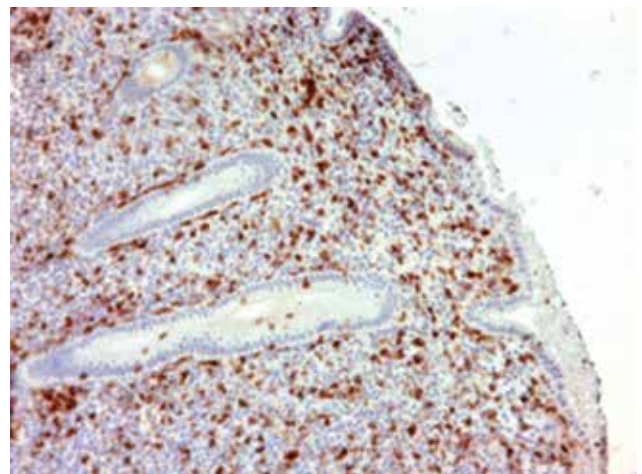


Рис. 7. Экспрессия маркера CD56+ в функциональном слое эндометрия. Безбиотиновый метод детекции, ув x200.

Fig. 7. CD56+ expression in functional endometrial layer. Biotin-Free DAB, magn. x200.

уменьшилась до умеренной – у 18,0 %, до слабой – у 82,0 % пациенток.

В дальнейшем всем женщинам проводилось лечение бесплодия методом ВРТ с применением программы ЭКО и ПЭ в стандартном протоколе с антагонистами ГнРГ. Пункция яичников выполнялась на 12-14-й день цикла, перенос эмбрионов на 17-19-й день менструального цикла соответственно. Для поддержки лютеиновой фазы цикла использовался 17β-эстрадиол в виде геля от 1 до 2 мг в сутки и микронизированный прогестерон 400-600 мг в сутки. Введение препаратов продолжалось до дня определения хорионического гонадотропина человека в сыворотке крови.

В результате терапии клиническая беременность наступила у 42,6% пациенток, 5,5% – забеременели самостоятельно, у 7,4% был отменен перенос эмбрионов в полость матки в виду высокого риска развития синдрома гиперстимуляции яичников, 44,4% – направлены на курс реабилитации в связи с отсутствием беременности.

Проведенное исследование демонстрирует высокую распространённость хронического эндометрита в популяции женщин, имеющих в анамнезе повторные неэффективные попытки ЭКО и ПЭ. Полученные результаты сопоставимы с данными проводимых ранее исследований, что подтверждает важность оценки состояния эндометрия перед проведением программы ЭКО и ПЭ [12, 14, 15]. Среди этой категории пациенток проведение дополнительного ИГХ-исследования позволяет уточнить степень активности хронического эндометрита, что является методом углубленной оценки состояния эндометрия и уточнения причин повторных неудачных попыток ЭКО и ПЭ. Своевременное проведение комплексной терапии при подтвержденном диагнозе хронического эндометрита с определением степени его активности статистически значимо повышает эффективность программ ЭКО и ПЭ.

Для достижения беременности необходимо наличие не только эмбриона с высоким потенциалом имплантации, но также функционально полноценного эндометрия. В настоящее время неэффективную имплантацию все чаще ассоциируют с патологией эндометрия, нарушением местного иммунного статуса и, как следствие, – нарушением рецептивности слизистой оболочки полости матки. Хронический эндометрит сопровождается специфическим изменением состава субпопуляций эндометриальных лейкоцитов с нарушением процессов пролиферации и секреторной трансформации, что лежит в основе бесплодия и имплантационных потерь.

Заключение

На основании проведенного исследования можно сделать следующие выводы:

1) проведение комплексного обследования со-

стояния эндометрия и, при выявлении нарушений, коррекция патологических изменений являются необходимыми этапами предгравидарной подготовки в программе ЭКО и ПЭ для женщин, страдающих бесплодием.

2) лечение внутриматочной патологии не снижает эффективность последующих программ ЭКО и ПЭ, а является высокоэффективной процедурой в терапии женского бесплодия.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Рудакова Е.Б., Давыдов П.В., Давыдов В.В. Издание: *Лечащий врач*. 2013; 11(5): 10-14. [Rudakova E.B., Davydov P.V., Davydov V.V. *Lechashchiy vrach*. 2013; 11(5): 10-14. (In Russ.)].
2. Российская Ассоциация Репродукции Человека. Регистр ВРТ. Отчет за 2014 год. [RAHR. Registr VRT. Otchet za 2014 god. (In Russ.)].
3. Шуршалина А.В. Хронический эндометрит: современные взгляды на проблему. *Consilium Medicum* (женское здоровье). 2011; 6(13): 36-39. [Shurshalina A.V. Khronicheskiy endometrit: sovremennyye vzglyady na problemu. *Consilium Medicum* 2011; 6(13): 36-39. (In Russ.)].
4. Коган Е.А., Демура Т.А., Водяной В.Я., Шуршалина А.В. Молекулярные и морфологические аспекты нарушений рецептивности эндометрия при хроническом эндометрите. *Архив патологии*. 2012; 3: 15-7. [Kogan E.A., Demura T.A., Vodiano V.Ia., Shurshalina A.V. Molecular and morphological aspects of endometrial receptivity disorders at chronic endometritis. *Arkhiv patologii*. 2012; 3: 15-7. (In Russ.)].
5. Лебедев В.А., Пашков В.М., Клиндухов И.А. Современные принципы терапии больных с хроническим эндометритом. *Трудный пациент*. 2012; 10(5): 38-43. [Lebedev V.A., Pashkov V.M., Klindukhov I.A. Current approaches to the treatment of chronic endometritis. *Difficult Patient*. 2012; 10(5): 38-43. (In Russ.)].
6. Рудакова Е.Б. Лобода О.А. Хронический эндометрит в аспекте результативности программ экстракорпорального оплодотворения. *Лечащий врач*. 2012; 11: 22-24. [Rudakova E.B. Loboda O.A. Khronicheskiy endometrit v aspekte rezul'tativnosti programm ekstrakorporal'nogo oplodotvoreniya. *Lechashchiy vrach*. 2012; 11: 22-24. (In Russ.)].
7. Митюрин Е.В., Перминова С.Г., Демура Т.А., Галлямова Е.М. Рецептивность эндометрия в программе экстракорпорального оплодотворения. *Акушерство и гинекология*. 2014; 2: 14-20. [Mityurina E.V., Perminova S.G., Demura T.A., Gallyamova E.M. Retseptivnost' endometriya v programe ekstrakorporal'nogo oplodotvoreniya. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2014; 2: 14-20. (In Russ.)].
8. Шнейдерман М.Г., Аполихина И.А., Калинин Е.А., Абубакиров А.Н., Мишиева Н.Г., Алиева К.У., Бурдули А.Г., Аксененко А.А., Замятнина В.А., Веюкова М.А., Ушакова И.В. Новое об имплантации эмбриона в эндометрий. *Акушерство и гинекология*. 2013; 11: 75-8. [Shneyderman M.G., Apolikhina I.A., Kalinina E.A., Abubakirov A.N., Mishieva N.G., Alieva K.U., Burduli A.G., Akseenenko A.A., Zamyatnina V.A., Veyukova M.A., Ushakova I.V. Novoe ob implantatsii embriona v endometriy. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2013; 11: 75-8. (In Russ.)].
9. Гайдук С.Н., Боярский Ю.К., Пальченко Н.А. Современный взгляд на проблему рецептивности и тонкого эндометрия в программах ВРТ (обзор литературы). *Проблемы репродукции*. 2013; 4: 51-60. [Boiarskiy K.Iu., Gaydukov S.N., Pal'chenko N.A. Modern look on endometrial receptivity and thin

endometrium in art cycles (a review). *Russian Journal of Human Reproduction*. 2013; 4: 51-60. (In Russ.)).

10. Сухих Г.Т., Шуршалина А.В. *Хронический эндометрит. Руководство*. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 64 с. [Sukhikh G.T., Shurshalina A.V. *Khronicheskiy endometrit. Rukovodstvo*. М.: GEOTAR-Media, 2010. 64 s. (In Russ.)].

11. Fatemi H.M., Popovic-Todorovic B. Implantation in assisted reproduction: a look at endometrial receptivity. *Reprod. Biomed. Online*. 2013; 27(5): 530-8.

12. Edgell T.A., Rombauts L.J., Salamonsen L.A. Assessing receptivity in the endometrium: the need for a rapid, non-invasive test. *Reprod. Biomed. Online*. 2013; 27(5): 486-96.

13. *Эхография в гинекологии*. Под. ред. И.А. Озерская. М.: Издательский дом Видар-М; 2013. 64 с. [*Ekhografiya v ginekologii*. Pod.red.: I.A.Ozerskaya. М.: Izdatel'skiydom Vidar-M;

2013. 564 s. (In Russ.)].

14. Simon A., Laufer N. Assessment and treatment of repeated implantation failure (RIF). *J. Assist. Reprod. Genet.* 2012; 29(11): 1227-39.

15. Толибова Г.Х., Траль Т.Г., Клещёв М.А., Кветной И.М., Айламазян Э.К. Эндометриальная дисфункция: алгоритм гистологического и иммуногистохимического исследования. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2015; LXIV(4): 69-77. [Tolibova G.Kh., Tral'T.G., Kleshchov M.A., Kvetnoy I.M., Aylamazyan E.K. Endometrial dysfunction: an algorithm for histological and immunohistochemical studies. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney*. 2015; LXIV(4): 69-77. (In Russ.)].

Поступила / Received 28.09.2017

Принята в печать / Accepted 02.10.2017

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest

Контактная информация: Коваленко Яна Александровна; тел.: (861) 275-57-67, +7 (988) 283-03-03; e-mail: klinika@bagk-med.ru; Россия, 350072, г. Краснодар, ул. Зиповская, д. 4/1.

Corresponding author: Yana A. Kovalenko; tel.: (861) 275-57-67, +7 (988) 283-03-03; e-mail: klinika@bagk-med.ru; Zipovscaya str. 4/1, Krasnodar, Russia, 350072