



Л. Б. Маркін¹, Л. І. Сегедій^{1,2}

¹ Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

² Клініка репродукції людини «Альтернатива»

Ефективність лікування безпліддя методом запліднення *in vitro* за наявності хронічного ендометриту

Вступ. Порушення репродуктивної функції – одна з актуальних проблем не лише в Україні, а й у всьому світі. Визначальними детермінантами порушень репродуктивної функції є безпліддя і невиношування вагітності. З'ясування причин виникнення цих станів – необхідна передумова вдосконалення існуючих методів лікування.

Упродовж останнього десятиліття частота безплідних шлюбів серед пар дітородного віку досягає 15,0–20,0% [6]. На шляху подолання безпліддя найбільші успіхи здобуто завдяки впровадженню в практику лікування безпліддя допоміжних репродуктивних технологій, зокрема запліднення *in vitro*. Проте, навіть застосовуючи сучасні досягнення репродуктології, все ще не вдається допомогти всім пацієнткам, що звертаються у клініки репродуктивної медицини, завагітніти й народити здорового доношену дитину. Пошук методів підвищення ефективності лікувальних програм запліднення *in vitro* не припиняється.

В останні роки значну увагу приділяють імунологічному чиннику безпліддя, вивчаючи його роль у несприятливому перебігу та завершенні вагітності. Адже плід стосовно матері є генетично напівчужорідним організмом [1]. Дозрівання заплідненої яйцеклітини до плода в напівчужорідному організмі матері може відбуватися за умови достатньої імуносупресії, що заважає реалізації імунної атаки материнського організму на плід [3].

Неефективну імплантацію щораз частіше пов'язують із патологічними змінами ендометрію, розладами імунного статусу та, як наслідок, порушенням його рецептивності. Медіатори запалення в ендометрії, включаючи лейкоцити, імуноглобуліни та цитокіни, відіграють важливу роль у регуляції імунної відповіді та розростанні трофобласта під час імплантації. Успішна імплантація ембріона та підтримання вагітності є результатом делікатного балансу між ембріоном і ендометрієм, що відображає перевагу Th2 цитокінів проти Th1 у ендометрії. Тому будь-який чинник, який

порушує цей баланс, може ушкодити рецептивність ендометрію [3].

Збільшений вміст прозапальних цитокінів часто асоціюється з інфекційними чинниками. Персистенція в ендометрії умовно-патогенних мікроорганізмів і вірусів супроводжується активацією імунопатологічних процесів, наступним збільшенням вмісту прозапальних цитокінів. Це перешкоджає у передімплантаційному періоді локальній імуносупресії, яка є необхідною передумовою імплантації ембріона [2]. Відомо про виявлення таких інфекційних агентів, як *Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* [7], *Escherichia coli*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus faecalis* [8].

Хронічний ендометрит (ХЕ) є предметом наукових багаторічних досліджень [5]. Це патологічний процес запального генезу, що призводить до порушення структури і функції ендометрію, унаслідок чого настають безпліддя, невиношування вагітності, невдалі спроби запліднення *in vitro*. Частота діагностики ХЕ у пацієток із безпліддям коливається в межах 12,0–46,0% [12]. ХЕ супроводжується специфічними змінами складу субпопуляції ендометріальних лейкоцитів із порушенням проліферації і секреторної трансформації, що й лежить в основі безпліддя та імплантаційних втрат [4].

Клінічних ознак ХЕ зазвичай немає. Рідко пацієнтки скаржаться на хронічний біль у попереку, диспареунію, збільшену кількість виділень, аномальні маткові кровотечі [11].

Існують різноманітні методи діагностики ХЕ. Доведено можливість діагностики ХЕ за допомогою ультразвукового дослідження, виділено ультразвукові критерії діагностики ХЕ в різні фази менструального циклу [10]. Гістероскопія посідає провідне місце серед діагностичних методів ХЕ. До характерних гістероскопічних ознак ХЕ належать набряк строми, дифузна чи локальна гіперемія, мікрополіпи. Під час проведення гістероскопії зазвичай здійснюють гістологічне дослідження біоптатів

ендометрію. Обов'язковий критерій для встановлення діагнозу ХЕ – виявлення плазматичних клітин, які є кінцевим етапом диференціювання В-клітин у стромі ендометрію. Частота виявлення плазматичних клітин лише за допомогою традиційного застосування гематоксилін-еозину невелика порівняно зі застосуванням імуногістохімічного дослідження (ІГХД) з визначенням CD138, протеоглікану, який локалізується на поверхні плазматичних клітин [9].

Беручи до уваги важливість належної імуносупресії щодо забезпечення сприятливого перебігу вагітності, теоретично аргументовану можливість виявити ХЕ за допомогою діагностичних заходів різновекторного спрямування, вважаємо за доцільне вивчити наявність ХЕ, як імовірного чинника недостатньої ефективності лікування методом запліднення *in vitro* у жінок із репродуктивними розладами.

Мета дослідження. З'ясувати ефективність лікування безпліддя методом запліднення *in vitro* за наявності хронічного ендометриту.

Матеріали й методи дослідження. Проведено ретроспективний аналіз 150 історій хвороб жінок віком 23–41 рік, що лікувалися з приводу неплідності в клініці репродукції людини «Альтернатива».

Лікування безпліддя методом запліднення *in vitro* усім пацієнткам проведено в умовах конфіденційності, за письмово оформленою добровільної згоди пацієнток, детально проінформованих про можливу неефективність спроб (ненастання вагітності) та можливе виникнення ускладнень, навіть за умови суворого дотримання вимог нормативних галузевих документів і медичних стандартів.

Перед початком лікування пацієнток обстежено згідно з наказом МОЗ України № 787 від 09.09.2013 «Про затвердження Порядку застосування допоміжних репродуктивних технологій в Україні». Усім пацієнткам проведено загальне гінекологічне й ультразвукове обстеження органів малого таза, бактеріоскопічний аналіз виділень із піхви, уретри та цервікального каналу, цитологічне дослідження мазків із шийки матки. Крім цього, перед лікуванням методом запліднення *in vitro* застосовано серологічні та специфічні високочутливі методи діагностики ВІЛ-інфекції, сифілісу, гепатитів В і С, інфекцій TORCH-комплексу.

Перед початком лікування у ранню фолікулярну фазу менструального циклу визначено показники гормонального гомеостазу: вміст фолікулостимулювального, лютеїнізувального, тиротропного гормонів, естрадіолу, пролактину, тестостерону в сироватці крові.

Обстежено також чоловіків пацієнток, яких готували до лікування методом запліднення *in vitro*. Визначено групу крові та резус-фактор; інфікованість сифілісом, вірусами гепатитів В і С, ВІЛ.

Схеми стимуляції яєчників обирали індивідуально, беручи до уваги комплекс детермінантних чинників безпліддя, результати ультразвукового та гормонального моніторингу. Для стимуляції супероуляції використовували «короткий» протокол із антагоністами гонадотропін-

рилізінг гормону (антГн-РГ). Дози лікарських засобів для стимуляції супероуляції добирали індивідуально, беручи до уваги вік пацієнток, кількість антральних фолікулів і показники гормонів у сироватці крові на той час. Стимуляцію супероуляції починали з третього дня менструального циклу, здійснивши ультразвуковий моніторинг. У разі появи домінуючого фолікула (фолікулів) діаметром 14,0–15,0 мм призначали лікарські засоби антГн-РГ (але не пізніше сьомого дня стимуляції). Під час ультразвукового моніторингу контрольованої стимуляції яєчників визначали кількість фолікулів, час призначення і вид тригера овуляції.

Для завершення дозрівання ооцитів одноразово внутрішньом'язово вводили 5000,0–10000,0 МО хоріонічного гонадотропіну (ХГ) або агоністи гонадотропін-рилізінг гормону дозою 0,2 мг. Через 35–36 годин від часу введення тригера овуляції для отримання ооцитів проводили пункцію яєчників і аспірацію фолікулярної рідини. Процедуру виконували амбулаторно, в асептичних умовах спеціалізованої малої операційної, трансвагінально, під ультразвуковим і доплерометричним контролем із використанням ультразвукового сканера Samsung Medison SonoAce R3, за допомогою пункційних голок 17 G фірми Origio (Данія). Для ембріотранферу використовували спеціальні катетери фірми Origio (Данія).

Ембріони перенесли на п'ятий день розвитку. Ембріотрансфер (ЕТ) здійснювали в стимульованому циклі або кріоконсервованих ембріонів у наступних після стимульованого циклах.

Результати дослідження та їх обговорення. Серед 150 жінок, що проходили лікування методом запліднення *in vitro*, у 89 (59,3 %) вагітність не настала після першого лікувального циклу запліднення *in vitro*. З метою з'ясувати причини ненастання вагітності перед продовженням лікування крім загальноприйнятих клінічних обстежень 58 пацієнткам (I група) проведено гістероскопію у фолікулярну фазу менструального циклу. 31 пацієнтка (II група) відмовилась від проведення діагностичної гістероскопії. Усім пацієнткам I групи для підтвердження чи спростування діагнозу «хронічний ендометрит» під час гістероскопії проведено біопсію ендометрію із наступним гістологічним та імуногістохімічним дослідженням із визначенням CD138.

За допомогою ІГХД наявність CD138 виявлено у 33 (56,9%) пацієнток I групи, попри те що гістероскопічно ХЕ діагностовано лише у 20 (34,5 %) жінок цієї групи. Усім 33 пацієнткам з верифікованим ХЕ призначено відповідне антибактерійне лікування. Для контролю за ефективністю лікування повторно проведено гістологічне дослідження ендометрію за допомогою пайпель-біопсії у фолікулярну фазу менструального циклу. Відсутність CD138 зафіксовано у 28 (84,8 %) із 33 пролікованих пацієнток.

П'ятьом пацієнткам, у яких під час контрольованого обстеження виявлено наявність CD138 вдруге, призначено повторний курс лікування ХЕ і відтерміновано продовження лікування методом запліднення *in vitro*.

У 25 (43,1 %) пацієнок I групи ХЕ не діагностовано, за допомогою як гістероскопії, так і ПГХД. Пацієнтки продовжили лікування безпліддя методом запліднення *in vitro*.

Жінки досліджуваних груп не різнились щодо віку, протоколів стимуляції, кількості отриманих яйцеклітин і відсотка бластоутворення. Водночас привернуло увагу збільшення частоти ускладненого гінекологічного анамнезу в минулому, а саме – попередні переривання вагітності, позаматкові вагітності, перенесені інфекції, що передаються статевим шляхом, аномальні маткові кровотечі, а також вищий відсоток пацієнок із трубно-перитонеальним чинником безпліддя у групі жінок із верифікованим ХЕ.

Повторне перенесення ембріонів пацієнткам проведено в кріопроколі у всіх випадках. Здійснено перенесення вітрифікованих бластоцист п'ятого–шостого дня культивування.

Клінічну вагітність діагностовано у 19 (67,8 %) із 28 пацієнок, що їх успішно вилікували від ХЕ, у 14 (56,0 %) із 25, у яких під час проведення гістероскопії не виявлено патологічних змін ендометрію, та у 13 (41,9%) із 31, яким не проводили відповідну діагностику після першої негативної спроби перенесення ембріонів у порожнину матки. Найвищого відсотка настання вагітності вдалося досягти у пацієнок без патологічних

змін ендометрію, а саме – у жінок із імуногістохімічно верифікованою відсутністю ХЕ.

Таким чином, підвищення ефективності лікування безпліддя передбачає вчасну діагностику та лікування ХЕ завдяки включенню у перелік обстежень жінок перед початком лікування методом запліднення *in vitro* ПГХД ендометрію з визначенням маркера плазматичних клітин CD138 і усунення виявлених патологічних змін ендометрію у разі потреби.

Висновки. Патологічні зміни ендометрію під час гістероскопії серед жінок із порушенням імплантації виявляють досить часто. Проведення імуногістохімічного дослідження ендометрію з визначенням маркера плазматичних клітин CD138 суттєво підвищує точність верифікації хронічного ендометриту. На ефективність лікування методом запліднення *in vitro* позитивно вплинуло усунення патологічних змін ендометрію, а саме хронічного ендометриту, виявлених під час гістероскопії та імуногістохімічного дослідження.

На результативність лікування методом запліднення *in vitro* впливають численні чинники, подекуди ще нам не відомі. Пошук причин невдач імплантації не припиняється. Залучення більшої кількості пацієнок у дослідження в майбутньому дасть змогу глибше аналізувати отримані результати й удосконалювати існуючі методи лікування.

Список літератури

1. Гаврилюк АМ. Роль HLA-антигенів у порушеннях репродуктивної функції жінки. *Медицинские аспекты здоровья женщины*. 2010;2(29):42–49 (Gavriulyuk AM. The role of HLA antigens in impaired reproductive function of a woman. *Medical Aspects of Woman's Health*. 2010;2:42-49) (Russian)
2. Доброхотова ЮЭ, Сухих ГТ, Озерова РИ. Инфекционно-иммунологические аспекты неразвивающейся беременности: возможности цитокинотерапии в программе реабилитации в раннем послеабортном периоде (обзор литературы). *Проблемы репродукции*. 2006;1:15–20 (Dobrokhotova YE, Sukhyh GT, Ozerova RI. Infectious-immunological aspects of undeveloped pregnancy: opportunities for cytokine therapy in the rehabilitation program in the early post-abortion period (literature review). *Problems of Reproduction*. 2006;1:15-20) (Russian)
3. Дранник ГМ. Імунологія репродукції. Клінічна імунологія та алергологія. Київ: Здоров'я; 2006. 552–582 (Dranik GM. Immunology of reproduction. *Clinical immunology and allergology*. Kyiv: Health; 2006. 552-582) (Ukrainian)
4. Коваленко ЯА, Крутова ВА, Наумова НВ, Чуприненко ЛМ. Эффективность программы экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов у женщин с хроническим неспецифическим эндометритом. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2017;24(6):59–64 (Kovalenko YA, Krutova VA, Naumova NV, Chuprinenko LM. Effectiveness of an extracorporeal fertilization and embryo transfer program in women with chronic non-specific endometritis. *Kuban Scientific Medical Journal*. 2017;24(6):59-64) (Russian) <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2017-24-6-59-64>
5. Сухих ГТ, Шуршалина АВ. Хронический эндометрит. Руководство. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2010. 64 с (Sukhyh GT, Shurshalina AV. Chronic endometritis. *Guidance*. Moscow: GEOTAR-Media; 2010. 64 p.) (Russian)
6. Шмидт АА, Замятин СА, Гончар ИС, Коровин АЕ, Городнюк АЕ, Коцур АВ. Эпидемиология бесплодия в России и за рубежом. *Клиническая патофизиология*. 2019;25(1):9–12 (Schmidt AA, Zamyatin CA, Gonchar IS, Korovin AE, Gorodnyuk AE, Kotsur AV. The epidemiology of infertility in Russia and abroad. *Clinical Pathophysiology*. 2019;25(1):9-12) (Russian)
7. Cicinelli E, Trojano G, Mastromauro M, Vimercati A, Marinaccio M, Mitola PC, Resta L, deZiegler D. Higher prevalence of chronic endometritis in women with endometriosis: a possible etiopathogenetic link. *Fertil Steril*. 2017;108(2):289–295. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.05.016>
8. Haggerty CL, Peipert JF, Weitzen S, Hendrix SL, Holley RL, Nelson DB, et al. Predictors of Chronic Pelvic Pain in an Urban Population of Women With Symptoms and Signs of Pelvic Inflammatory Disease. *Sex Transm Dis*. 2005;32(5):293–299. <https://doi.org/10.1097/01.olq.0000162361.69041.a5>
9. McQueen DB, Perfetto CO, Hazard FK, Lathi RB. Pregnancy outcomes in women with chronic endometritis and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril*. 2015;104(4):927–931. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.06.044>
10. Radzinsky VE, Kostin IN, Petrov Yu A, Polina ML, Gasanova BM. Diagnostic significance of chronic endometritis macrotypes differentiation among women with reproductive losses. *Gynecol Endocrinol*. 2017;33(1 suppl):36–40. <https://doi.org/10.1080/09513590.2017.1399697>
11. Romero R, Espinoza J, Mazor M. Can endometrial infection/inflammation explain implantation failure, spontaneous abortion, and preterm birth after *in vitro* fertilization? *Fertil Steril*. 2004;82(4):799–804. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2004.05.076>
12. Takebayashi A, Kimura F, Kishi Y, Ishida M, Takahashi A, Yamanaka A et al. The association between endometriosis and chronic endometritis. *PLoS One*. 2014;9(2):e88354. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088354>

Стаття надійшла до редакції журналу 13.01.2020 р.

Ефективність лікування безпліддя методом запліднення *in vitro* за наявності хронічного ендометриту

Л. Б. Маркін, Л. І. Сегедій

Вступ. Існують різноманітні методи діагностики ХЕ. Залишається актуальним визначення ефективності використання сучасних методів лікування безпліддя, а саме – запліднення *in vitro* за наявності ХЕ.

Мета. З'ясувати ефективність лікування безпліддя методом запліднення *in vitro* за наявності хронічного ендометриту.

Матеріали й методи. Проведено ретроспективний аналіз 150 історій хвороб жінок віком 23–41 рік, що лікувалися з приводу неплідності в клініці репродукції людини «Альтернатива». У 89 (59,3 %) пацієнток вагітність не настала після першого лікувального циклу запліднення *in vitro*. Для з'ясування причин ненастання вагітності перед продовженням лікування методом запліднення *in vitro* 58 (I група) пацієнткам проведено гістероскопію у фолікулярну фазу менструального циклу. 31 пацієнтка (II група) відмовилась від проведення діагностичної гістероскопії. Усім пацієнткам I групи під час гістероскопії проведено біопсію ендометрію з наступним гістологічним та імуногістохімічним дослідженням із визначенням CD138.

Результати. За допомогою імуногістохімічного дослідження наявність CD 138 виявлено у 33 (56,9 %) пацієнток I групи, попри те що гістероскопічно ХЕ діагностовано лише у 20 (34,5 %) жінок цієї групи. Усім 33 пацієнткам з верифікованим ХЕ призначено відповідне антибактерійне лікування. Для контролю за ефективністю лікування повторно проведено гістологічне дослідження ендометрію за допомогою пайпель-біопсії у фолікулярну фазу менструального циклу. Відсутність CD138 зафіксовано у 28 (84,8 %) із 33 пролікованих пацієнток. У 25 (43,1 %) пацієнток I групи ХЕ не діагностовано.

Повторне перенесення ембріонів пацієнткам проведено в кріопротоколі у всіх випадках.

Клінічну вагітність діагностовано у 19 (67,8 %) із 28 пацієнток, що їх успішно вилікували від ХЕ, у 14 (56,0 %) із 25, у яких під час проведення гістероскопії не виявлено патологічних змін ендометрію, та у 13 (41,9 %) із 31, яким не проводили відповідну діагностику після першої негативної спроби перенесення ембріонів у порожнину матки.

Висновки. Частота виявлення патологічних змін ендометрію під час гістероскопії серед жінок із порушенням імплантації залишається високою. Проведення імуногістохімічного дослідження ендометрію з визначенням маркера плазматичних клітин CD138 суттєво підвищує точність верифікації хронічного ендометриту. На ефективність лікування методом запліднення *in vitro* позитивно вплинуло усунення патологічних змін ендометрію, а саме – хронічного ендометриту, виявлених під час гістероскопії та імуногістохімічного дослідження.

Ключові слова: хронічний ендометрит, безпліддя, імуногістохімічне дослідження ендометрію, запліднення *in vitro*.

Effectiveness of *in Vitro* Fertilization Treatment in the Presence of Chronic Endometritis

L. Markin, L. Shehidi

Introduction. For today, reproductive disorders are an urgent problem not only in Ukraine, but all over the world. Finding out the causes of these conditions is a prerequisite for improving existing treatments. Unfortunately, even using the latest advances in reproductology, it is still not possible to help all patients who go to reproductive medicine clinics to become pregnant and have a healthy full-term baby. There are a lot of ongoing research to improve the effectiveness of *in vitro* fertilization (IVF) treatment. Chronic endometritis (CE) has been the subject of scientific research for many years. Today, there are various methods of diagnosis of CE. They include ultrasound examination, hysteroscopy, histological and immunohistochemical staining for CD138 detection in endometrial tissue. It remains relevant to determine the effectiveness of infertility treatment in the presence of CE in case of *in vitro* fertilization treatment.

The aim of the study. To determine the effectiveness of *in vitro* fertilization treatment in the presence of chronic endometritis.

Materials and methods. A retrospective analysis of 150 case histories of women aged 23 to 41 years treated for infertility was conducted at the Alternative Human Reproduction Clinic. In 89 (59.3 %) patients the pregnancy did not occur after the first treatment cycle of IVF. To find out why pregnancy did not occur, hysteroscopy during the

follicular phase of the menstrual cycle was performed in 58 patients (group I) before continuing IVF treatment. 31 patients (group II) refused to undergo diagnostic hysteroscopy. All patients of group I underwent hysteroscopy with biopsy of the endometrium, followed by histological and immunohistochemical examination with determination of CD138.

Results. Using immunohistochemical examination, the presence of CD138 was detected in 33 (56.9 %) patients of group I, despite the fact that hysteroscopically CE was diagnosed in only 20 (34.5 %) women in the same group. All 33 patients with verified CE were assigned appropriate antibacterial treatment. To control the effectiveness of the treatment, histological examination of the endometrium by pipel biopsy during the follicular phase of the menstrual cycle was performed. The absence of CD138 was recorded in 28 (84.8 %) of the 33 patients after treatment. In 25 (43.1 %) patients of group I, CE were not diagnosed.

For the second IVF attempt, a frozen embryo transfer was performed in all cases.

Clinical pregnancy was diagnosed in 19 (67.8 %) of 28 successfully treated patients with CE, 14 (56.0 %) of 25 who had no abnormal endometrial changes during hysteroscopy and 13 (41.9 %) of the 31 who were not diagnosed with hysteroscopy after the first negative attempt of IVF.

Conclusions. The incidence of abnormal endometrial changes during hysteroscopy in women with impaired implantation remains high. Conducting an immunohistochemical staining of the endometrium with the determination of a marker of plasma cells CD138 significantly increases the accuracy of verification of chronic endometritis. The effectiveness of in vitro fertilization treatment was positively affected by the elimination of pathological changes in the endometrium, namely, chronic endometritis detected during hysteroscopy and immunohistochemical examination.

Keywords: chronic endometritis, infertility, endometrial immunohistochemical staining, IVF.