

Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

На правах рукописи

Щербакова Лия Ниязовна

**НАРУЖНЫЙ ГЕНИТАЛЬНЫЙ ЭНДОМЕТРИОЗ И
РЕПРОДУКТИВНЫЙ ПОТЕЦИАЛ**

Специальность 14.01.01 - Акушерство и гинекология

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научный консультант:
доктор медицинских наук, профессор
О.Б. Панина

Москва - 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	5
ГЛАВА 1. Материалы и методы исследования.....	21
1.1. Дизайн исследования	21
1.2. Материал исследования	30
1.3. Методы исследования	31
ГЛАВА 2. Наружный генитальный эндометриоз. Распространенность.	
Диагностика	38
2.4. Наружный генитальный эндометриоз. Теории возникновения эндометриоза. Причины, приводящие к развитию эндометриоз- ассоциированного бесплодия. Диагностика. (обзор литературы)	38
2.5. Дизайн исследования. Пациенты и методы исследования.....	56
2.6. Распространенность эндометриоза у пациенток с бесплодием	58
2.7. Диагностическая ценность оценки проходимости маточных труб у пациенток с бесплодием	65
2.8. Цитокины и онкомаркеры в диагностике малых форм наружного генитального эндометриоза	68
ГЛАВА 3. Системный и локальный редокс-статус при эндометриоз- ассоциированном бесплодии.....	76
3.1. Роль окислительного стресса в развитии эндометриоз-ассоциированного бесплодия (обзор литературы).....	76
3.2. Дизайн исследования. Пациенты и методы исследования.....	92
3.3. Антиоксидантный профиль плазмы крови и перитонеальной жидкости у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием.....	95
3.4. Редокс-статус в эндометриоидной кисте и ее окружении.....	104
ГЛАВА 4. Лапароскопия в лечении эндометриоз-ассоциированного бесплодия	116

4.1. Медикаментозное и хирургическое лечение пациенток с наружным генитальным эндометриозом (обзор литературы).....	116
4.2. Дизайн исследования. Материалы и методы исследования	125
4.3. Эффективность хирургического лечения эндометриоз-ассоциированного бесплодия	129
4.4. Системный и локальный антиоксидантный профиль и наступление беременности	138
ГЛАВА 5. Прединдикторы наступления самопроизвольной беременности при эндометриоз-ассоциированном бесплодии	144
5.1. Прогностические шкалы наступления самопроизвольной беременности у пациенток с наружным генитальным эндометриозом (обзор литературы).....	144
5.2. Дизайн исследования. Материалы и методы исследования	152
5.3. Факторы, влияющие на восстановление естественной фертильности после проведенного хирургического лечения эндометриоз-ассоциированного бесплодия	158
5.4. Роль прегравидарной подготовки у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием.....	177
ГЛАВА 6. ЭКО у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием	184
6.1. Особенности процедуры ЭКО у пациенток с наружным генитальным эндометриозом (обзор литературы)	184
6.2. Дизайн исследования. Материалы и методы исследования	200
6.3. Эффективность ЭКО у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием.....	207
6.4. Показатели оксидантно-антиоксидантного профиля фолликулярной жидкости у пациенток в цикле ЭКО по поводу эндометриоз-ассоциированного бесплодия	214

ГЛАВА 7. Особенности течения беременности у пациенток с верифицированным эндометриозом.....	224
7.1. Влияние эндометриоза на течение и исход беременности: материнские и плодовые осложнения (обзор литературы)	224
7.2. Дизайн исследования. Материалы и методы исследования	233
7.3. Течение беременности, родов и перинатальные исходы у пациенток с наружным генитальным эндометриозом	236
Заключение	250
Выводы	254
Практические рекомендации.....	256
Список сокращений	258
Список литературы	260

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Без всякого сомнения одним из основных вызовов современной гинекологии в целом и репродуктологии в частности является проблема infertility. Несмотря на огромные успехи вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), количество остающихся бесплодными пар в промышленно развитых странах не уменьшается.

Одним из значимых факторов женского бесплодия является эндометриоз [36, 68]. Патофизиологически эндометриоз является хроническим асептическим воспалительным состоянием, которое очень часто сопряжено со снижением фертильности [1, 135, 356]. Распространенность эндометриоза у пациенток с бесплодием оценивается по данным различных исследователей от 25 до 40% [4, 199, 200]. Между тем, эндометриоз до сих пор остается «загадочным» заболеванием. Его патогенез и механизмы, приводящие к развитию бесплодия, продолжают активно изучаться во всем мире. В литературе освещаются вопросы, касающиеся этиологии и патогенеза эндометриоза, классификации, диагностики, выбора тактики ведения пациенток с различными формами эндометриоидной болезни [5, 6, 26, 62, 112, 121, 157, 206, 217, 297, 362].

Восстановление репродуктивной функции у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием представляет серьезную проблему для гинекологов. Связано это с многофакторным и многогранным влиянием эндометриоза на фертильность. Эндометриоз может существовать в различных формах, от нескольких имплантатов на тазовой брюшине до обширного спаечного процесса, двустороннего поражения яичников и инфильтрации соседних органов [109]. Долгое время предполагалось, что клинические проявления (боль, бесплодие) эндометриоза коррелируют со степенью его распространенности. Однако тяжелые инфильтративные формы с поражением параметральной клетчатки и вовлечением в этот процесс мочеточника или даже большие эндометриодные кисты яичников долгое время могут протекать бессимптомно, а манифестировать с признаков об-

струкции мочеточника или с разрыва эндометриоидной кисты [154, 172]. Известны также и единичные наблюдения самопроизвольного наступления беременности у пациенток с эндометриоидными кистами яичников, с поражением ректовагинальной клетчатки, тогда как во множестве ситуаций наличие всего несколько эндометриоидных гетеротопий на тазовой брюшине приводит к бесплодию [24, 55, 157, 271]. И если очевидно, что распространенный процесс с адгезивным поражением малого таза может привести к бесплодию из-за анатомо-топографических нарушений, то при отсутствии серьезных механических препятствий при умеренном эндометриозе, необходимо рассмотреть альтернативные механизмы развития эндометриоз-ассоциированного бесплодия [4, 27, 37, 96, 233, 271]. Эти же патогенетические механизмы, приводящие к развитию бесплодия при эндометриозе, могут стать и причиной неудач в программах ВРТ [59, 130, 354, 368].

По сути НГЭ затрагивает все звенья, определяющие репродуктивный потенциал (Рисунок 1).

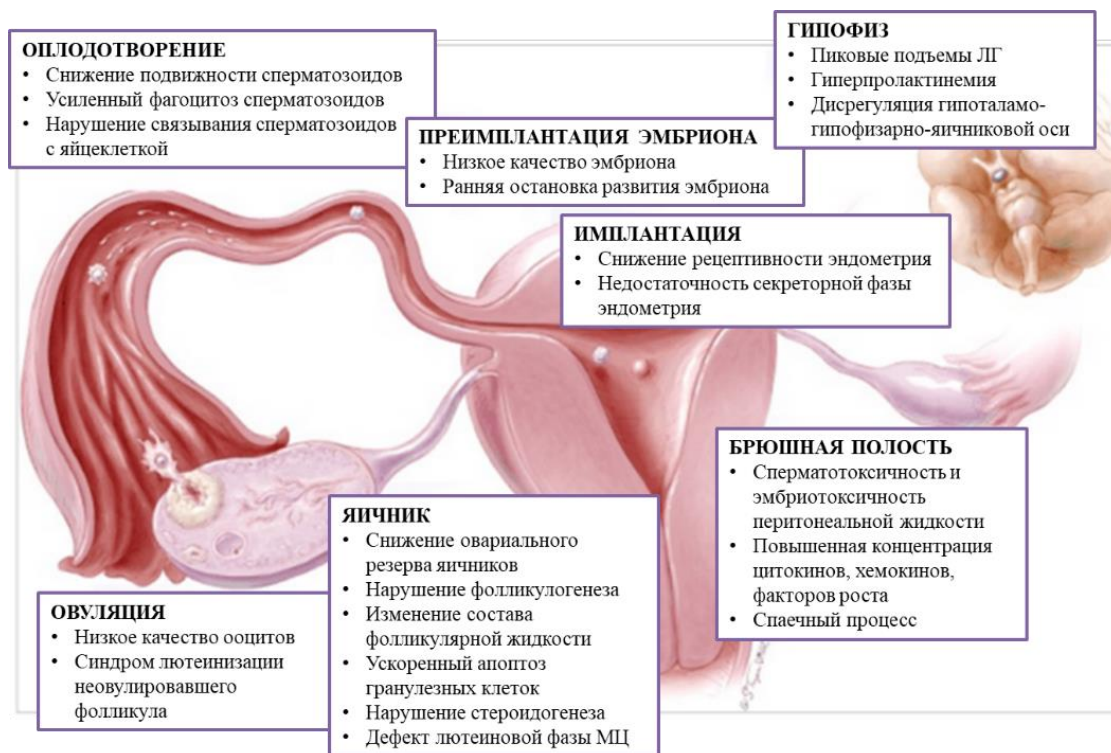


Рисунок 1 - Причины развития эндометриоз-ассоциированного бесплодия (источник: <https://www.preventmiscarriage.com/> с изменениями).

У пациенток с эндометриозом выявляются нарушения на системном уровне, выражающиеся в дисрегуляции гипоталамо-гипофизарно-яичниковой оси. Большой вклад в развитие эндометриоз-ассоциированного бесплодия вносят нарушения процессов созревания фолликулов, овуляции и дисфункция желтого тела [99, 190, 333]. Снижение вероятности оплодотворения связано с локальными изменениями в полости малого таза и составе перитонеальной жидкости, приводящие к сперматотоксичности, затруднениям слияния сперматозоида и яйцеклетки [144, 267, 316, 325]. Преимплантационные потери связаны с низким качеством эмбрионов, а снижение рецептивности эндометрия приводят к нарушению процессов имплантации [250, 292, 304]. То есть эндометриоз является своего рода «оккупантом» в организме – размножаясь, подавляет единственную функцию, которая может его излечить – беременность.

В настоящее время причины, приводящие к развитию эндометриоз-ассоциированного бесплодия, рассматриваются на клеточном и молекулярном уровнях. Известно, что эндометриоз сопровождается развитием хронического воспаления в брюшной полости с привлечением большого количества лейкоцитов [254, 257, 325, 337]. Многочисленные клетки воспалительного ответа секретируют различные провоспалительные медиаторы: цитокины, хемокины, факторы роста, активные формы кислорода (АФК), что в свою очередь вызывает нарушение свободно-радикального гомеостаза в брюшной полости [5, 21, 38, 121, 219, 258, 280]. Прогресс в области молекулярной медицины постепенно приводит ученых к новому пониманию роли свободных радикалов в жизнедеятельности клетки, ткани, органа и организма в целом. Свободные радикалы являются участниками многих сигнальных путей, в частности служат триггером гибели клетки с поврежденной ДНК, а в некоторых ситуациях наоборот, обеспечивают их выживаемость [13, 73, 84, 353].

Многие годы в качестве единственного патологического состояния, сопровождающегося выработкой большого количества свободных радикалов и сниженной продукцией антиоксидантов, рассматривался окислительный стресс [13, 20, 127, 258]. По сути, окислительный стресс является финальным «аккордом» жиз-

недеятельности каждой клетки. Однако в настоящее время оксидативный стресс не должен рассматриваться исключительно как патологический процесс, потому что как только в клетке возникает риск потери интактности ДНК, то вступает в действие принцип, определенный В.П. Скулачевым [84] как "самурайский закон биологии": "Лучше умереть, чем ошибиться", то есть любая клетка готова к самоликвидации ради сохранения целостности организма. Точно также повышенный уровень антиоксидантов не всегда является прогностически благоприятным фактором, так как он отражает компенсаторную активацию антиоксидантной системы на увеличение свободных радикалов и может позволять клеткам с нарушениями ДНК и других программ высокой степени сложности избежать гибели [19, 73, 270, 353].

Представляется более важным комплексное изучение процессов, отражающих не только выраженный дисбаланс – окислительный стресс, но и изменения, происходящие во взаимоотношениях оксиданты-антиоксиданты без повреждения и реализующих модуляцию сигнальных путей и эпигенетических механизмов [121, 169, 233]. При данном подходе значимым становятся любые изменения в свободно-радикальной системе как в сторону повышения прооксидантов, так и в сторону антиоксидантов, так как запускают целый каскад событий с участием цитокинов и факторов роста [73]. В некоторых ситуациях эти процессы становятся виновниками формирования «порочных кругов» и накопления мутаций в клетке, что в конечном итоге может приводить к развитию злокачественных процессов [219, 383].

Данные нарушения можно обозначить как свободно-радикальный дисбаланс, и этот подход дал нам новое понимание процессов, происходящих в жизнедеятельности организма в физиологических условиях и при развитии патологии. Этот принцип применим для изучения роли в развитии бесплодия изменений оксидантно-антиоксидантного статуса у пациенток с наружным генитальным эндометриозом (НГЭ). В данной работе нами рассмотрены свободно-радикальные процессы, происходящие как на системном уровне (в плазме крови), так и на локальном: в перитонеальной жидкости, в эндометриоидной кисте и ее окружении, в

фолликулярной жидкости. Эти знания могут в дальнейшем быть использованы для диагностики малых форм НГЭ и определения тактики ведения пациенток в зависимости от параметров свободно-радикального гомеостаза.

Степень разработанности темы исследования

Разработка наиболее эффективных методов диагностики причин женского бесплодия занимает одно из ведущих мест в современной гинекологии. Одной из причин женского бесплодия является НГЭ с «бессимптомным» течением, единственным проявлением которого является бесплодие [4, 36, 135, 322, 326]. Нередко пациенток с нормальным уровнем гормонов, отсутствием патологии со стороны органов малого таза по данным трансвагинальной эхографии и с нормозооспермией у партнера относят в группу бесплодия неясного генеза, и вопрос о необходимости проведения им диагностической лапароскопии для исключения эндометриоза вызывает много дискуссий. На сегодняшний день использование измерения уровня про- и антиоксидантов для выявления НГЭ не представляется возможным в связи с отсутствием соответствующих тест-систем, а существующие подходы основаны на маркерном уровне, основным недостатком которого является нестабильность маркеров и их превращение в метаболиты в процессе отбора и хранения пробы. В связи с этим возможно использование для диагностики НГЭ провосполительных цитокинов, тесно связанных с АФК [68, 86, 87, 223, 297].

В литературе широко обсуждается роль лапароскопии в преодолении эндометриоз-ассоциированного бесплодия [26, 33, 48, 116, 308]. Целесообразность и эффективность оперативного лечения пациенток с бесплодием и НГЭ рассматривается как правило в исследованиях «случай-контроль», а выводы делаются по результатам проведенных мета-анализов. Однако исследования такого рода не отвечают на вопрос: каким же образом происходит восстановление естественной фертильности после проведенной лапароскопии? Мы предполагаем, что важное значение в этом может иметь восстановление свободно-радикального гомеостаза в брюшной полости и особенно в полости малого таза.

В проблеме эндометриоз-ассоциированного бесплодия немаловажную роль также играет и снижение овариального резерва у пациенток с эндометриоидными кистами яичников. Характер патофизиологических изменений в ткани яичника под воздействием эндометриоидной кисты изучен недостаточно. При этом оптимальный подход к лечению эндометриоидных кист яичника в настоящее время остается предметом активной научной дискуссии, поскольку существует множество подтверждений того, что хирургическое удаление кисты крайне негативно сказывается на овариальном резерве и, как следствие, на репродуктивном потенциале яичника [32, 60, 102, 133, 319, 343]. Возможное токсическое влияние эндометриоидной кисты на окружающую здоровую ткань яичника изучено очень мало, и не рассматривается врачом при принятии решения о проведении операции или выборе выжидательной тактики. С другой стороны, в литературе приводятся данные, подтверждающие повреждение яичника ещё до оперативного вмешательства [27, 32, 66, 230, 231, 237]. Немаловажную роль в этом могут играть свободные радикалы. Мы изучили оксидантно-антиоксидантные взаимоотношения в контексте снижения репродуктивного потенциала яичника, определили источники АФК в ткани яичника, пораженного эндометриозом и механизм, посредством которого реализуется негативное влияние свободных радикалов.

У ряда пациенток с НГЭ единственным вариантом достижения беременности является применение ВРТ. В литературе приводятся данные о повышенной частоте неудач ЭКО у больных эндометриозом [48, 59, 124, 130, 202, 207]. Отсутствие понимания физиологических механизмов, происходящих при созревании ооцита, и во многом определяющих его последующую способность к оплодотворению, делает труднообъяснимым снижение частоты наступления беременности в цикле ЭКО у пациенток с НГЭ. В последние годы увеличилось количество работ, посвященных связи качества эмбрионов с показателями окислительного стресса в фолликулярной жидкости [106, 221, 298, 310]. Однако исследования, описывающие свободно-радикальный гомеостаз фолликулярной жидкости в зависимости от наличия эндометриоза и схемы стимуляции суперовуляции немногочисленны [122, 158]. Нами была предпринята попытка определения факторов, воздействие

которых может изменять оксидантно-антиоксидантный профиль фолликулярной жидкости.

Таким образом, все вышеизложенное обусловило формулировку цели и постановку задач исследования.

Цель исследования: создать современную концепцию восстановления репродуктивной функции пациенток с наружным генитальным эндометриозом с учетом степени его тяжести, на основании изучения патогенеза нарушений оксидантно-антиоксидантного баланса и выявлении факторов, влияющих на фертильность.

Задачи исследования:

1. Изучить значение нарушений локального (перитонеальная жидкость) и системного (плазма крови) антиоксидантного профиля в патогенезе различных стадий наружного генитального эндометриоза.
2. Уточнить значимость изменений антиоксидантного профиля в перитонеальной жидкости и плазме крови при бесплодии, обусловленном наружным генитальным эндометриозом.
3. Определить источники активных форм кислорода в стенке и содержимом эндометриоидной кисты различных размеров и выявить механизмы антиоксидантной защиты в прилежащей к кисте ткани яичника.
4. Изучить наличие и частоту окислительного стресса в фолликулярной жидкости пациенток с бесплодием, обусловленным наружным генитальным эндометриозом, проходящих лечение в программе ЭКО.
5. Дать научное обоснование применяемым схемам стимуляции суперовуляции и используемым анестетикам в программе ЭКО при эндометриоз-ассоциированном бесплодии с учетом показателей оксидантно-антиоксидантного профиля фолликулярной жидкости.
6. Оценить эффективность восстановления естественной фертильности после хирургической коагуляции поверхностных очагов эндометриоза на тазовой брюшине, иссечения глубоких эндометриоидных имплантов и удаления эн-

дометриоидных кист яичников в отсутствие прегравидарной подготовки и при ее проведении.

7. На основании определения исходного локального антиоксидантного профиля (перитонеальная жидкость) выявить частоту наступления беременности после хирургической коагуляции поверхностных очагов эндометриоза на тазовой брюшине, иссечения глубоких эндометриоидных имплантов и удаления эндометриоидных кист яичников.

Научная новизна

Проведено изучение механизмов, приводящих к бесплодию у пациенток с НГЭ с позиций, отражающих не только окислительный стресс, но и изменения, происходящие во взаимоотношениях оксиданты-антиоксиданты без повреждения и реализующих модуляцию сигнальных путей и эпигенетических механизмов. Свободно-радикальные процессы, происходящие при НГЭ и приводящие к развитию бесплодия, были рассмотрены как на системном уровне (в плазме крови), так и на локальном: в перитонеальной жидкости, в эндометриоидной кисте и ее окружении, в фолликулярной жидкости. Был применен новый подход выявления оксидантно-антиоксидантных взаимоотношений, основанный не на изучении отдельных маркеров повреждения окислительным стрессом ДНК, белков и липидов, а на исследовании обширной совокупности реакций с участием свободных радикалов, описываемых кривыми хемилюминесценции.

Изучение антиоксидантного профиля (а не отдельных показателей) перитонеальной жидкости показало, что при распространенных формах НГЭ наблюдалось повышение параметров антиоксидантной защиты. Изменение локального антиоксидантного профиля в сторону активации антиоксидантной защиты, по-видимому, носили компенсаторный характер, вследствие повышенной выработки прооксидантов. Полученные данные позволили обосновать роль свободно-радикальных нарушений в распространении (или прогрессировании) НГЭ: эффективная антиоксидантная функция могла замедлить гибель клеток эктопического эндометрия и привести к формированию «порочного круга»: большее количество

эндометриоидных имплантов продуцировало большее количество АФК, что вызывало активацию антиоксидантной защиты и «выживаемость» клеток под действием сублетальных концентраций АФК.

Впервые в России с позиций свободно-радикального дисбаланса, играющего ключевую роль в патогенезе эндометриоз-ассоциированного бесплодия, была обоснована эффективность хирургического лечения эндометриоза. Было показано, что у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием наблюдаются изменения редокс-статуса как в сторону снижения антиоксидантной защиты в плазме крови и перитонеальной жидкости, так и повышения уровня антиоксидантов (патент № 2599019). При этом беременность после проведенной лапароскопии чаще наступала у пациенток с исходно измененным антиоксидантным профилем (как в сторону снижения антиоксидантов, так и их повышения). Тогда как у пациенток, у которых беременность не наступила, исходно показатели антиоксидантной активности были в пределах референтных значений.

К развитию бесплодия приводили и свободно-радикальные изменения в фолликулярной жидкости. При этом применение во время ЭКО схем стимуляции суперовуляции с агонистами гонадотропин релизинг-гормона усугубляло окислительный стресс в микроокружении ооцита, что объясняет относительно большую эффективность коротких протоколов у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием. Было показано увеличение антиоксидантной емкости фолликулярной жидкости при использовании севофлурана за счет эффекта preconditionирования.

Была проведена комплексная оценка окислительно-антиоксидантных взаимоотношений в яичнике, содержащем эндометриоидную кисту: изучен прооксидантный профиль содержимого эндометриоидной кисты, изменения антиоксидантного статуса стенки эндометриоидной кисты и тканей, прилежащих к ней. Было установлено, что содержимое кисты является сильным прооксидантом (на порядок сильнее гемоглобина), способным инициировать свободно-радикальный дисбаланс в микроокружении эндометриоидной кисты. Для устранения редокс-дисбаланса в эктопических эндометриальных клетках стенки эндометриоидной

кисты, которые подвергались атаке АФК, происходит увеличение «запаса» НАДН-зависимой цитохром b5-редуктазы в стенке эндометриоидной кисты, однако ее активность остается недостаточной для свободных радикалов. Истощение резервов антиоксидантной защиты, по-видимому, приводит к проникновению АФК через стенку эндометриоидной кисты и атаке здоровой ткани яичника, тем самым запуская цитохром c активированную гибель митохондрий в микроокружении эндометриоидной кисты яичника, вызывающую апоптоз и возникновение фиброза и как следствие снижение овариального резерва.

Повышению рецептивности эндометрия, а следовательно эффективности восстановления репродуктивной функции, способствовала комплексная прегра-видарная подготовка, проводимая по индивидуально подобранным схемам (патент (№2597845)

Теоретическая и практическая значимость работы

Предложен алгоритм ведения пациенток с бесплодием, обусловленным НГЭ. Была выявлена недостаточность критериев, на основании которых проводилась предоперационная верификация НГЭ: установлено, что распространенность НГЭ превышала прогнозируемый до операции уровень более чем в 2 раза. Доказана нецелесообразность применения неинвазивных методов диагностики оценки проходимости маточных труб (гистеросальпингографии и эхогидросонографии) у пациенток с бесплодием в связи с низкой специфичностью данных методик и невозможностью выявления НГЭ как ведущей причины первичного бесплодия. Для диагностики малых форм эндометриоза было предложено совместное исследование уровней цитокина ИЛ-6 и онкомаркера СА-125, которое позволило верифицировать НГЭ I-II стадий с чувствительностью 93% и специфичностью 88%.

На основании данных клинического обследования, сохранности овариального резерва были уточнены факторы, способствующие наступлению самопроизвольной и индуцированной беременности у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием. Было установлено, что шанс наступления самопроизвольной беременности снижался при возрасте женщин более 32 лет, с дли-

тельностью инфертильности более 3 лет, с двусторонней локализацией эндометриoidных кист, при удалении эндометриoidных кист более 6 см, при сниженных показателях овариального резерва по данным УЗИ и гормонального исследования, при нарушениях внутриматочной перфузии. Было показано, что прогностически благоприятным ультразвуковым критерием наступления самопроизвольной беременности после удаления эндометриoidных кист является наличие доминантного фолликула и количество антральных фолликулов более 5. Важное значение для прогнозирования наступления беременности имеет определение интенсивности кровотока в сосудистом «древе» матки. На основании определения показателей гормонального профиля определены критерии наступления беременности: практически не возможно наступление самопроизвольной беременности при уровнях ФСГ более 12 МЕ/мл и АМГ менее 0,5 нг/мл. Шанс наступления самопроизвольной беременности повышается при АМГ более 2нг/мл, прогностические сложности наблюдались в диапазоне АМГ 0,9-1,2 нг/мл.

Наступлению самопроизвольной беременности после оперативного лечения по поводу эндометриоз-ассоциированного бесплодия способствовали тщательная коагуляция и иссечение всех эндометриoidных гетеротопий и бережная энуклеация эндометриoidных кист в сочетании с проведением прегравидарной подготовки. Частота самопроизвольного наступления беременности после лапароскопической операции и проведения прегравидарной подготовки увеличилась в 1,7 раза с 30,6% у пациенток в отсутствии гормональной и вазоактивной терапии до 53,6% при применении прегравидарной подготовки.

В работе были уточнены критерии для проведения ВРТ у пациенток с НГЭ. Было показано, что наибольшая частота наступления беременности наблюдалась у пациенток с I-II стадиями эндометриоза с длительностью бесплодия менее 3 лет и при пункции более 8 ооцитов; тогда уменьшение эффективности ЭКО было выявлено при сниженных показателях овариального резерва по данным УЗИ и гормонального исследования, сопровождающихся более бедным ответом яичников на стимуляцию суперовуляции. Частота наступления клинической беременности при ЭКО по поводу эндометриоз-ассоциированного бесплодия составила 40,4%.

При этом повышение эффективности ЭКО возможно при использовании коротких схем стимуляции суперовуляции с антагонистами гонадотропин релизинг-гормона использовании в качестве препарата для анестезии севофлурана и переносе витрифицированных ооцитов.

Методология и методы исследования

Методология исследования включала оценку эффективности хирургических и консервативных мероприятий, а также применение программ ЭКО в восстановлении репродуктивной функции пациенток с наружным генитальным эндометриозом и оценку значимости нарушений оксидантно-антиоксидантного баланса в патогенезе НГЭ. Исследование выполнено с соблюдением принципов доказательной медицины. Произведен отбор больных и статистическая обработка результатов. Проведена оценка отдаленных результатов лечения с использованием инструментальных методов исследования и анкетирования.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту

1. Комбинированное исследование уровней ИЛ-6 и СА-125 позволяет повысить качество неинвазивной диагностики ранних стадий НГЭ. Скрининг-методы оценки проходимости маточных труб (гистеросальпингография, эхогидросальпингография) у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием не показана в силу низкой информативности.

2. Наступлению беременности при НГЭ препятствует как недостаток, так и избыток антиоксидантов на системном и локальном уровнях. Повышение уровня антиоксидантов в перитонеальной жидкости, имеет важное значение в прогрессировании эндометриоза.

3. Ключевую роль в снижении овариального резерва при эндометриоидных кистах играет ее содержимое, являющееся источником свободных радикалов, нейтрализация которых происходит, в том числе за счет активации НАДН-зависимой цитохром b5-редуктазы. При исчерпании резервов антиоксидантной

защиты в микроокружении эндометриоидной кисты яичника запускаются механизмы, приводящие к снижению овариального резерва.

4. Частота наступления беременности у пациенток с НГЭ при адекватно проведенном хирургическом лечении и назначении прегравидарной подготовки не зависит от степени распространенности патологического процесса.

5. Факторами, неблагоприятно влияющими на фертильность у пациенток с НГЭ являются возраст более 32 лет, длительность инфертильности более 3 лет, двусторонняя локализация эндометриоидных кист, удаление эндометриоидных кист более 6 см, сниженные показатели овариального резерва. Проведение прегравидарной подготовки у таких пациенток позволяет повысить частоту наступления беременности в 1,7 раза.

6. Свободно-радикальные изменения в микроокружении ооцита, главным образом в белковом звене, приводят к развитию бесплодия. Применение схем стимуляции суперовуляции с агонистами гонадотропин релизинг-гормона усугубляет окислительный стресс в фолликулярной жидкости. Использование севофлурана повышает антиоксидантную емкость фолликулярной жидкости за счет эффекта preconditionирования.

Степень достоверности результатов исследования

Достоверность данных исследования подтверждается достаточным количеством пациенток, включенных в исследование, используемыми методами исследования, соответствующим цели и задачам исследования. Статистическая обработка данных проводилась с помощью методов параметрической и непараметрической статистики. Проверка нормальности распределения осуществлялась согласно расчету критерия Шапиро-Уилка. Для статистически значимого определения достоверности различий в двух независимых выборках рассчитывался t-критерий Стьюдента при нормальном распределении и U-тест Манн-Уитни при распределении, отличном от нормального. Для оценки различий качественных признаков рассчитывался критерий хи-квадрат. При малых объемах выборок пациенток вычислялся точный критерий Фишера. Определение порогового значения

количественных данных проводилось с помощью построения ROC-кривых. При этом принимали во внимание, что если площадь под ROC-кривой составляла 0,9-1,0 – то диагностическая ценность признака была очень высокой, если площадь была равна 0,5-0,6 – то неудовлетворительной. Определение диагностической значимости диагностических методов проводилось путем вычисления их чувствительности и специфичности, а также критериев правдоподобия. Для определения прогностически значимых критериев вычислялось отношение шансов (ОШ), достоверными принимались значения, если границы 95% доверительный интервал (ДИ) не содержали 1,0. В качестве критического уровня значимости был принят $p < 0,05$ (доверительный интервал 95%). Выводы и практические рекомендации закономерно вытекают из результатов исследования и подтверждают положения, выносимые на защиту.

Апробация диссертации

Основные положения научно-исследовательской работы доложены и обсуждены на: 1-м Национальном конгрессе по регенеративной медицине (4-6 декабря 2013, Москва), XI Всемирном конгрессе перинатальной медицины (19-23 июня 2013, Москва), 24-м ежегодном конгрессе Европейского общества гинекологической эндоскопии (7-10 октября 2015, Будапешт, Венгрия), XI Международном конгрессе по репродуктивной медицине (17-20 января 2017, Москва), 8-й Международной конференции «Перинатальная медицина: новые технологии и междисциплинарные подходы» (13-14 октября 2017, Екатеринбург), конференции с мастер-классом «Продвинутая междисциплинарная лапароскопическая хирургия» (23-24 октября 2017, Москва), научно-практической конференции «Кислород и свободные радикалы» (15-16 мая 2018 Гродно, Беларусь), XII Международном конгрессе по репродуктивной медицине (16-19 января 2018, Москва), XIII Международном конгрессе по репродуктивной медицине (21-24 января 2019, Москва), Первом национальном конгрессе с международным участием ЛАБРИН (22-23 апреля 2019, Москва), XXXII Международном конгрессе с курсом эндоскопии «Но-

вые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний» (4-7 июня 2019).

Апробация диссертации состоялась на совместной научно-практической конференции сотрудников кафедры акушерства и гинекологии факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО МГУ имени М.В. Ломоносова, сотрудников кафедры акушерства и гинекологии педиатрического факультета ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России и врачей ГБУЗ «Центр планирования семьи и репродукции» Департамента здравоохранения г. Москвы (ЦПСИР).

Личный вклад автора

Идея диссертационной работы и ее реализация принадлежит автору, а именно углубленный анализ отечественной и зарубежной литературы, планирование научной работы, разработка подходов, доказательство взаимосвязей, сбор клинического материала (самостоятельное выполнение и ассистенция эндоскопических операций, ведение пациенток в пред-, послеоперационном периоде, на этапе планирования беременности), анализ и интерпретация клинических, лабораторных и инструментальных данных, их систематизация, статическая обработка и описание полученных данных, написание и оформление основных публикаций по теме диссертации.

Соответствие диссертации паспорту научной деятельности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.01.01 – Акушерство и гинекология. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 3, 4, 5 паспорта акушерство и гинекология

Реализация и внедрение полученных результатов в практику

Разработанные и усовершенствованные алгоритмы к ведению пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием внедрены в работу гинекологического и консультативно-диагностического отделений ГБУЗ «Центр планирования семьи

и репродукции» Департамента здравоохранения г. Москвы и «Медицинский научно-образовательного центр» Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. Результаты работы используются в процессе обучения студентов 4-6 курсов, ординаторов и аспирантов факультета фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 24 работы, из них 10 в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, 3 в Scopus, 9 тезисов докладов на международных и российских конференциях, а также в 2 патентах на изобретение, зарегистрированных в Госреестре РФ.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 299 страницах печатного текста, построена в монографическом стиле, состоит из введения, 6 глав собственных результатов, каждая из которых является самостоятельным законченным исследованием, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 392 источника, и содержит 38 таблиц и 64 рисунка.

ГЛАВА 1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1.1. Дизайн исследования

Исследование проводилось в несколько этапов. Экспериментальная часть работ была посвящена изучению системного (в плазме крови) и локального (в перитонеальной и фолликулярной жидкости) редокс-статуса у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием. Далее были рассмотрены возможности клинической, инструментальной и лабораторной диагностики НГЭ; была оценена эффективность хирургического лечения эндометриоз-ассоциированного бесплодия и выявлены предикторы самопроизвольного наступления беременности и эффективности программы ЭКО. Также в исследовании нашло отражение описание течения беременности у пациенток с НГЭ.

В настоящем исследовании был применен комплексный подход. Нарушения, приводящие к развитию эндометриоз-ассоциированного бесплодия, были изучены как на системном уровне (изменения цитокинового и антиоксидантного статуса в плазме крови), так и на локальном уровне (изменения свободно-радикального гомеостаза в перитонеальной жидкости, микроокружении эндометриoidной кисты, фолликулярной жидкости). Нами был рассмотрен алгоритм ведения пациенток, начиная с диагностики малых форм эндометриоза до определения оптимальной тактики, способствующей наступлению беременности. Однако данный комплексный подход сформировался постепенно, по итогу нескольких этапов исследований. А задачи этих исследований, по существу, определялись практической деятельностью, и их результаты были направлены на решение проблем, возникающих при лечении пациенток с НГЭ. Таким образом, данная диссертация позволила на данном этапе развития медицинской науки решить проблему восстановления репродуктивной функции у пациенток с НГЭ с позиций восстановления свободно-радикального баланса, как одного из ключевых элементов патогенеза infertility при данном заболевании.

Исследование началось в 2011 году с установления «истинных» причин первичного и вторичного бесплодия у пациенток, оперированных в гинекологиче-

ском отделении Центра планирования семьи и репродукции Департамента здравоохранения г. Москвы (ЦПСиР). В тот период времени в ЦПСиР около 700 пациенток в год были оперированы по поводу бесплодия, а НГЭ встречался у каждой четвертой прооперированной пациентки с гинекологической патологией. Однако частота НГЭ именно у пациенток с бесплодием в силу особенностей статистического анализа оставалась не известной. В тоже время по литературным данным того периода основными причинами бесплодия являлись – нарушение репродуктивной функции женщины (42-65%), мужчины (5-6%), обоих супругов (27-48%). Наиболее частыми причинами женской инфертильности считались трубно-перитонеальное бесплодие (37%), эндокринная дисфункция (18-27%), при этом частота НГЭ при бесплодии варьировала в очень широких пределах от 1% до 27% [14]. В связи с этим на начальном этапе исследования нами были сопоставлены пред- и послеоперационные диагнозы у пациенток с первичным и вторичным бесплодием. Установлено, что основным направительным диагнозом на лапароскопию у пациенток как с первичным, так и с вторичным бесплодием являлось трубно-перитонеальное бесплодие (ТПБ). А после операции оказалось, что ведущей причиной первичного бесплодия является НГЭ, его частота была недооценена на предоперационном этапе и что распространенность НГЭ превышала выявленный эндометриоз до операции более чем в 2 раза. Нами были проанализированы критерии, на основании которых проводилась предоперационная верификация диагноза. Основным анамнестическим симптомом для установления хронического сальпингоофрита и тесно связанного с ним ТПБ, являлись хронические тазовые боли, хотя известно, что наиболее частой причиной болевого синдрома в малом тазу у пациенток молодого возраста является НГЭ. Кроме того, до операции диагноз ТПБ был верифицирован на основании выявления непроходимости маточных труб по данным неинвазивных методов.

В связи с этим далее нами была оценена диагностическая ценность гистеросальпингографии и эхогидросонографии. Было установлено, что оба метода обладают высокой чувствительностью, то есть у пациенток с проходимыми трубами по данным инструментального метода обследования интраоперационно контраст

также свободно поступал в маточные трубы. Однако как гистеросальпингография, так и эхогидросонография характеризовались низкой специфичностью, то есть при использовании данных методик имела место значительная гипердиагностика патологии маточных труб. Полученные результаты позволили выявить еще одну проблему. Пациентки с проходимыми маточными трубами по данным предоперационной оценки по большому счету не имели серьезных оснований для проведения лапароскопии и в ряде клиник им отказывали в операции в связи с «отсутствием показаний». Можно сказать, что пациенткам, у которых была выявлена непроходимость маточных труб по данным гистеросальпингографии «повезло», так как это послужило критерием для врача женской консультации для верификации ТПБ и направления пациентки на оперативную лапароскопию.

Эти результаты определили следующую задачу исследования: оптимизацию неинвазивной диагностики малых форм НГЭ. Известно, что возможности диагностики данного заболевания во многом определяются степенью его распространенности. Не вызывает особых трудностей диагностика тяжелых форм эндометриоза, эндометриoidных кист, выявление которых возможно и клиническими, и инструментальными (трансвагинальная эхография, магнитно-резонансная томография) методами исследования. При этом диагностика малых форм эндометриоза представляет существенные трудности. Одним из маркеров НГЭ нами было выбрано исследование онкомаркеров СА-125 и СА-19.9, определение которых широко распространено в клинической практике. Оказалось, что данные маркеры достоверно повышены при тяжелых формах эндометриоза по сравнению с группой контроля, однако нам необходимо было диагностировать НГЭ I-II стадий. Исследование провоспалительных цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-8 показало их повышение как при НГЭ I-II стадии так и III-IV стадии по сравнению с контролем. Статистический анализ установил, что совместное исследование ИЛ-6 и СА-125 позволяет выявить малые формы НГЭ с чувствительностью 93% и специфичностью 88%.

Проведенный подробный анализ в отношении генеза бесплодия у прооперированных пациенток повлек за собой ряд исследований в отношении эффективности оперативного лечения бесплодия. В связи с тем, что ранее нами были об-

следованы пациентки с ТПБ и синдромом поликистозных яичников (СПКЯ), то для изучения частоты наступления беременности были сформированы такие же группы пациенток. Было установлено, что лапароскопия является высокоэффективным методом лечения эндометриоз-ассоциированного бесплодия, при этом не было выявлено существенных различий в наступлении беременности у пациенток с различными стадиями НГЭ. Эти результаты нам показались очень интересными и важными, однако мы не могли дать им объяснения с позиций этиопатогенеза эндометриоза. Литературные данные в отношении частоты наступления беременности при глубоком инфильтративном эндометриозе противоречивы: часть авторов считают, что лапароскопия эффективна только на ранних стадиях заболевания, другие придерживаются точки зрения, что иссечение инфильтративных эндометриоидных гетеротопий не только способствует уменьшению болевого синдрома, но и увеличивает шанс наступления беременности.

Важным итогом для практики клинического этапа работы явилось выявление факторов, влияющих на наступление самопроизвольной беременности у пациенток с НГЭ. Нами было установлено, что шанс наступления беременности снижается при возрасте женщин более 32 лет, с длительностью инфертильности более 3 лет, с двусторонней локализацией эндометриоидных кист, при удалении эндометриоидных кист более 6 см, при сниженных показателях овариального резерва по данным УЗИ и гормонального исследования. При выявлении тех или иных предикторов у любого врача возникает желание воздействовать на них и тем самым улучшить результаты лечения. В этот период времени в нашей клинике проводился ряд исследований относительно целесообразности и эффективности прегравидарной подготовки у пациенток с неэффективными попытками ЭКО, с привычным невынашиванием беременности и плацента-ассоциированными заболеваниями в анамнезе. Было показано, что восстановление имплантационных способностей эндометрия позволяет значительно улучшить перинатальные исходы у пациенток с отягощенным акушерским анамнезом. Этот же подход эмпирически был предложен для пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием. Основанием для назначения гормональных и вазоактивных препаратов при беспло-

дии явились литературные данные относительно снижения рецептивности эндометрия при эндометриозе и недостаточности секреторной фазы эндометрия. Было показано, что частота самопроизвольного наступления беременности после лапароскопической операции и проведения прегравидарной подготовки возросла в 1,7 раза и составила 53,6%.

Полученные клинические данные о высокой частоте беременностей после лапароскопии даже по поводу тяжелых форм эндометриоза определили необходимость изучения причин, приводящих к развитию эндометриоз-ассоциированного бесплодия. Мы посчитали, что установление элементов патогенеза НГЭ позволит объяснить эффективность лапароскопического лечения у одних пациенток и отсутствие наступления беременности у других. Проведенный анализ литературы показал вновь возросший интерес ученых к окислительному стрессу как одному из основных элементов патогенеза эндометриоза. Ранее полученные данные в отношении возможности диагностики НГЭ на основании определения уровня провоспалительных цитокинов также определили необходимость изучения роли именно окислительного стресса в патогенезе эндометриоз-ассоциированного бесплодия, так как известно, что под влиянием провоспалительных цитокинов резко увеличивается образование макрофагами и нейтрофилами перекиси водорода и других свободных радикалов.

Этап исследований по изучению редокс-статуса проводился совместно с Проскурниной Е.В. Нами был выбран комплексный подход к изучению оксидантно-антиоксидантного профиля у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием: проводился анализ на локальном уровне (в перитонеальной жидкости) и на системном (в плазме крови). Мы применили новый подход выявления оксидантно-антиоксидантных взаимоотношений, основанный не на маркерном подходе, когда проводится изучение отдельных маркеров повреждения окислительным стрессом ДНК, белков и липидов, а определяли антиоксидантный профиль плазмы крови и перитонеальной жидкости, описываемый кривыми хемилюминесценции, что позволило оценить обширную совокупность реакций с участием свободных радикалов. Изучение антиоксидантного профиля (а не отдельных показате-

лей) показало, что у ряда пациенток с НГЭ в перитонеальной жидкости наблюдалось снижение уровня антиоксидантов, у других, напротив, регистрировалось повышение параметров антиоксидантной защиты. Дальнейший анализ показал, что изменение локального антиоксидантного профиля в сторону активации антиоксидантной защиты в большей степени выражено при распространенных формах НГЭ. Мы посчитали, что повышение антиоксидантного профиля при распространенных формах эндометриоза носят компенсаторный характер, вследствие повышенной выработки прооксидантов.

Через один год мы сопоставили показатели хемилюминограмм, полученные до этапа хирургического лечения бесплодия, с частотой наступления беременности у этих пациенток. Этот анализ позволил выявить новые данные, которые ранее не были описаны в зарубежной или отечественной литературе. Оказалось, что беременность чаще наступала у пациенток с исходно измененным антиоксидантным профилем (как в сторону снижения антиоксидантов, так и их повышения). Тогда как у пациенток, у которых беременность не наступила, исходно показатели антиоксидантной активности были в пределах референтных значений. Эти данные объяснили возможность наступление самопроизвольной беременности после лапароскопии даже при тяжелых формах эндометриоза: хирургическая элиминация эндометриоидных очагов приводила к устранению оксидантно-антиоксидантного дисбаланса. А важнейшим фактором, определяющим успех оперативного вмешательства, являлась тщательность иссечения и коагуляции всех эндометриоидных гетеротопий. Таким образом, данные результаты позволили нам сделать ключевой вывод всех этапов исследования, что наступлению беременности при НГЭ препятствует как недостаток, так и избыток антиоксидантов.

Параллельно с исследованиями перитонеальной жидкости и плазмы крови у пациенток с НГЭ, проводилось изучение локального оксидантно-антиоксидантного статуса в содержимом эндометриоидной кисты и ее микроокружении. Предпосылкой для данного этапа работы явилось опубликованное в 2014 году руководство ESHRE, согласно которому перед процедурой ЭКО удаление эндометриоидных кист меньше 3 см не увеличивает эффективность попыт-

ки ЭКО [181]. Несмотря на то, что в своем исследовании авторы не делали никаких выводов относительно возможности самопроизвольного наступления беременности после удаления эндометриoidных кист и времени, в течение которого возможно наблюдение пациенток с существующими малыми эндометриомами, большинством отечественных акушеров-гинекологов данные рекомендации были интерпретированы как нецелесообразность удаления эндометриoidных кист менее 3 см в принципе у любых пациенток, а не только перед предшествующим ЭКО. Наши предыдущие исследования показали эффективность хирургического лечения эндометриоз-ассоциированного бесплодия, в том числе при его распространенных формах с формированием эндометриoidных кист, а снижение вероятности наступления беременности наблюдалось только при двустороннем поражении яичников и удалении эндометриом более 6 см. В связи с этим мы решили провести ряд исследований о молекулярных механизмах повреждения овариального резерва при эндометриoidных кистах, чтобы ответить на вопрос только ли операция вызывает снижение фолликулярного запаса.

Дизайн этого этапа исследования включал изучение прооксидантных свойств эндометриoidной кисты, активности редуктазных ферментов в стенке эндометриoidной кисты и ткани, прилежащей к ней. То есть, по сути, мы изучили полный комплекс свободно-радикальных реакций, происходящий в яичнике, содержащем эндометриoidную кисту. Оказалось, что содержимое эндометриомы является источником свободных радикалов, нейтрализация которых происходит, в том числе за счет активации НАДН-зависимой цитохром b5-редуктазы, а при исчерпании резервов антиоксидантной защиты запускается цитохром c активированная гибель митохондрий в микроокружении эндометриoidной кисты яичника, приводящая к снижению овариального резерва. Сопоставление результатов экспериментальных исследований с клиническими данными показали, что несмотря на то, что существует корреляция между значениями антимюллерового гормона (АМГ) и уровнем активации редуктазной системы в яичнике, у части пациенток даже при нормальном уровне АМГ до операции выявлялись существенные изменения в системе свободно-радикального гомеостаза яичника. Что свидетельствует

о негативном влиянии на овариальный резерв не только удаления эндометриоидных кист вследствие повреждения во время диссекции и коагуляции коркового слоя яичника, но само существование эндометриом «убивает» фолликулярный запас.

Следующая серия исследований была посвящена процедуре ЭКО у пациенток с НГЭ. На сегодняшний день ЭКО является наиболее эффективным методом преодоления всех форм бесплодия. Мы придерживаемся традиционной точки зрения, что лапароскопия показана для лечения бесплодия только у молодых пациенток с сохранным овариальным резервом, тогда как в остальных ситуациях достижение беременности при НГЭ возможно путем применения ВРТ. Все это определило наш интерес к изучению эффективности ЭКО у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием. Одним из критериев включения в клинический этап исследования было применения коротких протоколов стимуляции суперовуляции. Выбор таких циклов был осуществлен на основании значительно более частого применения у пациенток с НГЭ антагонистов Гн-РГ в связи их доказанным преимуществом на основании проведенных мета-анализов. Клинический анализ показал, что частота наступления клинической беременности при НГЭ составляла 40,4% на перенос эмбриона, при этом наибольшая частота наступления беременности после ЭКО наблюдалась у пациенток с I-II стадиями эндометриоза с длительностью бесплодия менее 3 лет и при сохранности овариального резерва.

В связи с тем, что ранее нами были выявлены существенные изменения системного и локального (перитонеальная жидкость, микроокружение эндометриоидной кисты) свободно-радикального профиля при НГЭ, то представлялось интересным продолжить работу в данном аспекте. Изучение анти- и прооксидантного профилей фолликулярной жидкости позволило нам завершить комплекс исследований относительно роли свободно-радикального дисбаланса при эндометриоз-ассоциированном бесплодии. Нами было показано, что к развитию бесплодия приводят в том числе и свободно-радикальные изменения в микроокружении ооцита. При этом применение схем стимуляции суперовуляции с агонистами гонадотропин релизинг-гормона (а-ГнРГ) усугубляет окислительный стресс в фолли-

кулярной жидкости. Эти результаты объясняют и относительно большую эффективность коротких протоколов у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием и большую приверженность репродуктологов именно к таким схемам. Впервые в нашем исследовании было показано повышение антиоксидантной емкости фолликулярной жидкости при использовании севофлурана за счет эффекта preconditionирования.

Заключительная часть исследований посвящена особенностям течения беременности у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием. В связи с тем, что основная масса пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием была прооперирована в Центре планирования семьи и репродукции, это позволило продолжить наблюдение за пациентками и при наступлении беременности, оценить частоту развития у них различных осложнений и перинатальные исходы. Большое количество родов, проходящих в ЦПСиР, позволило сформировать группу пациенток, у которых беременность наступила самопроизвольно на фоне эндометриоидных кист. Нами были сопоставлены особенности течения беременности у пациенток, у которых эндометриоз являлся причиной бесплодия и лапароскопическое удаление эндометриоидных гетеротопий привело к самопроизвольному наступлению беременности, с течением беременности на фоне эндометриом. Следует отметить, что более чем у половины пациенток эндометриомы были выявлены только во время беременности, а у части из них они явились «случайной» находкой во время оперативного родоразрешения путем кесарева сечения. Проведенный анализ позволил установить, достоверное повышение частоты угрозы прерывания в первой половине беременности, протекающей на фоне эндометриоидных кист. У пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием в анамнезе течение беременности, в том числе частота угрозы прерывания и репродуктивных потерь в 1 триместре, не отличалась от показателей когорты пациенток, наблюдавшихся в этот же период в ЦПСиР.

Полученные результаты отражают комплексный подход к восстановлению репродуктивного потенциала у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бес-

плодием, а практические рекомендации о тактике ведения пациенток сформированы с позиций доказательной медицины.

1.2. Материал исследования

Всего в исследование было включено 897 пациенток, из них 743 с НГЭ (I-II стадия - 463 пациентки, III-IV стадия – 280 пациенток). Группы сравнения составили пациентки с трубно-перитонеальным бесплодием (ТПБ) – 118, с синдромом поликистозных яичников (СПКЯ) – 36. В исследование были включены пациентки, наблюдавшиеся в Центре планирования семьи и репродукции Департамента Здравоохранения г. Москвы и Медицинском научно-образовательном центре МГУ имени М.В.Ломоносова, также в исследовании приняли участие 20 пациенток, проходивших лечение методом ЭКО в клинике «Москворечье».

У всех пациенток было получено информированное согласие на обработку персональных данных, а также использование биологического материала.

Оперативная лапароскопия была произведена 466 с НГЭ пациенткам после детального обследования, включавшего в себя выяснение жалоб, сбор соматического, акушерского и гинекологического анамнеза, объективный и гинекологический осмотр, определение гормонального профиля, выполнение тестов функциональной диагностики, проведение УЗИ органов малого таза, а также выполнение некоторых дополнительных лабораторных и инструментальных методов диагностики, в зависимости от предполагаемой у пациентки патологии. ЭКО было выполнено 72 пациенткам с эндометриоз-ассоциированным бесплодием.

Оптимизация неинвазивной диагностики НГЭ была выполнена на 90 пациентках, у которых были исследованы уровни СА-125, СА-19.9, интерлейкина -6 (ИЛ-6) и ИЛ-8 методом иммуноферментного анализа (ИФА). Для определения ценности этих маркеров в диагностике НГЭ пациентки были разделены на две группы: 64 пациентки были включены в группу с НГЭ и 26 пациенток составили контрольную группу. В контрольную группу вошли пациентки с ТПБ и верифицированным отсутствием эндометриоза по данным лапароскопии.

У 56 пациенток изучили антиоксидантный профиль образцов плазмы и перитонеальной жидкости. У 51 пациентки в цикле ЭКО изучали параметры антиоксидантно-проокислительного профиля фолликулярной жидкости. Изучение редокс-статуса эндометриоидной кисты включало изучение проокислительных свойств содержимого эндометриоидной кисты ($n=22$), оксидантно-антиоксидантных свойств стенки эндометриоидной кисты ($n=38$) и ткани, окружающей эндометриоидную кисту ($n=38$). Сравнение редокс-статуса ткани яичника, содержащей эндометриоидную кисту проводилось с тканью яичника в отсутствии эндометриоза ($n=20$).

Эффективность хирургического лечения эндометриоз-ассоциированного бесплодия была оценена у 154 пациенток с НГЭ, при этом результаты были сопоставлены с пациентками с ТПБ ($n=66$) и СПКЯ ($n=36$). Предикторы самопроизвольного наступления беременности устанавливались на основании изучения данных клинико-лабораторного обследования 154 пациенток. 56 пациенткам после проведения оперативной лапароскопии назначалась прегравидарная подготовка.

Исходы беременности были изучены у 200 пациенток с НГЭ. Из них 110 пациенток были прооперированы в рамках настоящего исследования по поводу эндометриоз-ассоциированного бесплодия, у 90 пациенток беременность наступила на фоне эндометриоидных кист (эту группу составили пациентки родоразрешенные в ЦПСИР).

Более детальная клиническая характеристика пациенток будут представлены в соответствующих разделах диссертации.

1.3. Методы исследования

Лапароскопия выполнялась при помощи комплекта эндоскопического оборудования и инструментов «KARL STORZ®». Операция проводилась под эндо-трахеальным наркозом с обязательным мониторинованием уровней сатурации и гемодинамических показателей. Пневмоперитонеум накладывался углекислым газом с уровнем внутрибрюшного давления, не превышающим 15 мм рт. ст. Лапароскопия выполнялась из двух или трех дополнительных контрапертур. Для обес-

печения оптимальной визуализации операционного поля и обеспечения доступности органов малого таза для хирургических манипуляций пациентка находилась в положении Тренделенбурга с углом, не превышающим 15°. Оценка проходимости маточных труб осуществлялась во время лапароскопии при помощи установленной в цервикальный канал маточной канюли Cohen и введения контрастного вещества с одномоментным визуальным контролем. В послеоперационном периоде всем пациенткам выполнялись обезболивание и антибактериальная терапия по показаниям.

Во время лапароскопии у пациенток с эндометриоидными кистами яичников была проведена энуклеация кисты в пределах здоровой ткани. Аквадиссекция позволяла облегчить отделения стенки кисты от неизменной ткани яичника, что приводило к уменьшению повреждения овариального резерва вследствие точечной коагуляции мелких кровотокающих сосудов, гемостаз выполнялся с помощью биполярной энергии. На Рисунок 1.1 представлена МР-томограмма эндометриоидной кисты диаметром 10 см. Было проведено вылушивание эндометриоидной кисты с помощью техники аквадиссекции. Овариальный резерв был сохранен. У пациентки через 2 месяца после лапароскопии самопроизвольно наступила беременность.

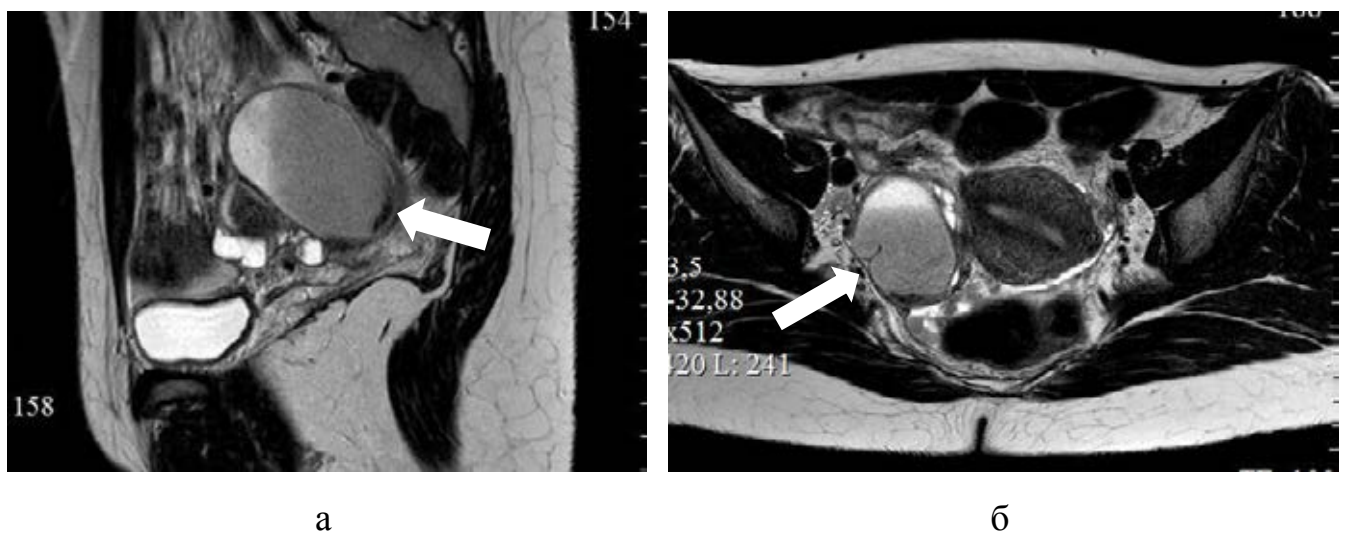
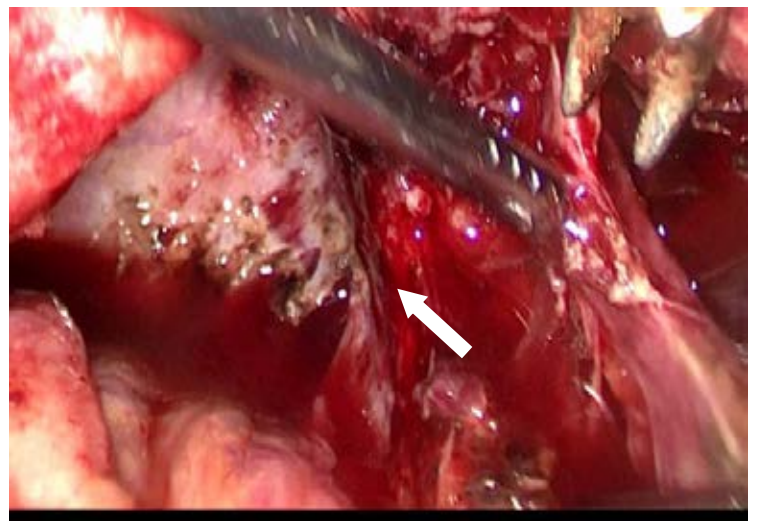


Рисунок 1.1 - Эндометриоидная киста правого яичника диаметром 10 см (МР-томограмма, T2-режим): а- сагиттальная проекция, б- фронтальная проекция

При спаечном процессе в малом тазу одномоментно производился лизис спаек. Поверхностные очаги эндометриоза коагулировались при помощи биполярной коагуляции, при этом для выявления «немых» очагов при малых формах эндометриоза проводилась термопроба браншами биполярных щипцов. При наличии инфильтративного поражения тазовой брюшины производилось иссечение очагов эндометриоза с помощью ножниц. При локализации эндометриоидных гетеротопий в проекции мочеочника, проводилась его диссекция на протяжении. При глубоком эндометриозе ретровагинального пространства проводилось иссечение эндометриоидного инфильтрата с мобилизацией прямой кишки, а при прорастании очагов эндометриоза в серозную оболочку прямой кишки производился «шейвинг». На Рисунок 1.2 представлена МР-томограмма пациентки с ретроцервикальным эндометриозом: отсутствует четкая граница между стенкой прямой кишки и шейкой матки и задней поверхностью матки, отмечается распространение процесса на связочный аппарат матки. Рядом изображена фотография лапароскопии той же пациентки.



а



б

Рисунок 1.2 - Ретроцервикальный эндометриоз: а - МР-томограмма: сагиттальное сканирование (T2-режим); б- лапароскопия той же пациентки. Стрелкой отмечен участок ретроцервикального эндометриоза

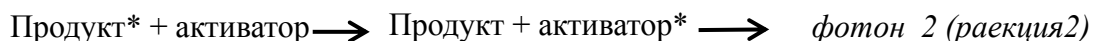
Подробная характеристика проводимой процедуры ЭКО, описание комплекса мер прегравидарной подготовки приведены в соответствующих главах диссертации.

Исследование редокс-баланса плазмы крови, перитонеальной жидкости, фолликулярной жидкости проводили методом активированной хемилюминесценции [73].

Известно, что свободные радикалы атакуют молекулу, вследствие чего происходит их переход в возбужденное состояние, дальнейшее их возвращение в основное состояние сопровождается высвобождением фотона, которые и улавливаются хемилюминометром (реакция 1). Интенсивность свечения зависит от скорости образования свободных радикалов [20].

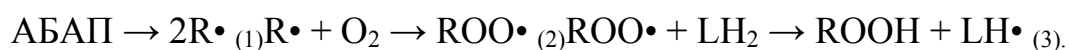


Однако собственное свечение очень ничтожно, в связи с этим используются активаторы хемилюминесценции, такие как люцигенин, люминол, кумарин. При их добавлении интенсивность хемилюминесценции возрастает (реакция 2).



Забор крови осуществлялся до проведения любых хирургических вмешательств. Перитонеальную жидкость аспирировали из дугласова пространства во время лапароскопии сразу после введения дополнительных контрапертур до проведения хирургических манипуляций. Фолликулярную жидкость получали из доминантного фолликула, у пациенток, проходивших лечение в программе ЭКО. Объем образцом составлял 1 мл. Образцы центрифугировали для освобождения от клеточной фракции, затем хранили при температуре -20°C до аналитического этапа, размораживание образцов проводили при комнатной температуре. В основе используемой методики лежит хемилюминесцентная реакция между люминолом (5-амино-1,2,3,4-тетрагидро-1,4-фталазиндионом), который является активатором

хемилюминесценции, и диазосоединением 2,2'-азо-бис(2-аминодинпропаном) дигидрохлоридом (АБАП), который разлагается при нагревании на два свободных радикала ($2R\bullet$). При наличии молекулярного кислорода (O_2) этот радикал становится пероксильным радикалом ($ROO\bullet$), который затем окисляет хемилюминесцентный зонд люминол (LH_2) и превращается в радикал люминола ($LH\bullet$). Описанные выше реакции схематично представлены ниже:



После этого образовавшийся радикал люминола испускает квант света, количество которого регистрируется с помощью одноканального хемилюминометра (Lum-5773, «ДИСофт», Россия). Без использования активатора хемилюминесценции (люминола) уровень свечения будет крайне низким и необходимо будет использовать очень большое количество изучаемых биологических жидкостей. В связи с этим мы использовали смесь АБАП+люминол, которая инициировала образование свободных радикалов в системе. Для определения антиоксидантного профиля в микропробирку помещали 50,0 мкл раствора АБАП 50 мМ (источник свободных электронов) и 20,0 мкл люминола 0,1 мМ (активатор хемилюминесценции). Смесь встряхивали при частоте 1400 об/мин в течение двух минут и выдерживали в течение 20 минут при комнатной температуре в темноте. В кювету к смеси АБАП/люминол добавляли 920 мкл предварительно нагретого ФБ (37 °С), инициируя реакцию терморазложения источника радикалов. Как только регистрируемое свечение достигало стационарного уровня (I_0) в микропробирку добавляли 10 мкл образца и регистрировали затухание интенсивности свечения вследствие действия антиоксидантов изучаемой жидкости. Далее вновь на кинетической кривой наблюдали нарастания интенсивности хемилюминесценции (I). Для визуализации и обработки полученных данных использовали программное обеспечение PowerGraph 3.3.

Регистрация оценки активности источников АФК — оксидантных ферментов (прооксидантного профиля) осуществлялась на 12-канальном

хемиллюминометре (Lum-1220, «ДиСофт», Россия). В начале эксперимента регистрировали спонтанную хемиллюминесценцию фолликулярной жидкости в течение нескольких минут. Далее в качестве хемиллюминесцентного зонда на супероксидный радикал использовался люцигенин. Спустя 5–7 минут добавляли НАДН, выступающего в роли восстановительного эквивалента прооксидантных ферментов. Восстановление люцигенина осуществлялось при участии следующих ферментов: ксантиноксидаза, NO-синтаза, липоамиддегидрогеназа, глюкозооксидаза, альдегидоксидаза. Для визуализации и обработки полученных данных использовали программное обеспечение PowerGraph 3.3. Типичный кривые хемиллюминесценции, а также изучаемые параметры будут представлены в соответствующих главах диссертации.

Статистическая обработка. Достоверность данных исследования подтверждается достаточным количеством пациенток, включенных в исследование, используемыми методами исследования, соответствующим цели и задачам исследования. Статистическая обработка данных проводилась с помощью методов параметрической и непараметрической статистики. Проверка нормальности распределения осуществлялась согласно расчету критерия Шапиро-Уилка. Для статистически значимого определения достоверности различий в двух независимых выборках рассчитывался t-критерий Стьюдента при нормальном распределении и U-тест Манн-Уитни при распределении, отличном от нормального. Для оценки различий качественных признаков рассчитывался критерий хи-квадрат. При малых объемах выборок пациенток вычислялся точный критерий Фишера. Определение порогового значения количественных данных проводилось с помощью построения ROC-кривых. При этом принимали во внимание, что если площадь под ROC-кривой составляла 0,9-1,0 – то диагностическая ценность признака была очень высокой, если площадь была равна 0,5-0,6 – то неудовлетворительной. Определение диагностической значимости диагностических методов проводилось путем вычисления их чувствительности и специфичности, а также критериев правдоподобия. Для определения прогностически значимых критериев вычислялось отношение шансов (ОШ), достоверными принимались значения, если грани-

цы 95% доверительный интервал (ДИ) не содержали 1,0. В качестве критического уровня значимости был принят $p < 0,05$ (доверительный интервал 95%).

ГЛАВА 2. НАРУЖНЫЙ ГЕНИТАЛЬНЫЙ ЭНДОМЕТРИОЗ. РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ. ДИАГНОСТИКА

2.4. Наружный генитальный эндометриоз. Теории возникновения эндометриоза. Причины, приводящие к развитию эндометриоз-ассоциированного бесплодия. Диагностика. (обзор литературы)

Согласно определению Всемирной организации здравоохранения, эндометриозом называется доброкачественное заболевание, характеризующееся наличием ткани, по морфологическим и функциональным свойствам подобной эндометрию, за пределами полости матки. Согласно современной классификации эндометриоз разделяют на наружный и внутренний. Наружный эндометриоз определяется как локализация эндометриоидных гетеротопий на влагалище, шейке матки, яичниках и маточных трубах, тазовой брюшине. «Внутренний эндометриоз» выделяют в качестве самостоятельного заболевания, обозначаемого термином «аденомиоз». Также некоторые исследователи считают, что ретроцервикальный эндометриоз (*deep infiltrating endometriosis*) можно рассматривать в качестве отдельной формы заболевания [110]. Характерным симптомом эндометриоза является хроническая боль в области таза, начинающаяся до менструации и продолжающаяся во время нее и в течение нескольких дней после завершения менструации. Нередко единственным проявлением эндометриоза, особенно его малых форм, является бесплодие [110].

По данным различных авторов, частота встречаемости эндометриоза составляет от 6 до 10% женщин репродуктивного возраста с ежегодной заболеваемостью 0,1% среди женщин в возрасте 15–49 лет [199]. В то же время истинная распространенность эндометриоза остается неизвестной [356]. Это связано с тем, что до сих пор золотым стандартом диагностики эндометриоза остается прямая визуализация эндометриоидных эктопий во время лапароскопии (особенно при наличии поражений только на тазовой брюшине) с последующим гистологическим исследованием удаленных патологических очагов [36]. Согласно отечественным

клиническим рекомендациям отсутствие технической возможности биопсии ткани, пораженного эндометриозом, не исключает существование эндометриоза [109]. Однако лапароскопия является инвазивной и дорогостоящей процедурой, и не всегда применяется у пациенток с хронической тазовой болью и бесплодием, это делает не возможным оценку истинной частоты эндометриоза в популяции.

Значительной проблемой является и проблема классификации эндометриоза. В статье Айламазян Э.К. и др. приводятся различные классификации эндометриоза и подчеркивается необходимость создания новой классификации данного заболевания, на основе которой будет возможно прогнозирование течение заболевания и его исхода [8]. Наибольший вклад в разработку отечественных классификаций эндометриоза внесла Адамян Л.В. Предложенные ей классификации эндометриоидных кист и ретроцервикального эндометриоза получили широкое распространение в клинической практике в связи с возможностью данных классификаций определения объема оперативного вмешательства и выбора тактики ведения пациенток [109]. Классификация эндометриоидных кист яичников подразумевает выделение четырех стадий [109]:

- стадия I - мелкие точечные эндометриоидные образования на поверхности яичников, брюшине прямокишечно-маточного пространства без образования кистозных полостей;

- стадия II - эндометриоидная киста одного яичника размером не более 5-6 см с мелкими эндометриоидными включениями на брюшине малого таза. Незначительный спаечный процесс в области придатков матки без вовлечения кишечника;

- стадия III - эндометриоидные кисты обоих яичников (диаметр кисты одного яичника более 5-6 см и небольшая эндометриома другого). Эндометриоидные гетеротопии небольшого размера на париетальной брюшине малого таза. Выраженный спаечный процесс в области придатков матки с частичным вовлечением кишечника;

- стадия IV - двусторонние эндометриоидные кисты яичников больших размеров (более 6 см) с переходом патологического процесса на соседние органы

- мочевого пузыря, прямую и сигмовидную кишку. Распространенный спаечный процесс.

В последние годы количество значительно увеличилось случаи выявления больных с инфильтративными формами эндометриоза, когда в патологический процесс вовлечена не только брюшина малого таза и связочный аппарат, но и ректовагинальная перегородка, влагалище, ректосигмоидный отдел кишки, мочеточники и мочевой пузырь, что послужило поводом к разработке новых классификаций. Классификацией ретроцервикального эндометриоза, распространенной в нашей стране, является классификация ретроцервикального эндометриоза под редакцией Л.В. Адамян, В.И. Кулакова (Рисунок 2.1):

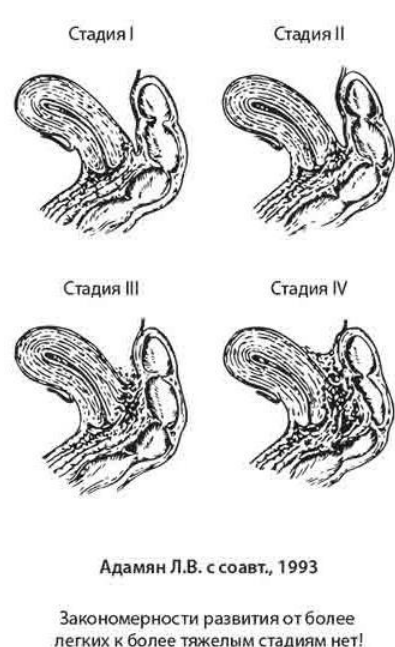


Рисунок 2.1 - Классификация ретроцервикального эндометриоза под редакцией Л.В. Адамян, В.И. Кулакова. Источник <http://cr.rosminzdrav.ru/> с изменениями

- стадия I — эндометриозидные очаги располагаются в пределах ректовагинальной клетчатки;
- стадия II — прорастание эндометриозидной ткани в шейку матки и стенку влагалища с образованием мелких кист и в серозный покров ректосигмоидного отдела и прямой кишки;
- стадия III — распространение патологического процесса на крестцово-маточные связки, серозный и мышечный слои прямой кишки;

• стадия IV — вовлечение в патологический процесс слизистой оболочки прямой кишки с распространением процесса на брюшину прямокишечно–маточного пространства и спаечным процессом в области придатков матки [109].

В отечественных клинических рекомендациях по лечению и ведению пациенток с эндометриозом указывается, что наиболее распространенной в мире является классификация, предложенная в 1979 году Американским обществом фертильности (с 1995 года - Американское общество по репродуктивной медицине) и пересмотренная в 1996 году [109]. Она основана на локализации, глубине поражения и выраженности спаечного процесса в малом тазу (Таблица 2.1).

Таблица 2.1 - Классификация эндометриоза Американского общества фертильности

Локализация	Характеристика эндометриоза		Размеры эндометриоидных гетеротопий		
			<1 см	1 – 3 см	> 3 см
			Оценка в баллах		
Брюшина	Поверхностный		1	2	4
	Глубокий		2	4	6
Яичники	Правый	Поверхностный	1	2	4
		Глубокий	4	16	20
	Левый	Поверхностный	1	2	4
		Глубокий	4	16	20
Спайки (объем поврежденной ткани)			<1/3 запаяно	1/3 – 2/3 запаяно	> 2/3 запаяно
Яичники	Правый	Нежные	1	2	4
		Плотные	4	8	16
	Левый	Нежные	1	2	4
		Плотные	4	8	16
Трубы	Правая	Нежные	1	2	4
		Плотные	4*	8*	16
	Левая	Нежные	1	2	4
		Плотные	4*	8*	16
*Полностью запаянный фимбриальный отдел трубы следует оценивать ">16"					

Согласно данной классификации выделяют 4 стадии эндометриоза.

- I стадия (малые формы) : (1–5 баллов);
- II стадия (лёгкие формы): (6–15 баллов), при этом стадия 1 и 2 включает поверхностные импланты и отсутствие спаек;
- III стадия (умеренные формы): (16–40 баллов) множественные импланты, эндометриоидные кисты диаметром менее 2см, небольшое количество спаек;
- IV стадия (тяжёлые формы): (более 40 баллов) эндометриоидные кисты диаметром более 2см, значительные спайки труб или яичников, обструкция маточных труб, поражение кишки и/или мочевыводящих путей.

Несмотря на высокую распространенность и многочисленные исследования, посвященные различным аспектам эндометриоза, многие вопросы *этиопатогенеза заболевания* все еще остаются невыясненными. Не совсем ясны механизмы, вызывающие имплантацию и дальнейшее распространение эктопического эндометрия по брюшине.

В 1927 году Sampson предложил имплантационную теорию происхождения эктопических очагов, которая предполагает, что элементы эндометрия попадают в другие ткани и органы при ретроградной менструации по фаллопиевым трубам и имплантируются и пролиферируют на новом месте с образованием эндометриоидных гетеротопий [327]. При гистологическом исследовании маточных труб во время менструации в них обнаруживаются эндометриальные клетки; такие же клетки обнаруживаются и в перитонеальной жидкости во время менструации. Brosens и Benagiano предполагают, что первое ретроградное кровотечение возникает еще при рождении, когда у новорожденной девочки наблюдается резкая гормональная депривация. Содержимое матки забрасывается в брюшную полость и является источником стволовых клеток, первые импланты остаются в дремлющем состоянии до периода полового созревания, и когда начинается выработка эстрогенов яичниками наблюдается клиническая манифестация эндометриоза [146].

Halban в 1925 году предположил, что эндометриоидные клетки могут распространяться через лимфатические и гематогенные пути с их последующей имплантацией. Согласно целомной теории, целомический эпителий, покрываю-

щий яичник и мезотелий брюшины может подвергнуться метапластическому изменению в эндометриоподобную ткань под действием гормональных и воспалительных факторов [151]. Согласно воспалительной теории возникновения эндометриоза, предполагается, что эндометриоз, на самом деле, является воспалительным заболеванием таза. В различных исследованиях было показано, что перитонеальная жидкость имеет повышенную концентрацию активированных макрофагов и провоспалительных цитокинов, таких как фактор, ингибирующий миграцию макрофагов, фактор некроза опухолей-альфа, ИЛ-1b, ИЛ-6 и ИЛ-8 [325]. Хотя большинство исследователей считают, что воспаление является элементом патогенеза эндометриоза, но не причиной.

Генетическое участие в патофизиологии эндометриоза впервые было предложено Фреем. Семейная склонность была показана в клинических и популяционных выборках, а также в исследованиях близнецов. Показано, что полиморфизмы гена ER могут служить генетическим фактором риска развития эндометриоза и быть взаимосвязаны с рецидивом эндометриоза через увеличение активности рецептора ERa [262]. С использованием технологии исследования массива однонуклеотидного полиморфизма, была выявлена 31 геномная абберация, связанная с развитием эндометриоза [263]. О наследственной предрасположенности в патогенезе НГЭ указывается и в работе И.В. Караченцвой и др. [39]. В исследовании В.Е. Радзинского и О.Б. Алтуховой была изучена роль полиморфизма генов металлопротеиназ в развитии бесплодия при генитальном эндометриозе [75].

Согласно генетической / эпигенетической теории в исходной клетке (клетке эндометрия или стволовой клетке) с унаследованными генетическими и эпигенетическими дефектам после имплантации или метаплазии возникают тонкие и микроскопические поражения [70, 233]. Дополнительные генетические или эпигенетические изменения приводят к переходу этих клеток в типичные эндометриодные гетеротопии, в глубокие инфильтративные, кистозные (с преимущественным поражением яичников) и другие. Cousins et al. предположили, что ежемесячная регенерация эндометрия опосредуется через эндометриальные мезенхи-

мальные стволовые клетки (eMSCs) [168]. Авторы предполагают, что eMSCs могут играть роль в генерации устойчивых к прогестерону фенотипических стромальных фибробластов эндометрия. *N*-кадгерин + эпителиальные клетки-предшественники эндометрия также вносят вклад в патогенез заболевания.

Этиопатогенез эндометриозной кисты яичника остается спорным. На сегодняшний день существует 3 теории формирования эндометриомы: инвагинация коры яичника в результате кровотечения из поверхностных эндометриозных гетеротопий, инвагинация коры яичника в результате метаплазии целомического эпителия в кистозных включениях коркового слоя яичника и эндометриозное перерождение функциональной кисты [323]. Согласно первой теории, предложенной Hughesdon, эндометриозная киста яичника развивается путем накопления менструальной крови из активных имплантатов эндометрия, локализующихся в инвагинированном корковом слое яичника [214]. Вторая теория, описанная Nisolle и Donnez, утверждает, что эндометриомы происходят из целомической метаплазии инвагинированной ткани коркового слоя яичника [178]. Обе теории подтверждаются в патогенезе 90–100% эндометриозных кист. Недавние исследования показали, что эндометриомы могут также образовываться в результате метапластического изменения кисты желтого тела [370]. Понятно, что независимо от гипотезы происхождения, эндометриозные кисты практически всегда локализируются в непосредственной близости к корковому слою яичника, содержащему пул первичных фолликулов, которые составляют овариальный резерв.

Важное значение в *патогенезе эндометриоза* в настоящее время отводится хроническому воспалению в брюшной полости, возникающему вследствие активности эндометриозных гетеротопий. Воспаление сопровождается пролиферацией макрофагов и фагоцитарной дисфункцией, высвобождением провоспалительных и ангиогенных факторов, что оказывает негативное влияние на фолликулогенез, качество ооцитов и функцию желтого тела. Эндометриальные импланты, локализующиеся на тазовой брюшине, вызывают острую воспалительную реакцию, которая связана с рекрутированием и активацией Т-хелперов и регуляторных Т-клеток [356]. После разрешения острой фазы моноциты / макрофаги под-

держивают хроническое воспаление, которое способствует ангиогенезу и образованию спаечного процесса в брюшной полости. В литературе приводится множество данных, подтверждающих повышенную концентрацию медиаторов воспаления (цитокинов, хемокинов и простагландинов) в перитонеальной жидкости у женщин с НГЭ [199, 325, 356, 363]. Показано, что у пациенток с эндометриозом концентрация периферических регуляторных Т-клеток снижается, вследствие их накопления в эктопической ткани эндометрия [126]. Тканевые регуляторные Т-клетки могут подавлять функцию эффекторных Т-лимфоцитов, что вызывает пролиферацию и инвазию стромальных клеток эндометрия, причем в недавнем исследовании сообщается, что активации регуляторных Т-клеток содействуют провоспалительные цитокины [126, 378]. Прогрессированию эндометриоза способствуют рекрутирование макрофагов в очаге эндометриоза и их поляризационный фенотип. Фенотип М1 макрофагов обладает способностью секретировать провоспалительные цитокины, в то время как макрофаг М2 имеет противоположные свойства: вызывает процессы иммуносупрессии и нейроангиогенеза. При этом макрофаги могут изменять свое местоположение и фенотип, что приводит к адаптации микроокружения и прогрессированию заболевания [381].

Провоспалительные макрофаги М1 продуцирует интерлейкины. Цитокиновый статус пациенток с эндометриозом характеризуется локальным и системным повышенным уровнем провоспалительных цитокинов: ИЛ-1 β , ИЛ-8 и ФНО- α [86, 284, 337, 390]. Уровень ИЛ-1 β увеличивается у пациенток с высокой пролиферативной активностью эндометриотических гетеротопий, но не зависит от распространенности процесса, тогда как уровни ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО- α повышаются как с увеличением пролиферативной активности, так и со степенью распространенности. В экспериментальных исследованиях было обнаружено, что ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО- α , участвуют в адгезии клеток эндометрия к брюшине, а также в ангиогенезе и пролиферации эндометриотических поражений [35, 286]. ИЛ-6 секретируется перитонеальными макрофагами, а также экто- и эутопическими стромальными клетками при эндометриозе: при этом самая высокая экспрессия ИЛ-6 наблюдается в эктопических эндометриальных клетках, меньшая - в эутопических клетках

пациенток с эндометриозом, и самая низкая - в эндометрии женщин без эндометриоза. Известно, что ИЛ-6 ингибирует рост нормальных клеток эндометрия *in vitro*, и поэтому предполагается, что он подавляет рост клеток эндометрия *in vivo* [279]. ИЛ-8 значительно увеличивает пролиферацию эндометриоидных стромальных клеток, стимулирует адгезию клеток эндометрия к фибронектину, при этом их адгезия к перитонеальной поверхности индуцирует дальнейшую секрецию этого цитокина по интегрин-зависимому механизму [336]. Исследования, проведенные Luckow Invitti et al. показывают, что экспрессия рецептора ИЛ-6 и ИЛ-8 значительно выше в эндометрии пациенток с эндометриозом по сравнению с его отсутствием [259]. При этом повышенные концентрации ФНО- α вызывают снижение экспрессии рецепторов к прогестерону в стромальных клетках эндометрия у пациенток с эндометриозом [279]. В сыворотке крови, напротив, происходит снижение ФНО- α [278].

Под влиянием провоспалительных цитокинов резко увеличивается образование макрофагами и нейтрофилами перекиси водорода и других свободных радикалов. Это подтверждают исследования Волгиной Н.Е. и др., которые выявили в перитонеальной жидкости пациенток с НГЭ прямую корреляцию между уровнем ИЛ-6 и АФК, вырабатываемыми макрофагами [21]. Избыточная продукция свободных радикалов приводит к окислительному стрессу, через который реализуются апоптотические механизмы в яичниках и эндометрии [113]. Роль окислительного стресса в патогенезе эндометриоза будет более подробно рассмотрена в соответствующей главе.

Инвазия клеток эндометрия в перитонеальную брюшину и развитие эндометриоидных гетеротопий сопровождается деградацией внеклеточного матрикса, основную роль в этих процессах играют матриксные металлопротеиназы (ММР) [111]. Экспрессия этих ферментов повышается во время менструальной и пролиферативной фазы менструального цикла и снижается в секреторную фазу. В перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом отмечается повышение уровней ММР (ММР-2, ММР-3, и ММР-9 и понижение концентраций их ингибиторов

(TIMP-1) [123]. Кроме того экспрессия MMP-2 и MMP -9 увеличивается в эктопическом эндометрии при аденомиозе [37].

Несмотря на огромное количество литературы об эндометриоз-ассоциированном бесплодии, прямая причинно-следственная связь между эндометриозом и бесплодием остается не выясненной. По очевидным этическим соображениям, экспериментальных моделей по оценке причинно-следственной связи между эндометриозом и бесплодием у людей не существуют, но разработаны такие модели на животных. Наиболее интересным объектом изучения являются павианы из-за их сходства с людьми в отношении филогенетики, репродуктивной анатомии и физиологии, наличия спонтанного эндометриоза и возможности экспериментального моделирования эндометриоза [170]. В проспективных исследованиях на бабуинах было показано, что вероятность наступления спонтанной беременности снижается с 24% в отсутствии эндометриоза до 18% при минимальных формах эндометриоза и 9% при тяжелых [170]. Популяционные исследования о частоте бесплодия у пациенток с эндометриозом ограничены, это связано с тем, что в настоящее время в связи с широким распространением и высокой эффективностью ВРТ, лапароскопия не всегда применяется для диагностики и лечения женского бесплодия. Тем не менее было подсчитано, что среди пациенток с бесплодием эндометриоз диагностируется у 30–50% женщин. У здоровых женщин месячный коэффициент плодовитости составляет приблизительно 15–20% на человека месяц, который уменьшается с возрастом. У женщин с эндометриозом этот показатель может быть снижен до 2–10%, особенно при распространенных формах заболевания [362].

Эндометриоз может являться причиной бесплодия из-за механических помех, вызванных спаечный процессом и нарушением анатомии малого таза [311]. Образование перитонеальных спаек при эндометриозе вероятно вызвано нарушением баланса между фибрин образующей и фибрин растворяющей активностью в брюшине [283]. В перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом и наличием спаечного процесса выявляются повышенные концентрации ингибитора активатора плазминогена-1 (PAI-1), тканевого активатора плазминогена

(tPA) и плазминогена в сравнении с пациентками без спаек [254]. В литературе высказывается предположение, что ипофибринолиз может инициировать развитие эндометриоза вследствие сохранения фибринового матрикса в фрагментах эндометрия [254]. Наконец, полиморфизмы в гене ингибитора активатора плазминогена PAI-1 могут также модулировать фибринолиз. У пациенток с эндометриозом полиморфизм гена PAI-1 4G / 4G и 4G / 5G был более распространен при бесплодии по сравнению с фертильными женщинами [385].

Однако при малых формах эндометриоза, когда нет в брюшной полости спаечного процесса, а единственным проявлением заболевания является бесплодие, первопричина снижения фертильности плохо изучена. В качестве механизмов, приводящих к бесплодию у этих пациенток рассматриваются изменения свойств перитонеальной жидкости, плохое качество ооцитов, дефекты лютеиновой фазы с нарушением имплантации и аномальный эмбриогенез [135, 325, 363].

Доказано, что состав и свойства перитонеальной жидкости при НГЭ отличаются от такового у здоровых фертильных женщин. При НГЭ отмечается увеличение объема перитонеальной жидкости в несколько раз по сравнению с нормой. Также изменениям подвергается и ее гормональный состав: резко возрастает уровень эстрадиола после овуляции, а содержание прогестерона значительно уменьшается, что отражает недостаточность лютеиновой фазы в общем. Снижение уровня прогестерона подтверждает данные о снижении функциональной активности желтого тела при данной патологии. Кроме того, в перитонеальной жидкости, как уже указывалось ранее, изменяется цитокиновый статус. Медиаторы воспаления и АФК могут ингибировать подвижность сперматозоидов, способствовать повреждению ДНК сперматозоидов, препятствовать оплодотворению ооцита сперматозоидом, нарушать развитие эмбрионов и препятствовать имплантации [13, 63, 356].

Серьезной проблемой, приводящей к эндометриоз-ассоциированному бесплодию, является снижение овариального резерва при формировании эндометриoidных кист, причем повреждение функциональной ткани яичника усугубляется после хирургического удаления эндометриом. При этом считается, что оо-

циты, полученные у пациенток с эндометриозом характеризуются измененной морфологией и более низким количеством митохондрий, по сравнению с женщинами с другими причинами бесплодия [328]. Нарушения фолликулогенеза и снижение качества ооцитов может быть связано и с дисфункцией оси гипоталамус-гипофиз-яичник. Показано, что для пациенток с эндометриозом характерна длительная фолликулярная фаза, низкий уровень эстрадиола в сыворотке и снижение пиковой концентрации лютеинизирующего гормона (ЛГ) [356]. Что касается качества эмбрионов, то исследование Boynukalin et al. показало значительное увеличение длительности ранних морфокинетических событий и клеточных циклов у эмбрионов, полученных у пациенток с эндометриозом по сравнению с контрольной группой, тогда как параметры, оцениваемые в более поздние сроки развития эмбрионов, были сходными [138].

Нормальная секреция прогестерона и чувствительность эндометрия к его действию во время лютеиновой фазы обязательны для перехода эндометрия из пролиферативной в секреторную и рецептивную стадии. При эндометриозе снижение экспрессии рецепторов прогестерона в эндометрии может вызвать резистентность к прогестерону. Кроме того, прогестерон индуцирует экспрессию 17 β -гидроксистероиддегидрогеназы типа 2, которая метаболизирует биологически мощный эстрадиол до менее сильного эстрона. У женщин с эндометриозом и резистентностью к прогестерону функция эндометрия может быть нарушена вследствие повышенной эстрогенной биологической активностью после потери активности 17 β -гидроксистероиддегидрогеназы типа 2 [250]. В нескольких исследованиях было показано, что эутопический эндометрий у женщин с эндометриозом имеет значительные биохимические и ультраструктурные отличия по сравнению со «здоровым» эндометрием, что может быть связано с изменениями в экспрессии генов интегрин α и β , HOXA10 и HOXA11 в лютеиновую фазу в эндометрии женщин с эндометриозом [141, 143, 144, 304]. Кроме того, в эндометрии пациенток с эндометриозом отмечается аномальное образование пиноподий [143].

В настоящее время разработан *следующий алгоритм обследования бесплодной супружеской пары*. На первом этапе партнеру выполняется спермограмма.

Результатов одной спермограммы для определения мужского бесплодия недостаточно. Исследование повторяется до трех раз с соблюдением предварительных условий (воздержание от половой жизни в течение 3-5 дней), после чего из нескольких спермограмм для оценки фертильности мужчины выбирают лучшую. Обследование женщины начинается с изучения особенностей анамнеза, общеклинического и гинекологического осмотра, проведения УЗИ органов малого таза. Исследование позволяет оценить состояние эндометрия, миометрия и придатков, определить или заподозрить ряд патологических процессов, которые могут служить причиной женского бесплодия. На следующем этапе осуществляется контроль овуляции и изучение гормонального статуса пациентки. В случае, если хотя бы в один из каждых трех менструальных циклов происходит овуляция, пациентке выполняется оценка проходимости маточных труб.

На протяжении многих лет единственным доступным неинвазивным методом оценки проходимости маточных труб была гистеросальпингография. В литературе приводятся следующие показатели диагностической ценности данного метода исследования для определения непроходимости маточных труб: чувствительность 50-65% и специфичность 80-87% [252, 301]. При этом использование контрастных веществ нередко сопровождается развитием гранулематозного воспаления в маточных трубах, возникновением кровотечения, также сообщается о более высокой частоте выкидышей, все это приводит к тому, что многие клиники отказываются от проведения данного исследования в пользу менее инвазивных процедур [252]. На сегодняшний день наиболее распространенным методом оценки проходимости маточных труб является эхогидросальпингография [83]. По данным разных авторов чувствительность данного метода составляет 88-93 %, специфичность 75-85%, применение 3D-4D методик позволяет повысить диагностическую ценность: при прежнем уровне чувствительности специфичность возрастает до 85-94 % [160, 261, 340]. Магнитно-резонансная томография (МРТ) также может применяться для оценки проходимости маточных труб, однако в связи со стоимостью и сложностью исследования чаще используется у пациенток с распространенными формами эндометриоза с вовлечением в патологический процесс

смежных органов. Еще один метод оценки состояния маточных труб — фертилоскопия — малоинвазивное вмешательство, более эффективна, однако, за счет особенностей техники не позволяет диагностировать эндометриоз I–II степени. На завершающем этапе с лечебно-диагностической целью выполняется лапароскопия. К сожалению, верификация эндометриоза возможна только на последнем этапе обследования супружеской пары. До этого можно только заподозрить у пациентки наличие НГЭ. В связи с этим диагностика эндометриоза остается актуальной проблемой.

Согласно консенсусу по ведению пациенток с эндометриозом 2013 года в условиях ограниченных ресурсов диагностика эндометриоза может начинаться с двух простых вопросов о тазово-абдоминальной боли и бесплодии [224]. Болевой синдром при эндометриозе может быть различным: это может быть циклическая тазовая боль, дисменорея, перивульварная боль, хроническая нециклическая тазовая боль, диспареуния (позиционная или постоянная), дисхезия и дизурия [325]. Необходимо также уточнять о фертильности пациенток, даже в тех ситуациях, когда пациентка не предъявляет жалоб на отсутствие наступления беременности. Несмотря на широкое распространение визуальной диагностики, обследование органов малого таза остается одним из наиболее ценных клинических инструментов для выявления распространенных форм эндометриоза. Рутинным методом диагностики эндометриозом яичников является трансвагинальное УЗ-сканирование, кроме того, при УЗИ можно заподозрить наличие глубокого эндометриоза, однако данный метод бессилен в обнаружении малых форм эндометриоза [109]. С помощью контрастного МРТ возможно визуализировать поверхностные имплантаты эндометриоза, спайки, инфильтративные очаги на крестцово-маточных связках, ректовагинальной перегородки (включая глубину инвазии в стенку прямой кишки), стенки мочевого пузыря и поражение яичников [36, 109, 325]. Безусловно, при подозрении на глубокий ретроцервикальный эндометриоз перед лапароскопией всегда должно проводиться МРТ [81].

На сегодняшний день из многих биомаркеров эндометриоза, предложенных для определения в периферической крови, ни один не стал использоваться в ру-

тинной клинической практике [179]. Проблема разработки неинвазивного теста для пациентов с симптоматическим эндометриозом остается до сих пор актуальной. Особый интерес представляет серия работ Адамян Л.В и др., посвященная значительной схожести экспрессии генов и сигнальных путей образцов эутопического и эктопического эндометрия пациенток с эндометриозом, что предполагает возможность использования транскриптома эутопического эндометрия в качестве маркера наличия очагов эндометриоза [2, 6, 7, 46].

Большое количество работ посвящено изучению изменения уровня онкомаркеров у пациенток с эндометриозом. В частности, свою ценность для диагностики эндометриоза показали маркеры-антигены, ассоциированные с мембранами клеток серии СА: СА-125, СА 19-9, СА 15-3. Вместе с тем остается открытым вопрос о причинах изменения уровня онкомаркеров при эндометриозе. Согласно литературным данным, уровень СА-125 повышен в сыворотке крови и перитонеальной жидкости у пациенток с распространенными формами эндометриоза [352]. Большинство авторов сходятся во мнении, что уровень сывороточного СА-125 остается в норме у пациенток с начальной и умеренной стадией эндометриоза [245, 300]. Тогда как при распространенных формах отмечается повышение уровня СА-125 в сыворотке крови, особенно во время менструации [11, 300]. Кроме того, при повышении СА-125 более 35 МЕ/мл у пациенток чаще обнаруживается выраженный спаечный процесс в малом тазу [245]. В исследовании Hirsch было показано, что повышение СА-125 более 30 МЕ/мл является хорошим прогностическим критерием выявления эндометриоза у пациенток с синдромом тазовых болей и бесплодием (специфичность = 96%), но в то же время уровень сывороточного СА-125 менее 30 МЕ/мл не может полностью исключить эндометриоз (чувствительность = 57%) [210]. По данным кокрановского исследования прогностическая значимость СА-125 оценивалась при различных пороговых значениях, демонстрируя следующие средние значения чувствительности и специфичности: для порога 10,0-14,7 Ед / мл: 0,70 (95% ДИ от 0,63 до 0,77) и 0,64 (95% ДИ от 0,47 до 0,82); для порога 25,0–26,0 Ед / мл: 0,73 (95% ДИ от 0,67 до 0,79) и 0,70 (95% ДИ от 0,63 до 0,77); для порога 30,0–33,0 Ед / мл: 0,62 (95% ДИ от 0,45 до 0,79) и

0,76 (95% ДИ от 0,53 до 1,00); и для порога 35,0–36,0 Ед / мл: 0,40 (95% ДИ от 0,32 до 0,49) и 0,91 (95% ДИ 0,88 до 0,94), то есть оптимальное соотношение чувствительности и специфичности наблюдается при низком пороговом значении СА-125, при более высоких концентрациях СА-125 повышается выявляемость эндометриоза при сравнительно низкой чувствительности теста [297]. Согласно данным Patrelli et al., уровень сывороточного СА-125 выше при локализации эндометриоидных имплантов на яичниках, чем при экстрагонадных формах эндометриоза, при этом в случае поверхностной локализации имплантов наблюдается повышение СА-125 в перитонеальной жидкости, а при глубокой локализации – в сыворотке, что объясняется более выраженной васкуляризацией глубоких очагов [312]. Согласно отечественным клиническим рекомендациям определение СА-125 может использоваться не только для диагностики НГЭ, но и для мониторинга терапии этого заболевания [109].

Другим онкомаркером, который используются для диагностики эндометриоза является СА 19-9. СА-19.9 используется в диагностике рака желудочно-кишечного тракта. В работе Kurdoglu Z. et al. показано, что уровень сывороточного СА 19-9 значительно выше у пациенток с эндометриозом, чем у пациенток без него, а также отмечена корреляция уровня маркера со степенью тяжести НГЭ [236]. Авторы приводят схожую чувствительность и специфичность для онкомаркеров СА-125 и СА-19.9 в выявлении эндометриоза (чувствительность 86% и специфичность 61% для СА-125 и 89% и 52% для СА-19.9). По данным Zhu et al. прогностическая ценность неинвазивной диагностики эндометриоза повышается при комбинированном изучении маркеров СА 19-9 и СА 125 [391]. В мета-анализе Nisenblat et al. для СА-19,9 с пороговым значением $> 37,0$ МЕ / мл (3 исследования, 330 женщин) показана чувствительность 36% (95% ДИ от 26% до 45%), а специфичность – 87% (95% ДИ 75% до 99%) [297]. Повышение концентрации СА 15-3 характерно для поздних стадий злокачественных эпителиальных поражений яичников, шейки матки, эндометрия. Чаще всего определение уровня СА 15-3 обычно используется для оценки эффективности лечения при раке молочной

железы. Известно, что СА 15-3 повышается при тяжелых стадиях эндометриоза с вовлечением в процесс яичников [335].

Выше было изложено о роли провоспалительных цитокинов в патогенезе эндометриоза. Логично предположить, что повышение их сывороточных концентраций может быть использовано в качестве неинвазивных тестов диагностики эндометриоза.

Наиболее изученным цитокином при эндометриозе является ИЛ-6. Многие исследователи отмечают системное и местное увеличение продукции ИЛ-6 при эндометриозе, и корреляцию его уровня со стадией заболевания [286, 377]. Повышение ИЛ-6 наблюдается в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом, более значимое возрастание концентраций ИЛ-6 в перитонеальной жидкости также характерно при распространенном эндометриозе [103, 223]. Высокий уровень ИЛ-6 сочетается с уменьшением концентрации растворимых рецепторов ИЛ-6 в перитонеальной жидкости при тяжелом течении эндометриоза, что может служить причиной отсутствия ингибирующего влияния ИЛ-6 на рост эндометриодных гетеротопий [54]. В исследовании Othman et al. среди измеренных уровней цитокинов сыворотки, уровень ИЛ-6 показал наилучшие статистически значимые различия между группой контроля и эндометриоза. При повышении уровня ИЛ-6 в сыворотке более 1,9 пг/мл чувствительность прогностического теста составляла 71%, а специфичность 66% [303]. По данным Кокрановской базы данных при концентрации ИЛ-6 в диапазоне от 1,90 до 2,00 пг / мл (3 исследования, 309 женщин) чувствительность составляет 63% (95% ДИ от 52% до 75%), а специфичность – 69% (95% ДИ от 57% 82%) [297].

В диагностике эндометриоза может использоваться и определение уровня ИЛ-8. В ряде исследований показано увеличение уровня ИЛ-8 в перитонеальной жидкости у пациенток с эндометриозом и его корреляция с тяжестью заболевания [336]. Литературные данные о возможности использования ИЛ-8 в качестве маркера диагностики эндометриоза объединены в кокрановском мета-анализе [297]. В этом обзоре приведены 2 исследования, позволяющие выявить эндометриоз при повышении концентрации ИЛ-8 с чувствительность 49-62% и специфичностью

71-73%. В пяти других исследованиях не было выявлено корреляции уровня ИЛ-8 у пациенток с различными стадиями эндометриоза. Авторы мета-анализа приходят к выводу, что ИЛ-8 имеет сомнительную ценность в качестве диагностического теста для эндометриоза. Результаты этого же мета-анализа в связи с противоречивостью различных результатов также показали невозможность использования ФНО- α в качестве неинвазивного теста диагностики эндометриоза. По данным Foda et al. при концентрации ФНО- α выше 12,45 пг/мл эндометриоз выявляется с чувствительностью 89% и специфичностью 86% [192]. Тогда как по ряду других исследований уровень ФНО- α был одинаковым у пациенток контрольной группы и при наличии малых или распространенных форм эндометриоза [297]. А по данным Mihalyi et al, напротив, при малых формах эндометриоза наблюдается снижение сывороточного ФНО- α [278].

Таким образом, несмотря на высокую частоту распространенности эндометриоза эпидемиологические данные касательно различных форм эндометриоза, его сочетания с бесплодием носят фрагментарный характер. Ограниченность литературных данных о частоте эндометриоза связана и со сложностью диагностики малых форм эндометриоза, когда основным проявлением заболевания является бесплодие. Пациенткам с нормальным уровнем гормонов, отсутствием патологии со стороны органов малого таза по данным трансвагинальной эхографии и с нормозооспермией у партнера проводят исследование проходимости маточных труб, и при их проходимости пациенток относят в группу бесплодия неясного генеза, не исключив эндометриоз. На сегодняшний день вопрос о необходимости проведения диагностической лапароскопии для исключения эндометриоза вызывает много дискуссий. Кроме того, лапароскопия является инвазивной процедурой и, как любое оперативное вмешательство, сопряжена с риском серьезных осложнений. В настоящее время активно предпринимаются попытки разработки неинвазивных маркеров эндометриоза, однако литературные данные относительно возможности неинвазивной диагностики эндометриоза крайне противоречивы. В связи с вышеуказанным представляется актуальной оптимизация диагностики малых форм эндометриоза

2.5. Дизайн исследования. Пациенты и методы исследования

Исследование проводилось в 2 этапа. Дизайн исследования приведен в Таблица 2.2.

Таблица 2.2 - Дизайн исследования

Этап работы	Задача исследования		Группы исследований	Количество наблюдений	Всего
Ретроспективный	Определение распространенности и структуры заболеваемости НГЭ		Статистические данные ЦПСиР		
Перспективный	Оптимизация диагностики НГЭ	Оценка клинических методов диагностики и значимости предоперационного определения состояния маточных труб	Первичное бесплодие	192	285
			Вторичное бесплодие	93	
		Оценка возможности использования биохимических маркеров	НГЭ	64	90
			Контрольная группа	26	

На первом этапе (ретроспективном) была оценена распространенность НГЭ в структуре гинекологической заболеваемости, а также структура наружного генитального эндометриоза у пациенток различных возрастных групп. Были использованы статистические данные Центра планирования семьи и репродукции Департамента Здравоохранения г. Москвы за период с 2009 по 2018 годы. Из статистических данных были выбраны пациентки со следующими диагнозами, согласно МКБ-10: N80.1 Эндометриоз яичников, N80.2 Эндометриоз маточной трубы, N80.3 Эндометриоз тазовой брюшины, N80.4 Эндометриоз ректовагинальной перегородки и влагалища, N80.5 Эндометриоз кишечника. Для определения частоты НГЭ у пациенток с бесплодием в исследование были включены следующие нозологические единицы согласно МКБ-10: N97.0 Женское бесплодие, связанное с отсутствием овуляции, N97.1 Женское бесплодие трубного происхождения, N97.2 Женское бесплодие маточного происхождения, E28.2 СПКЯ.

Второй этап (проспективный) исследования был посвящен оптимизации диагностики НГЭ. Для этого определялась оценка значимости клинических методов диагностики и предоперационного определения состояния маточных труб у 285 пациенток с бесплодием, которым было проведено хирургическое лечение с целью восстановления фертильности. Все обследованные были разделены на две группы. Первую группу составили пациентки с первичным бесплодием ($n=192$) пациентки с первичным бесплодием, вторую – с вторичным ($n=93$). Критериями исключения из исследования являлись: возраст старше 35 лет, наличие бесплодия у партнера, абсолютное трубное бесплодие, маточные формы бесплодия, другие формы эндокринного бесплодия, кроме СПКЯ.

Далее у 90 пациенток была определена возможность использования биохимических маркеров для диагностики НГЭ. Для определения диагностической ценности этих маркеров пациентки были разделены на две группы: 64 пациентки были включены в группу с НГЭ и 26 пациенток составили контрольную группу. В контрольную группу вошли пациентки с ТПБ и идиопатическим бесплодием с верифицированным отсутствием эндометриоза по данным лапароскопии. Критериями исключения из этого этапа исследования были: наличие воспалительных заболеваний органов малого таза, наличие опухолевых заболеваний, острых воспалительных экстрагенитальных и гинекологических заболеваний.

222 пациенткам, включенным во второй этап исследования была выполнена оценка проходимости маточных труб с помощью гистеросальпингографии (162 пациентки), эхогидросонографии (41 пациентка) и фертилоскопии (19 пациенток). В сыворотке крови 90 пациенток определялась концентрация ИЛ-6, ИЛ-8, СА-19.9, СА-125. Забор крови осуществлялся в пролиферативную фазу менструального цикла, в течение первой недели после окончания менструации, до проведения любых хирургических манипуляций.

У всех пациенток было получено информированное согласие на обработку персональных данных, а также использование биологического материала.

Клиническая характеристика пациенток, включенных во второй этап исследования

Средний возраст пациенток с первичным бесплодием составил $24,7 \pm 1,5$ года, с вторичным — $29,2 \pm 1,3$ года. Анализ акушерского анамнеза установил, что у 93 пациенток с вторичным бесплодием роды были отмечены у 33, искусственные аборты у 66, самопроизвольный выкидыш был у 21 пациентки. Внематочная беременность была в анамнезе у 5 пациенток. Из перенесенных гинекологических заболеваний у пациенток обеих групп отмечается высокая частота хронического сальпингоофорита (92 и 53 пациентки). Гиперпластические процессы эндометрия были выявлены у 18 пациенток в первой группе и 13 пациенток во второй. Фоновые заболевания шейки матки отмечены в анамнезе у 40 с первичным и 13 пациенток с вторичным бесплодием. Гинекологический анамнез отягощен не был у 42 пациенток и 13 пациенток в первой и второй группах соответственно.

Из 64 пациенток с НГЭ, которым выполнялось исследование биохимических маркеров минимальные и легкие проявления эндометриоза согласно классификации американского общества фертильности (I-II стадии) были выявлены у 28 пациенток, умеренные и тяжелые формы эндометриоза (III-IV стадии) — у 36 обследованных.

2.6. Распространенность эндометриоза у пациенток с бесплодием

Проведенный анализ показал, что за последние десять лет распространенность НГЭ в структуре гинекологической заболеваемости ЦПСР остается не изменно высокой и составляет 21-26 %. При этом за последние десять лет частота НГЭ не имеет тенденции к снижению (Рисунок 2.2).



Рисунок 2.2 - Количество пациенток с НГЭ от общего количества прооперированных пациенток с гинекологической патологией в ЦПСиР

В структуре НГЭ, потребовавшего оперативное вмешательство, примерно в равном проценте выявлялись следующие нозологические формы, согласно МКБ-10 - N80.1 Эндометриоз яичников в 45% и N80.3 Эндометриоз тазовой брюшины в 44%. Тяжелый ретроцервикальный эндометриоз (N80.4 Эндометриоз ректовагинальной перегородки и влагалища) был диагностирован в 9% наблюдений. N 80.2 Эндометриоз маточной трубы встречался у 2% (Рисунок 2.3).

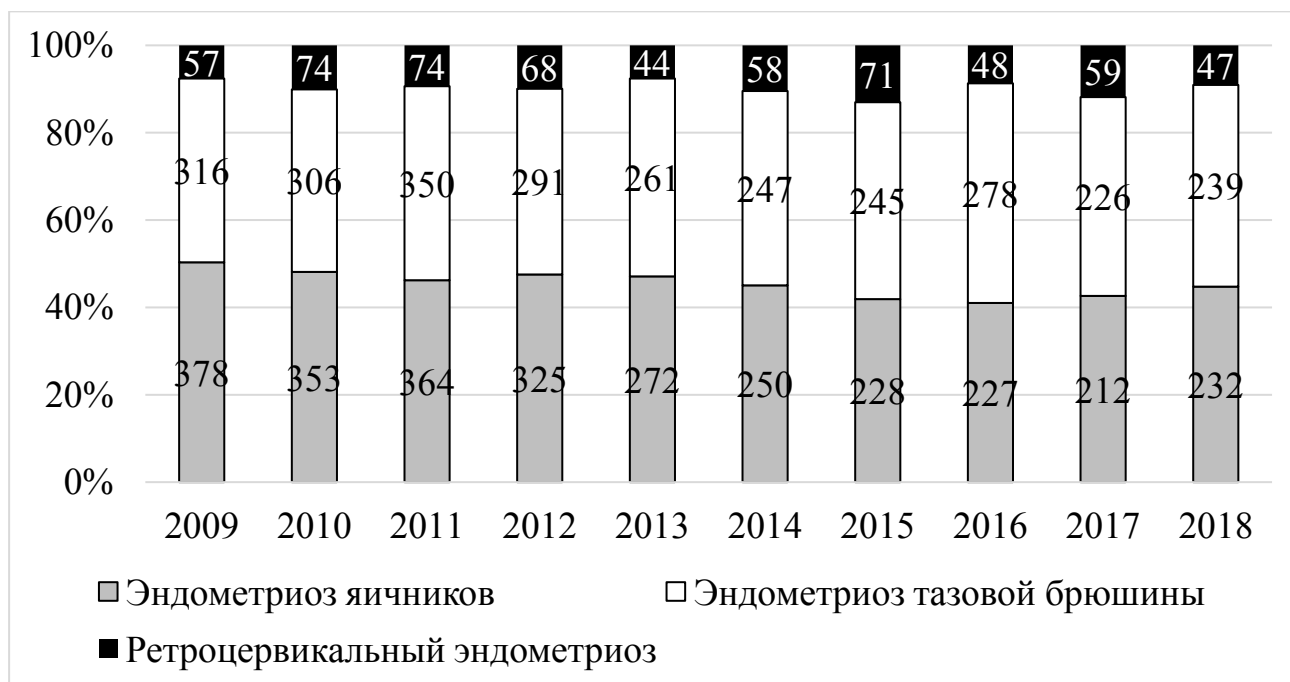


Рисунок 2.3 - Структура НГЭ у пациенток, оперированных в ЦПСиР

Подавляющее число женщин, оперированных по поводу НГЭ, относились к репродуктивному возрасту, причем доля больных в возрасте от 30 до 34 лет составляла 41%, и только 10% пациенток были в возрасте старше 40 лет (Рисунок 2.4)

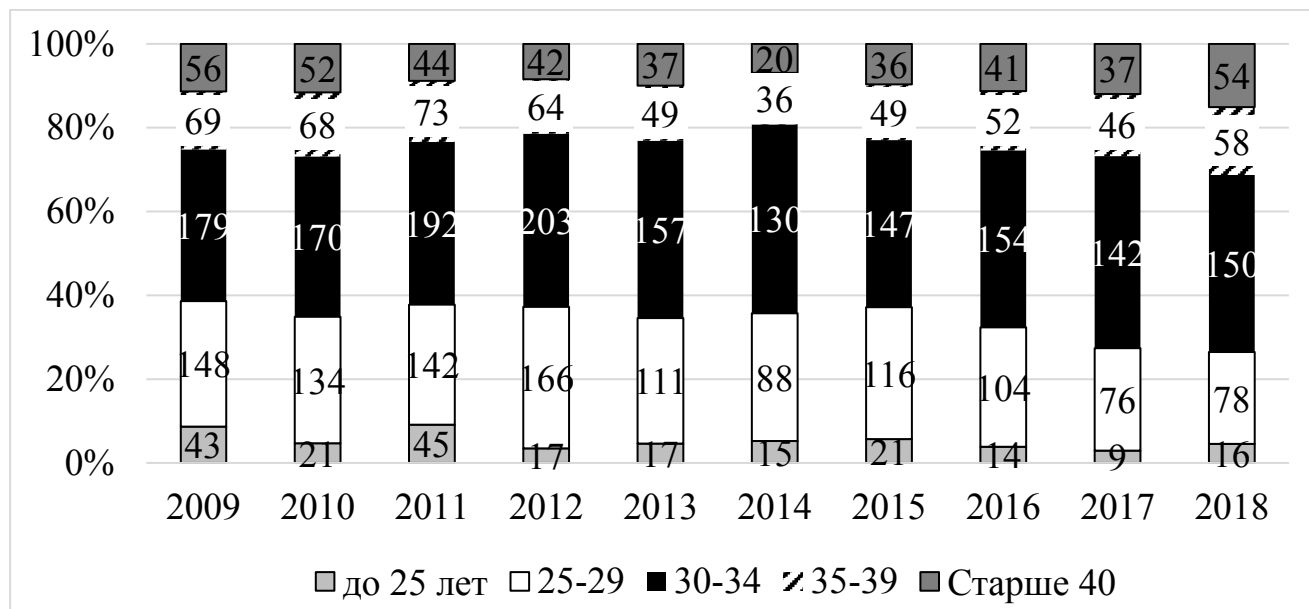


Рисунок 2.4 - Возраст оперированных пациенток с НГЭ

Оперативные вмешательства по поводу НГЭ выполнялись в следующих объемах: резекция яичников была проведена 37%, коагуляция очагов эндометриоза у 35%, иссечение эндометриоидных инфильтратов было произведено у 13% пациенток (Таблица 2.3).

Таблица 2.3 - Объемы оперативных вмешательств, выполненных по поводу НГЭ

Объем оперативного вмешательства	Количество пациенток, по годам				
	2014	2015	2016	2017	2018
Коагуляция очагов эндометриоза	215	200	214	165	191
Иссечение очагов эндометриоза	70	75	76	67	75
Диссекция мочеточника	10	7	10	16	19
Мобилизация прямой кишки	11	12	14	22	29
Резекция яичника	230	208	215	192	204
Аднексэктомия	20	13	17	14	15
Тубэктомия	26	31	50	40	53

Распространенные формы эндометриоза, потребовавшие мобилизации прямой кишки и диссекции мочеточника выполнялись в 5% наблюдений. У 3% пациенток в связи с рецидивом эндометриоидной кисты и отсутствием здоровой яич-

никовой ткани, а также у пациенток старше 40 лет, выполнивших репродуктивную функцию, выполнялась аднексэктомия. Тубэктомия перед планируемым циклом ЭКО в связи с наличием изменений маточной трубы была произведена в 7% наблюдений.

В течение последних трех лет НГЭ неизменно занимает лидирующее позицию среди всех оперативных вмешательств, производимых пациенткам с бесплодием (Рисунок 2.5).

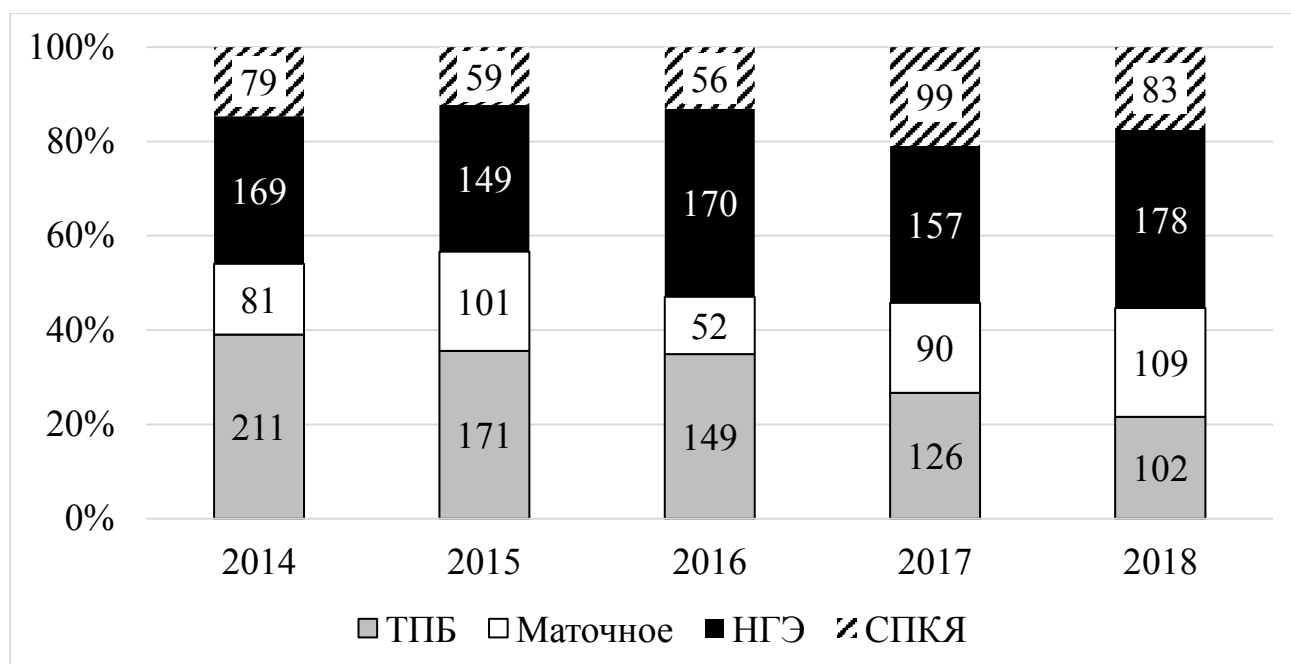


Рисунок 2.5 - Частота НГЭ у пациенток, оперированных по поводу бесплодия

Некоторое снижение частоты трубно-перитонеального бесплодия (ТПБ) за указанный период может быть объяснено расширениями показаний у пациенток с трубным бесплодием к проведению ЭКО. Согласно отечественным данным, НГЭ выявляется у 20-50% пациенток оперированных лапароскопическим доступом по поводу выявления и уточнения причины бесплодия [36].

На следующем этапе исследования нами были изучены показания для проведения лапароскопии у пациенток с бесплодием. Данное исследование было ретроспективным типа «случай-контроль». В него было включено 285 пациенток. Ведущим показанием к лапароскопии у пациенток и с первичным, и со вторичным бесплодием стала непроходимость маточных труб, она была выявлена у 52% пациенток с первичным бесплодием и 80% со вторичным. Другими показаниями

для операции пациенток с первичным бесплодием являлись СПКЯ у 29% и НГЭ - у 19%. У пациенток с вторичным бесплодием СПКЯ до лапароскопии был выявлен в 10% наблюдений, НГЭ также в 10% (Рисунок 2.6).

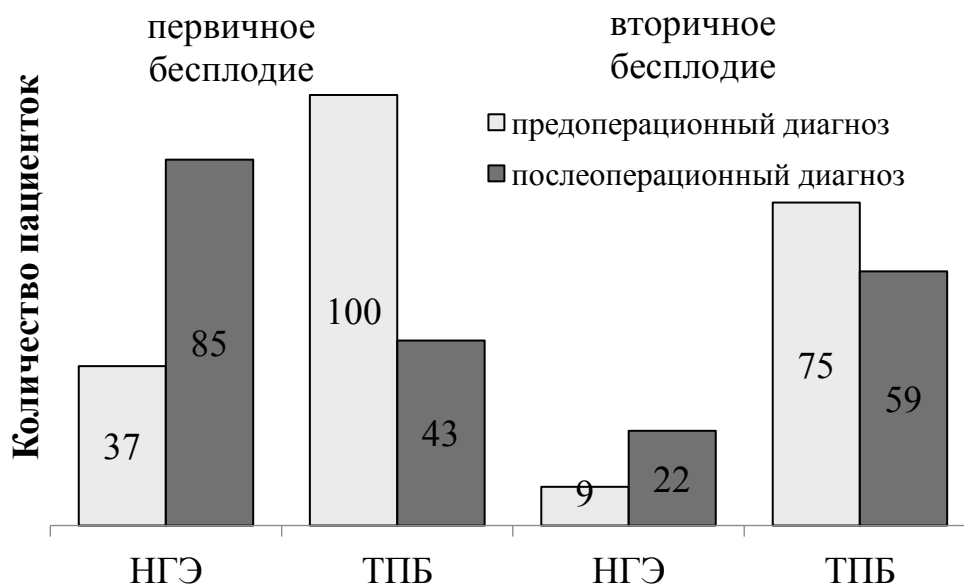


Рисунок 2.6 - Верифицированные причины первичного и вторичного бесплодия

После интраоперационной верификации диагноза в группе пациенток с первичным бесплодием частота НГЭ составила 44%, ТПБ было выявлено у 22%, СПКЯ - у 29%. Частота идиопатического первичного бесплодия по результатам лапароскопии составила 5%. В группе пациенток со вторичным бесплодием во время лапароскопии непроходимость маточных труб была верифицирована у 64%, НГЭ – у 24%, СПКЯ - у 10%. Этиология бесплодия осталась неустановленной у 2% (2 пациентки) второй группы.

У пациенток с первичным бесплодием оказалось частота НГЭ как причины бесплодия была недооценена более чем в половине наблюдений, (19% — до и 44% — после операции), при этом непроходимость маточных труб во время лапароскопии была подтверждена только у 22% (против 52% на дооперационном этапе). Аналогичные результаты оказались и у пациенток с вторичным бесплодием. Частота НГЭ после операции оказалась в два раза выше: 10% против 24%, а ТПБ было выявлено в меньшем проценте наблюдений: 80% до операции и 64% после нее. Соответственно, нами выявлены статистически значимые различия между

частотой пред- и интраоперационных диагнозов в группе пациенток с первичным ($\chi^2=6,74$; $p<0,01$) и вторичным бесплодием ($\chi^2=36,1$; $p<0,001$) (Рисунок 2.6). Диагноз СПКЯ был подтвержден интраоперационно и гистологически у всех пациенток с первичным и вторичным бесплодием, что свидетельствует о достаточности критериев диагностики данного патологического состояния.

Как у пациенток с первичным, так и с вторичным бесплодием на предоперационном этапе очевидна гипердиагностика ТПБ и недооценка НГЭ как причины infertility. Этому способствует чрезмерная настороженность современных врачей в отношении хронического сальпингоофорита, когда любой болевой синдром в нижних отделах живота расценивается как проявление «воспаления придатков», хотя данная клиническая картина может быть характерна и для эндометриоза [76]. Так, по нашим данным, в обеих группах пациенток в структуре гинекологической заболеваемости обращает внимание высокая частота хронического сальпингоофорита (48% и 57% —соответственно). Схожую частоту воспалительных заболеваний у бесплодных пациенток приводят и другие авторы [78]. Известно, что наиболее часто спаечная непроходимость маточных труб и гидросальпинкс формируются вследствие перенесенной хламидийной инфекции и крайне редко данные осложнения отмечается у пациенток, инфицированных уреаплазмозом [49, 211]. Структура инфекций, передающихся половым путем (ИППП) в двух изучаемых группах пациенток была различной. У 26% с первичным бесплодием ранее выявлялся уреаплазмоз, у 10% - хламидиоз и 9% - микоплазмоз. Среди пациенток с вторичным бесплодием хламидиоз в анамнезе был выявлен у 33%, уреаплазмоз – 26%, микоплазмоз – у 14%. Ранее перенесенные ИППП отрицали 41% с первичным и 27% — со вторичным бесплодием ($\chi^2=5.23$, $p<0,025$). То есть вероятнее всего у пациенток как с первичным, так и со вторичным бесплодием имела место гипердиагностика хронического сальпингоофорита, хотя интраоперационно признаков ранее перенесенной инфекции обнаружено не было.

Известно, что помимо инфекционного процесса, наличие перитубарных и перивариальных спаек может быть вызвано предшествующим оперативным вмешательством как гинекологического, так и общехирургического профиля. По

нашим данным, оперативные вмешательства на органах брюшной полости и малого таза достоверно чаще отмечались у пациенток с вторичным бесплодием — 54% по сравнению с пациентками с первичным бесплодием — 28% ($\chi^2=21,44$, $p<0,001$). В первой группе обследованных аппендэктомия была выполнена 29 пациенткам, резекция яичников у 25 (из них лапаротомическим доступом — 17). Среди пациенток с вторичным бесплодием аппендэктомия была отмечена у 22 пациенток, операции на придатках матки у 19 (из них лапаротомическим доступом — у 11), кесарево сечение — у 11.

Как следует из проведенного анализа, диагноз ТПБ разумно предположить у пациенток с ранее перенесенным хламидиозом и оперативными вмешательствами на органах малого таза и брюшной полости, особенно лапаротомным доступом. Наличие хронических тазовых болей не является основанием для верификации ТПБ, а может указывать на наличие НГЭ. Для определения значимости клинических данных в диагностике эндометриоза нами был проведен индивидуальный анализ анамнеза у 105 пациенток с НГЭ. Оказалось, что болевой синдром был у 73 (69,5%), причем у подавляющего числа пациенток (у 65 женщин) он был связан с менструальным циклом. Диспареуния была выявлена у 28 (26,7%) обследованных. Нарушения менструального цикла по типу метроррагии (темные мажущие выделения до или после менструации) определялись у 68 (64,8%). Следует отметить, что отсутствие иных клинических проявлений НГЭ за исключением бесплодия было только у 20 (19,0%) пациенток. Таким образом, на основании данных анамнеза возможно заподозрить НГЭ как причину бесплодия, однако его проявления неспецифичны и четкие критерии для диагностики НГЭ отсутствуют. На предоперационном этапе диагноз малых форм эндометриоза является скорее «диагнозом исключения», и устанавливается тем пациенткам, у кого отсутствуют изменения в спермограмме супруга, подтверждена овуляция и проходимость маточных труб. В связи с этим на следующем этапе нами была определена диагностическая ценность неинвазивных и малоинвазивных методов оценки проходимости маточных труб (гистеросальпингографии, эхогидросальпингографии или фер-

тилоскопии), которые на догоспитальном этапе выполнялись всем пациенткам за исключением больных с верифицированным СПКЯ.

2.7. Диагностическая ценность оценки проходимости маточных труб у пациенток с бесплодием

Как уже указывалось ранее основным показанием для проведения лапароскопии у пациенток с бесплодием явилась непроходимость маточных труб, выявленная по данным инструментальных методов обследования (гистеросальпингографии, эхогидросонографии, фертилоскопии). Гистеросальпингография была проведена 162 пациенткам. Согласно результатам исследования, маточные трубы оказались проходимы у 29 и непроходимы у 133 пациенток. Интраоперационно диагноз окклюзии маточных труб был подтвержден у 49 из 133 пациенток. У 1 пациентки были получены ложноотрицательные результаты. Следовательно, чувствительность гистеросальпингографии составила 98%, специфичность — 25% (Таблица 2.4).

Таблица 2.4 - Диагностическая ценность методов оценки проходимости маточных труб у пациенток с бесплодием

Метод	Чувствительность, %	Специфичность, %	LR+	LR-
Гистеросальпингография	98,0	25,0	1,3	0,08
Эхогидросонография	100,0	52,9	1,9	0,00
Фертилоскопия	100,0	85,7	3,9	0,00

Эхогидросонография с целью оценки проходимости маточных труб была выполнена 41 пациентке. Патология маточных труб была диагностирована при эхогидросонографии у 23 больных, при лапароскопии — у 7, при этом у всех 18 пациенток с проходимыми, согласно результатам эхогидросонографии трубами, интраоперационно диагноз был подтвержден (чувствительность — 100%, специфичность — 52,9%), то есть при данном исследовании так же, как и при гистеросальпингографии, наблюдалась высокая частота ложноположительных результатов. Фертилоскопия оказалась наиболее информативной в отношении диагности-

ки дистальной окклюзии маточных труб (диагноз был верно верифицирован у 6 из 7 пациенток).

В результате проведенного исследования было установлено, что гистеросальпингография и эхогидросонография обладают сравнительно высокой чувствительностью (то есть у пациенток с проходимыми трубами по данным инструментального метода обследования интраоперационно контраст также свободно поступал в маточные трубы). Однако при проведении данных методик имеет место значительная гипердиагностика патологии маточных труб. Возможными причинами отсутствия контрастирования маточных труб при их проходимости является их спазм, технические сложности при введении катетера, особенно при положении матки в *retroflexio*, характерное для пациенток с НГЭ, что обуславливает низкую специфичность данных методик. С другой стороны, гистеросальпингография и эхогидросонография оценивают только проходимость маточных труб и не позволяют исключить перитонеальное бесплодие, связанное с развитием спаечного процесса в малом тазу различной степени тяжести; то есть даже при спаечном процессе IV степени маточные трубы могут быть проходимы по данным неинвазивных методов диагностики. О большом количестве ложноположительных результатов рентгенологической и ультразвуковой оценки проходимости маточных труб указывают и другие авторы [324]. Lindsay et al. в своем обзоре рекомендуют пациенткам с подозрением на эндометриоз, с перенесенными острыми воспалительными заболеваниями, а также с внематочной беременностью в анамнезе начинать обследования сразу с лапароскопии, без предварительной оценки проходимости маточных труб [255]. Однако в отечественных рекомендациях 2019 года по ведению пациенток с бесплодием до сих пор продолжает рекомендоваться гистеросальпингография в качестве рутинного метода обследования проходимости маточных труб в связи с высокой чувствительностью данной методики и экономической рентабельностью. Хочется подчеркнуть, что данные рекомендации основаны на исследовании Hamilton et al. 1998 года, которое посвящено оценке проходимости маточных труб с помощью ультразвуковых методов исследования [205]. Мы считаем, что на современном этапе гистеросальпингография имеет

ограниченное применение и не должна входить в рекомендуемый перечень обследования у пациенток с бесплодием.

По результатам фертилоскопии маточные трубы были проходимы у 12 из 19 пациенток. Эффективная оценка проходимости маточных труб при фертилоскопии по результатам нашего исследования достаточно высока: гидросальпинкс, дистальная окклюзия маточных труб, перитубарные и периовариальные спайки верно были диагностированы у 6 пациенток (чувствительность — 100%, специфичность — 85,71%), то есть данные фертилоскопии в отношении оценки проходимости маточных труб сопоставимы с результатами лапароскопии. В то же время применение фертилоскопии имеет ряд ограничений. Данная процедура является инвазивной, проводится под внутривенной анестезией, и, следовательно, сопряжена с риском хирургических и анестезиологических осложнений, а при выявлении органической патологии требуется проведение повторного инвазивного вмешательства — лапароскопии.

Для оценки роли определения состояния маточных труб при эндометриозе пациентки с НГЭ были проанализированы отдельно (Таблица 2.5).

Таблица 2.5 - Диагностическая ценность методов оценки проходимости маточных труб у пациенток с НГЭ

Метод	Чувствительность, %	Специфичность, %	LR+	LR-
Гистеросальпингография	100,0	20,3	1,3	0,0
Эхогидросонография	100,0	41,2	1,7	0,0

Пройодимость маточных труб оценивалась у 83 пациенток с НГЭ. Гистеросальпингография была проведена 65 пациенткам. Согласно результатам исследования, маточные трубы оказались проходимы у 13 и непроходимы у 52 пациенток. Интраоперационно затруднение проходимости маточных труб было выявлено только у 1 пациентки, у остальных 64 пациенток маточные трубы были проходимы. Следовательно, диагностическая ценность в субпопуляции пациенток с НГЭ оказалось еще ниже, чем в исследовании в целом: чувствительность составила 100%, специфичность — 20,3%.

Эхогидросонография с целью оценки проходимости маточных труб была выполнена 18 пациенткам с НГЭ. Патология маточных труб была диагностирована при эхогидросонографии у 11 больных, при лапароскопии затруднение поступления контраста в маточную трубу выявлено только в 1 наблюдении. У 7 пациенток с проходимыми, согласно результатам эхогидросонографии трубами, интраоперационно диагноз был подтвержден (чувствительность — 100%, специфичность — 41,2%), то есть у пациенток с НГЭ диагностическая ценность эхогидросонографии также, как и гистеросальпингографии, характеризовалась еще более высокой частотой ложноположительных результатов, чем в общей популяции пациенток (Рисунок 2.7).

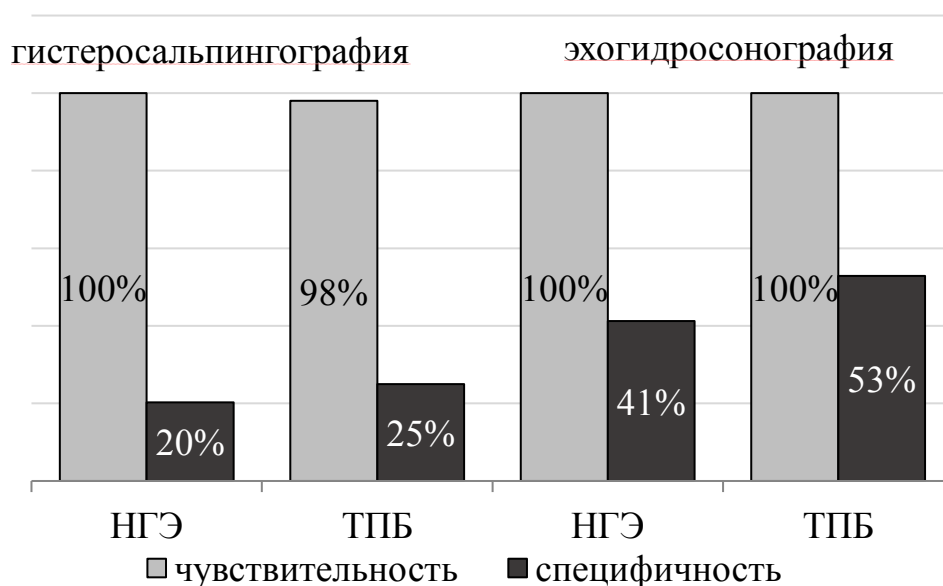


Рисунок 2.7 - Диагностическая ценность методов оценки проходимости маточных труб.

2.8. Цитокины и онкомаркеры в диагностике малых форм наружного генитального эндометриоза

В связи с отсутствием специфических симптомов НГЭ, особенно его малых форм, представляется актуальной разработка неинвазивных методов диагностики эндометриоза, которая позволит оптимизировать показания к хирургическому лечению эндометриоза с целью купирования болевого синдрома, восстановления естественной фертильности, предупреждения дальнейшего распространения эн-

дометриоза. Для этого на следующем этапе исследования у 80 пациенток в сыворотке крови были изучены уровни провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-8) и онкомаркеров (гликопротеины СА-125, СА-19.9): у 64 пациенток с НГЭ и 26 контрольной группы.

Нами были выявлены достоверные различия в уровне ИЛ-6 и ИЛ-8 у больных с эндометриозом и пациенток контрольной группы (Рисунок 2.8).

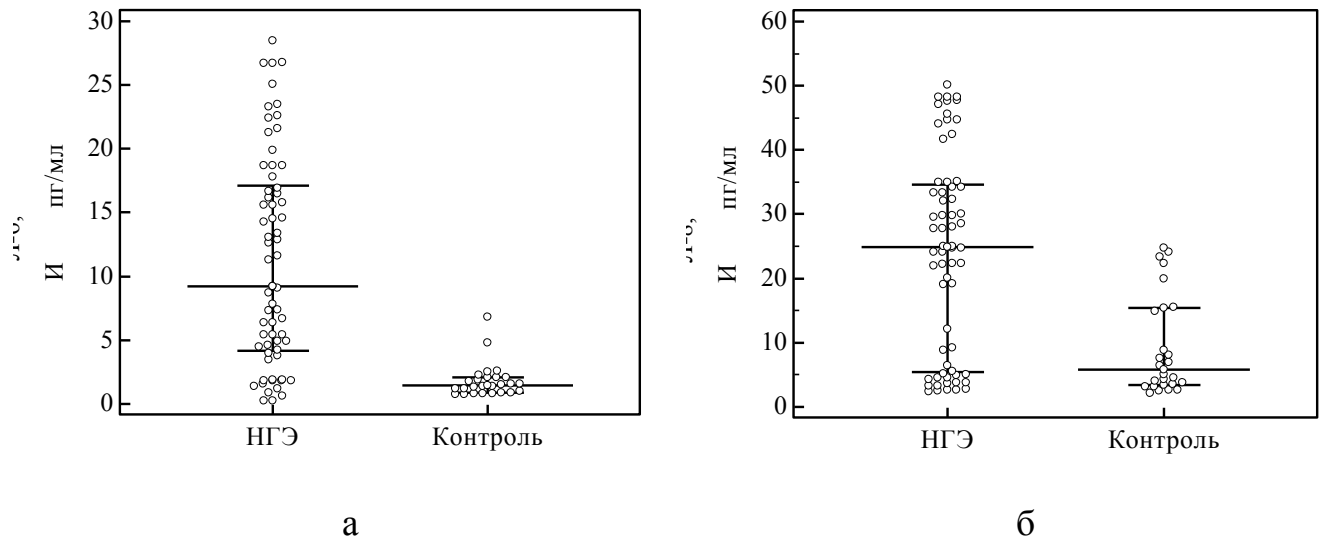


Рисунок 2.8 - Уровень ИЛ-6 (а), ИЛ-8 (б) у пациенток с эндометриозом и контрольной группы

У пациенток с НГЭ отмечалось статистически значимое повышение концентрации ИЛ-6 ($p < 0,001$) и ИЛ-8 ($p < 0,01$), причем снижение уровня этих цитокинов было характерно не только при распространенных формах, но и при наличии только поверхностных гетеротопий. Наиболее изученным цитокином при эндометриозе является ИЛ-6. Многие исследователи отмечают системное и местное увеличение продукции ИЛ-6 при эндометриозе, и корреляцию его уровня со стадией заболевания [286, 377]. ИЛ-6 секретируется перитонеальными макрофагами: при этом самая высокая экспрессия ИЛ-6 наблюдается в эктопических эндометриальных клетках, меньшая - в эутопических клетках пациенток с эндометриозом, и самая низкая - в эндометрии женщин без эндометриоза. Известно, что ИЛ-6 ингибирует рост нормальных клеток эндометрия *in vitro*, и поэтому предполагается, что он подавляет рост клеток эндометрия *in vivo* [279]. Продукция ИЛ-6 тесно связана с другим провоспалительным цитокином – ИЛ-8, который значительно

увеличивает пролиферацию эндометриоидных стромальных клеток и стимулирует инвазию эктопической эндометриоидной ткани в брюшину [336]. Под влиянием провоспалительных цитокинов резко увеличивается образование макрофагами и нейтрофилами перекиси водорода и других свободных радикалов. Избыточная продукция свободных радикалов приводит к окислительному стрессу, через который реализуются апоптотические механизмы в яичниках и эндометрии [113]. Роль окислительного стресса в патогенезе эндометриоза будет более подробно рассмотрена в соответствующей главе.

В нашем исследовании также было показано статистически значимое повышение концентрации онкомаркеров СА-125 и СА-19.9 у больных с эндометриозом (Рисунок 2.9).

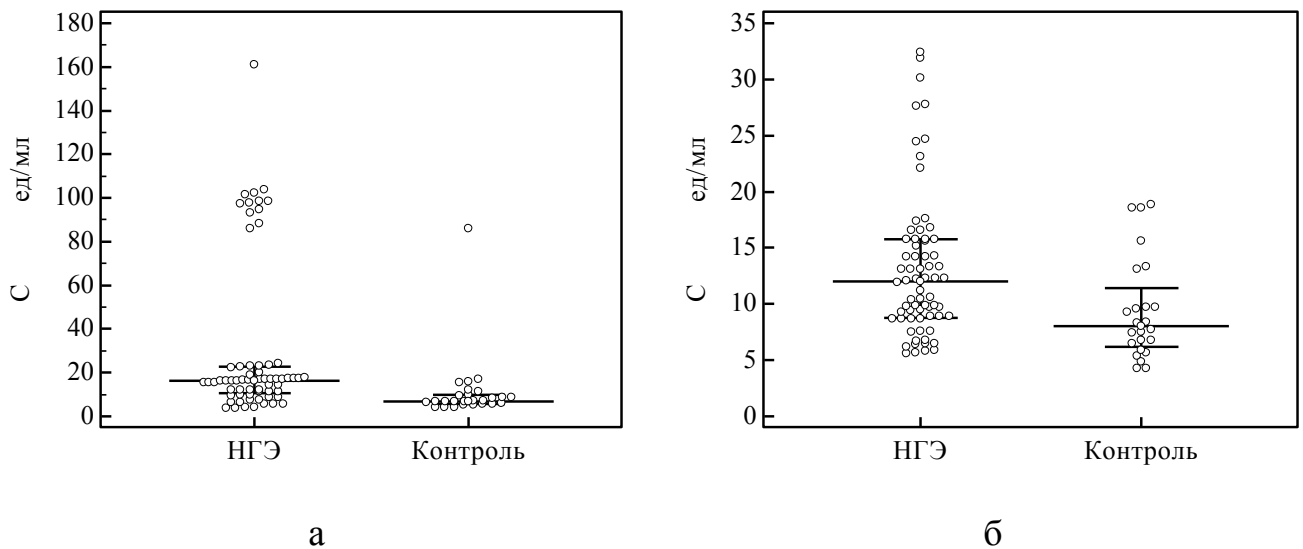


Рисунок 2.9 - Уровень онкомаркеров СА-125 (а) и СА-19.9 (б) у пациенток с эндометриозом и контрольной группы

При этом следует отметить, что значимые различия были выявлены только между группой с III-IV стадиями эндометриоза и контрольной группой, тогда как при минимальных и легких формах эндометриоза концентрации СА-125 и СА-19.9 изменялись незначительно (Таблица 2.6).

Таблица 2.6 - Концентрации цитокинов и онкогенов в зависимости от степени тяжести эндометриоза

Предиктор	Контроль (n=26)	I-II стадии НГЭ (n=28)	III-IV стадии НГЭ (n=36)
ИЛ-6, пг/мл	1,5 (0,9-2,1)	4,6 (1,7-5,4)*	16,2 (11,8-21,8)***
ИЛ-8, пг/мл	5,8 (3,5-15,4)	11,2 (3,5-15,6)*	31,1 (25,0-44,7)**
СА-125, ед/мл	7,0 (5,9-9,9)	11,7 (6,1-16,4)	19,4 (16,0-90,1)**
СА-19.9, ед/мл	8,0 (16,2-11,4)	9,9 (8,7-14,2)	12,1 (8,9-16,8)*

Примечание. *- $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой

** - $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой

*** - $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой

Согласно литературным данным, уровень СА-125 повышен в сыворотке крови и перитонеальной жидкости у пациенток с распространенными формами эндометриоза [352]. Большинство авторов сходятся во мнении, что уровень сывороточного СА-125 остается в норме у пациенток с начальной и умеренной стадией эндометриоза [245, 300]. Тогда как при распространенных формах отмечается повышение уровня СА-125 в сыворотке крови, особенно во время менструации [300]. Кроме того, при повышении СА-125 более 35 МЕ/мл у пациенток чаще обнаруживается выраженный спаечный процесс в малом тазу [245]. В работе Kurdoglu Z. et al. показано, что уровень сывороточного СА -19.9 значительно выше у пациенток с НГЭ, чем в его отсутствии, также отмечена корреляция уровня маркера со степенью тяжести заболевания [236]. Вместе с тем остается открытым вопрос о причинах изменения уровня онкомаркеров при НГЭ. Возможно увеличение уровня гликопротеинов СА-125 и СА-19.9, связано с повышением их концентраций в эктопических клетках эндометрия по сравнению с эутопическим эндометрием [391].

Для выявления порогового уровня концентраций ИЛ-6, ИЛ-8, СА-125 и СА19.9, при котором происходит увеличение вероятности развития эндометриоза, нами проведен анализ с построением ROC-кривых, которые представлены на Рисунк 2.10.

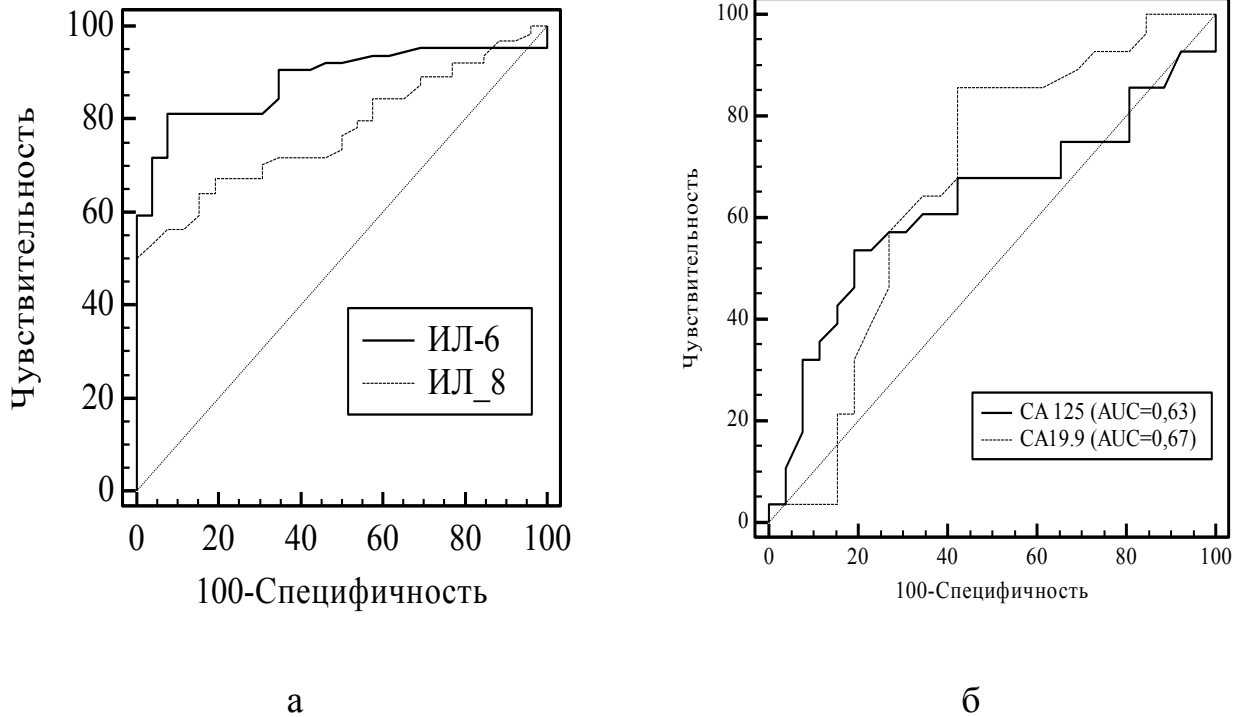


Рисунок 2.10 - Прогностическая значимость цитокинов (а) и онкомаркеров (б) в диагностике НГЭ (AUC - площадь под ROC- кривой)

По данным ROC-анализа повышение ИЛ-6 более 2,6 пг/мл позволяет выявить НГЭ с чувствительностью 80% и специфичностью 92%. Повышение концентрации ИЛ-8 более 15,5 пг/мл предсказывает развитие эндометриоза только у 67% пациенток (специфичность – 81%). В исследовании Othman et al. среди измеренных уровней цитокинов сыворотки наилучшие статистически значимые различия между группой контроля и эндометриоза, также как и в нашем исследовании, показал ИЛ-6. При повышении его концентрации в сыворотке более 1,9 пг/мл чувствительность прогностического теста составляла 71%, а специфичность 66% [303]. По данным коокрановском мета-анализе при повышении концентрации ИЛ-8 можно выявить эндометриоз с чувствительностью 49-62% и специфичностью 71-73% [297].

В литературе дискутируется вопрос о возможности верификации эндометриоза на основании исследования онкомаркера СА-125. Классическое пороговое значение СА-125 в 35 ед/мл используется для диагностики эпителиального рака яичников. В нашем исследовании СА-125 выше 35 ед/мл выявлен лишь у 12 (18,8 %) пациенток с эндометриозом (у 11 с III-IV стадиями и одной больной с I-II ста-

диями) и в 1 (3,8 %) наблюдении в контрольной группы вследствие чего диагностическая ценность исследования онкомаркера СА-125 (в отношении эндометриоза) при пороговом значении в 35 ед/мл крайне мала (чувствительность 18 %, специфичность 96 %). В связи с этим мы считаем целесообразным для диагностики эндометриоза использовать более низкую пороговую отметку в 11,3 ед/мл, что позволяет повысить диагностическую значимость СА-125 в выявлении эндометриоза: чувствительность теста составляет 73 %, а специфичность - 80 %. При повышении СА-19.9 выше 8,4 ед/мл возможно выявление НГЭ с чувствительностью 81% и специфичностью – 57%.

По данным кокрановского исследования при концентрации СА-125 10,0-14,7 Ед/мл чувствительность диагностического теста составляет 70% 0,70 (95% ДИ от 63% до 77%) и специфичность 64% (95% ДИ от 47% до 82%) [297]. Согласно данным Patrelli et al., уровень сывороточного СА-125 выше при локализации эндометриоидных имплантов на яичниках, чем при экстрагонадных формах эндометриоза, при этом в случае поверхностной локализации имплантов наблюдается повышение СА-125 в перитонеальной жидкости, а при глубокой локализации – в сыворотке, что объясняется более выраженной васкуляризацией глубоких очагов [312]. Авторы приводят схожую чувствительность и специфичность для онкомаркеров СА-125 и СА-19.9 в выявлении эндометриоза (чувствительность 86% и специфичность 61% для СА-125 и 89% и 52% для СА-19.9). По данным Zhu et al. прогностическая ценность неинвазивной диагностики эндометриоза повышается при комбинированном изучении маркеров СА 19-9 и СА 125 [391]. В мета-анализе Nisenblat et al. для СА-19,9 с пороговым значением более 37,0 МЕ / мл (3 исследования, 330 женщин) показана чувствительность 36% (95% ДИ от 26% до 45 %), а специфичность – 87% (95% ДИ 75% до 99%) [297].

Таким образом, нами показано, что провоспалительные цитокины ИЛ-6, ИЛ-8 и онкогены СА-125, СА-19.9 могут быть использованы в качестве неинвазивных критериев диагностики эндометриоза. Но для больных с тяжелыми формами заболевания неинвазивная диагностика имеет второстепенное значение, так как, имея яркую клиническую картину, эндометриоз может быть выявлен по данным кли-

нического и инструментального исследований. В то же время особое значение имеет диагностика минимальных форм НГЭ, основными проявлениями которого являются бесплодие и/или хронические тазовые боли. Оценка результатов исследования ИЛ-6, ИЛ-8, СА-125 и СА-19.9 при легких формах эндометриоза (43,7% всех обследованных пациенток) показала, что ни один из рассматриваемых показателей не обладает достаточной диагностической ценностью (Таблица 2.7).

Таблица 2.7 - Прогнозирование I-II стадий эндометриоза на основании исследования концентраций ИЛ-6, ИЛ-8, СА-125 и СА-19.9

Предиктор	AUC (95% ДИ)	Пороговое значение	Чув- стви- тель- ность, %	Специ- фич- ность, %	ПЦПР, %	ПЦОР, %
ИЛ-6, пг/мл	0,85 (0,72-0,93)	> 2,6	68	88	86	72
ИЛ-8, пг/мл	0,49 (0,36-0,64)	—	—	—	—	—
СА-125, ед/мл	0,62 (0,49-0,78)	> 11,3	54	81	75	62
СА-19.9, ед/мл	0,64 (0,50-0,77)	> 8,4	62	56	68	74

Примечание: AUC - площадь ROC- кривой, 95% ДИ - 95% доверительный интервал
ПЦПР – прогностическая ценность положительного результата
ПЦОР – прогностическая ценность отрицательного результата

В связи с этим мы провели комбинированное исследование ИЛ-6, ИЛ-8, СА-125, СА-19.9 путем логистического регрессионного анализа. Как следует из данных, представленных в Таблица 2.8, повышение уровней ИЛ-6 и СА-125 выше пороговых значений с высокой чувствительностью (93%) и специфичностью (88%) позволяет выявить максимальное количество пациенток с эндометриозом I-II стадий.

Таблица 2.8 - Прогнозирование I-II стадий эндометриоза при комбинированном исследовании уровня онкомаркеров и цитокинов

	AUC (95% ДИ)	Чувствительность, %	Специфичность, %
СА-125 и цитокины			
ИЛ-6	0,92 (0,75-0,96)	93	88
ИЛ-8	0,54 (0,40-0,71)	54	54
СА-19.9 и цитокины			
ИЛ-6	0,85 (0,72-0,93)	84	65
ИЛ-8	0,67 (0,53-0,79)	73	56

Примечание: AUC - площадь под ROC- кривой
95% ДИ - 95% доверительный интервал

Таким образом, как у пациенток с первичным, так и со вторичным бесплодием нами были выявлены существенные различия между частотой предполагаемых и установленных интраоперационно диагнозов: на предоперационном этапе наблюдалась гипердиагностика трубно-перитонеального бесплодия и недооценка этиологической роли наружного генитального эндометриоза. Полученные данные объясняются низкой диагностической ценностью скрининг-методов обследования состояния маточных труб (гистеросальпингографии, эхогидросальпингографии), причем наибольшее число ложноположительных результатов выявляется именно у пациенток с НГЭ. Повысить предоперационную диагностику малых форм эндометриоза возможно при комбинированном определении ИЛ-6 и СА-125. Повышение уровней ИЛ-6 и СА-125 выше пороговых значений в сочетании с клиническими данными позволит врачам выявлять пациенток с начальными проявлениями эндометриоза. Мы считаем пациенткам с бесплодием более целесообразным выполнение лапароскопии, которая обладает не только высокой диагностической ценностью, но и является высокоэффективным методом лечения бесплодия. Об эффективности лапароскопии в лечении различных форм бесплодия будет рассмотрено в соответствующей главе диссертации.

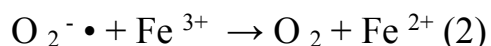
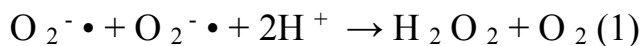
ГЛАВА 3. СИСТЕМНЫЙ И ЛОКАЛЬНЫЙ РЕДОКС-СТАТУС ПРИ ЭНДОМЕТРИОЗ-АССОЦИИРОВАННОМ БЕСПЛОДИИ

3.1. Роль окислительного стресса в развитии эндометриоз-ассоциированного бесплодия (обзор литературы)

В последние годы увеличилось количество работ, посвященных роли окислительного стресса в развитии эндометриоз-ассоциированного бесплодия [113, 258, 311, 375]. Окислительный стресс возникает из-за дисбаланса между АФК и антиоксидантами. Молекулы АФК характеризуются неспаренным электроном и стабилизируются путем извлечения электронов из различных молекул в организме, таких как липиды, нуклеиновые кислоты и белки. Антиоксиданты представляют собой защитный механизм, созданный организмом для нейтрализации АФК.

Генерация АФК может быть результатом окислительного фосфорилирования, происходящего в митохондриях. Электроны выходят из электронной транспортной цепи во внутренних митохондриальных мембранах и передаются молекуле кислорода, что приводит к появлению неспаренного электрона на орбите. Это приводит к генерации молекулы супероксида. Другими точками генерации АФК являются цитоплазматическая НАДФН-оксидаза, ферменты цитохрома P450 и фермент ксантинооксидаза. АФК являются обоюдоострым мечом: они не только играют важную роль в качестве вторичных мессенджеров во многих внутриклеточных сигнальных каскадах, но и оказывают незаменимое влияние на патологические процессы, связанные с образованием избыточных АФК. Основными типами АФК являются супероксидный анион (O_2^-), перекись водорода (H_2O_2) и гидроксил ($\bullet OH$). Свободнорадикальный супероксидный анион (O_2^-) образуется при добавлении одного электрона к основному состоянию кислорода, но он нестабилен в водных растворах из-за его способности самопроизвольно реагировать с самим собой, образуя перекись водорода (H_2O_2) и молекулярный кислород (O_2) (реакция 1). Взаимодействие супероксид-аниона с Fe^{3+} приводит к образованию Fe^{2+} и O_2 (реакция 2). Несмотря на то, что H_2O_2 не является свободным радикалом, пероксид очень вреден для клеток, поскольку способен проникать через биологи-

ческие мембраны и распадаться на высокореактивный гидроксильный радикал ($\bullet\text{OH}$). Основным источником гидроксильного радикала являются катализируемые металлом реакции Хейвера-Вейсса (реакция 3) и реакция Фентона (реакция 4).



Большинство АФК образуются при утечке электронов из дыхательной цепи митохондрий, также называемой цепью транспорта электронов [289]. Согласно оценке, до 2% потребляемого кислорода может быть направлено на образование АФК митохондриями, особенно в комплексах I и III [289]. Другими источниками супероксид-аниона являются цепь в эндоплазматическом ретикулуме, цитохром P450 и фермент никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФН) оксидаза [113]. Митохондрии играют центральную роль в метаболической активности в клетках, поэтому любое нарушение их функций может привести к глубокому изменению образования аденинтрифосфата (АТФ). Энергия от АТФ необходима для функций гамет. Хотя митохондрии являются основными участками продукции АФК, избыточные АФК могут влиять на функции митохондрий в ооцитах и эмбрионах. Эта митохондриальная дисфункция может привести к остановке деления клеток, вызванной оксидативным стрессом [159]. Напротив, умеренное повышение уровня АФК может стимулировать рост и пролиферацию клеток и обеспечивает нормальные физиологические функции.

Важное значение в нейтрализации избыточного количества АФК отводится ферментативной антиоксидантной защитой клетки, представленной тремя основными ферментами: супероксиддисмутазой (СОД), каталазой и глутатионпероксидазой (Рисунок 3.1).

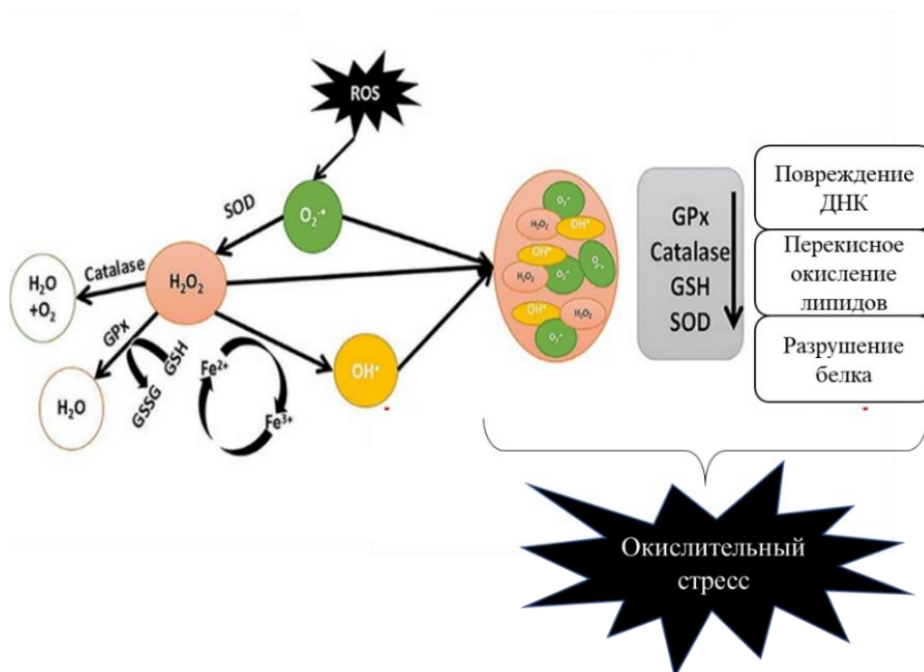


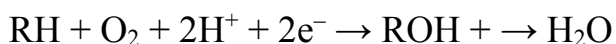
Рисунок 3.1 - Механизм защиты от свободных радикалов кислорода. СОД: супероксиддисмутаза; GPx: глутатионпероксидаза; GSSG: глутатионоксидаза; GSH: глутатионредуктаза; ROS: активные формы кислорода; $O_2^{\bullet -}$: супероксид; H_2O_2 : перекись водорода; $\bullet OH$: гидроксил [258].

Супероксид-анион детоксифицируется ферментами СОД, которые превращают его в H_2O_2 . Каталаза и глутатионпероксидаза дополнительно разлагают конечный продукт до воды (H_2O) [113]. Хотя H_2O_2 химически не является свободным радикалом, но принимает непосредственное участие в образовании и разрушении свободных радикалов. Неферментативная антиоксидантная защита клетки представлена витамином С, глутатионом, таурином, гипотаурином, витамином Е, Zn, селеном, бета-каротином и каротином. В случае, если антиоксидантная система не смогла нейтрализовать супероксид-анион и H_2O_2 происходит генерация более токсичного гидроксильного радикала $\bullet OH$, который модифицирует пурины и пиримидины, вызывая разрывы нитей ДНК и повреждение ДНК.

Избыточное количество АФК могут в конечном итоге привести к апоптозу клеток. Гибель клеток реализуется через следующие механизмы [113]. А. Открытие ионных каналов. Избыток АФК приводит к высвобождению Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулума, что приводит к проницаемости мембраны митохондрий. Следовательно, митохондриальный мембранный потенциал становится нестабильным и производство АТФ прекращается. В. Перекисное окисление

липидов. O_2 реагирует с цепями полиненасыщенных жирных кислот, создавая пероксильный радикал, который может получить H^+ из другой жирной кислоты, таким образом создавая непрерывную реакцию. Разорвать эту цепную реакцию возможно при участии витамина Е. С. Повреждение белков. Аминокислоты являются мишенями для окислительного повреждения. Прямое окисление белковых цепей приводит к образованию карбонильных групп. D. Окисление ДНК. Наиболее подвержена воздействию АФК митохондриальная ДНК из-за присутствия в митохондриальной дыхательной цепи O_2^- и отсутствия механизмов репарации.

Как упоминалось ранее одним из источников АФК является митохондриальная дыхательная цепь. В митохондриях клеток, участвующих в синтезе стероидных гормонов, расположены цитохромы Р450. Суперсемейство цитохромов Р-450 включает в себя большую группу ферментов, катализирующих окисление гидрофобных органических соединений: липидов, гормонов, ксенобиотиков, токсинов. В основном это монооксигеназная реакция, при которой один атом кислорода встраивается в субстрат и образуется молекула воды.



При микросомальном окислении электроны переходят на цитохром Р-450 посредством цитохром-Р-450-редуктазы. Перенос электронов на митохондриальный цитохром Р-450 происходит с участием адренодоксин-редуктазы, ФАД-содержащего флавопротеина, и адренодоксина, железо-серного белка.

Микросомальная форма маленького мембраносвязанного белка цитохрома b5 состоит из трех доменов: N-терминальный гемсодержащий растворимый домен (головка), С-терминальный мембранный якорь и линкерный участок, соединяющий якорь и головку. Гемсодержащая головка требуется для переноса электронов и содержит многочисленные отрицательно заряженные аминокислотные остатки, необходимые для связывания редокс-партнеров. Внутри клеток микросомальная форма цитохром b5 всегда располагается в эндоплазматическом ретикулуме, тогда как распределение митохондриальной формы цитохром b5 между наружной митохондриальной мембраной и мембраной эндоплазматического ретикулума варьирует в зависимости от клеточного типа и от вида животного. Более

того, цитохром b5 может менять свою локализацию при изменении условий, по крайней мере, в гепатоцитах [269].

В условиях *in vitro* экзогенный цитохром b5, полученный из микросом печени кролика, активно встраивался в наружную митохондриальную мембрану, мембраны микросом и пероксисом, где восстанавливается эндогенным цитохром b5-редуктазой в присутствии никотинамидадениндинуклеотида (НАДН), то есть цитохром b5-редуктаза катализирует восстановление цитохрома b5 с использованием НАДН в качестве донора электронов в реакции одноэлектронного переноса [269]. НАДН-зависимая цитохром b5-редуктаза является интегральным белком с цитозольным активным доменом и короткой якорной последовательностью, которая вводится посттрансляционно в таргетные мембраны. Цитохром b5-редуктаза имеет НАДН-связывающий домен и флавинадениндинуклеотид-содержащий (ФАД-содержащий) домен, которым она взаимодействует с цитохромом b5 [183]. В клетке система цитохром b5 - НАДН-зависимая цитохром b5-редуктаза принимает всестороннее участие в поддержании окислительно-восстановительного равновесия, обладая как анти-, так и прооксидантными свойствами.

В литературе приводится большое количество данных о *маркерах окислительного стресса при эндометриозе*. Ретроградная менструация, приводит к скоплению в брюшной полости гема и железа, которые являются сильными прооксидантами [169]. Свободное или каталитическое железо индуцирует выработку АФК по реакции Фентона, тем самым вызывая окислительный стресс [121]. Высвобождение железа происходит в результате метаболизма гемоглобина и гема макрофагами. В недавних исследованиях было показано, что перитонеальная жидкость, макрофаги брюшной полости и эндометриодные гетеротопии «перегружены» железом, что свидетельствует о нарушении гомеостаза железа в брюшной полости у пациенток с эндометриозом [257, 316]. Повышение уровня железа в перитонеальной жидкости могут иметь многочисленные цитотоксические эффекты, нарушать баланс между продукцией свободных радикалов и антиоксидантной защитой, что приводит к окислительному стрессу и является одним из ключевых элементов патогенеза эндометриоза [228]. Железо катализирует выработку сво-

бодных радикалов, вызывая дерегуляцию клеточных процессов, клеточную дисфункцию и апоптоз или некроз через перекисное окисление липидов (ПОЛ), повреждение белков и ДНК [233, 239].

Окислительный стресс происходит в макрофагах и других воспалительных клетках перитонеальной жидкости. Продукты, полученные в результате этого процесса, попадают в системный кровоток. Это объясняет, почему перитонеальная жидкость может быть более подвержена воздействию окислительного стресса, чем плазма крови. Кроме того, биомаркеры окислительного стресса в плазме крови могут отражать окислительный статус, обусловленный другими причинами помимо эндометриоза, тогда как в перитонеальной жидкости он может более точно свидетельствовать об эндометриозе.

Существуют доказательства того, что перитонеальная жидкость у женщин с эндометриозом характеризуется высоким уровнем липопротеинов, в частности липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), которые генерируют окисленные липидные компоненты в воспалительной среде, богатой макрофагами [375]. F2-изопростаны представляют собой сложное семейство соединений, генерируемых неферментативным перекисным окислением арахидоновой кислоты на клеточных мембранах и частицах ЛПНП. Различные исследования подтвердили повышение уровня 8-изопростагландина как специфического биомаркера перекисного окисления липидов *in vivo* [375]. В исследовании Соколовой Е.И. и др. было показано, что в перитонеальной жидкости пациенток с НГЭ по сравнению с контрольной группой было увеличено содержание малонового диальдегида и диеновых конъюгатов, а содержание СОД, напротив, было уменьшено [87]. Polak et al. выявили более высокие концентрации 8-изопростана в перитонеальной жидкости и 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина 8-OHdG (маркера повреждения ДНК) у пациенток с распространенными формами эндометриоза по сравнению с пациентками с простыми серозными цистаденомами и тератомами яичников [317]. В недавнем исследовании перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом были выявлены повышенные уровни липогидропероксидов и карбонилов, свидетельствующие об окислительном повреждении липидов и белков. Однако эти биомаркеры не

различались в плазме крови при наличии или отсутствии эндометриоза, также не было выявлено значимых различий в перитонеальной жидкости и плазме крови концентраций малонового диальдегида (маркера ПОЛ) и модифицированного ишемией альбумина [280]. Бурлев В.А. и Ильясова Н.А. показали, что при активной перитонеальной форме эндометриоза содержание синтаз оксида азота повышено в 4,2 раза в крови и 8,03 раза в перитонеальной жидкости по сравнению с показателями у женщин контрольной группы, что может являться одним из факторов, обуславливающих и поддерживающих воспаление в микроокружении в местах локализации эктопического эндометрия [19]. В большом исследовании, проведенном Santulli et al., маркеры свободнорадикального повреждения белка (тиолы, AOPP (advanced oxidation protein products), карбонилы и нитраты / нитриты) были оценены в брюшной жидкости и сопоставлены со степенью тяжести эндометриоза [330]. Маркеры окисления белков были значительно повышенными только у женщин с глубоким эндометриозом по сравнению с контролем, в то время как при поверхностных очагах эндометриоза тазовой брюшины и при эндометриоидных кистах яичников различия были статистически незначимыми. В данное исследование в контрольную группу также были включены пациентки, перенесшие операцию по поводу доброкачественных гинекологических состояний, что возможно также сопровождалось развитием окислительного стресса в брюшной полости, что безусловно является ограничением данного исследования, на которое указывают авторы.

Общий окислительный статус и общую антиоксидантную емкость перитонеальной жидкости измеряли в своем исследовании Polak et al. Авторами было выявлено, что значения общего окислительного статуса были значительно выше, тогда как значения общего антиоксидантного статуса были снижены в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом, по сравнению с контрольными группами [316]. Исследование плазмы пациенток с НГЭ также показало снижение общей антиоксидантной емкости в сравнении с контрольной группой [291].

В нескольких исследованиях проводилось изучение ферментативной антиоксидантной защиты перитонеальной жидкости и плазмы пациенток с эндометри-

озом. Было показано, что в плазме крови и перитонеальной жидкости пациенток с тяжелой стадией эндометриоза медиана активности СОД и глутатионпероксидазы была самой низкой, напротив, активность ПОЛ была самой высокой [182]. СОД является первой линией защиты от свободных радикалов кислорода. Он катализирует дисмутацию супероксидного анион-радикала в перекись водорода (H_2O_2). Это может защитить клетки и внеклеточные компоненты от повреждения клеток. Глутатионпероксидаза, основной перекисный фермент, является одним из антиоксидантных ферментов для последовательного удаления супероксидного радикала и перекиси водорода. Это предотвращает образование чрезвычайно токсичного гидроксильного радикала. Глутатионпероксидаза также уменьшает липидные или нелипидные гидропероксиды, окисляя глутатион.

Несмотря на некоторые разночтения у разных авторов, изучающих маркеры оксидативного стресса у пациенток с эндометриозом, большинство работ свидетельствуют о том, что окислительный стресс является ключевым элементом патогенеза эндометриоза. Но окислительный стресс ответственен не только за прогрессирование заболевания, но может быть одной из причин развития бесплодия при эндометриозе. АФК в небольших концентрациях всегда находятся в перитонеальной и фолликулярной жидкостях и являются сигнальными модуляторами овуляции, развития эмбрионов и имплантации [271]. Как уже указывалось ранее, эндометриодные имплантаты, расположенные непосредственно на поверхности яичника, на тазовой брюшине и маточных трубах являются источником повышенной продукции АФК.

Свободные радикалы, содержащиеся в перитонеальной жидкости женщин, страдающих эндометриозом, обуславливают ее спермато- и эмбриотоксичность, которые, как было показано, коррелируют со степенью эндометриоидного поражения и продолжительностью бесплодия. АФК оказывают непосредственное повреждающее действие на ооциты, сперматозоиды, эмбриональные клетки, вызывая фрагментацию ядерной и митохондриальной ДНК, инициируя деструкцию белка и ПОЛ, что приводит к повышению проницаемости мембраны, инактивации ферментов и в конечном итоге к апоптозу клетки [375].

Поскольку перитонеальная жидкость и фолликулярная жидкость являются локальными средами, в которой происходит развитие ооцитов, слияние гамет, а также дробление предимплантационных эмбрионов, в ряде исследований изучалась вероятность повреждения гамет и эмбрионов при их инкубации в перитонеальной и фолликулярной жидкости пациенток с эндометриозом. Для доказательства зависимости качества ооцитов и эмбрионов от параметров перитонеальной жидкости проводились исследования на животных. Ооциты и эмбрионы животных используются из-за этического запрета на исследования, которые могли бы целенаправленно повредить биологический материал человека. Было показано, что при инкубации ооцитов второго мейотического деления крупного рогатого скота и мыши в перитонеальной жидкости пациенток с НГЭ наблюдалось существенное смещение хромосом и веретена по сравнению с использованием жидкости здоровых доноров [271]. Скорость оплодотворения ооцитов мыши сперматозоидами мыши, совместно инкубированными в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом, значительно снижалась по сравнению с показателями оплодотворения при использовании перитонеальной жидкости здоровых пациенток [176]. У мышинных эмбрионов, культивированных в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом отмечалось уменьшенное количество клеток, снижение скорости расщепления и бластуляции, увеличение уровня фрагментации ДНК, задержки развития и апоптоза в сравнении с контрольной группой эмбрионов [271]. При инкубации спермы здоровых доноров в перитонеальной жидкости пациенток с НГЭ отмечалось значительная большая фрагментация ДНК сперматозоидов по сравнению со спермой, помещенной в перитонеальную жидкость здоровых пациенток, однако изменений морфологии сперматозоидов по общепринятым критериям выявлено не было [271].

В литературе высказано предположение, что если повышенная продукция АФК и / или более низкая антиоксидантная активность ответственна за повреждение, нанесенное гаметам и эмбрионам, инкубированным в перитонеальной жидкости пациенток с эндометриозом, то добавление антиоксидантов в перитонеальную жидкость должно снизить скорость повреждения гамет и эмбрионов. Показа-

но, что при добавлении в перитонеальную жидкость пациенток с НГЭ антиоксидантов *N*-ацетилцистеина или L-карнитина снижало частоту хромосомных и веретенообразных аномалий в ооцитах мыши и быка [195, 267]. L-карнитин также предотвращал апоптоз эмбрионов мыши, инкубированных в перитонеальной жидкости у пациентов с эндометриозом [267]. Об уровне окислительного стресса в фолликулярной жидкости пациенток с НГЭ, а также влиянии показателей ОС фолликулярной жидкости на качество ооцита и эмбриона более подробно будет изложено в соответствующей главе диссертации.

В последние годы в ходе многочисленных исследований было получено множество подтверждений *негативного влияния эндометриоидной кисты* на физиологическое состояние яичника. В систематическом обзоре Sanchez et al. было показано, что наличие эндометриомы приводит к повреждению яичника за счет механического растяжения вне зависимости от размера образования [329]. О пагубном воздействии эндометриомы свидетельствуют также специфические морфофункциональные изменения в пораженном яичнике [329].

Нарушение функции яичника происходит, в частности, благодаря тому, что эндометриома оказывает токсическое воздействие на окружающие ее здоровые ткани [27]. В эндометриоме в высоких концентрациях присутствуют различные клеточные факторы, протеолитические ферменты, молекулы воспаления, а также железо и АФК [383]. Жидкое содержимое эндометриоидной кисты вызывает выраженные изменения в окружающих ее клетках. В частности, изменяется экспрессия некоторых важных генов, приводя к генетическим нарушениям, которые повышают риск развития злокачественных новообразований [383]. Отсутствие регуляторных влияний микроРНК приводит к нарушению процессов пролиферации, дифференцировки, воспаления в тканях эндометрия, что может способствовать токсическому действию на ткань яичника со стороны кисты, а также приводить к нарушению децидуализации и снижению рецептивности эндометрия [101]. Кроме того, в здоровой ткани коры яичника, окружающей эндометриому (по сравнению с тканями яичника, содержащего другие доброкачественные кистозные образования), отмечается более высокий уровень окислительного

стресса. АФК в высокой концентрации вместе с трансформирующим фактором роста (TGF)- β и PAI-1, потенцируют развитие фиброза с увеличением доли мезенхимальных элементов за счет синтеза коллагена и фибронектина, что приводит к ремоделированию коллагенового матрикса [389].

Концентрация свободного железа в содержимом эндометриоидной кисты превышает 100 нмоль/л. Это значительно выше нормальной концентрации свободного железа в сыворотке крови (0,013–0,027 ммоль/л) или в содержимом других доброкачественных кист яичника ($0,075 \pm 0,01$ нмоль/л). Данный факт служит дополнительным подтверждением того, что содержимое эндометриомы фактически представляет собой старую кровь. Интересным представляется тот факт, что средняя концентрация свободного железа в содержимом эндометриомы сопоставима с таковой в ткани карциномы печени и является достаточной для индукции малигнизации [383]. В содержимом кисты были обнаружены специфические факторы, ассоциированные с окислительным стрессом. В сравнении с другими типами доброкачественных образований яичников в эндометриоме было выявлено повышение уровня лактозодегидрогеназы (маркер повреждения тканей), АФК, продуктов ПОЛ и 8-OHdG [232, 383]. Высокие концентрации АФК в содержимом эндометриомы подтверждают предположение о существенно более важной роли окислительного стресса в повреждении окружающей ткани яичника по сравнению с другими типами кист [102].

Стенка эндометриоидной кисты исследована недостаточно несмотря на то, что параметры стенки эндометриоидной кисты являются определяющим фактором реализации некоторых механизмов патогенного воздействия кисты на окружающие ткани. Главным вопросом является степень проницаемости стенки кисты для определенных элементов содержимого эндометриоидной кисты, способных оказывать токсическое действие на окружающие ткани. В настоящее время данные, представленные в литературе, ограничены. В отличие от неэндометриоидных образований яичников (тератом, серозных или муцинозных цистаденом), в составе которых есть истинная капсула, эндометриоидная киста окружена псевдокапсулой, что делает эндометриому уникальной кистой с морфологической, струк-

турной и хирургической точки зрения. Было показано, что стенка эндометриомы состоит из распластанного столбчатого эпителия со стромой эндометриального типа, часто окруженной фиброреактивной тканью, с большим количеством макрофагов, содержащих гемосидерин. В некоторых случаях внутренняя оболочка эндометриомы отсутствует, обнаруживается только грануляционная и фиброзная ткань, содержащая большое количество макрофагов [389].

Эндометриоидные клетки, выстилающие внутреннюю поверхность кисты, долгое время остаются объектом пристального внимания, главным образом в контексте сравнения клеточного и молекулярного профиля эутопического и эктопического эндометрия. Предполагается, что содержимое кисты с высокой частотой вызывает соматические мутации в клетках, выстилающих внутреннюю часть кисты, потенциально онкогенных [383]. Одним из таких факторов служит образование АФК, которые могут индуцировать мутации ДНК, причем митохондриальная ДНК в большей степени подвержена повреждениям, чем ядерная. Недавние исследования обнаружили у пациенток с эндометриозом мутации митохондриальной ДНК, которые кодируют субъединицы комплекса I дыхательной цепи. Эти мутации влияют на транспортную цепь электронов, что приводит к увеличению утечки электронов и повышенной выработке АФК митохондриями. О повышенной выработке АФК митохондриями эктопических эндометриальных стромальных клеток, выстилающих эндометриодную кисту, сообщается и в исследовании Chen et al. [159]. Кроме того, в этой же работе указывается и о повышенном гликолизе в эктопических эндометриальных стромальных клетках, развивающемся в условиях тканевой гипоксии. Гликолиз сопровождается повышенной продукцией лактата, который способствует миграции и инвазии клеток эктопического эндометрия в яичник, постепенно образуя новые колонии эктопического эндометрия. Лактат также стимулирует местную воспалительную реакцию и фиброз, что в еще большей степени приводит к повреждению яичников. Повреждение яичниковой ткани при эндометриозе происходит и за счет апоптоза. Ключевым шагом в развитии апоптоза является увеличение проницаемости митохондриальной наружной мембраны путем открытия переходной поры проницаемости, что ведет к умень-

шению потенциала мембраны митохондрии и позволяет апоптотическим факторам, таким как цитохром с, высвободиться из митохондрий в цитоплазму [159].

Если предположить, что наличие эндометриомы определяет повреждение яичников до хирургического вмешательства, корковая ткань яичника, окружающая кисту, должна иметь клеточные и молекулярные признаки такого повреждения. В частности, Matsuzaki и Schubert было показано, что уровень окислительного стресса в ткани яичника, окружающей эндометриому, значительно выше, чем в других типах доброкачественных кист. Ткань яичника после лапароскопической цистэктомии по поводу эндометриомы и по поводу других доброкачественных кист яичника (тератом и серозных цистаденом), окрашивалась 8-OHdG-чувствительным иммунологическим красителем [184]. При этом окрашивание было в 10 раз интенсивнее в коре яичника пациентов с эндометриомой по сравнению с пациентами с другими кистами яичников. Это может объясняться как нарушением архитектоники коры яичника за счет объемного образования, приводящим к развитию локальной воспалительной реакции с продукцией АФК, так и воздействием патологических факторов самой кисты, в частности высоких концентраций железа, которые диффундируют в окружающие ткани, приводя к образованию АФК. Наконец, некоторые АФК свободно проникают через клеточные мембраны и могут непосредственно вызывать оксидативный стресс [138, 232]. По некоторым данным, в отсутствие лечения АФК вызывают выраженное необратимое повреждение здоровой ткани яичника. Важно подчеркнуть, что АФК также участвуют в развитии фиброза. АФК наряду с TGF- β 1 являются основным фактором, ответственным за дифференциацию миофибробластов по профибротическому фенотипу, при этом TGF- β 1 стимулирует образование АФК различными механизмами, которые, в свою очередь, вызывают активацию сигнальных каскадов профибротических генов, в частности PAI-1, который участвует в ремоделировании коллагенового матрикса [307]. Высокий уровень окислительного стресса в ткани яичника, содержащего эндометриому, приводит к развитию выраженного фиброза в ответ на увеличение концентрации АФК.

Таким образом, причины снижения фертильности при наличии эндометриоидных гетеротопий на тазовой брюшине, а также при формировании эндометриоидных кист, до конца не ясны. Известно, что плотность фолликулов в ткани яичника, окружающей эндометриоидную кисту, значительно ниже, чем в здоровом яичнике. Предполагается, что снижение овариального резерва при эндометриозе происходит не только из-за механического растяжения окружающих тканей объемным образованием, но и содержимого эндометриоидной кисты. Эндометриоидная киста содержит свободное железо, АФК, протеолитические ферменты и молекулы воспаления в концентрациях в 10-100 раз превышающих таковые в периферической крови или в других типах доброкачественных образований яичников. Уровень свободных радикалов повышен и в перитонеальной жидкости женщин, страдающих эндометриозом, что обуславливают ее спермато- и эмбриотоксичность. Локальные свободно-радикальные процессы, происходящие в перитонеальной жидкости больных с эндометриозом, в эндометриоидной кисте, а также нормальной коре яичника, окружающей эндометриодные кисты, остаются предметом неуклонного интереса ученых. В связи с этим на данном этапе исследования были изучены показатели свободно-радикального гомеостаза перитонеальной жидкости, эндометриоидной кисты и ее окружения.

Существует множество *способов оценки оксидантно-антиоксидантной активности*, которые основаны на спектрофотометрическом, электрохимических, хроматографическом, электронном парамагнитном резонансе, флюоресцентном и хемилюминесцентном методах анализа. Одним из самых чувствительных методов оценки антиоксидантного потенциала является хемилюминесцентный метод. Изучение антиоксидантного профиля представляет собой процесс нейтрализации свободных радикалов, которые генерируются при проведении опыта, испытуемыми соединениями. Методики измерения антиоксидантного потенциала являются реакциями ингибирования: некоторые соединения генерируют свободный радикал, а затем происходит взаимодействие с антиоксидантом. Антиоксидантная активность может быть описана с помощью различных единиц, наиболее распространенной из которых является моль эквивалент стандартного вещества на еди-

ницу массы образца. В качестве стандарта чаще всего используется тролокс (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхромо-2-карбоновая кислота), водорастворимый аналог витамина Е, а также аскорбиновая кислота [256].

Метод хемилюминесценции не связан с изменением хода процессов в клетках, растворах и тканях, в которых регистрируется свечение, а также достаточно чувствителен при обнаружении высокореакционных радикалов, что дает ему преимущество над другими методами [20]. При определении антиоксидантной активности с помощью хемилюминесценции для генерации свободных радикалов используют различные системы. Все методики можно условно разделить на системы, использующие липидсодержащие субстраты окисления (гомогенаты липидсодержащих тканей, суспензии ненасыщенных жирных кислот, гидропероксидов липидов, липопротеинов и липосом) и системы, использующие водорастворимые соединения в качестве субстратов окисления (белок фикоэритрин, люминол, 2,2'-азиноди(3-этилбензотиазолин)6-сульфоновую кислоту, α -кето- γ -метиобутировую кислоту. Инициация окисления в липидсодержащих системах осуществляется ионами Fe^{2+} , введенными извне. Инициаторами окисления в водорастворимых системах служат, например, пероксидазные реагенты (смесь пероксидазы (пероксидаза из корней хрена, метмиоглобин, цитохром *c*) с H_2O_2). В настоящее время большое распространение получил способ инициирования водорастворимых пероксильных радикалов. В качестве водорастворимого субстрата окисления используется 2',2'-азо-бис(2-амиди-нопропан) гидрохлорида (АБАП). В основе метода лежит способность азосоединений (так называемых азоинициаторов) подвергаться спонтанному термолизу с образованием алкильных радикалов. При разложении водорастворимого азоинициатора возникают газообразный азот и два алкильных радикала, которые быстро реагируют с кислородом с образованием пероксильных и алкоксильных радикалов $\text{RO}_2\cdot$ и $\text{RO}\cdot$. В качестве веществ-усилителей хемилюминесценции используются химические активаторы (ХЛ-зонды) – соединения, образующие продукты в возбужденном состоянии, после реакций со свободными радикалами. Свечение наблюдается при переходе этих соединений в основное состояние. Широкое распространение получило использо-

вание люминола (5-амино-2,3-дигидро-1,4-фталазиндион) и люцегенина (динитрат 10,10'-ди- метил-9,9'-биакридиния) в качестве химических активаторов хемилюминесценции. Люминол-зависимая хемилюминесценция реализуется за счет окисления люминола АФК и активными формами хлора, после чего окисленные формы люминола взаимодействуют с супероксид-анион-радикал (САР) или пероксидом водорода [20].

Аэробные организмы содержат несколько механизмов защиты для предотвращения и / или восстановления повреждений, связанных с окислительными процессами. Присутствие молекул и макромолекул, способных превращать активные радикалы в неактивные частицы (например, антиоксиданты, разрушающие цепь), составляет одну из этих защитных мер. Этот тип защиты включает множество соединений, несущих различные реакционные центры (например, фенолы, тиолы) с сильно различающимися гидрофобными свойствами. В связи с этим существует большой интерес к определению «суммарной» антиоксидантной (или захвата свободных радикалов) емкости биологических жидкостей, поскольку она может определять способность системы противостоять окислительному стрессу. Кроме того, пониженные значения могут быть связаны с патологиями, которые определяются повышенными количествами (или установившимися концентрациями) свободных радикалов.

Один из наиболее часто используемых методов для оценки антиоксидантного статуса биологической жидкости - это метод полного потенциала захвата радикалов (TRAP), разработанный Wayner et al. [380]. Он основан на измерении времени индукции при окислении липидной дисперсии под воздействием источника свободных радикалов с постоянной скоростью образования свободных радикалов в аэробных условиях. АБАП используется в качестве источника свободных радикалов, уменьшение концентрации кислорода используется для измерения скорости окисления. Эта процедура была изменена путем использования других радикальных источников и / или других методов для контроля скорости процесса. Другой параметр измеряет общую реакционную способность антиоксиданта (TAR) и определяется как сумма всех антиоксидантов, присутствующих в образ-

це. Этот параметр может представлять собой полезный показатель способности данного соединения (или жидкости) модулировать ущерб, связанный с повышенным образованием свободных радикалов. Таким образом, TRAP отображает количество антиоксиданта в системе, а TAR – его активность, то есть скорость взаимодействия антиоксиданта с радикалами [256].

Более простой и воспроизводимой является методика определения антиоксидантной активности методом активированной хемилюминесценции в системе на основе АБАП и люминола в буферном растворе при pH 7.4 (pH плазмы крови в норме) [73].

3.2. Дизайн исследования. Пациенты и методы исследования

В исследование было включено 97 пациенток с верифицированной причиной бесплодия, которым было проведено хирургическое лечение по поводу бесплодия. Исследование проводилось в 2 этапа. Дизайн исследования приведен в таблице 3.1.

Таблица 3.1 - Дизайн исследования

Этап работы	Задача исследования	Исследуемые образцы	Количество образцов	Всего пациенток
1 этап (проспективный)	Определение уровня системного и локального антиоксидантного профиля у пациенток с НГЭ	Плазма и ПЖ пациенток с НГЭ I-II стадии	36	56
		Плазма и ПЖ пациенток с НГЭ III-IV стадии	20	
2 этап (проспективный)	Прооксидантные свойства содержимого эндометриальной кисты	Содержимое эндометриальной кисты	22	38
	Антиоксидантный профиль ткани яичника, содержащего эндометриальную кисту	Стенка кисты	38	
		Ткань яичника, прилежащего к эндометриальной кисте	38	
		Ткань здорового яичника	10	

На первом этапе был исследован системный и локальный окислительный стресс у пациенток с НГЭ методом активированной хемилюминесценции в плазме крови и перитонеальной жидкости.

Клиническая характеристика пациенток, включенных в первый этап исследования

Средний возраст пациенток с НГЭ ($n=56$) составил $32,5 \pm 2,8$ года, из них первичное бесплодие было диагностировано у 40 обследованных, вторичное бесплодие — у 16. При анализе акушерского анамнеза было установлено, что среди пациенток, страдающих эндометриоз-ассоциированным бесплодием, у 40 пациенток беременность отсутствовала, у 5 пациенток были отмечены роды через естественные родовые пути, у 12 наблюдаемых был искусственный аборт, у 3 отмечался самопроизвольный выкидыш. При сборе гинекологического анамнеза было установлено, что хронический сальпингоофорит на основании хронических тазовых болей был выявлен у 21 пациентки, гиперпластические процессы эндометрия выявлялись у 6 пациенток, фоновые заболевания шейки матки были отмечены в анамнезе 12 пациенток с НГЭ. У 13 пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием гинекологический анамнез не был отягощен. Во время проведения лапароскопии распространенность эндометриоза, оцененная по классификации американского общества фертильности (1996г.) соответствовала I–II стадии у 36 пациенток, III–IV стадии – у 20. Во время оперативного вмешательства всем пациенткам была произведена деструкция эндометриоидных гетеротопий (биполярная коагуляция и/или иссечение). У 24 пациенток операция была дополнена вылущиванием одно- или двусторонних эндометриоидных кист различных размеров.

Клиническая характеристика пациенток, включенных во второй этап исследования

Во второй этап исследования было включено 38 пациенток. Впервые оперативное лечение по поводу эндометриоидных кист было выполнено у 28 пациенток (у 18 – вылущены односторонние, у 10 – двусторонние кисты), таким образом было исследовано 38 образцов стенки эндометриоидной кисты и 38 образцов тканей яичников, прилежащих к эндометриоидной кисте. Средний возраст пациенток с

эндометриоидными кистами составил $31,1 \pm 4,3$ года. Длительность бесплодия на момент проведения лапароскопии была равна $3,3 \pm 0,3$ года. Частота первичного бесплодия составила 75,6 % (31 пациенток), вторичного – 24,4 % (10 пациенток). Среди пациенток с вторичным бесплодием у 6 в анамнезе были современные роды, у 4 - искусственный аборт. Размер эндометриоидных кист варьировал от 2 до 9 см, при этом кисты менее 3 см были выявлены в 12 наблюдениях, более 3 см – в 26 наблюдениях. В 22 наблюдениях помимо изучения стенки эндометриоидной кисты был оценен прооксидантный потенциал содержимого эндометриоидной кисты.

Ткань яичника пациенток с эндометриозом сравнивалась с контрольной группой ($n=20$). В контрольную группу вошли 8 пациентки, которым проводилась операция создания искусственной непроходимости маточных труб, 2 пациентки с кистой желтого тела, 6 пациенток с параовариальными кистами и 4 пациентки с миомой матки. Средний возраст пациенток контрольной группы составил $34,1 \pm 4,3$ года. У 18 из 20 пациенток в анамнезе были роды, искусственные аборты были проведены 10 пациенткам. У всех пациенток контрольной группы в гинекологическом анамнезе отсутствовало указание на наличие доброкачественных образований яичников или оперативных вмешательств на придатках матки. Показатели овариального резерва были сохранены у всех пациенток группы сравнения (АМГ более 1,1 нг/мл).

Для определения источников АФК при эндометриоидных кистах проводилось изучение их содержимого. В экспериментах содержимое кисты разбавляли 100 мМ ФБ раствором, концентрацию гемового железа определяли спектрофотометрически по полосе Core (409 нм) на спектрофотометре Specord-200 (Jena Eng., Германия). Прооксидантную активность определяли в двух модельных системах – с линолевой кислотой и фосфолипидами («Фосфолипovit») – в присутствии активатора хемилюминесценции кумарина C-334.

Для определения свободно-радикального гомеостаза эндометриоидной кисты и ткани яичника, прилежащей к эндометриоидной кисте использовалась методика тканевой хемилюминесценции [30, 56].

В данном эксперименте образец ткани массой 15 ± 1 мг помещался в кювету для хемилуминометра, содержащую 1880 мкл раствора Кребса-Рингера (с помощью 4 М соляной кислоты доводили pH раствора до 7,4) и 120 мкл 1 мМ раствора люцигенина. Фоновая хемилюминесценция регистрировалась в течение нескольких минут. В качестве хемилюминесцентных зондов использовали кумарин С-525 (2,3,5,6-1Н,4Н-тетрагидро-9-2,-бензоимидазолил, кумарин С-334, люцигенин (динитрат 10,10-диметил-9,9-биакридиния). После выхода свечения на стационарный уровень добавляли НАДН, выступающего в роли восстановительного эквивалента прооксидантных ферментов. НАДН-стимулированная хемилюминесценция регистрировалась в течение 20 минут. На кривых хемилюминесценции определяли следующие параметры: люцигенин-активированную хемилюминесценцию (I_0), НАДН-стимулированную хемилюминесценцию ($I_{\text{НАДН}}$). Коэффициент активации рассчитывали как отношение интенсивности НАДН-стимулированной хемилюминесценции к интенсивности люцигенин-активированной хемилюминесценции ($KA = I_{\text{НАДН}}/I_0$). Для визуализации и обработки полученных данных использовали программное обеспечение PowerGraph 3.3.

3.3. Антиоксидантный профиль плазмы крови и перитонеальной жидкости у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием

На первом этапе исследования была изучена антиоксидантная активность плазмы крови и перитонеальной жидкости. На Рисунок 3.2 представлены хемилуминограммы антиоксидантного профиля плазмы крови у пациенток с НГЭ.

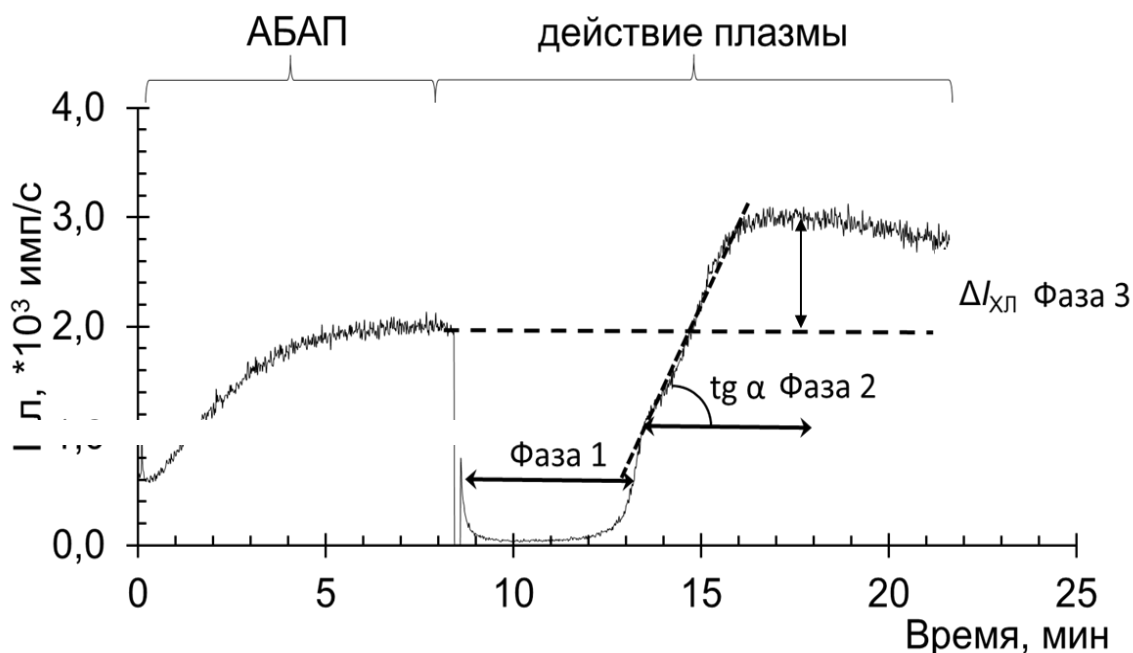


Рисунок 3.2 - Система генерации свободных радикалов с АБАП в присутствии люминола: I_0 – начальный уровень стационарного свечения (до внесения исследуемого образца плазмы); S – площадь подавляемого свечения за счет действия антиоксидантов; I – уровень стационарного свечения после израсходования антиоксидантов образца; $\Delta I = I - I_0$ – разность между уровнем свечения после внесения образца и начальным уровнем стационарного свечения.

Нами оценивались два параметра: площадь подавления свечения S , отражающее действие сильных антиоксидантов плазмы крови и перитонеальной жидкости мочевой кислоты и аскорбата, и прирост стационарного уровня, вызванный прооксидантной активностью альбумина за счет реакций единственной тиоловой группы. Параметр ΔI характеризовал уровень окислительной модификации альбумина: чем сильнее было выражено окисление альбумина, тем меньшим было значение ΔI .

Так как прирост стационарного уровня был обусловлен в основном альбумином, а именно его тиоловой группы, а показатель ΔI характеризовал уровень окислительной модификации альбумина, то интересно было провести сопоставление параметров S и ΔI . Была выявлена слабая прямая корреляция между этими двумя показателями в плазме крови и прямая умеренная корреляция в перитонеальной жидкости (Рисунок 3.3)

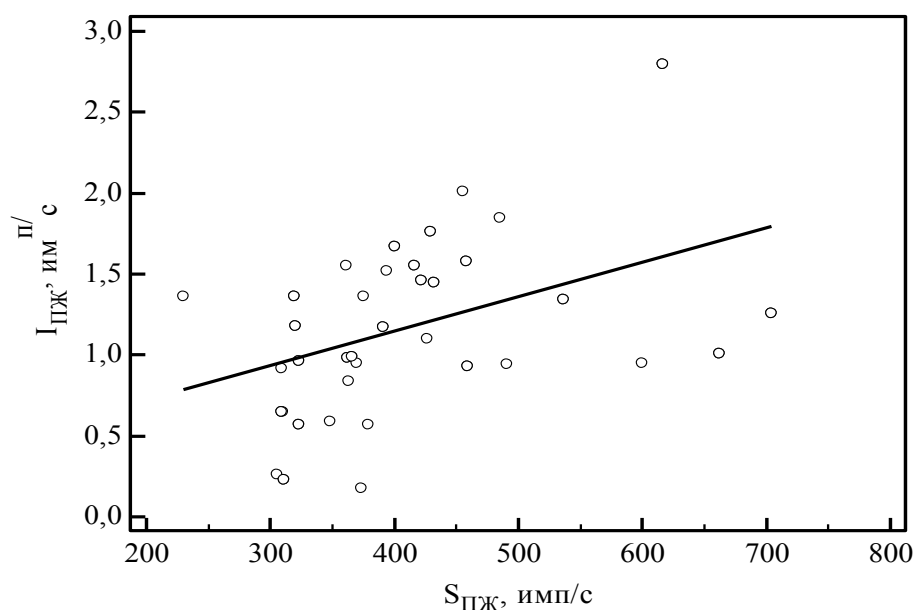


Рисунок 3.3 - Корреляция между параметрами S и ΔI хемилуминограмм в перитонеальной жидкости.

У пациенток с НГЭ были вычислены следующие показатели антиоксидантного профиля плазмы крови: медиана $Me S_{ПЛАЗМА} = 371$ (352-405), $Me \Delta I_{ПЛАЗМА} = 1,5$ (0,9-1,9). Практически у всех пациенток выявлялись изменения свободно-радикального гомеостаза плазмы крови как в сторону снижения антиоксидантов (окислительный стресс), так и повышения антиоксидантов (антиоксидантный стресс). Окислительный стресс был выявлен у 47,2% пациенток с НГЭ, антиоксидантный стресс у 30,5%.

Были рассчитаны следующие параметры кинетических кривых в перитонеальной жидкости при НГЭ - $Me S_{ПЖ} = 400$ (322-458), $Me \Delta I_{ПЖ} = 1,2$ (1,0-1,5). Референтные значения для перитонеальной жидкости ранее не вычислялись, но, учитывая схожесть кинетических кривых, можно предположить, что показатели для плазмы крови и перитонеальной жидкости должны быть близки. Также, как и в плазме крови, в перитонеальной жидкости практически у всех пациенток выявлялись изменения свободно-радикального гомеостаза как в сторону снижения антиоксидантов (окислительный стресс), так и повышения антиоксидантов (антиоксидантный стресс). Количество пациенток со сниженными показателями антиоксидантной защиты составило 33,3%, повышение антиоксидантной емкости было выявлено в 41,7% наблюдений.

Параметры антиоксидантной защиты, обусловленные действием сильных антиоксидантов - мочевой кислоты и аскорбата, были в пределах референтных значений, а у некоторых пациенток отмечалось некоторое повышение параметра S. Снижение показателя ΔI , свидетельствующее об увеличении уровня окислительной модификации альбумина и уменьшении антиоксидантного потенциала системы глутатиона, также выявлено не было ни в плазме крови, ни в перитонеальной жидкости. Литературные данные, характеризующие окислительный стресс в крови и перитонеальной жидкости женщин с эндометриозом, противоречивы.

В исследовании Волгиной Н.Е также как и в нашем исследовании не было выявлено различий в показателях окислительного стресса (а именно в уровне АФК) в перитонеальной жидкости у пациенток с НГЭ по сравнению с пациентками с миомой матки [21]. Polak et al. выявили более высокие концентрации 8-изопростана и 8-OHdG в перитонеальной жидкости у пациенток с распространенными формами эндометриоза по сравнению с пациентками с простыми серозными цистаденомами и тератомами яичников [317]. По данным Santulli et al. маркеры окисления белков в перитонеальной жидкости были значительно повышенными только у женщин с глубоким эндометриозом по сравнению с контролем, в то время как при поверхностных очагах эндометриоза тазовой брюшины и при эндометриоидных кистах яичников различия были статистически незначимыми. В исследовании Ekarattanawong et al. было показано, что в плазме крови и перитонеальной жидкости пациенток с тяжелой стадией эндометриоза медиана активности СОД и глутатионпероксидазы была самой низкой [182]. Montoya-Estrada et al. не выявили значимых различий в перитонеальной жидкости и плазме крови концентраций малонового диальдегида и модифицированного ишемией альбумина [280]. Адамян Л.В. и др. в своем исследовании обнаружили выраженные изменения в системе антиоксидантной защиты в плазме крови пациенток с НГЭ [3].

Так как ряд исследователей показали, что окислительный стресс чаще выявляется только при распространенных формах эндометриоза, то мы решили изучить показатели свободно-радикального гомеостаза в плазме и перитонеальной жидкости при различной степени тяжести эндометриоза (Таблица 3.2).

Таблица 3.2 - Свободно-радикальный гомеостаз плазмы крови и перитонеальной жидкости при различной распространённости НГЭ

Показатели хемилюмино-граммы	Стадия НГЭ		Достоверность	
	НГЭ I-II ст. (n=24)	НГЭ III-IV ст. (n=12)	*p между ТПБ и НГЭ III-IV ст.	*p между НГЭ I-II и III-IV ст.
$S_{\text{ПЛАЗМА}}, \times 10^3 \text{ имп/с, Ме (МР)}$	370 (342-406)	374 (356-395)	p>0,05	p>0,05
$\Delta I_{\text{ПЛАЗМА}}, \times 10^3 \text{ имп/с, Ме (МР)}$	1,3 (0,6-1,7)	1,6 (1,3-2,0)	p>0,05	p>0,05
$S_{\text{ПЖ}}, \times 10^3 \text{ имп/с, Ме (МР)}$	353 (320-393)	456 (430-576)	p=0,006	p=0,001
$\Delta I_{\text{ПЖ}}, \times 10^3 \text{ имп/с, Ме (МР)}$	1,0 (0,8-1,27)	1,5 (1,3-1,7)	p=0,03	p=0,03
$S_{\text{ПЛАЗМА}}/S_{\text{ПЖ}}, \text{ Ме (МР)}$	0,9 (0,9-1,2)	1,2 (1,2-1,5)	p=0,07	p=0,02

Оказалось, что параметры S и ΔI не различались в плазме крови у пациенток с НГЭ I-II и III-IV стадиями: Ме $S_{\text{ПЛАЗМА}} = 370$ (342-406) и 374 (356-395) соответственно; Ме $\Delta I_{\text{ПЛАЗМА}} = 1,3$ (0,6-1,7) и 1,6 (1,3-2,0) соответственно (Рисунок 3.4).

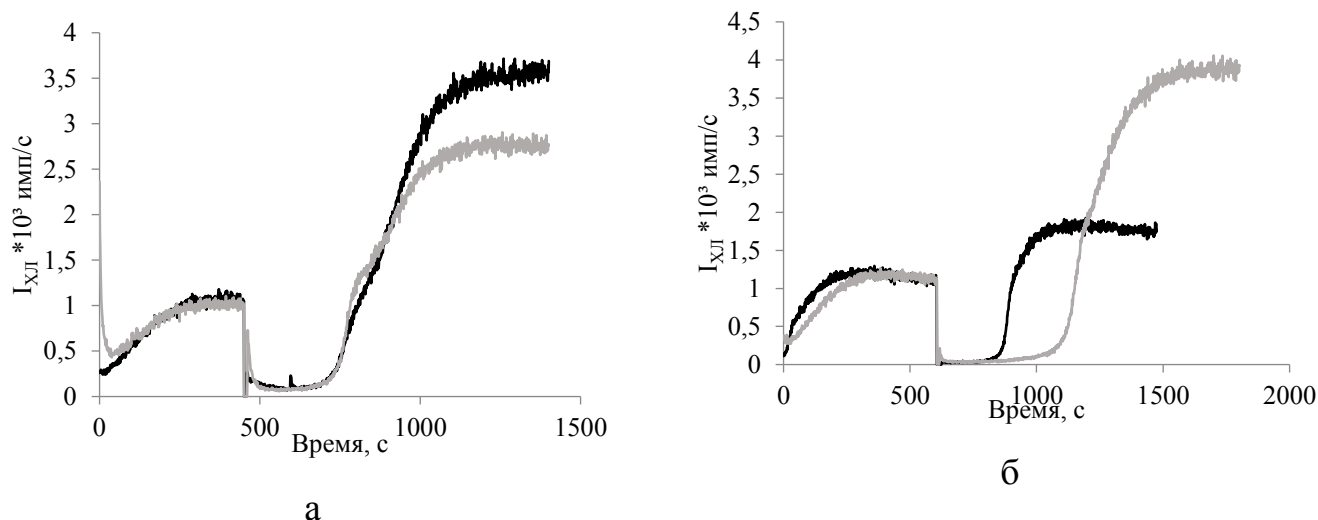


Рисунок 3.4 - Хемилюминограммы плазмы крови (а) и перитонеальной жидкости (б) пациенток с НГЭ I-II стадии (серая кривая) и НГЭ III-IV стадии (черная кривая).

В перитонеальной жидкости показатели антиоксидантной активности были достоверно повышены при НГЭ III-IV стадии (Ме $S_{\text{ПЖ}} = 456$ (430-576) и $\Delta I_{\text{ПЖ}} = 1,5$

(1,3-1,7)) по сравнению с пациентками с НГЭ I-II стадии ($Me S_{ПЖ} = 353$ (320-393) и $\Delta I_{ПЖ} = 1,0$ (0,8-1,27))

В перитонеальной жидкости показатели антиоксидантной активности были достоверно повышены при НГЭ III-IV стадии ($Me S_{ПЖ} = 456$ (430-576) и $\Delta I_{ПЖ} = 1,5$ (1,3-1,7)) по сравнению с пациентками с НГЭ I-II стадии ($Me S_{ПЖ} = 353$ (320-393) и $\Delta I_{ПЖ} = 1,0$ (0,8-1,27)) (Рисунок 3.5)

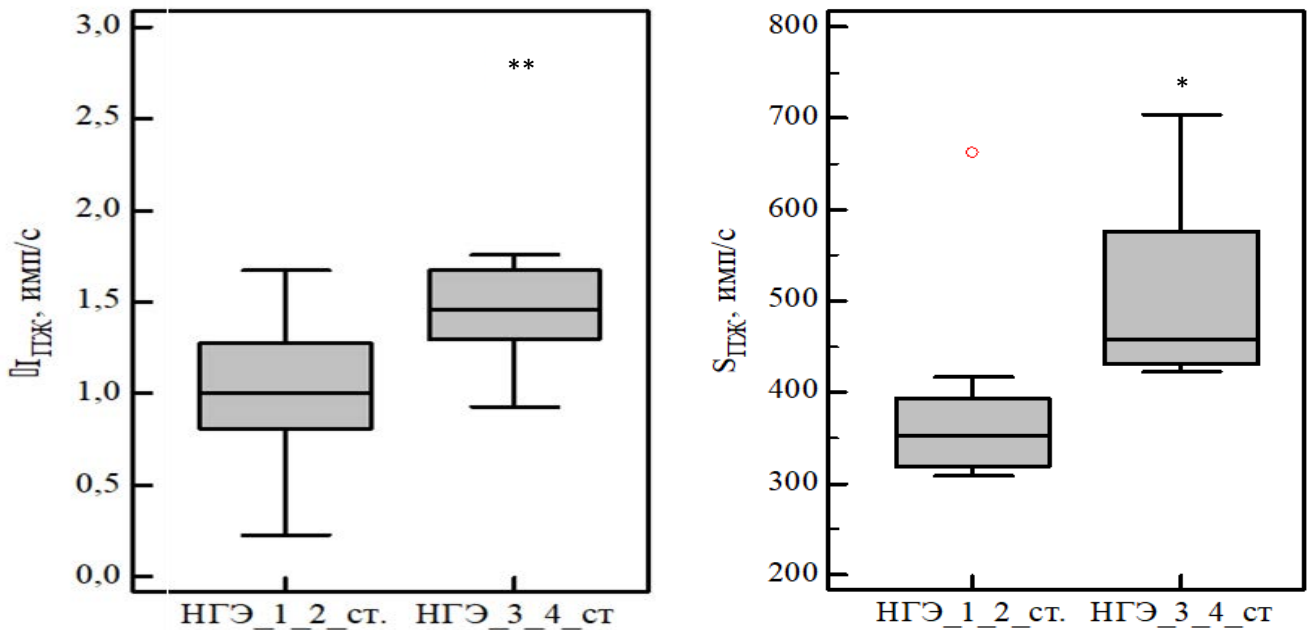


Рисунок 3.5 - Показатели свободно-радикального гомеостаза перитонеальной жидкости при НГЭ различной степени тяжести (* - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$).

Нами было рассчитано соотношение $S_{ПЛАЗМА}/S_{ПЖ}$, которое оказалось достоверно повышенным при НГЭ I-II стадии ($Me = 1,22$ (1,19-1,48)) по сравнению с НГЭ III-IV стадии ($Me = 0,96$ (0,86-1,18)), что свидетельствует о повышении антиоксидантной активности в перитонеальной жидкости по сравнению с плазмой крови при распространенных формах эндометриоза (Рисунок 3.6).

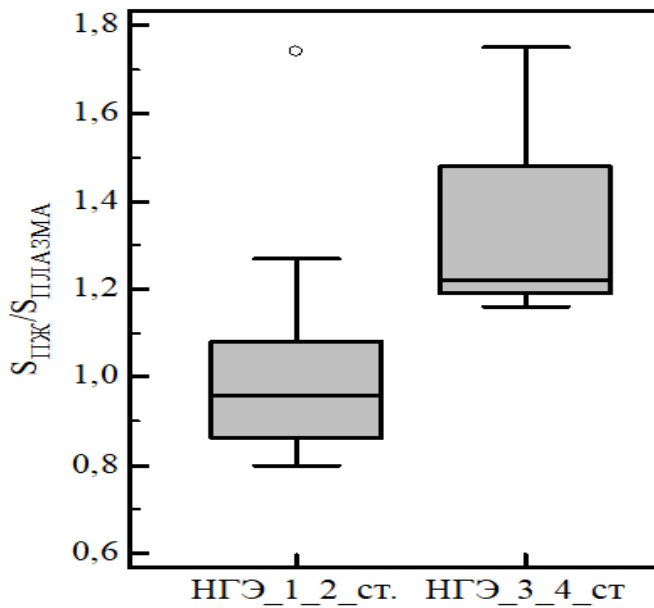


Рисунок 3.6 - Соотношение антиоксидантной активности плазмы крови и перитонеальной жидкости.

Ретроградная менструация, а также «менструация» эндометриоидных гетеротопий приводит к скоплению в брюшной полости гема и железа, которые являются сильными прооксидантами [169]. Окислительный стресс происходит в макрофагах и других воспалительных клетках перитонеальной жидкости, а продукты жизнедеятельности клеток, полученные в результате этого процесса, попадают в системный кровоток. Это объясняет, почему перитонеальная жидкость может быть более подвержена воздействию окислительного стресса, чем плазма крови. Кроме того, биомаркеры окислительного стресса в плазме крови, могут отражать окислительный статус, обусловленный другими причинами помимо эндометриоза, тогда как в перитонеальной жидкости уровень этих маркеров может более точно свидетельствовать об изменениях, характерных для эндометриоза. Антиоксидантная защита призвана защитить организм от избытка свободных радикалов. Мы считаем, что повышение параметра S , отражающее активацию сильных антиоксидантов - мочевой кислоты и аскорбата, носят компенсаторный характер в ответ на свойственное пациенткам с тяжелым эндометриозом увеличение активности прооксидантного фермента ксантиоксигеназы. Повышение показателя ΔI , свидетельствует об уменьшении уровня окислительной модификации альбумина и увеличении антиоксидантного потенциала системы глутатиона. Окисление глу-

тациона происходит посредством действия глутатионпероксидазы - основного антиоксидантного фермента для последовательного удаления супероксидного радикала и перекиси водорода, то есть глутатионпероксидаза предотвращает образование чрезвычайно токсичного гидроксильного радикала. Следовательно, повышение ΔI , по-видимому, тоже носит компенсаторный характер на свойственный тяжелым формам эндометриоза избыток супероксидного радикала и перекиси водорода.

Повышение антиоксидантов в перитонеальной жидкости, казалось бы, должно способствовать преодолению бесплодия у пациенток с распространенными формами эндометриоза. Считается, что окислительный стресс может быть одной из причин развития бесплодия при эндометриозе. АФК, содержащиеся в перитонеальной жидкости, оказывают непосредственное повреждающее действие на ооциты, сперматозоиды, эмбриональные клетки, вызывая фрагментацию ядерной и митохондриальной ДНК, инициируя деструкцию белка и ПОЛ, что приводит к повышению проницаемости мембраны, инаktivации ферментов и в конечном итоге к апоптозу клетки [375]. В то же время АФК в небольших концентрациях всегда находятся в перитонеальной и фолликулярной жидкостях и являются сигнальными модуляторами овуляции, развития эмбрионов и имплантации [271]. В работе Шестаковой М.А и др. было показано, что в фолликулярной жидкости уменьшение антиоксидантной активности (окислительный стресс) и ее увеличение (антиоксидантный стресс) сопровождается снижением качества эмбрионов, то есть для оптимального развития эмбрионов необходим баланс прооксидантов и антиоксидантов [106]. С другой стороны, как уже указывалось ранее, эндометриодные имплантаты, расположенные непосредственно на поверхности яичника, на тазовой брюшине и маточных трубах являются источником повышенной продукции АФК, которые окислительно модифицируют геномную ДНК, вызывая ее повреждение, которое по-видимому, приводит к гибели эндометриальных клеток [219]. Эффективная антиоксидантная функция, в свою очередь, может замедлить гибель клеток, вызванную АФК, и привести к формированию «порочного круга»: большее количество эндометриодных имплантов продуцирует большее количе-

ство АФК, что вызывает активацию антиоксидантной защиты и «выживаемость» клеток под действием сублетальных концентраций АФК (Рисунок 3.7).

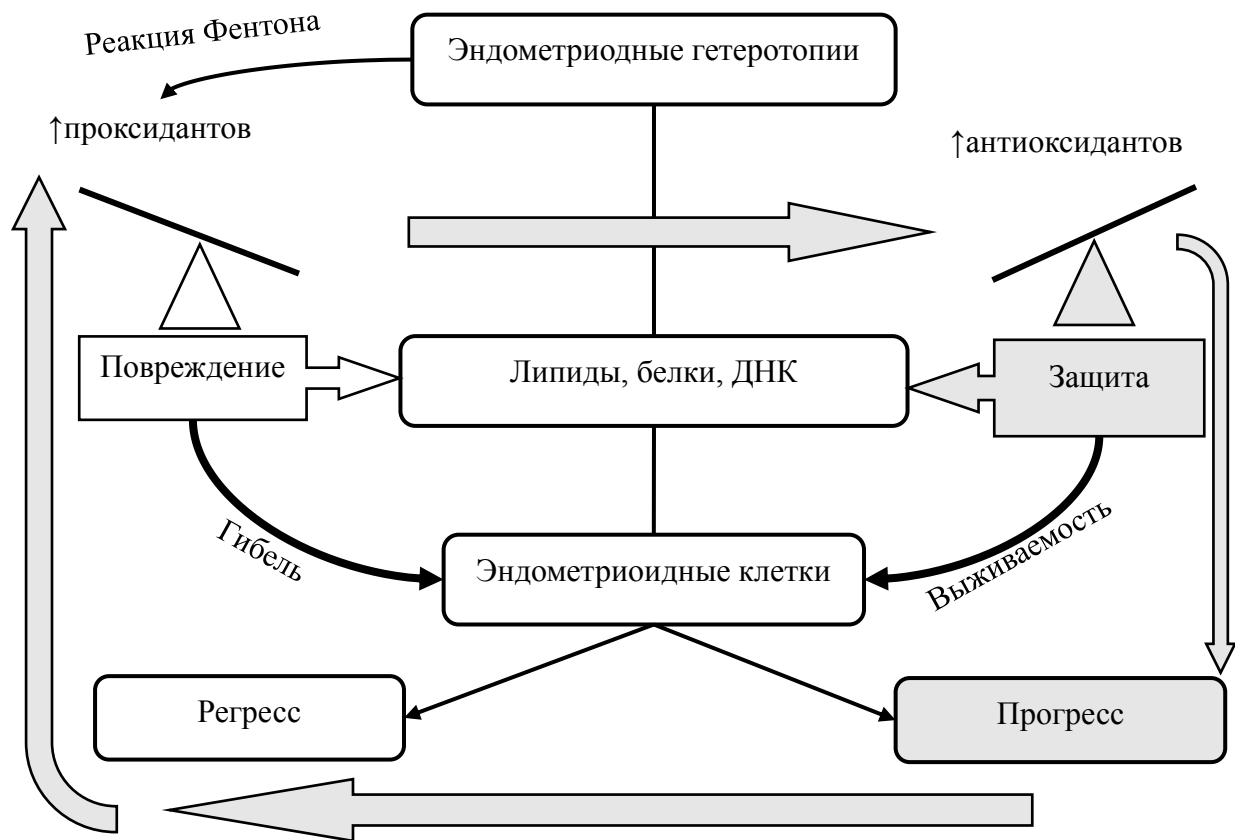


Рисунок 3.7 - Роль антиоксидантного стресса в прогрессировании эндометриоза

В настоящее время в литературе увеличивается количество исследований, посвященных связи между увеличенными концентрациями антиоксидантов и канцерогенезом яичников (вследствие приобретения онкогенных мутаций ДНК в клетках, подвергшихся атаке АФК, но не приведших к их гибели) [219]. Наши исследования относительно роли антиоксидантного стресса в прогрессировании эндометриоза и возникновении глубокого инфильтративного эндометриоза являются пилотными. Мы считаем, что полученные нами данные, могут расширить понимание роли окислительно-антиоксидантного баланса в брюшной полости, и пагубности сдвигов как в сторону окислительного, так и сторону антиоксидантного стресса.

3.4. Редокс-статус в эндометриоидной кисте и ее окружении

На втором этапе исследования изучался редокс-статус яичника, содержащего эндометриодную кисту. Для этого было изучено содержимое эндометриоидных кист ($n=22$), которое представляет собой продукт превращения гемоглобина и является основным источником свободных радикалов. Исследования проводили на модельной системе: линолевая кислота + гемоглобин или содержимое кисты в присутствии активатора кумарина С-334 хемилюминесцентным методом. Кинетика окисления линолевой кислоты содержимым эндометриоидной кисты была аналогична кинетике окисления липидов гемоглобином и железом и представляла быструю вспышку с экспоненциальным затуханием, характерную для перекисного окисления липидов. По светосумме под кривыми показано, что прооксидантная активность содержимого кисты выше в 8–10 раз, чем прооксидантная активность гемоглобина (Рисунок 3.8).

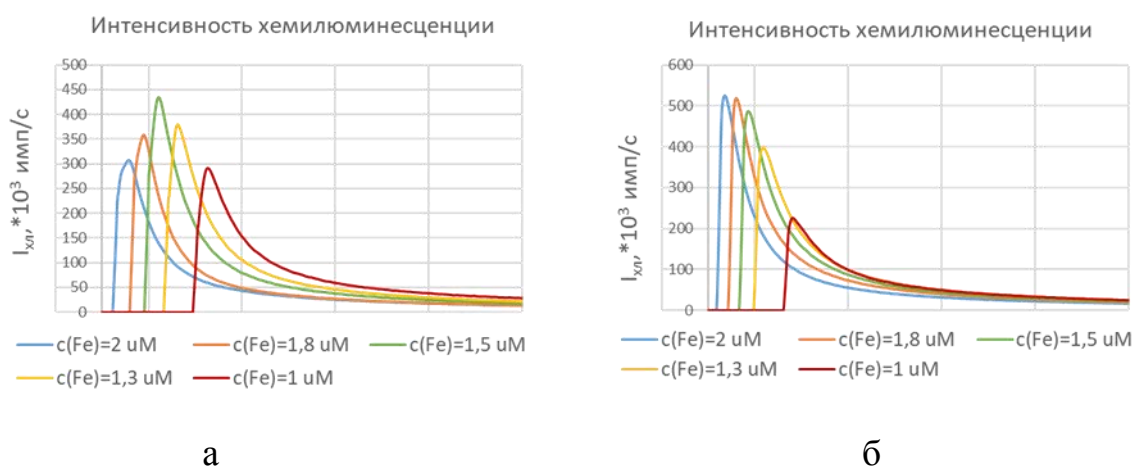


Рисунок 3.8 - Хемилюминограммы гемоглобина (слева) и содержимого кисты (справа) с линолевой кислотой в присутствии кумарина С-334. Система: окисленная линолевая кислота, кумарин С-334, (а) гемоглобин, (б) содержимое кисты.

Более приближенной к реальным условиям является модель с фосфолипидами. Окисление фосфолипидов характеризовалось стационарной кинетикой, характерной для ферментов пероксидаз/липопероксидаз, при этом амплитуда сигнала, характеризующая прооксидантную активность, коррелировала с размером кисты – меньший уровень активности соответствовал кистам

меньшего размера. Вероятно, чем «старше» киста, тем более активен с точки зрения окислительных свойств продукт распада гемоглобина (Рисунок 3.9).

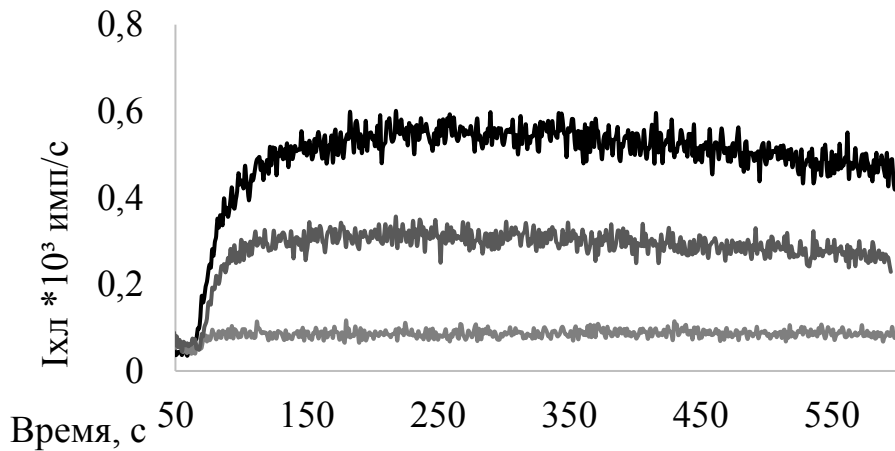


Рисунок 3.9 - Хемилюминограммы содержимого эндометриоидных кист различного размера в системе с фосфолипидами и кумарином С-334, концентрация гемового железа во всех пробах равна 550 мкмоль/л. Кисты размером 2 см (нижняя кривая), 4 см (средняя кривая) и 7 см (верхняя кривая).

Таким образом, содержимое кисты является сильным прооксидантом (на порядок сильнее гемоглобина), способным окислять липиды и фосфолипиды, который может вызвать в псевдокапсуле свободно-радикальные повреждения и инициировать окислительный стресс.

О высокой концентрации свободного железа в содержимом эндометриоидной кисты превышающем 100 нмоль/л сообщается и другими авторами [383]. Кроме того, в содержимом кисты были обнаружены и другие специфические факторы, ассоциированные с окислительным стрессом: повышение уровня лактозодегидрогеназы (маркер повреждения тканей), АФК, продуктов ПОЛ и 8-OHdG [232, 383]. Высокая прооксидантная активность содержимого эндометриомы подтверждает предположение о существенно более важной роли окислительного стресса в повреждении окружающей ткани яичника по сравнению с другими типами кист.

Главным вопросом остается степень проницаемости стенки кисты для определенных элементов содержимого эндометриоидной кисты, способных оказывать токсическое действие на окружающие ткани и возможность продукции свободных радикалов эктопическим эндометрием, выстилающим эндометриодную ки-

сту. Для решения этой задачи на следующем этапе была оценена радикал-продуцирующая способность стенки эндометриоидной кисты. Было изучено 38 образцов ткани. Хемилюминограмма ткани яичника в присутствии люцигенина представлена на Рисунок 3.10.

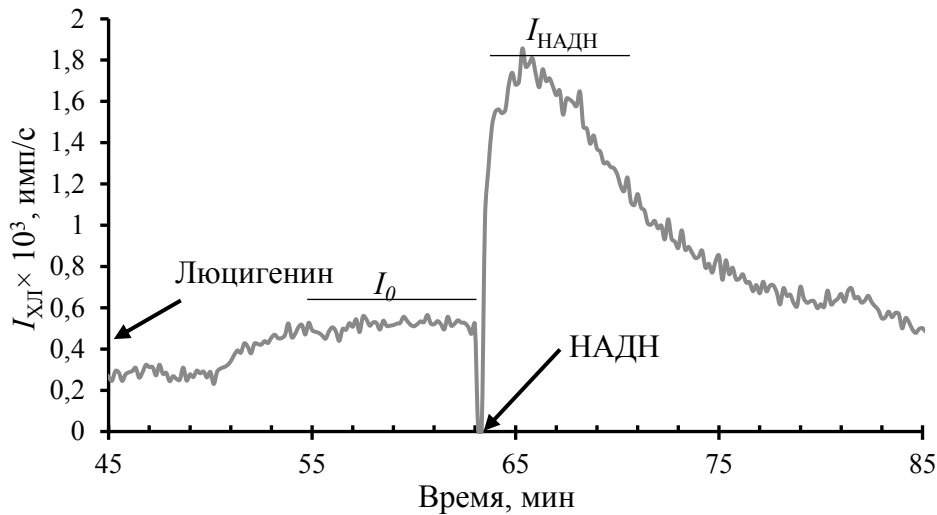


Рисунок 3.10 - Хемилюминограмма ткани яичника в присутствии люцигенина: I_0 - люцигенин-активированная хемилюминесценция (собственное свечение ткани), $I_{НАДН}$ - НАДН- стимулированная хемилюминесценция (отражает «запас» имеющегося антиоксидантного фермента НАДН-зависимой цитохром b5-редуктазы), $КА = I_0/I_{НАДН}$ (отражает антиоксидантную активность НАДН-зависимой цитохром b5-редуктазы).

В течение первых нескольких минут эксперимента изучалась собственная радикал-продуцирующая способность (I_0) стенки эндометриоидной кисты, которая составила $I_0 = 0,17 (0,09-0,41) \cdot 10^3$ имп/с. При добавлении донора электронов НАДН интенсивность хемилюминесценции $I_{НАДН}$ стенки эндометриоидной кисты значительно возросла и составляла $I_{НАДН} = 2,8 (2,1-4,3) \cdot 10^3$ имп/с. Ранее было показано, что люцигенин-активированная хемилюминесценция тканей обусловлена супероксидным анион-радикалом, продуцируемым в митохондриях [56]. Избыточная продукция супероксидного анион-радикала ведет к развитию окислительного стресса в клетке, повреждению митохондриальной ДНК и апоптозу. В присутствии НАДН люцигениновое свечение $I_{НАДН}$ обусловлено работой НАДН-зависимой цитохром b5-редуктазы, локализованной на микросомальной дыхательной цепи № 2 и на внешней мембране митохондрий [107]. НАДН-зависимая

цитохром-b5-редуктаза или метгемоглобин-редуктаза - это флавопротеин, известный своей способностью переносить электроны из своего домена НАДН через небольшой гемовый белок цитохром-b5 в конечный акцептор электронов [320]. Этот фермент участвует во множестве метаболических процессов, в частности, поддерживает внутриклеточный антиоксидантный статус за счет восстановления коэнзима Q10 и формирования первичного антиоксидантного барьера [374]. Растворимая форма НАДН-зависимой цитохром b5-редуктазы может катализировать восстановление трехвалентного железа Fe^{3+} до двухвалентного Fe^{2+} [183]. С другой стороны, работа НАДН-зависимой цитохром b5-редуктазы возможно образование супер-оксид-радикала, что может обуславливать и проокислительные свойства этого фермента (уравнение 1) [84].

НАДН цитохром b5-редуктаза $\rightarrow$ цитохром b5 $\rightarrow$ цитохром c $\rightarrow$ цитохромоксидаза $\rightarrow \text{O}_2$ (1)

Полученные нами данные говорят о повышенном «запасе» НАДН-зависимой цитохром b5-редуктазы в стенке эндометриоидной кисты. Следовательно, можно предположить, что наличие редуктазной системы в стенке эндометриоидной кисты необходимо для устранения редокс-дисбаланса в эндометриальных клетках, которые подвергаются атаке АФК [219].

Анализ продукции супероксид радикала в стенке эндометриоидных кист различного размера показал, что стенка бóльшего размера ($n=26$) обладает более интенсивным люцигенин-активированным свечением по сравнению с кистами менее 3 см ($n=12$) ($I_0=0,05$ (0,04-0,09) $\cdot 10^3$ имп/с против , $I_0=0,31$ (0,12-0,49) $\cdot 10^3$ имп/с , $p=0,004$) (Рисунок 3.11).

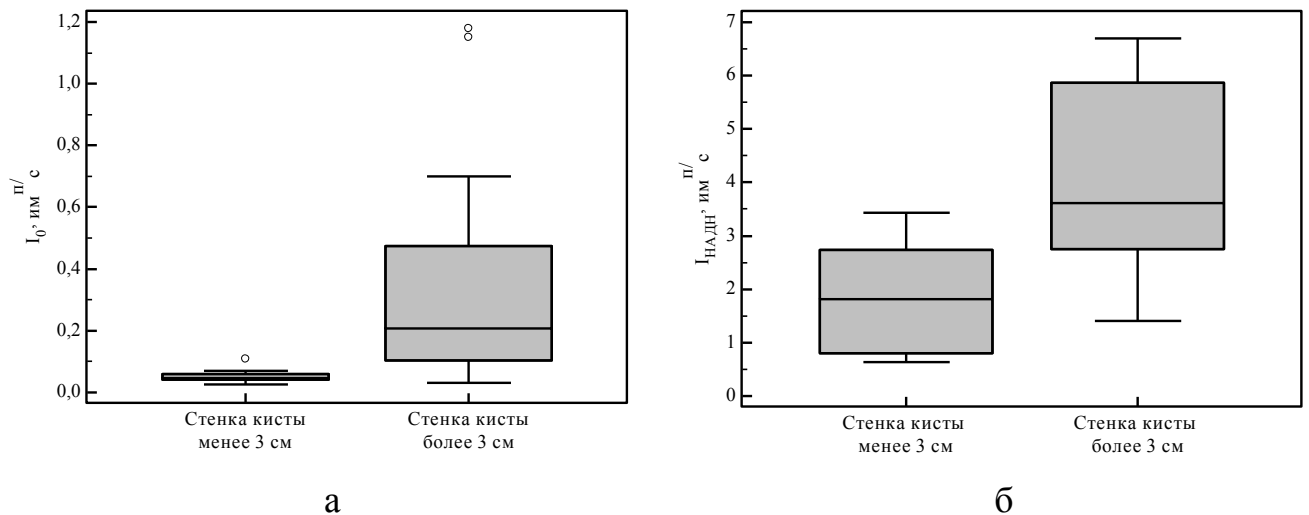


Рисунок 3.11 - а - люцигенин-активированная хемилюминесценция стенки кисты менее и более 3 см (базовая хемилюминесценция = 120 мкл люцигенина). б – НАДН-активированная хемилюминесценция стенки кисты менее и более 3 см (активированная хемилюминесценция = 10 мкл НАДН).

Люцигенин-активированная хемилюминесценция показывает, что для кист бóльшего размера характерны более высокие концентрации АФК. Эти данные могут быть связаны с прооксидантными свойствами содержимого эндометриоидной кисты и повреждением дыхательной цепи митохондрий, так как ранее было показано, что содержимое кист бóльшего размера характеризуется большей прооксидантной активностью, так и с собственно бóльшей продукцией АФК митохондриями бóлее длительно существующих эндометриоидных кист.

При добавлении НАДН интенсивность хемилюминесценции возрастала как в стенке эндометриоидной кисты менее 3 см до – $I_{\text{НАДН}} = 1,8 (0,8-2,2) \cdot 10^3$ имп/с., так и более 3 см до – $I_{\text{НАДН}} = 4,2 (2,8-6,2) \cdot 10^3$ имп/с. Различия в свечении между малыми и большими кистами также были достоверными ($p=0,007$). Ранее нами показано, что бóльшая прооксидантная активность содержимого бóльших эндометриоидных кист обусловлена более высокими концентрациями супероксида, вырабатываемого при окислении двухвалентного Fe^{2+} до Fe^{3+} . Причем, метгемоглобин является наиболее распространенной формой гемоглобина в доброкачественных эндометриоидных кистах [218]. Для снижения уровня АФК происходит активации редуктазной системы, которая может катализировать восстановление трехвалентного железа Fe^{3+} до двухвалентного Fe^{2+} . Очевидно, что для деактива-

ции большего количества АФК эндометриальной клетке требуется большая концентрация редуктаз. Это подтверждается нашими данными: в кистах бóльшего размера отмечалось увеличение «запаса» НАДН-зависимой цитохром b5-редуктазы.

Однако если сравнить исходный и стимулированный уровень свечения эндометриоидной кисты, то оказывается, что в кистах менее 3 см после добавления НАДН уровень активированной хемилюминесценции возрастает в 36 раз, тогда как эндометриомах более 3 см только в 13 раз. То есть несмотря на казалось бы больший абсолютный уровень $I_{\text{НАДН}}$ в эндометриоидных кист более 3 см, относительно исходной продукции АФК активность НАДН-зависимой цитохром b5-редуктазы оказывается меньше в сравнении с кистами меньшего размера. Это свидетельствует о недостаточной активности НАДН-зависимой цитохром b5-редуктазы в эндометриомах более 3 см. Антиоксидантная недостаточность в стенке эндометриоидной кисты приводит к тому, что свободные радикалы проникают через стенку эндометриоидной кисты и могут атаковать здоровую ткань яичника, снижая в ней активность митохондрий.

Сравнение собственного свечения ткани яичника ($n=38$) и стенки кисты показало, что собственная радикал-продуцирующая способность стенки эндометриоидной кисты ($I_0=0,17 (0,09-0,41) \cdot 10^3$ имп/с) несколько выше, чем ткани яичника ($I_0=0,12 (0,05-0,29) \cdot 10^3$ имп/с). Таким образом, в строме яичника, содержащей эндометриоидную кисту, не происходит избыточного образования радикал-анионов, тогда как сама эндометриодная киста способна продуцировать АФК.

При сопоставлении НАДН-индуцированной хемилюминесценции ткани яичника и стенки кисты оказалось, что медиана средних значений $I_{\text{НАДН}}$ в стенке кисты была выше ($I_{\text{НАДН}}=2,9 (2,1-4,3) \cdot 10^3$ имп/с), чем в ткани яичника ($I_{\text{НАДН}}=1,8 (1,1-2,7) \cdot 10^3$ имп/с), $p=0,01$. То есть, казалось бы, фолликулярный аппарат яичника должен быть защищен антиоксидантной защитой, которую обеспечивает стенка кисты. Но следует учитывать, что утечка АФК в митохондриальной цепи в стенке кисты происходит в несколько раз в более значимом объеме по сравнению с тканью яичника. То есть больший «запас» НАДН-зависимой цитохром b5-

редуктазы может быть вторичным ответом на избыток АФК в эндометриоме. В связи с этим нами был проведен индивидуальное сопоставление люцигенин-активированной хемилюминесценции (I_0) каждого образца ткани яичника с соответствующим образцом кисты (Рисунок 3.12).

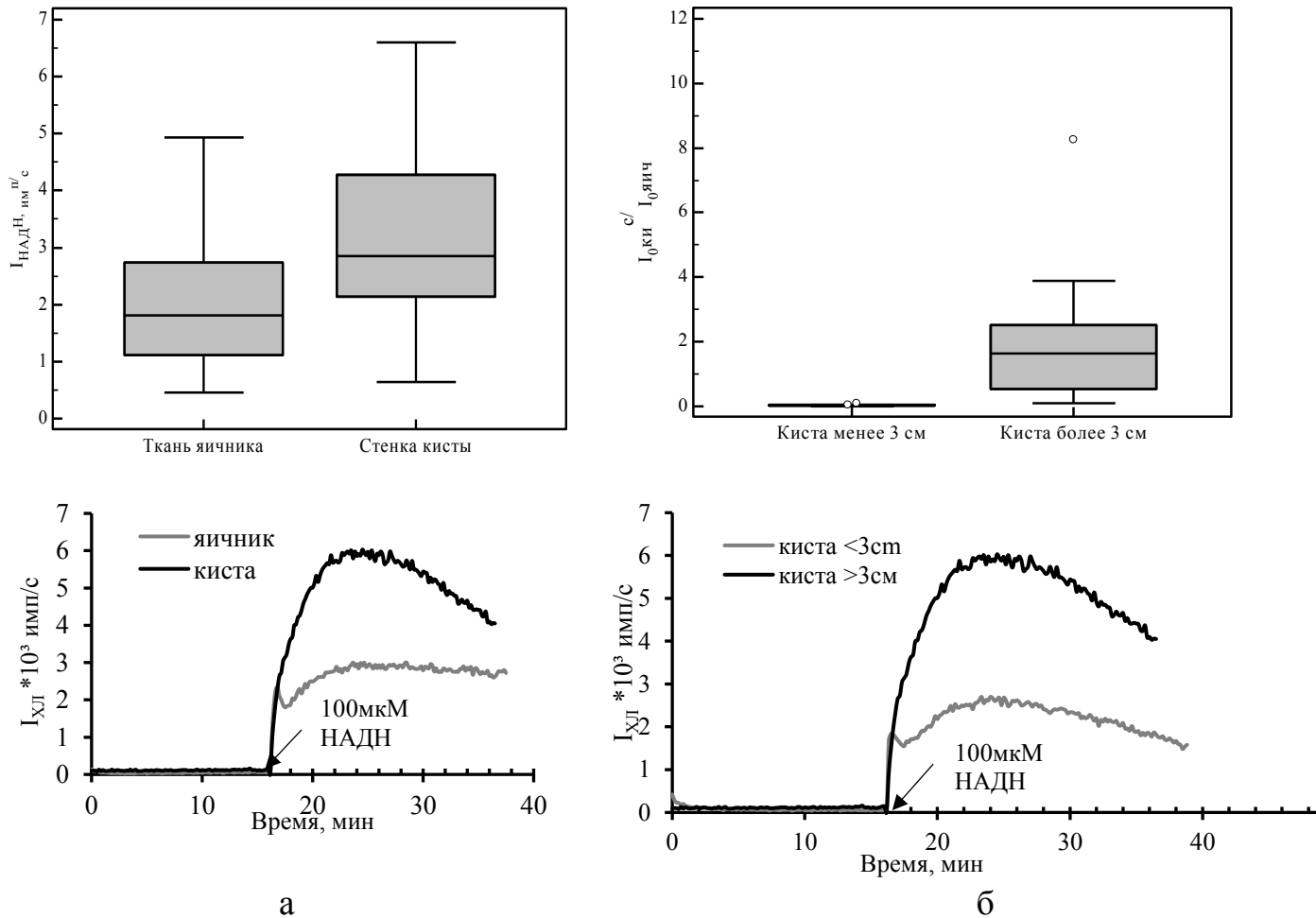


Рисунок 3.12 - а - НАДН активированная хемилюминесценция ткани яичника и стенки кисты (активированная хемилюминесценция = 10 мкл НАДН); б - отношение люцигенин-активированной хемилюминесценции стенки кисты и ткани яичника (I_0 кисты/ I_0 яичника) в зависимости от размера эндометриомы (базовая хемилюминесценция = 120 мкл люцигенина).

Оказалось, что в кистах менее 3 см отношение I_0 кисты/ I_0 яичника во всех образцах ≤ 1 ($I_0=0,03$ (0,02-0,05) $\cdot 10^3$ имп/с). Тогда как в эндометриомах большего размера этот показатель значительно превышал 1 ($I_0=1,6$ (0,5-2,5) $\cdot 10^3$ имп/с), $p=0,0002$. То есть в кистах небольшого размера мы наблюдаем баланс АФК по «обе стороны» от стенки кисты, тогда как стенка эндометриомы большего размера продуцирует значительно большие концентрации АФК. Этим дисбалансом и

объясняется бóльший «запас» НАДН-зависимой цитохром b5-редуктазы в эндометриоме по сравнению с тканью яичника.

Радикал-продуцирующая способность ткани яичника, содержащего эндометриодную кисту, и яичник без кисты была примерно одинаковой ($I_0=0,22$ (0,07-0,65) $\cdot 10^3$ имп/с и $I_0=0,18$ (0,09-0,29) $\cdot 10^3$ имп/с соответственно). Это свидетельствует о регистрации физиологической «утечки» 1–2% свободных электронов с дыхательной цепи, происходящей в процессе образования АТФ в митохондриях. НАДН-стимулированная хемилюминесценция достоверно ($p=0,03$) сильнее возросла в ткани яичника, непораженного эндометриозом ($I_{\text{НАДН}}=5,8$ (1,5-14,6) $\cdot 10^3$ имп/с) в сравнении с яичником, содержащем кисту ($I_{\text{НАДН}}=1,8$ (1,12-2,9) $\cdot 10^3$ имп/с). Как уже упоминалось ранее люцигениновое свечение в присутствии НАДН обусловлено работой антиоксидантного фермента НАДН-зависимой цитохром b5-редуктазы, то есть добавление НАДН заставляет редуктазную систему проявить свою активность, но при этом $I_{\text{НАДН}}$ не отражает достаточность редуктазной системы для борьбы со всеми имеющимися свободными радикалами. Для того, чтобы оценить активность данного фермента нами рассчитывался коэффициент активации (КА), выражающийся как отношение НАДН-стимулированной хемилюминесценции к люцигенин-активированной хемилюминесценции ($\text{КА} = I_{\text{НАДН}}/I_0$), КА показывает достаточно ли активности НАДН-зависимой цитохром b5-редуктазы для подавления продукции АФК. Оказалось, что КА ткани «здорового» яичника ($\text{КА}=36,7$ (24,1-58,2)) в три раза превышал КА яичника с эндометриодной кистой ($\text{КА}=10,8$ (4,3-31,7)), полученные различия были достоверными ($p=0,02$). Снижение активности НАДН-зависимой цитохром b5-редуктаза ткани самого яичника могут свидетельствовать о недостатке активности редуктазной системы, приводящей к запуску цитохром c индуцированной гибели митохондрий и как следствие апоптозу клетки [98]. О более высокой частоте апоптозов гранулезных клеток при эндометриозе, что соответствует начальной стадии атрезии фолликулов, сообщалось и ранее. Кроме того, было показано, что плотность фолликулов вокруг стенки эндометриомы была значительно ниже по сравнению с

корковым слоем контрлатерального непораженного эндометриозом яичника, а также в сравнении с другими доброкачественными кистами [115].

Коэффициент активации для ткани яичника, содержащей кисты менее 3 и более 3 см также был различным. Коэффициент активации составил $KA = 8,0$ (3,-27,8) у пациенток с эндометриомами более 3 см и $KA = 27,1$ (11,9-36,8) при эндометриоме менее 3 см ($p = 0,05$) (Рисунок 3.13). Эти данные также свидетельствуют, что в яичнике с кистой бóльшего размера активность антиоксидантной защиты выражена слабее, что предположительно объясняет более серьезное повреждение овариального резерва при больших эндометриомах.

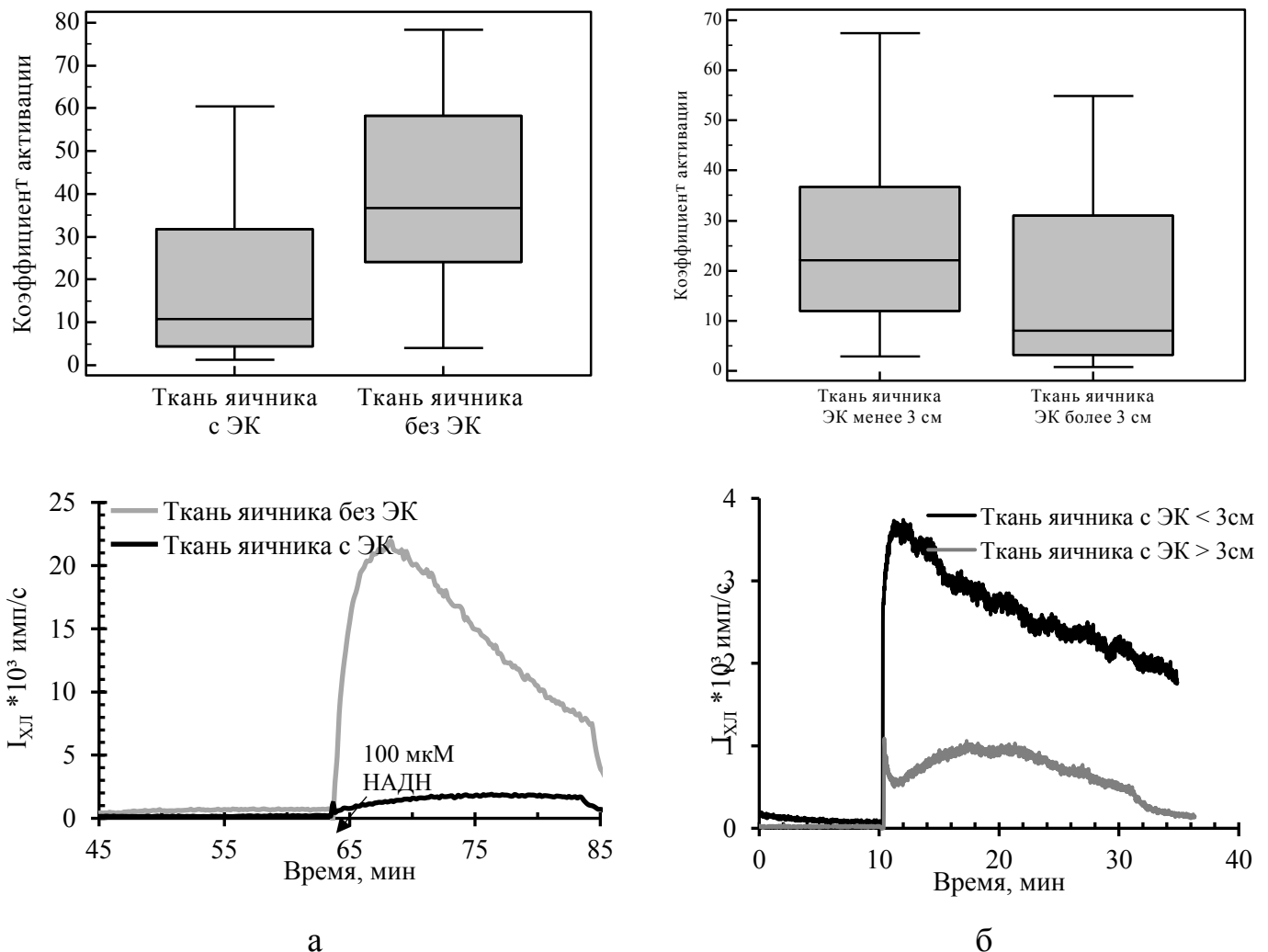


Рисунок 3.13 - Хемилуминограммы и коэффициент активации ткани яичника, содержащего ЭК по сравнению с тканью яичника без ЭК (а); ткани яичника, содержащей ЭК менее и более 3 см (б). $KA = I_{\text{НАДН}}/I_0$. ЭК-эндометриодная киста.

Изменения овариального резерва при эндометриодном поражении яичников выявляются и по данным клинико-лабораторного обследования. Мета-анализ Muzzi показал, что женщины с эндометриомами имеют более низкий базовый уровень АМГ по сравнению с женщинами без эндометриомы [287].

Для изучения связи между уровнем АМГ и активностью НАДН-зависимой цитохром b5-редуктазы при двустороннем поражении яичников рассчитывался средний коэффициент активации правого и левого яичников/эндометриом. Была выявлена сильная прямая корреляция (коэффициент корреляции Спирмена 0,59, $p = 0,03$) между коэффициентом активации ткани яичника и уровнем АМГ, то есть у пациенток с низким овариальным резервом активность НАДН-зависимой цитохром b5-редуктазы ткани яичника была ниже. При этом у части пациенток с эндометриодными кистами было обнаружено снижение коэффициента активации даже при нормальном уровне АМГ. Соответственно, при наличии эндометриоза даже при сохранном овариальном резерве ($AMG \geq 1,1$ нг/мл) уже происходит угнетение антиоксидантной защиты и повреждение ткани яичника, еще до хирургического лечения. В работе Филипповой Е.С. и др. также указывается, что молекулярные нарушения, в частности дисбаланс в экспрессии мкРНК, развиваются в тканях кисты еще при нормальном овариальном резерве, что может способствовать прогрессированию патологического процесса, развитие которого усиливает токсическое действие на ткань яичника [101].

Повышение уровня СА-125 было отмечено у 10 пациенток (максимальное значение составило 192 ед/мл), у остальных пациенток уровень СА-125 оставался в пределах нормы. Коэффициент активации ткани яичника, содержащего эндометриодную кисту (при двустороннем поражении — среднее значение) слабо обратно коррелировал с уровнем СА-125 (Рисунок 3.14).

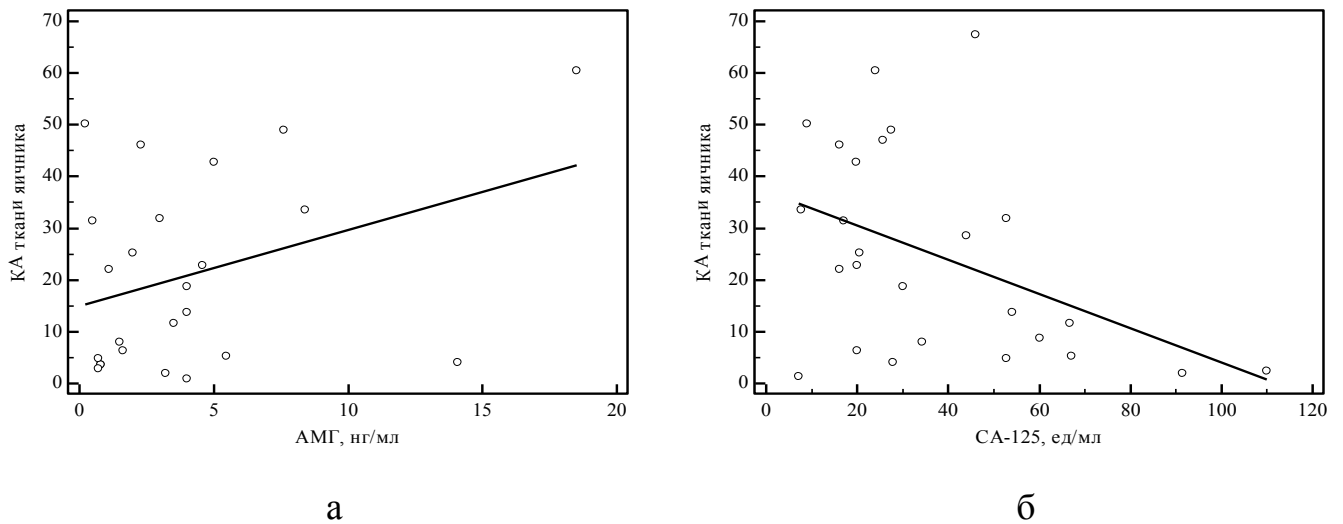


Рисунок 3.14 - Корреляция между коэффициентом активации ткани яичника уровнем АМГ (а) и СА-125 (б). $KA = I_{\text{НАДН}}/I_0$.

Коэффициент корреляции Спирмена составил $-0,4$ ($p = 0,04$). То есть при бóльшей активности эндометриоза наблюдалось более значимое снижение антиоксидантной защиты. Аналогичные данные были получены и на первом этапе нашего исследования: СА-125 может быть использован в качестве маркера эндометриоза. Причины повышения уровня СА-125 при среднетяжелом и тяжелом эндометриозе неизвестны. Согласно одной из гипотез, эндометриоидной тканью продуцируется больше СА-125, чем нормальным эндометрием [5].

Состояние овариального резерва у пациенток с эндометриозом является предметом всестороннего интереса на протяжении последнего десятилетия. Однако, причины, приводящие к преждевременному истощению овариального резерва при эндометриозе, остаются не известными. Ряд исследователей согласны, что ключевую роль в этом играет оксидативный стресс, который запускает механизмы апоптоза в фолликулах яичника, пораженного эндометриозом [121, 142, 217, 258, 273, 375, 383]. Наше исследование, включающее изучение уровня окислительного стресса в содержимом эндометриоидной кисты, стенке кисты и ткани яичника, показал каскад событий, с участием АФК, который развивается в яичнике (Рисунок 3.15).

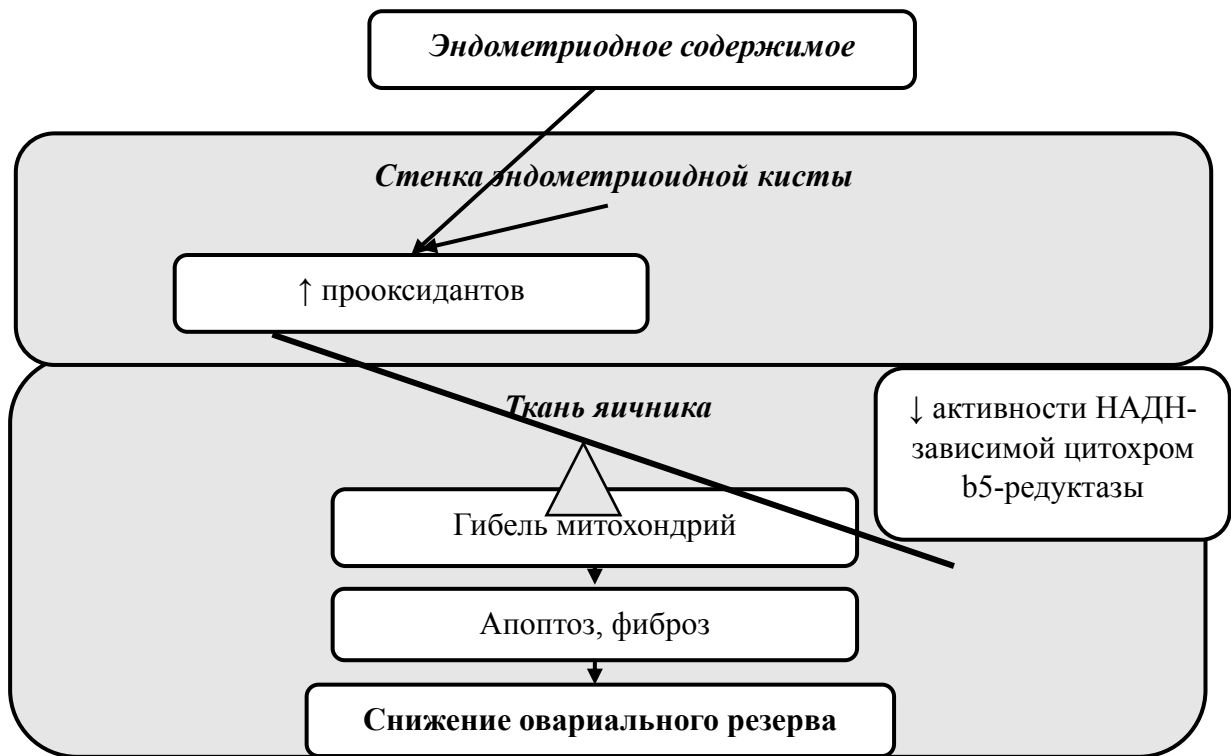


Рисунок 3.15 - Роль окислительного стресса в снижении овариального резерва при эндометриодных кистах.

Жидкое содержимое эндометриодной кисты вызывает существенные изменения в контактирующих с ней клетках. При этом от нормальной ткани яичника содержимое эндометриодной кисты отделяет тонкая стенка, представленная непосредственно тканью коры яичника в состоянии воспаления с элементами фиброза, что создает благоприятные условия для проникновения АФК в окружающие кисту ткани с развитием оксидативного стресса. Предполагается, что вызванный гемом и железом окислительный стресс возникает из-за повторных кровоизлияния при эндометриозе; соединения модифицируют ДНК, вызывая ее повреждение, что сопровождается гибелью клеток гранулезы и замещением нормальной кортикальной ткани фиброзной тканью со снижением репродуктивного потенциала и повреждением микрососудистого русла. Все эти изменения более выражены в эндометриодных кистах более 3 см.

ГЛАВА 4. ЛАПАРОСКОПИЯ В ЛЕЧЕНИИ ЭНДОМЕТРИОЗ- АССОЦИИРОВАННОГО БЕСПЛОДИЯ

4.1. Медикаментозное и хирургическое лечение пациенток с наружным генитальным эндометриозом (обзор литературы)

Лечение пациенток с НГЭ представляет сложную проблему и направлено на купирование болевого синдрома, предотвращение прогрессирования, профилактику рецидива заболевания, преодоление бесплодия [109]. Лечение бесплодия, ассоциированного с НГЭ, основано на трех методах: медикаментозная терапия, хирургическое вмешательство и вспомогательные репродуктивные технологии.

Медикаментозная терапия НГЭ назначается для уменьшения болей у пациенток с распространенными формами эндометриоза, в предоперационной подготовке и послеоперационной профилактике рецидива заболевания, а также перед проведением ВРТ. Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) чаще всего используются в качестве терапии первой линии для купирования болей, связанных с эндометриозом. Обоснование применения НПВП при эндометриозе основано на их обезболивающем и противовоспалительном эффектах. В 2017 году Кокрановский обзор представил вывод об отсутствии качественных данных, подтверждающих эффективность НПВП в лечении боли, вызванной эндометриозом. Кроме того, мета-анализ не выявил эффективности одних НПВП по сравнению с другими [148]. При этом авторы подчеркивают необходимость информирования женщин, принимающих НПВП, о побочных эффектах данной группы препаратов. Применение производных опиоидов, таких как кодеин и трамадол, редко изучалось для лечения боли, связанной с эндометриозом. Однако в связи с большим количеством побочных эффектов и развития эффекта зависимости данные препараты должны назначаться крайне редко.

Комбинированные оральные контрацептивы эффективны для уменьшения боли на начальных стадиях эндометриоза, а также для профилактики рецидивов после хирургического удаления эндометриоидных кист [43, 222]. Но для долгосрочной оценки эффективности лечения эндометриоза оральными контрацепти-

вами не хватает клинических исследований, более того, есть даже некоторые данные, свидетельствующие о потенциальном неблагоприятном воздействии на прогрессирование заболевания [156]. Клинический эффект оральных контрацептивов, назначаемых в непрерывном режиме, достигается за счет создания гормонального баланса, приводящего к децидуализации и последующей атрофии эктопического эндометрия в имплантатах эндометриоза. Кроме того, эффективность оральных контрацептивов для купирования болевого синдрома и прогрессирования заболевания может быть обусловлена и уменьшением ретроградной менструации.

Уменьшение пролиферации клеток эндометрия в очагах эндометриоза вызывают и прогестагенные препараты. Опубликованы результаты исследований, согласно которым дидрогестерон связывается в основном с прогестероновыми рецепторами и не проявляет тропность к другим стероидным рецепторам, в связи с чем практически не обладает сопутствующими эстрогенными, андрогенными, минералокортикоидными, глюкокортикоидными побочными эффектами [34, 93]. В исследовании Vercellini et al. сообщается, что назначение норэтистеронацетата значительно уменьшает болевой синдром, особенно у пациенток с диспареунией при отсутствии ректовагинальных поражений [373]. Безусловно наиболее выраженный прогестагенный эффект наблюдается при непрерывном назначении этих препаратов. В связи с этим альтернативой оральному назначению гестагенов является введение внутриматочной системы, содержащей левоноргестрел и способной уменьшить объем менструальной крови у большого процента пациентов с эндометриозом [155]. Безусловно данная терапия оправдана у пациенток, непланирующих беременность или может назначаться в течение короткого периода в качестве вспомогательного лечения после операции [155]. Селективные модуляторы прогестероновых рецепторов представляют собой класс лекарственных средств с активностью антагониста прогестерона. Структура эндометрия, которая динамически контролируется циркулирующими половыми гормонами, нарушается модуляторами рецепторов прогестерона из-за их свойств антагониста прогестерона. Однако на сегодняшний день FDA запретило использование улипристола ацетата для лечения миомы (а также эндометриоза) в связи с редкими, но серьезные рис-

ками, такими как гиперплазия эндометрия, рак эндометрия и повреждение печени [139, 215].

В последние годы широкое распространение в качестве монотерапии эндометриоза получил препарат диеногест [128]. Диеногест уменьшает секрецию гонадотропинов, что по механизму прямой связи приводит к снижению синтеза эстрадиола и за счет этого предотвращает прогрессирование эндометриоза. Помимо гипоестрогении при продолжительном приеме диеногест вызывает повышение уровня прогестерона, что приводит к атрофии эндометриальной ткани [244]. Согласно исследованиям последних лет, назначение диеногеста после этапа хирургического лечения является эффективным у пациенток с различной стадией эндометриоза (от поверхностного до инфильтративного). Так, 64,6% женщин, включенных в исследование, забеременели после лечения и 40% женщин родоразрешены за исследуемый период [71]. Диеногест в дозировке 2 мг в течение 6–9 месяцев эффективен для профилактики рецидивов НГЭ [15]. По данным Самошкина Н.Г. и др. для более эффективного купирования болевого синдрома при эндометриозе возможно сочетанное назначение диеногеста с селективными ингибиторами циклооксигеназы-2 [82]. Диеногест для профилактики эндометриоза и бесплодия может быть использован и в составе комбинированных оральных контрацептивов [95].

В качестве эффективного способа лечения болей, связанных с эндометриозом, было предложено назначение агонистов гонадотропин релизинг-гормона (а-ГнРГ) [52], но, несмотря на высокую эффективность, аналоги гонадолиберина имеют ограниченное применение из-за их выраженного гипоестрогенного эффекта [150]. Гипоестрогения проявляется в нестабильности настроения, вазомоторных симптомах, генитальной гипотрофии и остеопении. А-ГнРГ взаимодействуют с рецепторами передней доли гипофиза, после периода десенситизации гипофиз становится невосприимчивым к пульсирующему ритму эндогенных нейротрансмиттеров, что приводит к уменьшению выработки гонадотропных гормонов и уменьшению стероидогенеза в яичниках [371]. В нашей стране рекомендуется назначать медикаментозную терапию а-ГнРГ только для лечения болевого син-

дрома при эндометриозе, но не для лечения бесплодия (уровень доказательности 1 А [36].

Достаточно эффективным препаратом в лечении эндометриоза на протяжении долгих лет являлся андрогенный стероидный препарат даназол. Даназол обладает выраженным антигонадотропным эффектом, который достигается посредством ингибирования высвобождения гонадотропин релизинг-гормона, а также подавления продукции гипофизом фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и ЛГ, что приводит к угнетению овуляции, в результате происходит выраженное регрессивное изменения эндометриоидных очагов. Но даназол признан непригодным для длительной терапии эндометриоза в связи с гиперандрогенными побочными эффектами, такими как себорея, гипертрихоз, увеличение веса и отрицательный эффект увеличения концентрации липопротеинов низкой плотности в сыворотке [224].

Недавно проведены клинические исследования нового перорального ант-ГнРГ – элаголикса. III фаза клинических испытаний сообщила о небольшом количестве незначительных побочных эффектов (приливы и умеренное уменьшение минеральной плотности костей) на фоне приема препарата. При использовании элаголикса в течение 12 месяцев наблюдается выраженное купирование болевого синдрома и остановка прогрессирования заболевания [351, 358]. 24 июля 2018 года FDA одобрило элаголикс для лечения умеренной и сильной боли, связанной с эндометриозом.

Ресвератрол, природный препарат, полученный из виноградного вина, вызывает апоптоз в стромальных клетках эндометрия посредством подавления экспрессии сурвивина. Пока проводятся исследования на животных, но предварительные результаты обнадеживают [353].

Длительность гормональной терапии устанавливается индивидуально. Индивидуальный подход к назначению терапии, обусловлен и гетерогенностью НГЭ, отсутствием типичной картины экспрессии для каждого из генов данного заболевания и эффект от лечения будет зависеть в первую очередь от наличия терапевтической мишени [105]. У пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплоди-

ем, должны назначаться кратковременные курсы в послеоперационном периоде и перед проведением ЭКО [116, 325, 356].

Целью *хирургического лечения эндометриоза* является удаление всех обнаруживаемых в ходе операции очагов эндометриоза, также в восстановлении анатомии малого таза. В настоящее время «золотым стандартом» хирургического лечения эндометриоза является проведение лапароскопии. Подход «смотри и лечи» дает возможность подтвердить эндометриоз и элиминировать патологические очаги во время одной анестезии. В идеале одна «идеальная» операция должна проводиться в соответствующих хирургических условиях с опытной хирургической бригадой [339]. Согласно клиническим рекомендациям 2013 года единственным методом лечения эндометриоза является хирургическая элиминация всех очагов эндометриоза [109].

Показания для операции по поводу хронической тазовой боли, связанной с эндометриозом, должны быть строго определены и основываться на жалобах пациентки, характерных особенностях болевого синдрома при эндометриозе, результатах оценки лабораторных и инструментальных методов обследования. Хроническая боль может быть вызвана множествами причин помимо эндометриоза [334]. Операция по поводу эндометриоза, единственным проявлением которого, являются хронические боли, должна выполняться только тогда, когда исключены остальные причины болей, и терапевтическая польза операции перевешивает риски операции. Основными показаниями для оперативного лечения хронической тазовой боли, вызванной эндометриозом, являются отказ от долгосрочной гормональной терапии, побочные эффекты при ее применении или противопоказания к медикаментозной терапии [339].

В настоящее время очень трудно определить преимущество хирургического лечения для купирования хронической тазовой боли в сравнении с иными методами терапии из-за ограниченного числа рандомизированных контролируемых и разнородности когортных исследований (различная распространенность патологического процесса, различные хирургические техники и методики) [148, 191, 220, 229]. Кокрановский обзор 2014 года указывает с уровнем доказанности

«среднего качества», что хирургическое лечение умеренного эндометриоза уменьшает болевой синдром, однако это исследование ограничено небольшим количеством сравнений с медикаментозной терапией [220]. Несмотря на купирование болей после операции, существует риск рецидива боли, что может потребовать повторного хирургического вмешательства. Flyckt et al. выяснили, что частота рецидива болей происходит в 20-40%, при этом повторная операция эффективна у 15-20% пациенток [191].

Наиболее тяжелой и патологической формой эндометриоза является глубокий инфильтративный эндометриоз, который может привести к значительному поражению смежных органов, включая обструкцию мочевого тракта, почечную недостаточность или кишечную непроходимость [134]. В литературе описывается множество различных хирургических подходов к лечению глубокого инфильтративного эндометриоза [134, 229]. В исследованиях Краснопольского В.И. и др. приводится опыт и преимущества проведения роботассистированных операций у пациенток с распространенными формами эндометриоза [45].

Особое внимание в литературе уделяется роли хирургического лечения эндометриоза при бесплодии. В клинических рекомендациях 2019 года «Женское бесплодие (современные подходы к диагностике и лечению)» лапароскопия показана в качестве заключительного этапа диагностики и лечения всем пациенткам с подозрением на эндометриоз [36]. Возникновение бесплодия при эндометриозе связано с хроническим воспалением и провоспалительной биохимической средой в малом тазу, со спаечным процессом в малом тазу, вследствие чего нарушается тазовая анатомия и затрудняется продвижение яйцеклеток и эмбрионов по маточной трубе, со снижением овариального резерва, нарушениями имплантационных свойств эндометрия [356, 369].

Однако до сих пор не существует единого мнения относительно эффективности и целесообразности хирургического лечения эндометриоза. Лапароскопия во многих ситуациях является окончательным методом верификации причины бесплодия, так как согласно отечественным клиническим рекомендациям диагноз эндометриоза может быть установлен только после гистологической верификации

эндометриоза в удаленных патологических участках тканей [36]. Сущность хирургического лечения эндометриоза заключается в максимально полной элиминации очагов эндометриоза в пределах неизмененных тканей при помощи воздействия различных видов энергии: лазерной, электрической, ультразвуковой, плазменной [191, 322, 325, 331]. Коагуляция очагов при малых формах эндометриоза не только уменьшает выраженность болевого синдрома, но и увеличивает частоту самопроизвольного наступления беременности по сравнению с пациентками контрольной группы, которым была выполнена только диагностическая лапароскопия [171, 356]. Daraï et al. опубликовали подробный обзор на тему лечения глубокого эндометриоза у пациентов с бесплодием, в котором показана эффективность хирургического лечения для преодоления бесплодия у пациенток с тяжелым эндометриозом [172]. Но существует и другое мнение, согласно которому хирургическое лечение эндометриоза эффективно лишь при I-II стадии эндометриоза, в то время как эффективность оперативного вмешательства при тяжелых формах эндометриоза ставится под сомнение. Авторы, придерживающиеся данной точки зрения, предлагают направлять женщин с бесплодием, обусловленным НГЭ III-IV стадии на осуществление ЭКО без предварительного этапа хирургического лечения [154]. Также, согласно ряду исследований, хирургическое вмешательство по поводу эндометриоидных кист яичника не только не способствует лечению бесплодия, но и снижает функциональные способности яичников, а, следовательно, существенно уменьшает дальнейшие шансы на восстановление фертильности в послеоперационном периоде и на самопроизвольное наступление беременности [181, 229, 325, 331, 356]. Другой проблемой пациенток с тяжелым эндометриозом является выраженный спаечный процесс, из-за которого может развиваться одно или двусторонний гидросальпинкс. Известно, что воспалительная среда, возникающая в маточной трубе, уменьшает вероятность успеха ЭКО. В настоящее время многочисленные исследования показали, что удаление или окклюзия маточных труб, улучшает результаты ЭКО, и у пациенток с эндометриозом перед проведением ЭКО при наличии гидросальпинксов целесообразно выполнять тубэктомию [295, 376].

Литературные данные о необходимости проведения предварительного оперативного лечения эндометриоза перед ЭКО противоречивы. В исследовании Vassilopoulou et al. показано, что лапароскопическая элиминация эндометриoidных гетеротопий с разделением спаек у пациенток с эндометриозом легкой степени улучшают результаты ВРТ, в том числе и коэффициент рождаемости [368]. В то же время, если диаметр эндометриомы превышает 3 см достоверных данных, указывающих на то, что кистэктомия перед ВРТ повышает вероятность наступления беременности, нет [181]. Хотя некоторые репродуктологи утверждают, что при размере эндометриoidной кисты более 3 см требуется выполнения кистэктомии при подготовке к ВРТ, другие считают, что из-за выраженного снижения овариального резерва от операции следует воздержаться. Считается, что основным показанием к лечению «бессимптомной» эндометриомы яичника у пациенток перед ЭКО является улучшение доступа для трансвагинальной пункции фолликулов [157, 296, 308]. Согласно руководству ESHRE (2014), если у пациентки уже было оперативное лечение эндометриoidной кисты яичников в анамнезе, рекомендуется тщательно взвешивать возможные показания и противопоказания из-за высокой вероятности значительного снижения функции яичников после повторной операции [181]. В отечественных клинических рекомендациях 2019 года, посвященных проблеме ведения пациенток с бесплодием указывается, что удаление эндометриомы повышает шанс на наступление беременности (уровень доказательности 2А), в то же время в руководстве подчеркивается о высоком риске снижения овариального резерва при повторных операциях по поводу эндометриoidных кист (уровень доказательности 1А) [36].

При выборе выжидательной тактики в отношении эндометриом возникает необходимость проведения дифференциальной диагностики со злокачественными опухолями. Хотя большинство эндометриом являются доброкачественными образованиями, в последние годы увеличилось количество сообщений о связи между эндометриозом и эпителиальным раком яичников [265, 270]. В работе Mataliotakis et al. сообщается, что связанный с эндометриозом рак яичников был выявлен в 2% случаев. [270]

Частота рецидивов эндометриом после хирургического удаления может достигать 50% в течение 5 лет [10]. Причины рецидива эндометриоидных кист изучены не до конца. Михалевой Л.М. и др. показано, что очаги рецидивирующего эндометриоза яичников образуются из клеток с высоким пролиферативным потенциалом и низким уровнем апоптоза [57]. Использование медикаментозной терапии, эффективно для уменьшения рецидива эндометриомы [10, 199, 371]. Тем не менее, длительное послеоперационное подавление функции яичников не показано у пациенток с бесплодием, в связи с отсутствием преимуществ в увеличении частоты наступления беременности [149, 325]. У пациенток с распространенными формами эндометриоза, в позднем репродуктивном возрасте, при рецидиве заболевания необходимо своевременно применять ВРТ. Но следует учитывать, что применение ВРТ связано с рядом морально-этических вопросов. Например, иудаизм, римско-католическая церковь и ислам имеют разные взгляды на приемлемость различных форм ВРТ. В некоторых случаях операция может быть единственным приемлемым вариантом преодоления бесплодия у супружеской пары.

Хирургические осложнения лапароскопической операции, проведенной по поводу эндометриоза в целом можно считать относительно низкими, исключение составляют распространённые формы эндометриоза, лечение которых должно проводиться мультидисциплинарными хирургами [104, 115, 285, 325]. Опыт хирурга, история болезни, сопутствующие заболевания пациентки, а также степень распространенности эндометриоза - все это факторы, которые определяют риск осложнений [199].

Таким образом, на сегодняшний день определены следующие показания к операции у пациенток с бесплодием, обусловленным НГЭ: эндометриоз легкой и средней степени тяжести, улучшение доступа для трансвагинальной пункции ооцитов, удаление гидросальпинксов для улучшения результатов ЭКО, отказ семейной пары от проведения ЭКО по личным, культурным или религиозным причинам [339].

4.2. Дизайн исследования. Материалы и методы исследования

В исследование было включено 212 пациенток с верифицированной причиной бесплодия, которым было проведено хирургическое лечение с целью восстановления фертильности. Исследование проводилось в 2 этапа. Дизайн исследования приведен в Таблица 4.1

Таблица 4.1 - Дизайн исследования

Этап работы	Задача исследования	Объект или группы исследований	Количество наблюдений	Всего
Ретроспективный	Определение эффективности лечения бесплодия	Наружный генитальный эндометриоз	77	179
		Трубно-перитонеальное бесплодие	66	
		СПКЯ	36	
Проспективный	Системный и локальный антиоксидантный статус и наступление беременности у пациенток с НГЭ	Плазма крови	53	53
		Перитонеальная жидкость	53	

В первый этап (ретроспективный) были включены 179 пациенток с НГЭ, ТПБ и СПКЯ. На первом этапе была оценена эффективность лечения бесплодия по частоте наступления беременности, как в естественном цикле, так и в результате применения ВРТ. Исход беременности при оценке эффективности лечения не учитывался. Контроль наступления беременности проводились при помощи телефонного анкетирования пациенток. Длительность бесплодия на момент оперативного лечения составляла от 1,5 до 12 лет (в среднем $4,6 \pm 3,2$ года). Все пациентки были разделены на следующие группы в зависимости от выявленного генеза бесплодия. В первую группу были объединены пациентки с НГЭ ($n=77$), во вторую - с ТПБ ($n=66$), в третью — с СПКЯ ($n=36$).

На втором этапе была проанализирована частота наступления беременности у 53 пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием в зависимости от показателей системной и локальной антиоксидантной активности. Уровень анти-

оксидантной защиты оценивался по методике, приведенной в главе 2. Клиническая характеристика пациенток и полученные результаты антиоксидантной активности в плазме крови и перитонеальной жидкости приведены в разделе 2.3 настоящего исследования. Контроль наступления беременности проводились при помощи телефонного анкетирования пациенток. Из 56 пациенток, у которых брали образцы перитонеальной жидкости и плазмы крови, у 2 не удалось получить данные о наступлении беременности, 1 пациентка в связи с изменившимися обстоятельствами в течение года не проводила попыток зачатия.

Клиническая характеристика пациенток, включенных в первый этап исследования (Таблица 4.2).

Таблица 4.2 - Клиническая характеристика пациенток с различным генезом бесплодия

Параметр	Пациентки с НГЭ ($n = 77$)	Пациентки с ТПБ ($n = 66$)	Пациентки с СПКЯ ($n = 36$)
Средний возраст, лет	$31,2 \pm 2,9$	$32,7 \pm 4,2$	$29,1 \pm 3,9$
Первичное бесплодие, n (%)	60 (77,9%)	28 (42,4%)	32 (88,9%)
Роды в анамнезе, n (%)	6 (7,8%)	17 (25,8%)	2 (5,6%)
Гинекологические заболевания, n (%):			
сальпингоофорит	24 (31,2%)	37 (56,1%)	0 (0%)
ГПЭ	13 (16,9%)	9 (13,6%)	3 (8,3%)
патология шейки	7 (9,1%)	8 (12,1%)	5 (13,9%)
отсутствие заболеваний	27 (35,1%)	11 (16,7%)	25 (69,4%)
Наступление беременности, n (%)	34 (44,1%)	26 (37,8%)	26 (72,2%)
из них при применении ВРТ	24 (31,6%)	17 (25,7%)	16 (44,4%)

Примечание: ГПЭ-гиперпластические процессы эндометрия

Средний возраст пациенток с НГЭ ($n=77$) составил $31,2 \pm 2,9$ года, из них первичное бесплодие было диагностировано у 60 обследованных, вторичное бесплодие — у 17.

При анализе акушерского анамнеза было установлено, что среди пациенток, страдающих эндометриоз-ассоциированным бесплодием у 60 пациенток беременность в анамнезе отсутствовала, у 7 наблюдаемых отмечены роды через естественные родовые пути, либо путем операции кесарева сечения, у 12 пациенток

были аборт в анамнезе (у 8 – искусственный аборт и у 4 – самопроизвольный). При сборе гинекологического анамнеза было установлено, что как минимум однократно у 24 пациенток группы НГЭ врачом женской консультации устанавливался диагноз обострение хронического сальпингоофорита, основанием для диагностирования данного патологического состояния являлись жалобы на хронические тазовые боли. Второе место по частоте встречаемости занимали гиперпластические процессы эндометрия (полип и гиперплазия), которые выявлялись у 13 пациенток. Фоновые заболевания шейки матки были отмечены в анамнезе 7 пациенток с НГЭ. У оставшихся 27 пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием гинекологический анамнез не был отягощен. Во время проведения лапароскопии распространенность эндометриоза, оцененная по классификации американского общества фертильности (1996г.) соответствовала I–II стадии у 59 пациенток, III–IV стадии – у 18. Во время оперативного вмешательства всем пациенткам была произведена деструкция эндометриоидных гетеротопий (биполярная коагуляция и/или иссечение). У 24 пациенток операция была дополнена вылущиванием одно- или двусторонних эндометриоидных кист различных размеров.

Средний возраст пациенток с ТПБ ($n=66$) составил $32,7 \pm 4,2$ года. Из них первичное бесплодие было выявлено у 28 женщин, вторичное бесплодие – у 38. Беременность в анамнезе отсутствовала у 28 пациенток с ТПБ. Из 38 пациенток, имевших в анамнезе беременность: самопроизвольные или оперативные роды были отмечены у 17 пациенток, внематочная беременность была у 11 пациенток (всем пациенткам была произведена односторонняя тубэктомия), искусственный аборт по желанию пациентки был произведен в 6 наблюдениях, самопроизвольное прерывание беременности было у 4 обследованных. У 37 пациенток группы ТПБ гинекологический анамнез был отягощен перенесенным острым воспалением придатков, причиной которой была урогенитальная инфекция, у 9 пациенток производились гистероскопии с отдельным диагностическим выскабливанием по поводу гиперпластических процессов эндометрия, у 8 пациенток была выявлена патология шейки матки. Отсутствие указаний на перенесенные гинекологические заболевания в анамнезе была выявлено у 11 пациенток. Во время лапароскопии у

21 пациентки с ТПБ был выявлен спаечный процесс I–II степени, у 17 пациенток распространенность спаечного процесса определялась как III–IV степень. Объем операции у всех пациенток с ТПБ определялся индивидуально в зависимости от возраста пациенток, перенесенных ранее оперативных вмешательств, состояния маточных труб и распространенности спаечного процесса. Целью оперативного вмешательства в этой группе пациенток было восстановление нормальной анатомии органов малого таза и восстановление проходимости маточных труб. Для этого на 1 этапе проводился адгезиолизис и сальпингоовариолизис, на 2 этапе - пластика фимбриального отдела маточной трубы (при наличии межфимбриальных спаек и сохранении частичной проходимости ампулярного отдела маточной трубы) или сальпингонеостомия (при запаянном фимбриальном отделе маточной трубы). При невозможности проведения реконструктивной операции была произведена односторонняя или двусторонняя тубэктомия. В связи с вышеизложенным подходом оперативное вмешательство в объеме сальпингоовариолизиса было выполнено у 18 пациенток, сальпингостомия была произведена у 12 обследованных. Односторонняя тубэктомия с сохранением контрлатеральной трубы выполнялась 18 пациенткам, в 33 наблюдениях была двусторонняя тубэктомия или удаление единственной маточной трубы, что привело к формированию абсолютного трубного бесплодия. Этим пациенткам было рекомендовано проведение ЭКО и в оценке эффективности хирургического лечения бесплодия они не учитывались.

Диагноз СПКЯ был установлен у 36 пациенток, на основании наличия двух из трех роттердамских критериев. Средний возраст пациенток с СПКЯ ($n=36$) составил $29,1 \pm 3,9$ года. У подавляющего числа пациенток в группе с СПКЯ было диагностировано первичное бесплодие - 32 пациентки и только у 4 — вторичное. Из 4 пациенток с вторичным бесплодием у 2 пациенток в анамнезе были отмечены роды через естественные родовые пути, у 1 обследованной был самопроизвольный аборт и еще у 1 пациентки — искусственный аборт. Из гинекологических заболеваний среди обследованных с бесплодием, обусловленным СПКЯ, у 5 пациенток были выявлены фоновые процессы в шейке матки, гиперпластический процесс эндометрия у 3. Гинекологический анамнез у остальных 25 пациенток

этой группы не был отягощен. В ходе лапароскопии у пациенток СПКЯ монополярным игольчатым электродом выполнялась каутеризация, дреллинг или декортикация яичников. Каутеризация яичников была произведена в 25 наблюдениях, дреллинг яичников в 9, декортикация яичников - у 2 пациенток.

4.3. Эффективность хирургического лечения эндометриоз-ассоциированного бесплодия

Основным критерием оценки эффективности оперативного лечения пациенток, включенных *в первый этап исследования* ($n=179$), служило наступление беременности. Дополнительно учитывались данные анамнеза, состояние овариального резерва яичников, степень выраженности заболевания, выявленная при лапароскопии сопутствующая патология, наступление беременности без применения ВРТ.

При анализе эффективности хирургического лечения в зависимости от наличия беременностей в анамнезе было установлено, что частота наступления беременности у пациенток с первичным и вторичным бесплодием различалась незначительно (Рисунок 4.1).

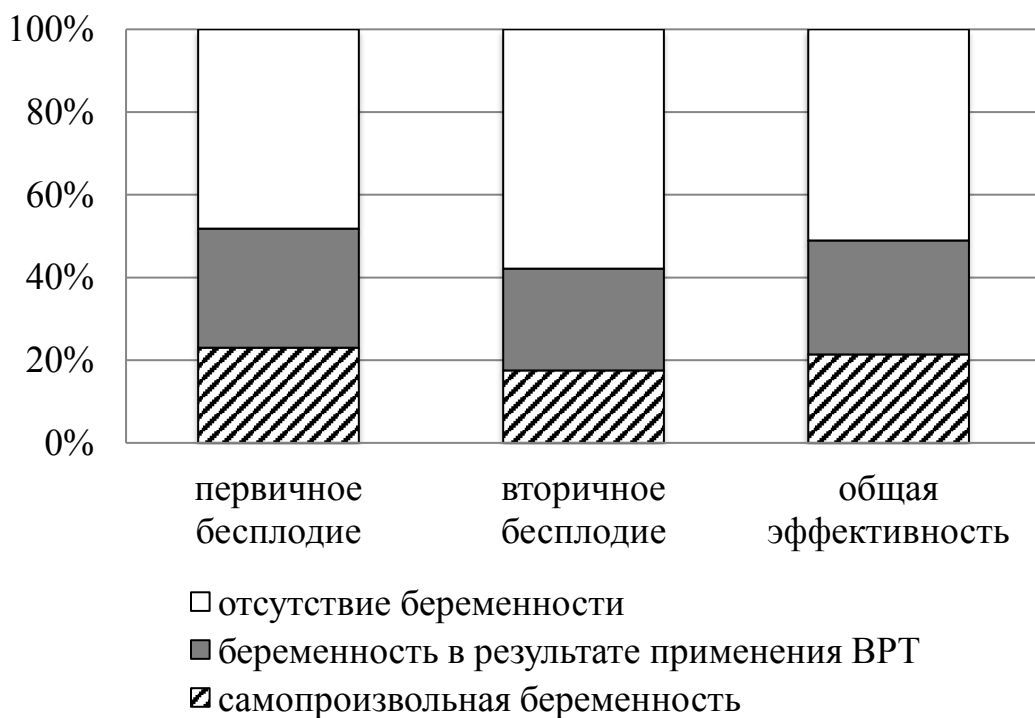


Рисунок 4.1 - Верифицированные причины первичного и вторичного бесплодия

Беременность наступила самопроизвольно у 23,0% пациенток с первичным бесплодием, в результате применения ВРТ у 28,8%, лечение оказалось неэффективным у 48,2% пациенток. С вторичным бесплодием в анамнезе самопроизвольное наступление беременности было выявлено у 17,5%, в результате применения ВРТ — у 24,6%, отсутствие беременности — у 57,9% пациенток.

Анализ эффективности оперативного лечения в зависимости от генеза бесплодия выявил следующие закономерности: частота наступления беременности составила у пациенток с НГЭ 43,1% (из них самопроизвольное наступление у 30,6%), при ТПБ – 36,8% (из них самопроизвольно у 26,3%), при СПКЯ – 73,5% (из них самопроизвольно у 44,1%) (Рисунок 4.2).

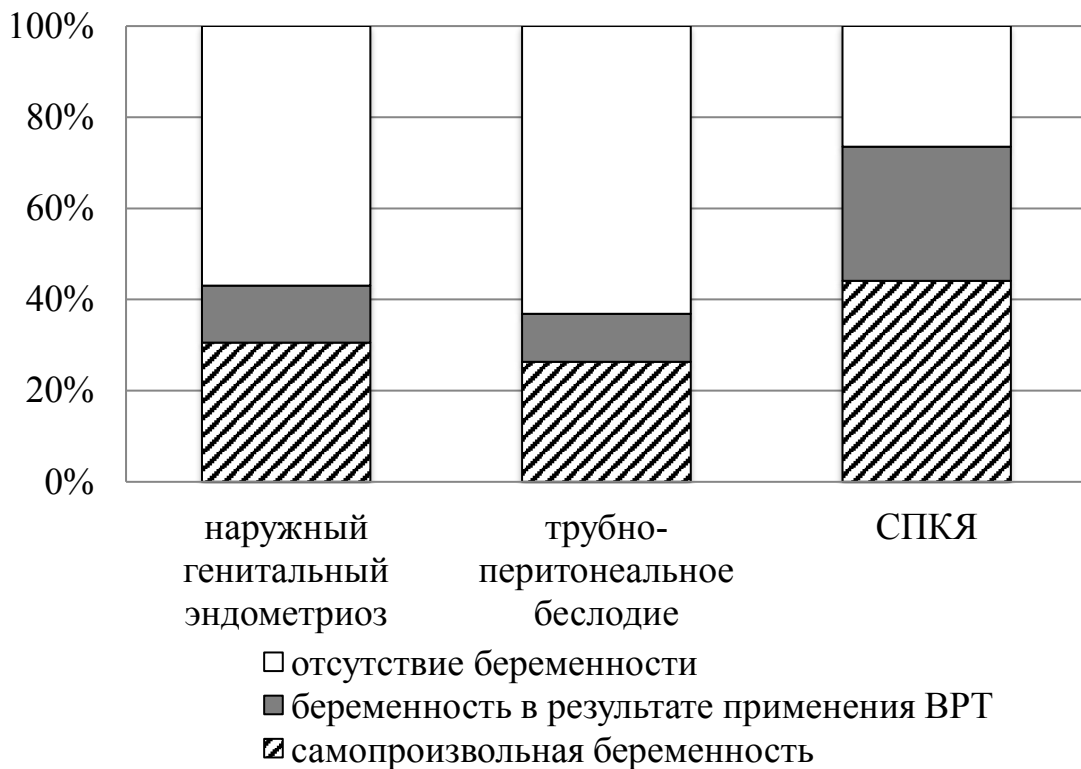


Рисунок 4.2 - Исходы оперативного вмешательства, в зависимости от генеза бесплодия

Эффективность хирургического лечения пациенток с НГЭ представлена на Рисунок 4.3.

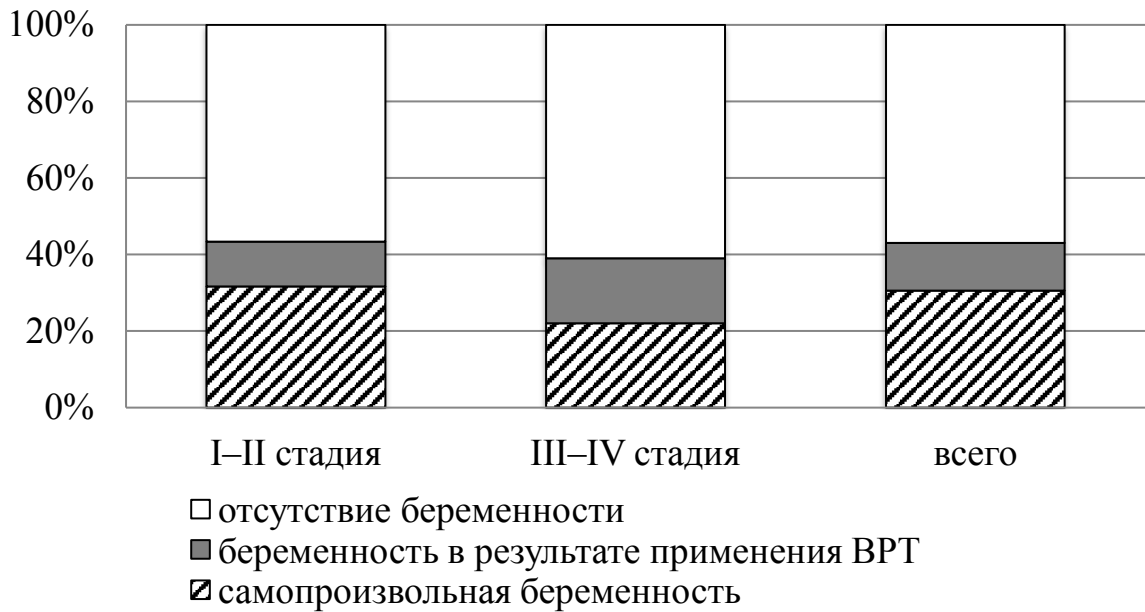


Рисунок 4.3 - Эффективность оперативного лечения наружного генитального эндометриоза, в зависимости от степени распространенности

У пациенток с НГЭ I–II степени частота наступления беременности после лапароскопии составила 43,4%. Беременность наступила самопроизвольно у 31,7% пациентки и в результате применения ВРТ — у 11,7% пациенток. При III–IV степени распространенности эндометриоза эффективность лечения бесплодия составила 39,0%, из которых собственно на хирургическую эффективность приходится 22,0% (самопроизвольное наступление беременности) и 17,0% — на беременность, наступившую после применения ВРТ. Об увеличении частоты наступления беременности с 4,7% до 30,7% после хирургического лечения малых форм эндометриоза сообщается и в обзоре Tanbo T. et al. [356]. При умеренном /тяжелом эндометриозе целью операции является восстановление нормальной анатомии таза и вылушивание крупных эндометриоидных кист. В исследовании Darai et al. сообщается о сходной с нашими данными частоте наступления беременности у женщин с бесплодием, связанным с распространенным эндометриозом после хирургического лечения: 26,5% - спонтанных беременностей и 27,4% - после применения ВРТ [172]. По данным Дубинской Е.Д и др. частота наступления беременности в течение года после операции варьирует от 25% до 60% в зависимости от параметров овариального резерва и локализации эндометриоидной кисты [33].

В нашем исследовании была выявлена сходная частота наступления беременности при различной степени выраженности НГЭ. Мы предполагаем, что эффективность лечения НГЭ во многом зависит от адекватности проведенного хирургического этапа лечения и послеоперационного ведения пациенток. Причины бесплодия при НГЭ многогранны. Известно, что при эндометриозе нарушается нормальное взаиморасположение тазовых органов вследствие чего затрудняется выход яйцеклетки при овуляции, а также возникает механическое препятствие продвижения яйцеклетки и эмбриона по маточным трубам [325, 356]. Часто спайочный процесс в малом тазу, развившийся вследствие НГЭ, а также болевой синдром, связанный с активацией накануне и во время менструации имплантов эктопического эндометрия, приписывается обострению хронического аднексита. Очевидна недооценка наружного генитального эндометриоза как основной причины бесплодия у пациенток без отягощенного акушерского анамнеза, о чем подробно было рассмотрено в соответствующем разделе. У 52% пациенток с указанием на наличие хронических воспалительных заболеваний органов малого таза (ВЗОМТ) во время лапароскопии признаков ранее перенесенной ИППП обнаружено не было. Эти данные свидетельствуют о гипердиагностики ТПБ и ВЗОМТ, когда хроническая тазовая боль рассматривается как проявление «воспаления придатков», хотя при детальном опросе пациенток выясняются характерные для эндометриоза особенности болевого синдрома. Известно, что даже малые формы эндометриоза, когда значительных патологических изменений не выявляется, могут приводить к бесплодию. Важное значение в развитии эндометриоз-ассоциированного бесплодия имеет изменение локального редокс-статуса в перитонеальной жидкости, о чем подробно было изложено в предыдущей главе диссертации.

Другой причиной бесплодия при НГЭ является снижение овариального резерва на фоне эндометриоидных кист: показано, что женщины с эндометриомами имеют более низкий базовый уровень АМГ по сравнению с женщинами без кист [287]. Повреждение ткани яичника, прилежащей к эндометриоидной кисте, происходит за счет свободно-радикальных процессов в эндометриоме, которые нами были рассмотрены в соответствующей главе. Наибольшее снижение овариально-

го резерва происходит в старшем репродуктивном возрасте, при двусторонней цистэктомии, а также при повторных операциях [164]. Кроме того, в области эндометриoidных эктопий происходят воспалительные и аутоиммунные реакции. Аналогичные процессы происходят и в нормально расположенной ткани эндометрия, что приводит к нарушению процессов имплантации [144]. Более подробно причины, определяющие эффективность хирургического лечения НГЭ будут изложены в главе 4 диссертации.

У пациенток с ТПБ общая эффективность хирургического лечения бесплодия составила 36,8%, беременность наступила в естественном цикле у 26,3%, с помощью ВРТ — у 10,5%. Сходные данные указываются и в мета-анализе Chu J. et al.: частота клинической самопроизвольной беременности через 12 месяцев после проведения сальпинготомии составила 21,2% [162].

В группе пациенток с ТПБ частота вторичного бесплодия была достоверно выше по сравнению с пациентками с НГЭ (57,6% против 22,1%, $\chi^2 = 18,9$, $p < 0,001$). При этом у пациенток с ТПБ несколько больше доля искусственных абортов, чем у пациенток с НГЭ (соответственно 9% и 5%). По литературным данным неосложненный искусственный аборт сам по себе не ассоциирован с развитием бесплодия [193]. Тем не менее, после аборта возможна активация хронического процесса, что может привести к формированию спаечного процесса, также кюретаж сопровождается морфо-функциональными изменениями в эндометрии: лимфоидно-плазмноклеточной инфильтрацией стромы с примесью сегментоядерных нейтрофильных гранулоцитов, фибробластической трансформацией клеток стромы, очаговым фиброзом стромы и склеротическими изменениями стенок спиральных артерий [94]. Роды в анамнезе имели 25,8% пациенток со вторичным бесплодием трубного происхождения, что достоверно выше, чем при эндометриоз-ассоциированном вторичном бесплодии (7,8%, $\chi^2 = 8,5$ $p = 0,004$). Кроме того, 10 из 17 пациенток с родами в анамнезе были родоразрешены путем операции кесарева сечения, что, по-видимому, в последующем привело к формированию спаечного процесса и трубно-перитонеального бесплодия. Известно, что помимо ИППП, образование спаек в малом тазу может быть вызвано также и предше-

ствующими операциями, в особенности — лапаротомным доступом, в том числе и оперативным родоразрешением путем кесарева сечения. По разным данным, частота послеоперационного спаечного процесса варьирует до 80% [174, 216, 227].

При анализе эффективности хирургического лечения ТПБ в зависимости от распространённости спаечного процесса было установлено, при спаечном процессе I-II степени у 38,1% пациенток беременность наступила самопроизвольно, у 4,8% — в результате применения ВРТ (общая эффективность составила 43%). При спаечном процессе III-IV степени самопроизвольно беременность наступила у 11,8%, в результате ВРТ у 17,6% (общая частота наступления беременности составила 29,4%). Сравнение частоты самопроизвольного наступления беременности у пациенток при спаечном процессе I-II и III-IV степени выявило, что при менее выраженном спаечном процессе эффективность хирургического лечения оказалась достоверно выше, чем при распространенных и грубых спайках (38,1% и 11,8% соответственно, $\chi^2 = 4,04$, $p = 0,04$) (Рисунок 4.4).

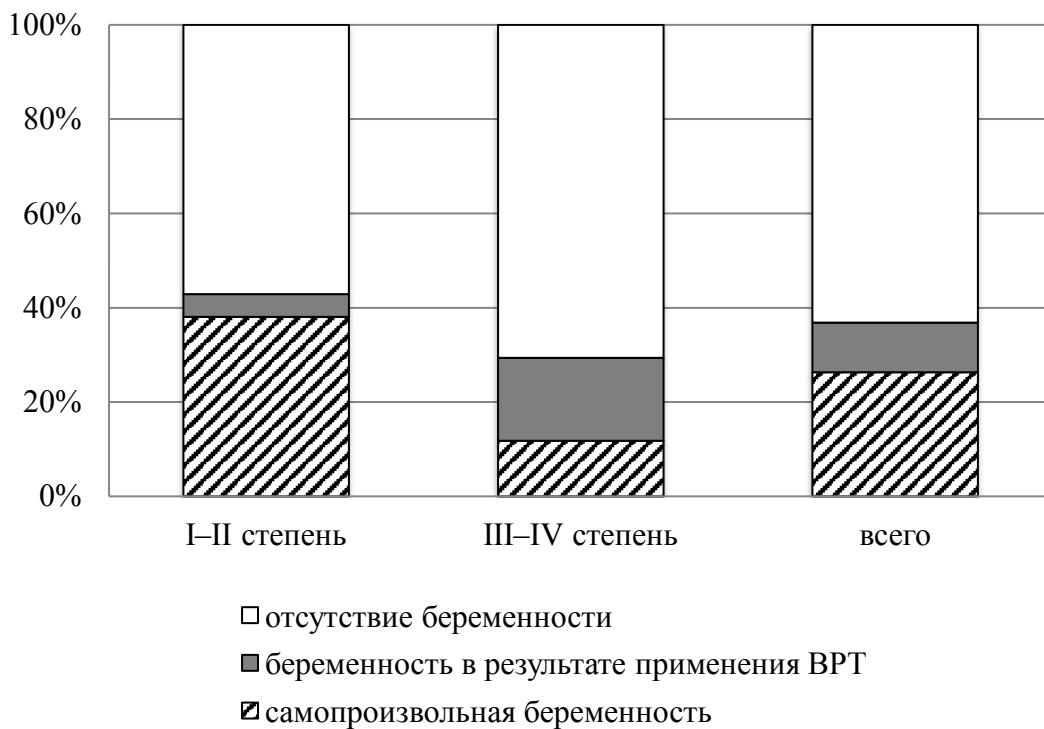


Рисунок 4.4 - Эффективность лечения трубно-перитонеального бесплодия, в зависимости от степени выраженности спаечного процесса

Механизмы, лежащие в основе патогенеза спаечного процесса, не совсем ясны и связаны с множеством факторов. Повреждение брюшины в результате

травмы, инфекции, ишемии сопровождается развитием воспалительной реакции, начинающейся с высвобождения вазоактивных веществ из разрушенных тучных клеток стромы (гистамин и кинины), которые повышают проницаемость сосудов. Из фибринозного экссудата вследствие активации коагуляции образуются отложения фибрина на раневой поверхности, которые в норме подвергаются резорбции. В очаг повреждения мигрируют полиморфноядерные лейкоциты, макрофаги, фибробласты, мезотелиальные клетки, которые пролифирируют и дифференцируются. Всеми этими клетками продуцируются различные медиаторы воспалительного ответа: хемоаттрактанты, цитокины, факторы роста, компоненты системы активации плазминогена, метаболиты арахидоновой кислоты, АФК, регулирующие процесс заживления брюшины и образование спаек. Спаечный процесс большей степени обусловлен более выраженным и длительно текущим воспалительным процессом в сочетании с наследственной предрасположенностью, в результате чего снижается способность к восстановлению фертильности в результате лечения. Кроме того, хирургическое лечение бесплодия со спаечным процессом более высокой степени требует более агрессивной хирургической тактики и, соответственно, имеет менее благоприятный прогноз [162, 163, 295, 387].

При подробном анализе результатов с учетом объема операции, было выявлено, что у пациенток, которым был выполнен только сальпингооовариолизис, общая эффективность лапароскопического лечения составила 44,5% (у 38,9% — беременность наступила самопроизвольно, и 5,6% — после применения ВРТ). После сальпингостомии беременность наступила самопроизвольно только у 8,3% пациенток, после применения ВРТ у 16,7% (общая частота наступления беременности составила 25,0%) (Рисунок 4.5).

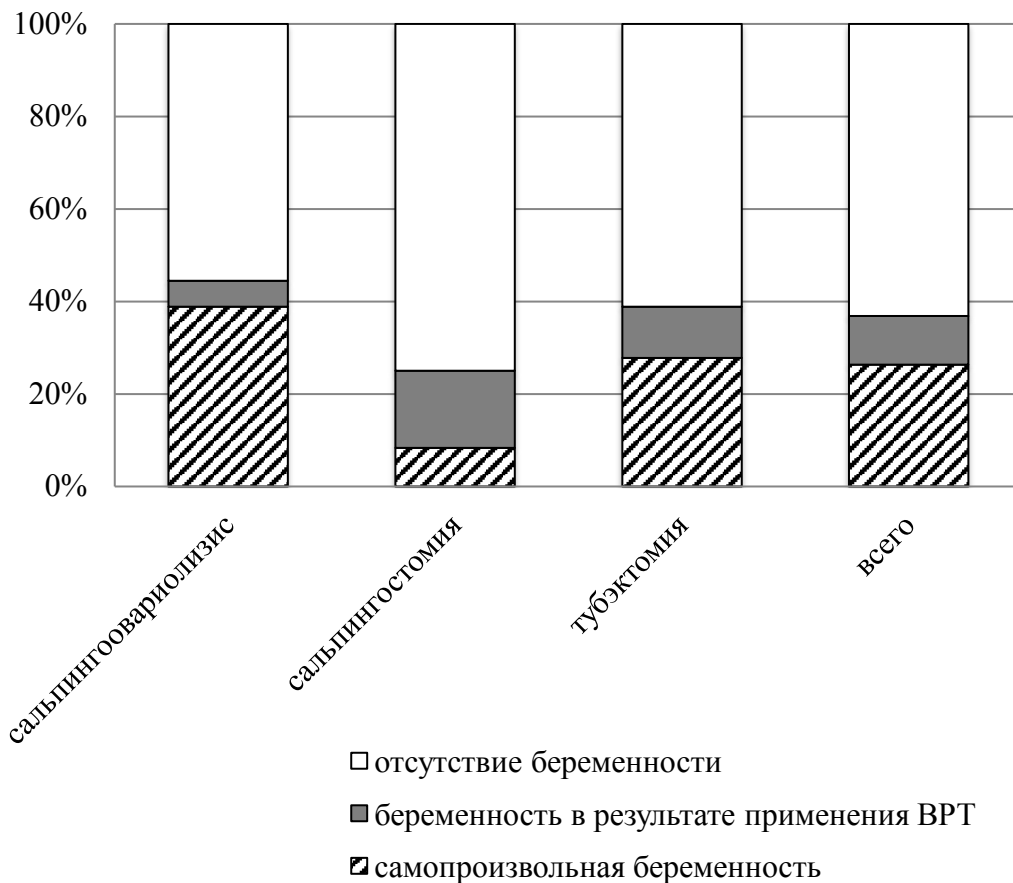


Рисунок 4.5 - Эффективность хирургического лечения ТПБ в зависимости от объема оперативного вмешательства

Среди пациенток, которым была выполнено одностороннее удаление маточной трубы (при условии сохранности и проходимости контрлатеральной маточной трубы), эффективность лапароскопии составила 38,9%. Сравнение сальпингоовариолизиса и сальпингостомии показало, что после сальпингоовариолизиса достоверно чаще наблюдается самопроизвольное наступление беременности, чем после сальпингостомии (38,9% и 8,3% соответственно, $\varphi^*_{\text{эмп}} = 2,36$, $p < 0,05$), что не противоречит литературным данным [295]. Это объясняется исходно меньшей выраженностью повреждения маточной трубы и, следовательно, большей ее функциональностью после проведения сальпингоовариолизиса и восстановления проходимости маточной трубы без выполнения сальпингостомии.

У пациенток с ТПБ выполнялась двусторонняя тубэктомия при невозможности восстановления проходимости маточных труб. Частота наступления беременности после ЭКО у этих пациенток была в полтора раза выше, чем в среднем по ЦПСИР за этот же период (42,5% и 27,8% соответственно). В настоящее время

многочисленные исследования показали, что удаление или окклюзия маточных труб, улучшает результаты ЭКО пациенток с гидросальпинксами, что объясняется элиминацией очага хронической инфекции, поддерживающей воспалительную реакцию в малом тазу и в полости матки и препятствующей имплантации [295, 376].

Частота наступления беременности у пациенток с бесплодием, обусловленным СПКЯ, составила 73,5%: из них у 44,1% — самостоятельно наступившая беременность и у 29,4% — беременность, наступившая после применения ВРТ. Эффективность хирургического лечения бесплодия, обусловленного СПКЯ, оказалась значительно выше, в сравнении с НГЭ ($\chi^2=5,705$, $p<0,05$) и ТПБ ($\chi^2=6,813$, $p<0,05$). Это можно объяснить тем, что бесплодие при СПКЯ чаще всего обусловлено только хронической ановуляцией в отличие от НГЭ, механизмы развития бесплодия связаны с различными факторами, такими как окислительный стресс, нарушения транспортной функции маточных труб, повреждение овариального резерва и снижение имплантационных способностей эндометрия [167]. В настоящее время считается, что хирургическое лечение СПКЯ может быть использовано в качестве терапии второй линии для индукции овуляции при хронической ановуляции у пациенток с кломифен-резистентными яичниками и при сочетанных формах бесплодия [167]. Оперативное лечение СПКЯ позволяет восстановить овуляцию у пациенток, и в отсутствии других органических препятствий для наступления беременности у этих пациенток была выявлена высокая эффективность хирургического лечения.

При сравнении различных хирургических подходов в лечении СПКЯ было выявлено, что после каутеризации яичников общая эффективность лечения составила 72,0%, из которых самостоятельно беременность наступила в 48,0% и в результате применения ВРТ — в 24,0%. При дреллинге общая эффективность составила 77,7%, из которых 44,4% — самопроизвольно, 33,3% — в результате применения ВРТ (Рисунок 4.6).

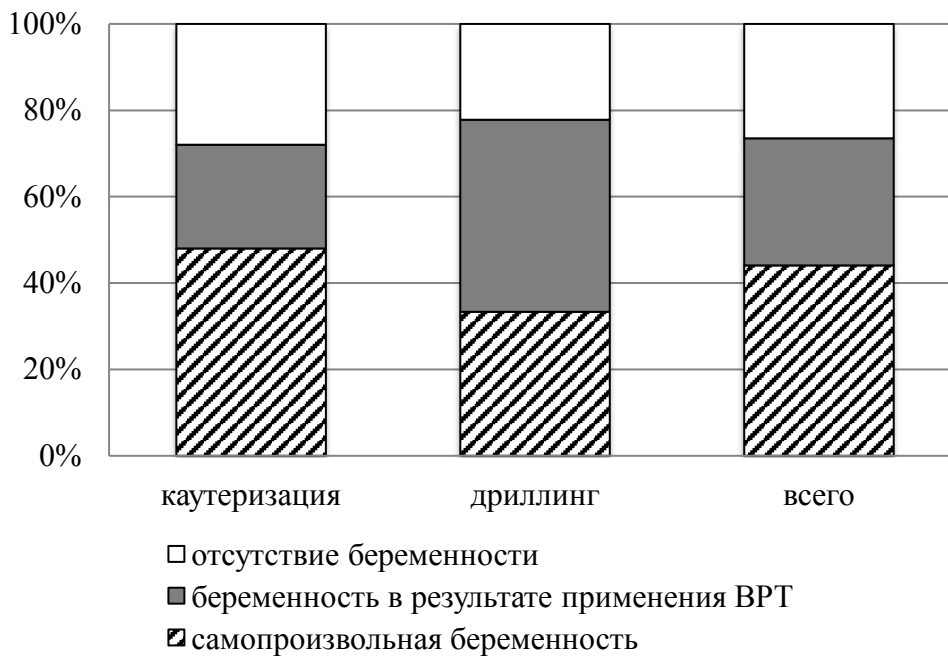


Рисунок 4.6 - Эффективность оперативного вмешательства при СПКЯ, в зависимости от объема оперативного вмешательства

При сравнении эффективности каутеризации и дриллинга яичников с целью восстановления овуляции были получены сопоставимые результаты. При каутеризации яичников имеется сочетание эффектов «декортикации» и «демедулляции», что в совокупности приводит к большей степени нормализации гормонального статуса пациентки. Тогда как дриллинг обеспечивает только временное снижение синтеза эстрогенов вследствие деструкции части мелких фолликулярных кист. В связи с этим дриллинг яичников выполняется в качестве профилактики синдрома гиперстимуляции яичников, а не с целью восстановления естественной фертильности [108].

Таким образом, наибольшая частота наступления беременности была у пациенток с СПКЯ (73,5%), у пациенток с НГЭ она составила 43,1%, при ТПБ – 36,8%.

4.4. Системный и локальный антиоксидантный профиль и наступление беременности

На следующем этапе было сопоставлена эффективность хирургического лечения бесплодия и исходных показателей антиоксидантной активности в плазме

крови и перитонеальной жидкости. Значения показателей свободно-радикального гомеостаза приведены в разделе 2.3. диссертации. Из 53 пациенток, включенных в этот этап исследования, беременность наступила у 28 (52,8%), из них у 8 после применения ВРТ.

Нами были использованы референтные значения антиоксидантной активности плазмы крови, установленные Е.В. Проскурниной: для $S_{\text{ПЛАЗМА}} = 195-405 \times 10^3$ имп/с, для $\Delta I_{\text{ПЛАЗМА}} = 1,5-2,2 \times 10^3$ имп/с [73]. Оказалось, что в нашем исследовании не было пациенток с уровнем $S_{\text{ПЛАЗМА}}$ менее 195×10^3 имп/с, то есть ни у одной пациентки мы не наблюдали дефицита антиоксидантной защиты, обусловленной мочевой кислотой. У 23 пациенток мы, напротив, наблюдали антиоксидантную избыточность. Частота наступления беременности была несколько выше ($\chi^2=2,9$, $p=0,02$) у пациенток с исходной антиоксидантной избыточностью (76,9%) по сравнению с нормальным уровнем антиоксидантной защиты (40,0%). По показателю $\Delta I_{\text{ПЛАЗМА}}$, характеризующему антиоксидантную активность альбумина, а именно доступность для окисления его тиоловой группы, оказалось, что окислительный стресс наблюдался у 29 из 53 пациенток, а антиоксидантная избыточность у 17 обследованных. При сопоставлении исходного уровня антиоксидантной активности альбумина и частоты наступления беременности были выявлены достоверные различия ($\chi^2=10,9$, $p=0,02$). Причем наибольший процент наступления беременности наблюдался при антиоксидантной избыточности – 57,1%. У пациенток с исходным окислительным стрессом беременность наступила в 69,4% наблюдений. При нормальных значениях $\Delta I_{\text{ПЛАЗМА}}$, напротив, частота наступления беременности была наименьшей и составила – 20,0% (Рисунок 4.7).

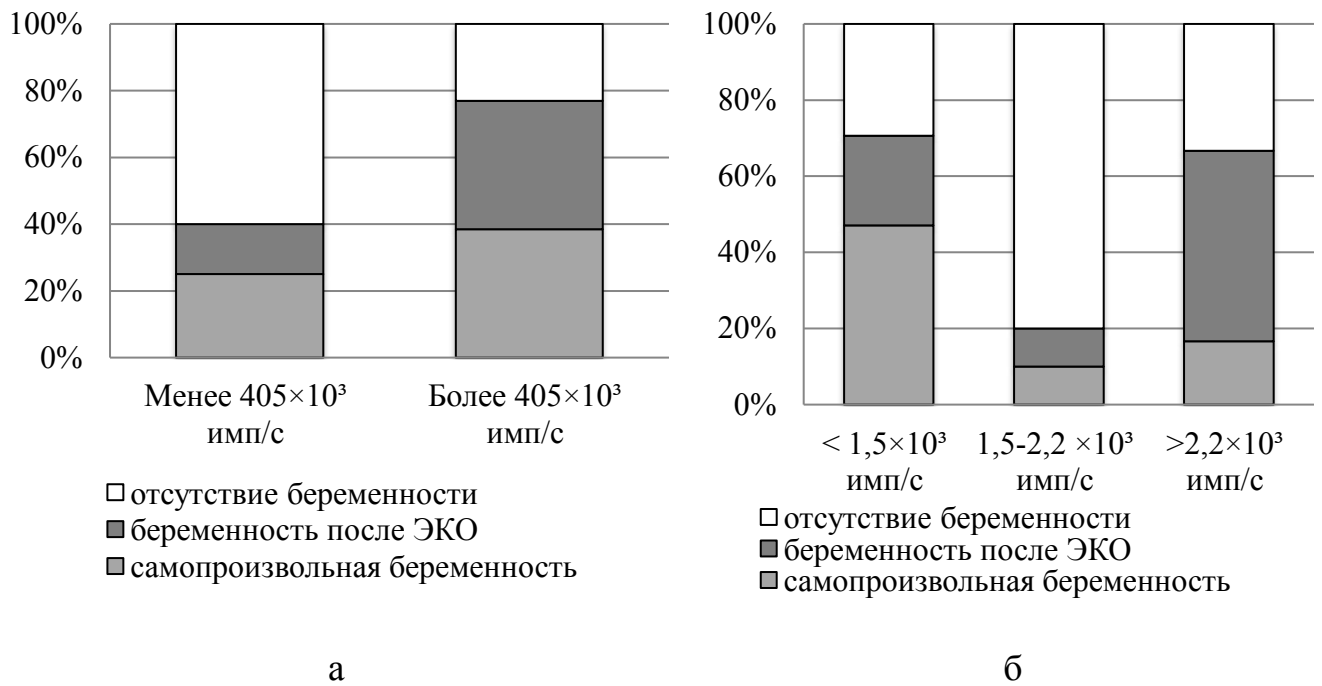


Рисунок 4.7. Частота наступления беременности в зависимости от антиоксидантной активности плазмы: показатели показателей $S_{\text{ПЛАЗМА}}$ (а) и $\Delta I_{\text{ПЛАЗМА}}$ (б).

В перитонеальной жидкости ранее не были определены референтные значения, но при индивидуальном анализе кривых плазмы крови и перитонеальной жидкости было рассчитано, что показатель $S_{\text{ПЖ}}$ в перитонеальной жидкости несколько выше, чем в плазме крови, то есть для $S_{\text{ПЖ}} = 240-450 \times 10^3$ имп/с. Напротив, значение $\Delta I_{\text{ПЖ}}$ несколько ниже, чем в плазме крови, что связано с меньшими концентрациями альбумина в перитонеальной жидкости, чем в плазме крови. Референтные значения для перитонеальной жидкости были определены в следующем интервале: $\Delta I_{\text{ПЛАЗМА}} = 1,0-1,5 \times 10^3$ имп/с.

Анализ хемилюминограмм показал, что у всех пациенток показатель $S_{\text{ПЖ}}$ превышал 240×10^3 имп/с. При избытке сильных антиоксидантов в перитонеальной жидкости ($S_{\text{ПЖ}}$ более 450×10^3 имп/с), также как и в плазме крови, беременность наступала чаще, чем при нормальном значении $S_{\text{ПЖ}}$ (76,9% против 40,0%). Количество забеременевших пациенток было выше и при увеличенной антиоксидантной активности альбумина – 66,7%. При оксидативном стрессе по белковому показателю частота наступления беременности тоже была высокой и составила 69,2%. При «нормальном» исходном уровне показателя $\Delta I_{\text{ПЖ}}$, напротив, беремен-

ность наступила у наименьшего количества пациенток - у 12,5% (Рисунок 4.8 и Рисунок 4.9).

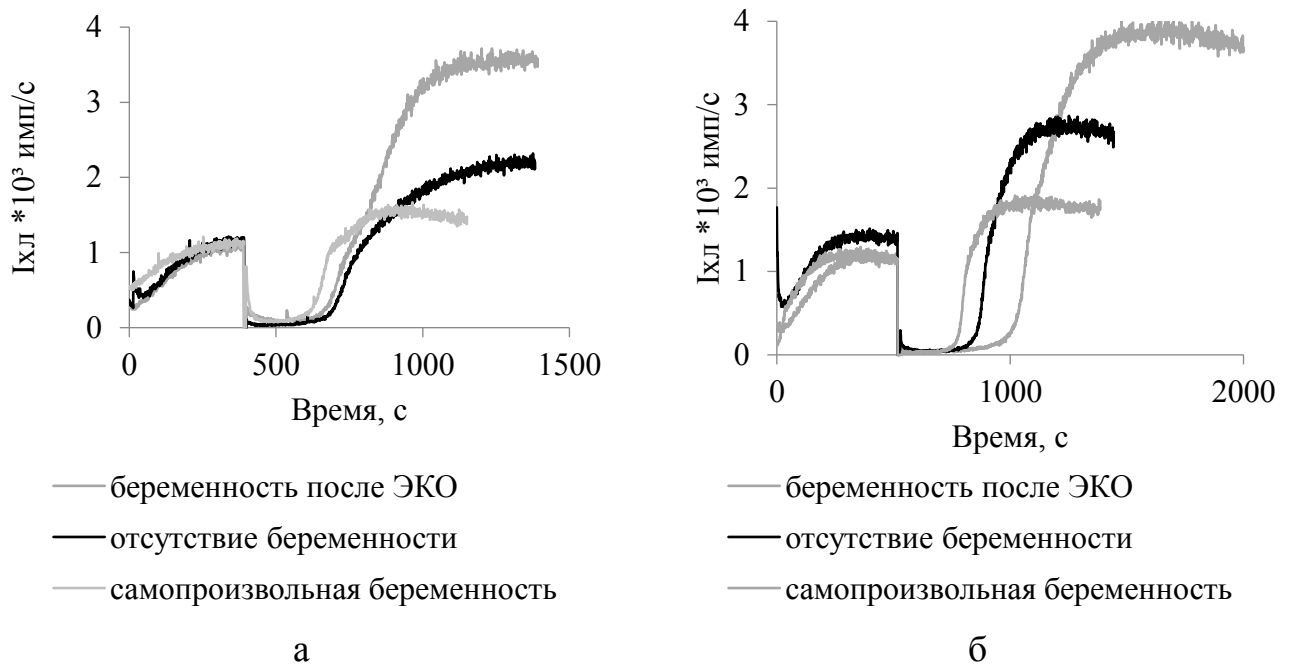


Рисунок 4.8 - Хемилуминограммы плазмы крови (а) и перитонеальной жидкости (б) пациенток с наступлением и отсутствием наступления беременности

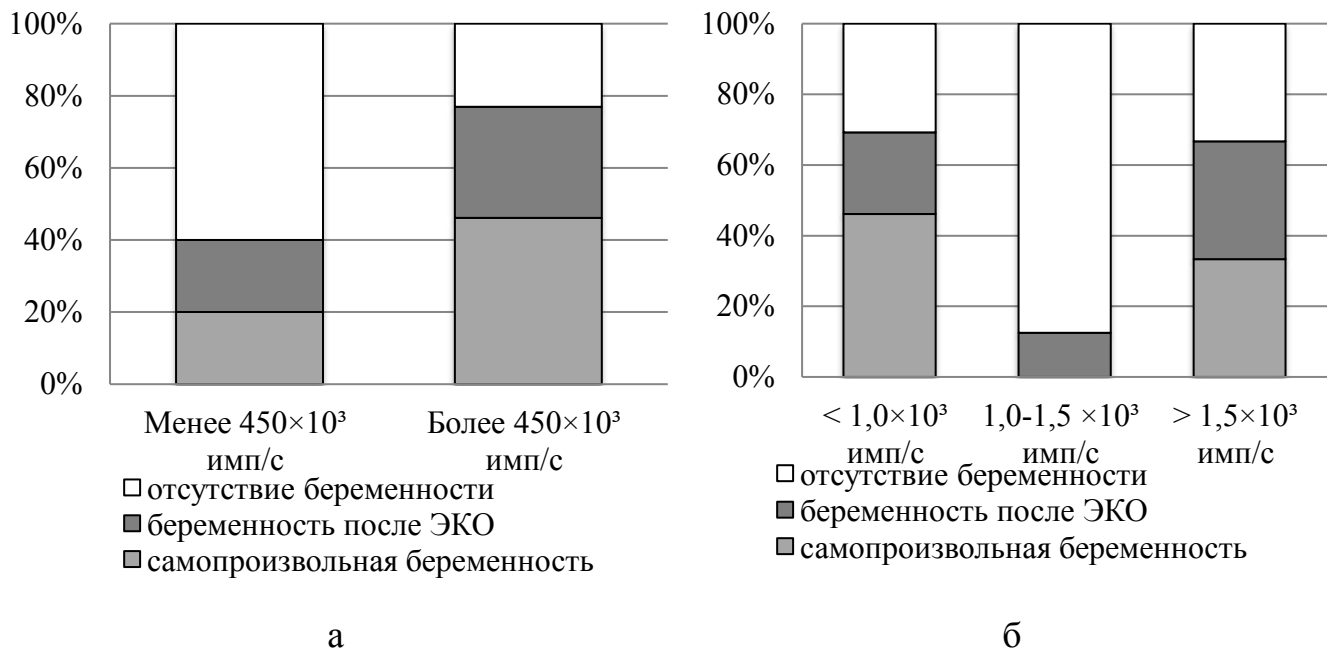


Рисунок 4.9 - Частота наступления беременности в зависимости от антиоксидантной активности перитонеальной жидкости: показатели $S_{\text{ПЖ}}$ (а) и $\Delta I_{\text{ПЖ}}$ (б).

Различия между группами по уровню $\Delta I_{\text{ПЖ}}$, согласно критерию χ^2 , были достоверными ($p=0,05$).

Полученные данные сложно интерпретировать, так как в литературе отсутствуют исследования о возможности прогнозирования наступления беременности по показателям антиоксидантного профиля. Имеются лишь единичные работы, описывающие предсказательную способность показателей окислительного стресса в плазме крови для наступления индуцированной беременности. В нашем исследовании показатели системного и локального окислительного стресса измерялись до оперативного лечения. Логично предположить, что элиминация эндометриoidных очагов привела к восстановлению свободно-радикального гомеостаза и наступлению беременности. При исходно неизмененном балансе про- и антиоксидантов хирургическое лечение оказалось неэффективным. Мы считаем полученные данные уникальными, так как они показывают, что наступлению беременности препятствует как недостаток, так и избыток антиоксидантов. Как уже описывалось ранее избыточная активация антиоксидантной защиты организма носит компенсаторный характер на продукцию прооксидантов и более выражена при тяжелом эндометриозе. Во время лапароскопии проводится деструкция эндометриoidных очагов на париетальной брюшине, на яичниках, что способствует уменьшению циклической активности эктопического эндометрия и снижению содержания АФК в перитонеальной жидкости, основным источником которых по реакции Фентона является гем. Следовательно, можно предположить, что после операции происходит снижение антиоксидантной активности, «порочный круг» свободно-радикальных процессов, описанный в главе 2 диссертации, разрывается, и это способствует наступлению беременности. Эти результаты согласуются и с полученными ранее клиническими данными: частота беременности у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием не зависела от степени распространенности: при тщательной элиминации всех эндометриoidных гетеротопий частота наступления беременности была сопоставимой при I-II и III-IV стадиях эндометриоза. Несмотря на то, что нами не было выявлено значимости системных изменений в показателях антиоксидантной активности при бесплодии различного генеза, а также при НГЭ I-II и III-IV стадий, оказалось, что как оксидативный, так и антиоксидантный стресс могут приводить к формированию бесплодия. При

этом у пациенток, у которых беременность не наступила, и исходно показатели антиоксидантной активности были в пределах референтных значений, то есть для наступления беременности при эндометриоз-ассоциированном бесплодии важно достижение свободно-радикального гомеостаза как на локальном, так и на системном уровнях.

Таким образом, наибольшую эффективность хирургическое лечение показало у пациенток с бесплодием, обусловленным СПКЯ. У пациенток при ТПБ, причиной которого служил спаечный процесс I-II степени, частота наступления беременности достоверно выше после сальпингоовариолизиса по сравнению с сальпингостомией. При III-IV степени спаечного процесса достижение беременности гораздо вероятнее после применения ВРТ. Частота наступления беременности у пациенток с НГЭ при адекватно проведенном хирургическом лечении и правильном ведении в послеоперационном периоде не зависит от степени распространенности патологического процесса. Анализ показателей свободно-радикального гомеостаза в плазме крови и перитонеальной жидкости показал, что наступлению беременности препятствует как недостаток, так и избыток антиоксидантов. Однако в данной главе предикторы наступления самопроизвольной беременности у пациенток с эндометриозом отдельно не рассматривались. У пациенток с тяжелым НГЭ лапароскопия являлась только подготовительным этапом к проведению ВРТ. Удаление эндометриоидных кист у этих пациенток и элиминация глубоких инфильтративных эндометриоидных очагов способствуют уменьшению болевого синдрома и облегчению доступа к фолликулам во время пункции. Более подробно предикторы наступления самопроизвольной беременности у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием будут рассмотрены в следующей главе диссертации.

ГЛАВА 5. ПРЕДИКТОРЫ НАСТУПЛЕНИЯ САМОПРОИЗВОЛЬНОЙ БЕРЕМЕННОСТИ ПРИ ЭНДОМЕТРИОЗ-АССОЦИИРОВАННОМ БЕСПЛОДИИ

5.1. Прогностические шкалы наступления самопроизвольной беременности у пациенток с наружным генитальным эндометриозом (обзор литературы)

В предыдущей главе была освещена роль хирургического лечения эндометриоза при бесплодии. Основной проблемой после осуществления хирургического лечения бесплодия, обусловленного НГЭ, является определение репродуктивного потенциала пациенток и *выбор соответствующей тактики в послеоперационном периоде*: подготовка женщины к самопроизвольной беременности или же направление пациентки на ЭКО. Также остается актуальным вопрос о временных рамках при выборе выжидательной тактике, а именно, на протяжении какого времени можно ожидать наступления у женщины самопроизвольной беременности, и по истечении какого срока необходимо направить пациентку на ЭКО. Существует следующий ряд показания к использованию ВРТ сразу после осуществления лечения эндометриоза: сочетание НГЭ с трубно–перитонеальным бесплодием, субфертильная сперма мужа; возраст женщины старше 35 лет [356]. В остальных случаях тактика зависит от характера эндометриоидного поражения и органа, вовлеченного в патологический процесс. Недостатками данного алгоритма ведения пациенток является то, что он не рассматривает репродуктивный потенциал каждой отдельной пациентки и не отражает качественные или количественные прогностические критерия наступления самопроизвольной беременности.

Единственной изученной классификационной системой, имеющей прогностическое значение, на данный момент является индекс фертильности при эндометриозе - Endometriosis fertility index (EFI), предложенный Adamson [112]. Данный показатель используется для прогнозирования сроков наступления беременности у больных эндометриозом после хирургического лечения, определения возможности наступления беременности в естественном цикле или необходимости

Рисунок 5.1 - Расчет индекса фертильности при эндометриозе



Согласно расчетам, самым прогностически значимым показателем является наименьшая оценка функции яичников и маточных труб (Least function score, LF). LF также положительно коррелирует с возможностью именно самопроизвольного наступления беременности: самопроизвольное наступление беременности -5.2 против беременности после ЭКО -4.5 ; $P = 0.005$. Было выявлено, что у пациенток с показателем $EFI \geq 5$ имеется большая вероятность наступления самопроизвольной беременности в течение 12 месяцев после операции, и на этот срок для таких

пациенток может быть выбрана выжидательная тактика. Среди пациенток с показателем EFI <4 спонтанная беременность в течение 4 лет после оперативного вмешательства наступила лишь у 13,6 %, следовательно, пациенткам с низким значением индекса фертильности после хирургического лечения рекомендовано проведение ВРТ. По последним опубликованным данным, в целом ряде исследований статистически подтверждена эффективность EFI в прогнозировании наступления беременности у пациенток после этапа хирургического лечения бесплодия, обусловленного НГЭ [293, 362]. Несмотря на доказанную эффективность EFI в определении репродуктивного потенциала пациенток, данный показатель не рассматривает влияние объема оперативного вмешательства, состояние овариального резерва, послеоперационной гормональной терапии, а также имплантационной способности эндометрия на прогноз самопроизвольного наступления беременности.

Классически для оценки овариального резерва в сыворотке крови измеряются уровни ФСГ, эстрадиола, ингибина В и АМГ. АМГ вырабатывается ранними антральными фолликулами и в большей степени коррелирует с числом мелких антральных фолликулов, чем уровни ФСГ, эстрадиол и даже ингибина В [187]. АМГ, по-видимому, является единственным маркером овариального резерва, экспрессируемым исключительно в половых железах [85]. В течение нормального менструального цикла наблюдаются лишь незначительные колебания концентрации АМГ в сыворотке, что согласуется с непрерывным нециклическим ростом мелких фолликулов [299]. Согласно клиническим рекомендациям 2019 года «Женское бесплодие (современные подходы к диагностике и лечению)» мало зависит от уровня ФСГ и может определяться на любой день менструального цикла [36]. Исследования *in vivo* на животных и *in vitro* показали, что АМГ оказывает ингибирующее действие на выбор первичного фолликула и снижает чувствительность фолликулов к ФСГ-зависимому отбору доминантного фолликула [306]. Ингибин В вырабатывается здоровыми растущими фолликулами. Через 3 месяца после того, как фолликулы покинули стадию покоя (начальный набор), они достигают диаметра около 2 мм и начинают вырабатывать ингибин В [188]. В

постменопаузе за счет уменьшения выхода ингибина В и эстрадиола по механизму обратной связи происходит увеличение уровня ФСГ [274]. В последовательности событий, связанных со «старением» яичников, повышение уровня ФСГ происходит одним из последних.

Широкое распространение в клинической практике для оценки овариального резерва получило УЗИ. Во время ультразвукового сканирования определяются размер и объем яичников, количество астральных фолликулов, уровень кровотока. По данным Ersahin et al. подсчет количества антральных фолликулов считается наиболее информативным исследованием при оценке резерва яичников перед предстоящим ЭКО [185]. Общепринятым критерием сниженного овариального резерва по данным УЗИ является визуализация 3-5 антральных фолликулов диаметром 3-10 мм в одной из двух плоскостей при ультразвуковом сканировании [36]. Немаловажным является проведение динамических УЗИ, позволяющих оценить динамику росту фолликулов, выявить наличие доминантного фолликула и желтое тело. Все большее распространение получило 3D ультразвуковое сканирование для оценки овариального резерва [89]. Также возрастает роль доплерометрии в оценке овариального резерва: кровотоки измеряются в яичниковой и стромальных артериях. Предложено измерение овариального кровотока не только в яичниковой, но и в стромальных артериях.

Все авторы сходятся во мнении, что оценка овариального резерва должна основываться на совокупности нескольких параметров. В нашей стране наиболее часто используются интегральный критерий, разработанный Назаренко Т.А. и Краснопольской К.В. [60]. Он основан на возрасте пациенток, длительности менструального цикла, уровне гормонов и данных УЗИ. Авторы выделяют следующие предикторы низкого овариального резерва: возраст пациентки превышающий 35 лет; длительность менструального цикла – 24–26 дней; уровень ФСГ на 2–3-й день менструального цикла – более 10 МЕ/л; число базальных фолликулов менее 10 мм в диаметре на 2–3-й день менструального цикла менее 5 в каждом яичнике; объем яичников – менее 8 см³ [60]. Согласно клиническим рекомендациям по ведению пациенток с бесплодием считается, что уровень АМГ менее 1,2 нг/мл ассо-

циирован со сниженным ответом яичников и низкой вероятностью наступления беременности [36].

При расчете EFI используется оценка функциональной способности яичника, однако пятибалльное определения степени дисфункции яичника субъективно. Известно, что наличие эндометриoidных кист могут влиять на яичниковую ткань: плотность фолликулов вокруг стенки эндометриомы значительно ниже по сравнению с корковым слоем контрлатерального непораженного эндометриозом яичника, а также в сравнении с другими доброкачественными кистами [115]. Изменения овариального резерва при эндометриодном поражении яичников выявляются по данным клинко-лабораторного обследования, а также по ответу яичников во время индукции суперовуляции. Мета-анализ Muzzi показал, что пациентки с эндометриомами имеют более низкий базовый уровень АМГ по сравнению с женщинами в отсутствии эндометриодного поражения [287]. Дубинская Е.Д. и др. в своем исследовании установили, что при размере эндометриом от 3 до 5 см показатели овариального резерва могут быть как сниженными, так и в пределах нормативных значений, а при наличии эндометриом более 5 см вероятность повреждения овариального резерва увеличивается в 3,5 раза [32]. В работе Филипповой Е.С. и др. было выявлено, что снижение овариального резерва при наличии эндометриoidных кист характерно для пациенток в возрасте старше 30 лет; с оперативными вмешательствами на яичниках в анамнезе; с рецидивом эндометриoidной кисты; с двусторонним поражением яичников; с III—IV стадией эндометриоза [100]. Takashima et al. указывают, что среднее количество антральных фолликулов и количество полученных ооцитов были значительно ниже для яичника, содержащего эндометриому, чем для контрлатерального интактного яичника [354]. По данным Кузьминой Н.С. количество фолликулов в яичнике, оперированном по поводу эндометриоза, достоверно ниже, чем в контрлатеральном яичнике, а количество яйцеклеток, пунктированных из яичника, оперированного по поводу эндометриоза, меньше, чем яйцеклеток, полученных из интактного яичника, но разница не достигает статистической значимости [48].

Хирургическое вмешательство, вероятно, приводит к дальнейшему снижению резерва яичников у пациенток с эндометриомой, у которых резерв яичников уже уменьшен за счет эндометриоидной кисты как таковой. Эндометриоидная киста яичника морфологически и структурно отличается от других типов опухолей яичников. Стенка эндометриоидной кисты является псевдокапсулой; следовательно, во время вылушивания эндометриоидной кисты неизбежно удаляется часть здоровой ткани яичника. В меньшей степени повреждение яичника происходит при дренировании и коагуляции кисты, однако в связи с высоким риском после такого вида лечения рецидива эндометриомы более предпочтительным является хирургическое иссечение эндометриодные кисты [173, 180, 331]. По результатам исследования Давыдова А.И. и др. частота рецидива после проведения аспирационной (склерозирующей) терапии эндометриоидных кист яичников в течение 12 месяцев составляет 39% [28]. Соломатина А.А. и др. указывают, что абляционный метод лечения эндометриоидных кист более предпочтителен у пациенток с эндометриозом яичников малой величины и при бесплодии [92]. Снижение овариального резерва происходит также вследствие электрохирургической коагуляции и воспалительных реакций в ткани яичника после операции [115]. Важное значение имеет и локализация эндометриоидных кист: по данным Гаспарова А.С. и др. парапортальная локализация эндометриоидной кисты обуславливает более значимое снижение овариального резерва в сравнении с ее периферической локализацией [23].

Немаловажным является и выбор энергии, используемый для диссекции и гемостаза яичника, на сегодняшний день наиболее часто применяются механическая, электрическая, плазменная, звуковая и лазерная энергии [119]. Вопрос о выборе наиболее щадящего метода остановки кровотечения яичника остаётся дискуссионным, но не вызывает сомнения, что бережное вылушивание эндометриоидной кисты и тщательный точечный гемостаз являются определяющими в сохранении овариального резерва поврежденного яичника. В ряде работ указывается преимущество аргоно-плазменной коагуляции в сохранении морфофункциональной овариальной ткани у пациенток с эндометриоидными кистами яичников

[31, 88]. При органосохраняющих операциях на яичниках в ряде ситуаций более предпочтительным является применение интраовариального лигатурного шва, о чем сообщается в исследовании Соломатиной А.А. и др. [90]. В работе Попова Э.Н. и др. приводятся данные об эффективности применения гемостатических губок для сохранения овариального резерва у пациенток, которым проводится хирургическое удаление эндометриом [72]. Кузьминой Н.С. и др. показано, что при применении гемостатических матриц в меньшей степени происходит снижение АМГ после цистэктомии по поводу эндометриом [47].

На снижение овариального резерва после удаления эндометриоидных кист указывают многие авторы [115, 119, 157, 181, 249, 296, 354]. В обзоре Somigliana et al. значительное снижение уровня АМГ после удаления эндометриоидных кист подтверждено в 9 из 11 исследований [345]. С течением времени уровень АМГ восстанавливается, однако скорость и степень восстановления, которые приводят авторы, значительно разнятся [115]. Более выраженное повреждение яичника наблюдается при удалении эндометриомы диаметром более 4 см [325, 343]. Еще большее повреждение овариального резерва происходит при повторных операциях на яичниках: в работе Соломатиной А.А. и др. было установлено, что пациентки, перенесшие хирургическое лечение по поводу рецидивирующих эндометриоидных образований яичников, имеют более выраженное статистически значимое различие по концентрации сывороточного АМГ по сравнению с исходным состоянием, чем пациентки с впервые выявленным эндометриозом [91]. Кроме того, факторами риска снижения овариального резерва после хирургического лечения эндометриомы являются старший репродуктивный возраст и двусторонняя цистэктомия [62, 115, 164].

Помимо овариального резерва, важным показателем наступления беременности является *имплантационная готовность эндометрия*, которая регулируется множеством сложных процессов, с участием гормонов, цитокинов, молекул адгезии и других факторов [250]. «Окно имплантации» может нарушаться на фоне эндометриоза из-за неадекватной экспрессии в ткани эндометрия различных молекул [144]. В качестве маркера имплантационной готовности эндометрия опреде-

ляется экспрессия интегрин $\alpha\upsilon\beta 3$, которая у здоровых пациенток присутствует во время «окна имплантации». У некоторых пациенток с эндометриозом описано снижение экспрессии интегрин $\alpha\upsilon\beta 3$ в ткани эндометрия, в результате чего может нарушаться прикрепление плодного яйца во время имплантации [250]. Кроме того, о нарушении имплантационной способности эндометрия у пациенток с эндометриозом свидетельствует снижение экспрессии биомаркеров имплантации: гликоделина А, остеопонтина, рецептора 3 лизофосфатидной кислоты и NOXA10 [144]. Иммуногистохимическое исследование эндометрия, проведенное Бурменской О.В. и соавт. установило помимо снижения основных маркеров рецептивности (интегрин $\alpha\upsilon\beta 3$, ЛИФ, гликоделина А, NOXA-10), увеличение синтеза ароматазы и дисбаланс экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в строме эндометрия пациенток с эндометриозом [65].

Об имплантационных способностях эндометрия можно судить после проведения доплерометрии маточных сосудов. При доплерометрии кровотока в сосудах матки пациенток с бесплодием выявляются такие патологические изменения, как увеличение резистентности кровотока как в маточных и радиальных, так и в спиральных и базальных сосудах [98]. У пациенток с бесплодием и эндометриозом индекс резистентности кровотока в маточных артериях значительно повышен по сравнению с показателями кровотока у здоровых пациенток, что подтверждает возможную роль аномалий маточных артерий в эндометриоз-ассоциированном бесплодии [318]. В настоящее время не подвергается сомнению, что плацентация и дальнейшее развитие плодного яйца невозможны без активного кровоснабжения эндометрия и подлежащего миометрия в зоне имплантации. Доказано, что на основании исследования внутриматочной перфузии возможно прогнозирование наступления беременности у пациенток с различным генезом бесплодия, в том числе и при бесплодии неясного генеза, а также прогнозирование развития ранних и поздних гестационных осложнений [80, 98]. Допплерометрия маточных артерий является важнейшим показателем, позволяющим своевременно выявить и скорректировать патологические изменения кровотока в

рамках прегравидарной подготовки, что в свою очередь будет способствовать восстановлению фертильности и улучшению перинатальных исходов [17, 80].

В терапию, направленную на восстановление внутриматочного кровотока, включают комплекс препаратов с вазоактивным эффектом: ангиопротекторы, антиагреганты, корректоры микроциркуляции, антиоксиданты. Особую эффективность в ряде исследований показало назначение в качестве прегравидарной подготовки низкомолекулярных гепаринов (НМГ) [17, 50, 51]. Нормализуя кровоток в маточных артериях, НМГ способствуют формированию достаточной для имплантации толщины эндометрия, а также оказывают благоприятное влияние на рецептивность эндометрия. Показано, что гепарин напрямую влияет на клетки трофобласта независимо от его антикоагулянтной активности, взаимодействуя с ключевыми белками и сигнальными путями. НМГ способствует дифференцировке и инвазии клеток трофобласта, эндотелиальному ангиогенезу, уменьшает апоптоз в эндометрии, вызванный окислительным стрессом и снижает сосудистое сопротивление [136, 379]. Точные молекулярные механизмы, с помощью которых гепарин может оказывать свое потенциальное терапевтическое воздействие на репродукцию человека, до конца не изучены.

Таким образом, лечение эндометриоза - это лечение хронического состояния в течение репродуктивной жизни, которое требует сбалансированного подхода, основанного на симптомах, ожиданиях пациента и желании беременности. Хирургическая операция сама по себе не решает всех проблем, связанных с эндометриозом и поэтому существует необходимость в комбинированных вариантах консервативного и хирургического лечения.

5.2. Дизайн исследования. Материалы и методы исследования

В исследование было включено 154 пациентки с эндометриоз-ассоциированным бесплодием, которым было проведено хирургическое лечение с целью восстановления фертильности. Исследование проводилось в 2 этапа. Дизайн исследования приведен в Таблице 5.1.

Таблица 5.1 - Дизайн исследования

Этап работы	Задача исследования	Группы исследований	Количество наблюдений	Всего
1 этап	Прогностические критерии наступления беременности при эндометриоз-ассоциированном бесплодии	Наступление беременности	60	154
		Отсутствие беременности	94	
2 этап	Значение прегравидарной подготовки у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием	Проведение прегравидарной подготовки	56	154
		Отсутствие прегравидарной подготовки	98	

На первом этапе были определены прогностические критерии наступления самопроизвольной беременности и определены факторы, способные улучшить репродуктивный потенциал пациенток с бесплодием, связанным с НГЭ. В зависимости от факта наступления беременности были сформированы 2 группы пациенток. В первую группу вошли 60 пациенток, у которых наступила беременность в течение 1 года после операции, во вторую группу были включены 94 пациентки с отсутствием беременности. Таким образом, всего было обследовано 154 пациентки. Критериями исключения пациенток из исследования являлись: возраст старше 35 лет, сочетанные формы бесплодия, рецидивные формы эндометриоза. Оперативная лапароскопия проводилась по описанной в предыдущей главе схеме.

Прогнозирование беременности проводилось на основании анамнестических данных, распространенности эндометриоза, характера и объема выполненного оперативного вмешательства, показателях овариального резерва, оцениваемого по данным гормонального и ультразвукового исследования, параметрам внутриматочной перфузии.

Гормональное исследование включало определение уровней ФСГ, ЛГ, АМГ и ингибина В и проводилось через 2-6 месяцев после оперативного лечения на 2-4

день менструального цикла у 144 пациенток (у 10 пациенток беременность наступила ранее и в связи с этим у них исследование этих параметров проведено не было).

Трансвагинальная эхография, доплеровское сканирование производилось в период так называемого «окна имплантации» (на 5-8 день после овуляции) на цифровых ультразвуковых аппаратах Siemens Antares и Voluson V8. Исследование проводилось через 2-6 месяцев после проведения лапароскопии. Параметры были изучены у 144 пациенток (у 10 пациенток беременность наступила ранее, в связи с этим у них исследование проведено не было). Во время ультразвукового сканирования оценивалось количество антральных фолликулов, наличие доминантного фолликула, определялась структура и толщина М-эхо, его симметричность и соответствие дню менструального цикла. После эхографического исследования проводили цветное доплеровское картирование. Нами оценивались интенсивность кровообращения, а также измерялась максимальная систолическая скорость кровотока и рассчитывались уголнезависимые индексы: систоло-диастолическое отношение, пульсационный индекс, индекс резистентности в маточных, радиальных, базальных и спиральных артериях. В качестве нормативных нами использовались показатели доплерометрии в бассейне маточной артерии у здоровых фертильных женщин, разработанные Савельевой Г.М. и др. (Таблица 5.2) [79].

Таблица 5.2 - Показатели доплерометрии в бассейне маточной артерии у здоровых фертильных женщин

	Маточные артерии	Радиальные артерии	Базальные артерии	Спиральные артерии
Максимальная систолическая скорость кровотока (м/с)	$0,47 \pm 0,13$	$0,08 \pm 0,02$	$0,07 \pm 0,02$	$0,05 \pm 0,02$
Систоло-диастолическое отношение	$5,1 \pm 2,3$	$3,04 \pm 0,66$	$2,2 \pm 0,4$	$1,7 \pm 0,3$
Пульсационный индекс	$1,7 \pm 0,5$	$1,22 \pm 0,29$	$0,82 \pm 0,08$	$0,68 \pm 0,06$
Индекс резистентности	$0,78 \pm 0,06$	$0,67 \pm 0,08$	$0,52 \pm 0,07$	$0,48 \pm 0,05$

Сравнение показателей доплерометрии проводилось с пациентками с ТПБ ($n=76$) и здоровыми фертильными женщинами 9 ($n=40$).

На втором этапе исследования проводилось изучение роли прегравидарной подготовки (ПП) у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием. В зависимости от наличия или отсутствия ПП было сформировано две группы пациенток: в первую группу вошло 56 обследованных, кому была назначена ПП, во вторую группы были включены 98 пациенток без ПП. Целью ПП было снижение уровня эстрогенов и нормализация гормонального фона, развитие сосудистой сети эндометрия и миометрия, улучшение кровотока в системе маточной артерии от магистральных сосудов до конечных артериол, нормализация показателей коагулограммы. Терапия была комплексной и включала несколько компонентов.

1 – у пациенток с распространенным эндометриозом с целью снижения уровня эстрогенов назначался диеногест 2 мг в сутки в непрерывном режиме, срок терапии составлял 4-6 месяцев.

2 – всем пациенткам, с целью коррекции недостаточности лютеиновой фазы были назначены прогестагены в лютеиновую фазу менструального цикла (микронизированный прогестерон 200 мг в сутки или дидрогестерон 10 мг x 2 раза в сутки). Также прегравидарная терапия была дополнена назначением витаминов: омега 3 по 1 капсуле в сутки, убидекаренон 40 капель в день, фолиевая кислота в суточной дозировке - 400 мг в сутки. При субклиническом гипотиреозе (у 7 пациенток) назначались препараты L-тироксина или левотироксина натрия (50-75 мкг/сут.); при гиперпролактинемии (3 пациентки) использовались бромокриптин или каберголин под контролем уровня пролактина, терапия продолжалась до момента наступления беременности.

3 - повторное обследование проводилось через два-три месяца неэффективных попыток зачатия и заключалось в исследовании показателей спермограммы мужа, повторной оценке гормонального профиля и показателей овариального резерва, развернутой гемостазиограммы, выполнении УЗИ органов малого таза (в том числе с проведением доплерометрии маточных сосудов).

4 - при нарушениях внутриматочной перфузии (наличии «аваскулярных» зон, дефиците кровоснабжения отдельных локусов миометрия, отсутствии визуализации спиральных артерий в эндометрии), а также при повышении свертываемости крови в комплексной вазоактивной терапии назначались НМГ - эноксапарин натрия (0,4 мл однократно в сутки) или надропарин кальция (в разовой дозе 0,3 мл в день) в течение 7–10 дней в лютеиновой фазе менструального цикла с прекращением лечения на период менструации. Терапия продолжалась в течение 1-2 менструальных циклов ($n=15$ пациенток).

ПП по вышеизложенной схеме продолжалось до момента зачатия в течение 4-6 месяцев, при отсутствии наступления беременности в течение одного года пациенткам была рекомендована консультация репродуктолога. У всех пациенток ПП продолжалась и после зачатия, дозировки препаратов подбирались индивидуально.

Клиническая характеристика пациенток, включенных в первый этап исследования

Средний возраст пациенток, включенных во второй этап исследования ($n=154$) составил $31,1 \pm 0,5$ лет. Длительность бесплодия на момент проведения лапароскопии была от 1 года до 12 лет (в среднем $3,3 \pm 0,3$ года). Частота первичного бесплодия составила 69 % (106 пациенток), вторичного – 31 % (48 пациенток). Среди пациенток с вторичным бесплодием у 24 в анамнезе были современные роды, у 37 - искусственный аборт. Интраоперационно НГЭ 1-2 стадии был выявлен в 104 наблюдениях, 3-4 стадии – в 50 (согласно классификации американского общества фертильности). Во время оперативной лапароскопии коагуляция очагов эндометриоза производилась 101 пациентке, иссечение инфильтративных очагов было произведено у 53 пациенток, в том числе ретроцервикального эндометриоза - у 36, вылущивание эндометриоидных кист было выполнено в 66 наблюдениях (44 - одностороннее, 22 - двустороннее).

Клиническая характеристика пациенток, включенных во второй этап исследования (Таблица 5.3).

Таблица 5.3 -Клиническая характеристика пациенток, с проведением и без проведения прегравидарной подготовки

Параметр	Пациентки и с ПП (n = 56)	%	Пациентки и без ПП (n= 98)	%	p
Возраст менее 32 лет	35	62,5%	61	62,2%	p>0,05
Первичное бесплодие	39	69,6%	67	68,4%	p>0,05
Длительность бесплодия менее 3 лет	26	46,4%	36	36,7%	p>0,05
Роды в анамнезе	5	8,9%	11	11,2%	p>0,05
НГЭ I-II стадии	44	78,6%	68	69,4%	p>0,05
НГЭ III-IV стадии	12	21,4%	30	30,6%	p>0,05
Односторонние эндометриозные кисты яичников	20	35,7%	30	30,6%	p>0,05
Двусторонние эндометриозные кисты яичников	9	16,1%	13	13,3%	p>0,05
Коагуляция очагов эндометриоза	32	67,9%	73	74,5%	p>0,05
Иссечение очагов эндометриоза	18	32,1%	25	25,5%	p>0,05

Для определения роли ПП в наступлении беременности было проведено разделение пациенток на две группы: в первой группе проводилась ПП (n=56), во второй ПП отсутствовала (n=98). Средний возраст в обеих группах пациенток был сопоставим, доля пациенток младше 32 лет была у пациенток с ПП 62,5% и без ПП 62,2%. Первичное бесплодие было диагностировано у 69 %, получавших терапию и у 68% без терапии. Длительность бесплодия меньше 3 лет чуть чаще выявлялась у пациенток подгруппы с ПП (46%) по сравнению с подгруппой сравнения (37%), однако различия статистически не значимы. НГЭ I-II стадии был выявлен у 79% обследованных, получавших ПП, и у 69% - без ПП. У остальных пациенток был диагностирован НГЭ III-IV стадии (21% и 31% соответственно). У пациенток, получавших медикаментозную терапию одностороннее поражение яичников эндометриозом, было выявлено в 35,7% случаев и двустороннее в 16,1%. У

пациенток в отсутствии ПП односторонние кисты яичников во время лапароскопии было диагностировано у 30,6% и двусторонние у 13,3%. Коагуляция эндометриоидных гетеротопий была дополнена иссечением глубоких очагов эндометриоза, в том числе с прорастанием в серозную оболочку прямой кишки у 32,1% пациенток с ПП и 25,5% без ПП.

Проведенный статистический анализ не выявил значимых различий в степени распространенности НГЭ, а также в объеме проведенного оперативного лечения между двумя подгруппами пациенток.

5.3. Факторы, влияющие на восстановление естественной фертильности после проведенного хирургического лечения эндометриоз-ассоциированного бесплодия

На первом этапе исследования были изучены предикторы наступления беременности у 154 пациенток с НГЭ не старше 35 лет. Через год после хирургического лечения беременность наступила у 60 пациенток. Средний возраст пациенток с наступившей беременностью составил $30,4 \pm 0,4$ лет. Средняя длительность инфертильности была $2,9 \pm 0,2$ года, из них бесплодие < 3 лет было у 48,3% обследованных. Доля пациенток с первичным бесплодием составила 66,7%, с вторичным – 33,3%. При изучении акушерского анамнеза пациенток с вторичным бесплодием современные роды были отмечены у 20,0%, искусственный аборт также у 20,0%. По результатам лапароскопии НГЭ I-II степени был диагностирован в 66,7% наблюдениях, III-IV степени – в 33,3%. Во время лапароскопии всем пациенткам была проведена оценка проходимости маточных труб и коагуляция очагов эндометриоза. Операция была дополнена иссечением инфильтративных эндометриоидных очагов у 33,3% пациенток, в том числе с ретроцервикальной локализацией эндометриоза - у 20,0%, вылушивание эндометриоидных кист выполнялось у 45,0% обследованных (при этом двустороннее у 4 пациенток). У всех пациенток были изучены течение и исход беременности. Неосложненное течение беременности было выявлено у 93,3% беременных, у 6,7% беременных были признаки угрозы прерывания в различных

сроках беременности. У 58 из 60 пациенток произошли своевременные роды, у 2 пациенток беременность прервалась на ранних сроках.

У 94 пациенток, включенных в первый этап исследования, беременность не наступила. Средний возраст этих пациенток был достоверно ($p < 0,05$) выше по сравнению с женщинами, у которых беременность наступила, и составил $32,0 \pm 0,5$ лет (Рисунок 5.3).

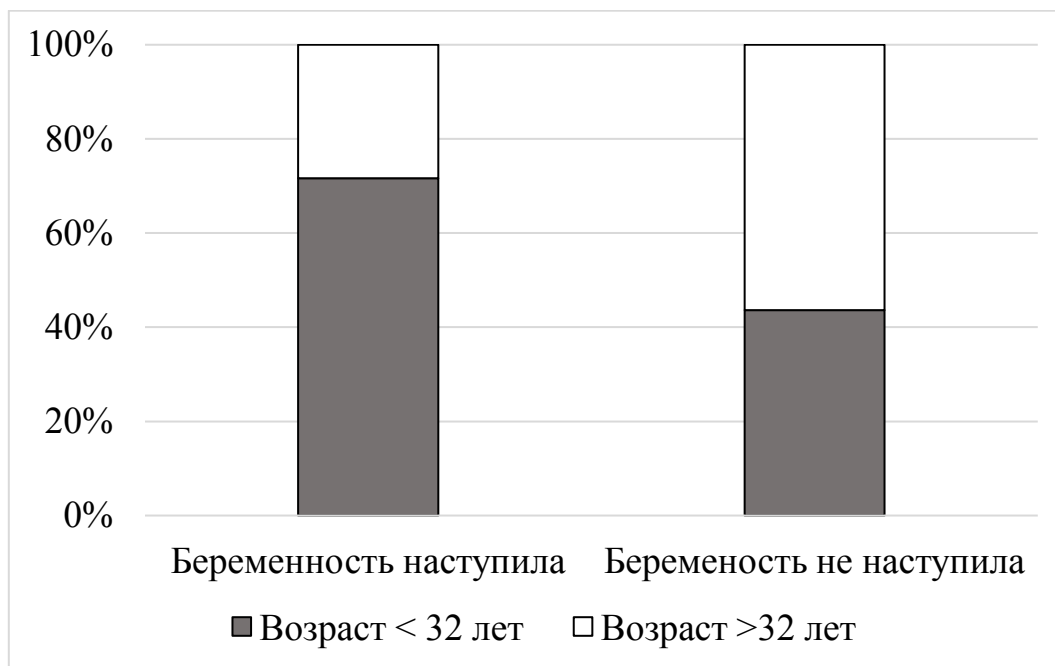


Рисунок 5.3 - Возраст пациенток и наступление беременности

Для уточнения порогового значения был проведен ROC-анализ, по результатам которого было выявлено что у женщин старше 32 лет снижается шанс наступления беременности (AUC-0,65). Мы исходно включали в исследование пациенток только моложе 35 лет потому что согласно клиническим рекомендациям 2019 года «Женское бесплодие (современные подходы к диагностике и лечению)» у женщин позднего репродуктивного возраста целесообразнее выполнять ЭКО [36]. Даже такое возрастное ограничение нам позволило выявить корреляционную зависимость снижение фертильности у пациенток старше 32 лет. Доказано, что способность к зачатию снижается почти в 2 раза у женщин в возрасте после 30 лет по сравнению с 20-летними женщинами и значительно уменьшается после 35 лет [36]. Также следует учитывать, что при эндометриозе яичников более выражен окислительный стресс, приводящий к

апоптозу гранулезных клеток по сравнению с пациентками в отсутствии эндометриоза, и клинически при наличии эндометриом яичников у пациенток наблюдается более низкий базовый уровень АМГ по сравнению с женщинами без эндометриоидных кист [287].

Длительность бесплодия у пациенток с отсутствием беременности составила $3,5 \pm 0,3$ лет, при этом срок инфертильности в течение 3 лет и менее были у 31,9% пациенток, что достоверно меньше по сравнению с группой наступления беременности (48,3%). Первичное бесплодие было выявлено у 70,2%, вторичное бесплодие - у 29,8% обследованных. Анализ акушерского анамнеза установил, что роды были у 12,8% пациенток, аборт – у 26,6%. То есть доля пациенток с первичным и вторичным бесплодием у пациенток с наступлением и отсутствием беременности была сопоставимой. Аналогичные данные получены в ретроспективном исследовании X. Zhang et al.: продолжительность бесплодия менее 3 лет наблюдалась у 72,38% пациентов и более 3 лет у 27,62% пациентов, около 48,95% женщин имели первичное бесплодие, а 51,05% - вторичное [388]. В недавнем исследовании N. Negi et al. продолжительность бесплодия менее 3 лет была выявлена у 14,02% женщин с эндометриозом и более 3 лет у 85,98% пациенток, первичным бесплодием страдали 82,24%, вторичным – 17,76% [293].

По результатам проведенной лапароскопии эндометриоз I-II степени выявлялся у 68,1% пациенток с ненаступившей беременностью, III-IV степени - у 31,9% пациенток (из них ретроцервикальная локализация глубоких эндометриоидных гетеротопий – у 27,7%). То есть наступление беременности не зависело от стадии заболевания (Рисунок 5.4).

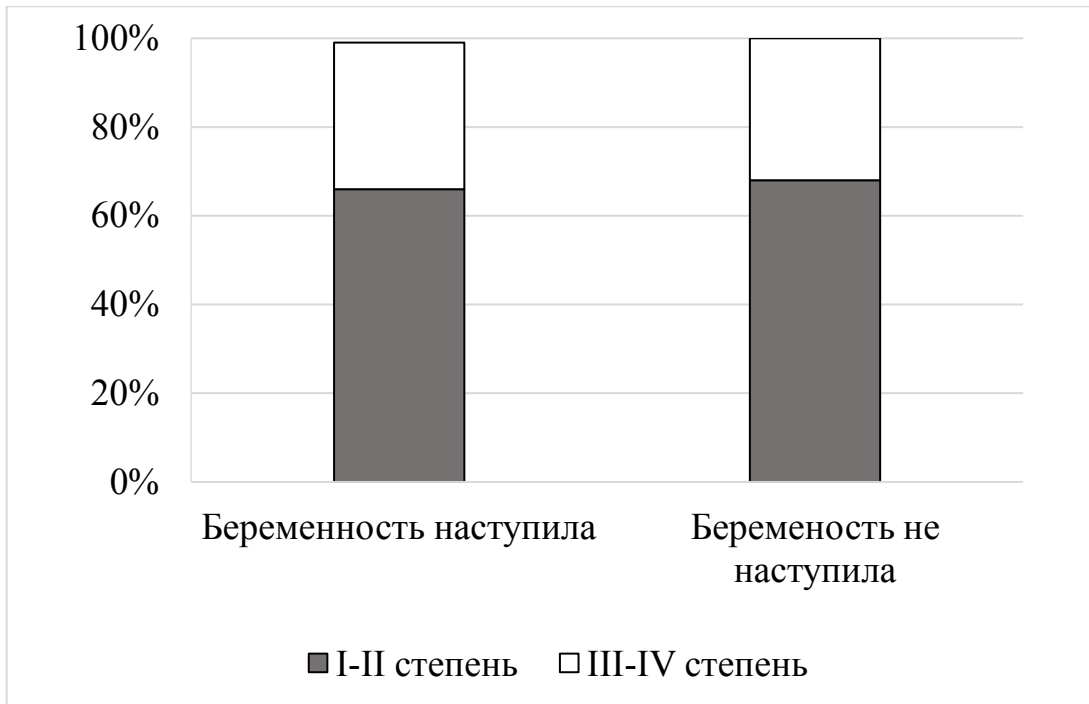


Рисунок 5.4 - Степень распространенности эндометриоза и наступление беременности

До сих пор не существует единого мнения относительно эффективности хирургического лечения различных стадий эндометриоза. Согласно кокрановскому исследованию оперативная лапароскопия увеличивает шанс наступления беременности по сравнению с диагностической [220]. Somigliana и Garcia-Velasco опубликовали подробный обзор на тему лечения глубокого эндометриоза у пациентов с бесплодием, по данным которого эффективность хирургического лечения для преодоления бесплодия у пациенток с тяжелым эндометриозом составляет 40-42% [346]. Но существует и другое мнение, согласно которому женщин с бесплодием, обусловленным НГЭ III-IV стадии следует направлять на ЭКО без предварительного этапа хирургического лечения [154]. Согласно отечественным клиническим рекомендациям по ведению пациенток с эндометриозом и бесплодием хирургическое лечение показано для лечения эндометриоз-ассоциированного бесплодия пациенткам до 35 лет с фертильной спермой партнера, кроме того двухэтапное комбинированное (хирургическое и медикаментозное) лечение заболевания при НГЭ III–IV стадии повышает эффективность программы ЭКО [109]. Приходится признать, что классификация американского общества фертильности, которая хорошо отражает

хирургическую распространенность процесса и широко используется, в отношении прогнозирования шанса зачатия не совершенна [112].

Операция в объеме только коагуляции очагов эндометриоза и хромосальпингоскопии была выполнена 66,7% с наступлением и 64,9% пациенткам с отсутствием беременности, у 33,3% забеременевших и у 35,1% незабеременевших пациенток было также проведено иссечение эндометриоидных очагов, вылушивание эндометриоидных кист выполнялось 44,4% с наступлением и 40,4% пациенткам с отсутствием беременности. Значимые различия были выявлены в количестве пациенток с двусторонними эндометриомами яичников: их удаление было выполнено у 6,7% пациенток с наступившей беременностью и у 19,1% незабеременевших пациенток ($\chi^2=4,66$, $p=0,031$) (Рисунок 5.5).

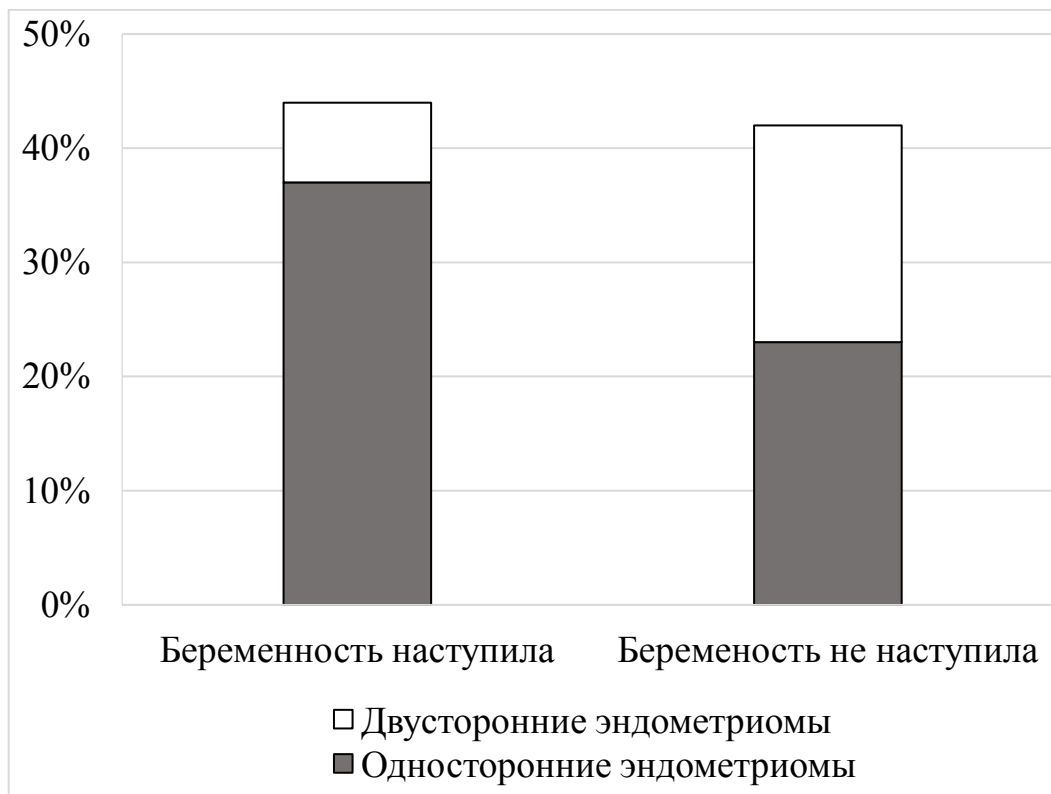


Рисунок 5.5 - Наличие эндометриоидных кист и наступление беременности

При анализе размера удаленных эндометриоидных кист было установлено, что удаление эндометриом более 6 см было проведено 12% пациенток с наступлением беременности и 25% в отсутствии беременности ($\chi^2=4,38$, $p=0,037$).

Сегодня не вызывает сомнений, что хирургическое вмешательство по поводу эндометриоидных кист снижает функциональные способности яичников

[58, 115, 181, 249, 354]. Наибольшее снижение овариального резерва происходит в старшем репродуктивном возрасте, при двусторонней цистэктомии, при удалении кист более 3 см, а также при повторных операциях [115, 164, 181, 275]. Доказано, что перед процедурой ЭКО удаление эндометриoidных кист меньше 3 см не увеличивает эффективность попытки ЭКО [181], однако вопрос о возможности самопроизвольного наступления беременности после удаления эндометриoidных кист остается открытым. Согласно отечественным клиническим рекомендациям удаление эндометриoidных кист у пациенток с бесплодием показано при размере кист более 3 см, уменьшения риска инфекции, улучшения доступа к созревающим фолликулам при ЭКО, исключения отрицательного воздействия содержимого кисты на процесс овуляции и оплодотворения [109].

В предыдущих главах диссертации показано негативное влияние длительно существующих эндометриoidных кист на функциональную активность ткани яичника. Мы предполагаем, что у молодых пациенток бережное вылущивание эндометриoidных кист с точечным гемостазом оставшейся ткани яичника, максимальная элиминация всех очагов эндометриоза, восстанавливает свободно-радикальный гомеостаз в малом тазу, уменьшает действие провоспалительных цитокинов и факторов роста, снижает роль аутоимунных нарушений, что способствует самопроизвольному наступлению беременности. Безусловно определяющим фактором восстановления естественной фертильности у пациенток с НГЭ является своевременность и полноценность хирургического лечения.

У 28 % пациенток, у которых беременность не наступила, была проведена ПП, что достоверно меньше по сравнению с количеством пациенток с наступившей беременностью после получения ПП ($p < 0,05$). Значимые различия между пациенток с наступлением и отсутствием беременности были получены и в компонентах ПП. У наблюдаемых, у которых беременность не наступила, чаще назначался диеногест и реже применялись НМГ.

При сравнении параметров овариального резерва, измеренных через 6 месяцев после операции, были выявлены значимые различия уровня ФСГ, ингибина В и АМГ у пациенток с наступлением и отсутствием беременности (Таблица 5.4).

Таблица 5.4 - Параметры овариального резерва и наступление беременности

Параметры овариального резерва	Наступление беременности	Отсутствие беременности	P*
Уровень ФСГ, МЕ/мл (M±SD)	8,7±1,9	10,5±2,9	p<0,001
Уровень АМГ, нг/мл (M±SD)	1,48±0,43	1,13±0,62	p<0,001
Уровень ингибина В, пг/мл (M±SD)	41,9±7,6	31,5±15,9	p<0,001

Примечание: M±SD- среднее ± стандартное отклонение

* - согласно t-критерию Стьюдента (в связи с доказанной нормальностью распределения)

Уровень ФСГ был достоверно ($t=4,2$, $p<0,001$) повышен у пациенток с отсутствием беременности ($10,5\pm2,9$ МЕ/мл) по сравнению с теми, у кого беременность наступила ($8,7\pm1,9$ МЕ/мл) (Рисунок 5.6).

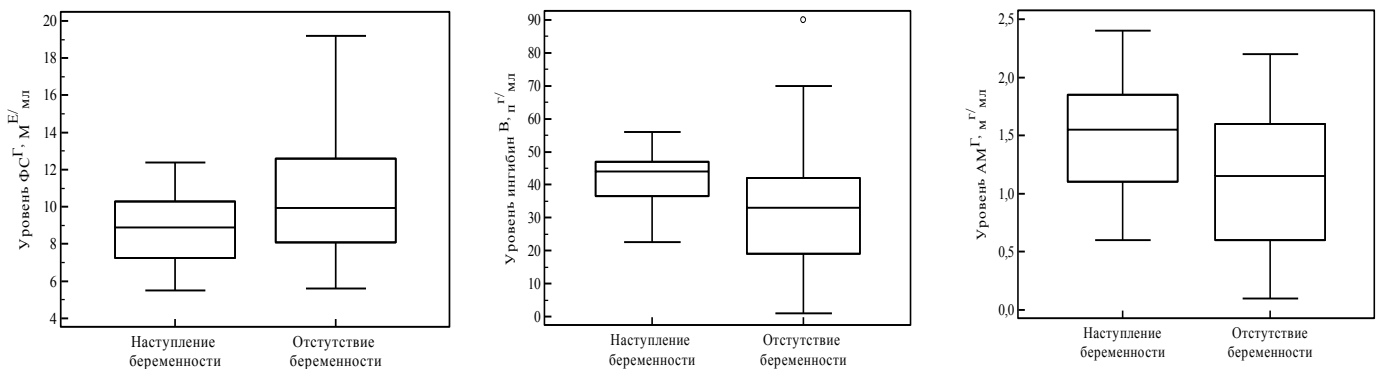


Рисунок 5.6 - Уровень ФСГ, ингибина В и АМГ у пациенток с наступлением и отсутствием беременности

Значимые различия также были найдены при сравнении уровня ингибина В у пациенток с наступлением ($41,9\pm7,6$ пг/мл) и отсутствием ($31,5\pm15,9$) беременности ($t=4,7$, $p<0,001$). При этом у всех забеременевших пациенток уровень ингибина В был в пределах нормативных значений (более 10 пг/мл), тогда как у 16% пациенток, с неудачной попыткой естественного зачатия уровень ингибина В был снижен. Схожие данные получены и по уровню АМГ между двумя сравниваемыми подгруппами пациенток: при наступлении беременности он был равен в среднем $1,48\pm0,43$ нг/мл, в отсутствии беременности был достоверно ($t=3,8$,

$p < 0,001$) ниже и составил $1,13 \pm 0,62$ нг/мл (Рисунок 5.6). Значимые различия также были найдены при сравнении уровня ингибина В у пациенток с наступлением ($41,9 \pm 7,6$ пг/мл) и отсутствием ($31,5 \pm 15,9$) беременности ($t = 4,7$, $p < 0,001$).

Статистический анализ выявил сильную отрицательную корреляционную связь между ФСГ и ингибином В (коэффициент корреляции Спирмена равен $-0,78$); между ФСГ и АМГ (коэффициент корреляции Спирмена равен $-0,83$) и сильную положительную корреляцию между ингибином В и АМГ (коэффициент корреляции Спирмена равен $0,81$) (Рисунок 5.7).

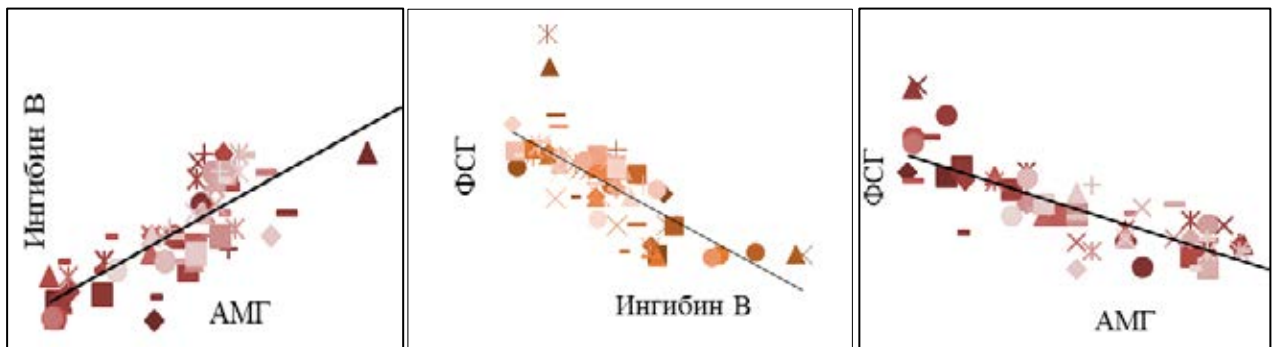


Рисунок 5.7 - Корреляционная связь между показателями гормонального обследования

Показатели овариального резерва, определяемые по данным УЗИ, также были снижены у пациенток с отсутствием беременности. По данным УЗИ менее 3 фолликулов выявлялось только у пациенток с отсутствием беременности (21,3%), тогда как более 5 фолликулов было отмечено у 78,3% забеременевших пациенток. Связь между количеством антральных фолликулов и наступлением беременности статистически значима ($\chi^2 = 3,9$ $p < 0,05$) (Рисунок 5.8).

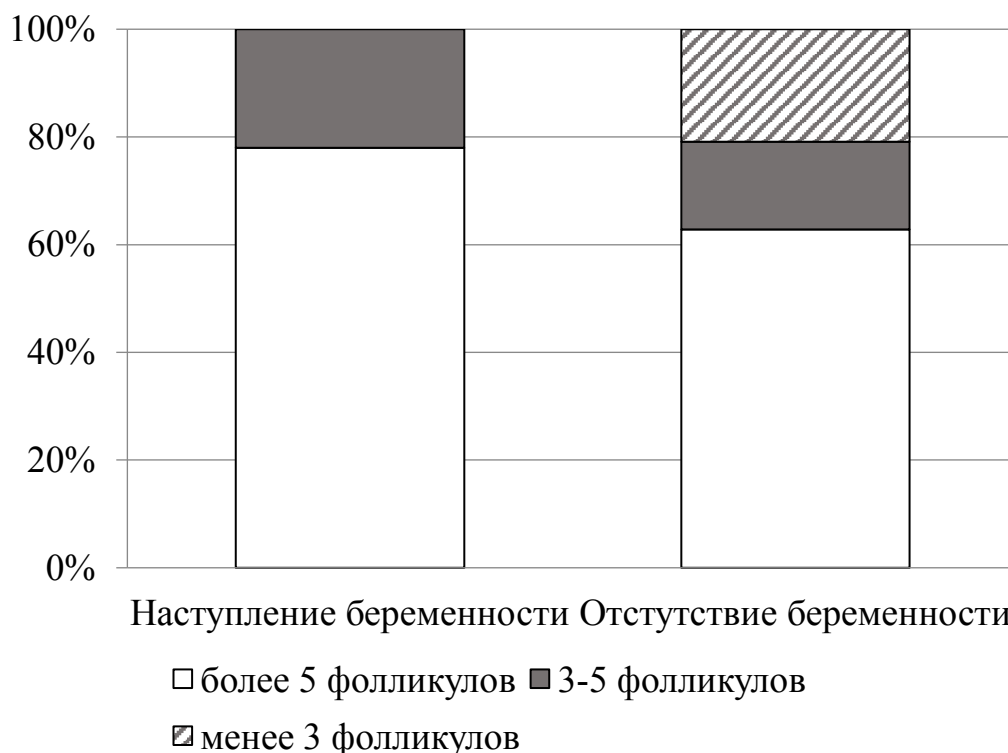


Рисунок 5.8 - Количество базальных фолликулов и наступление беременности

Фолликулометрия проводилась в двух разных циклах, по результатам исследований было выявлено, что доминантный фолликул определялся у 75,0% беременных пациенток и 37,2% пациенток с отсутствием беременности (Рисунок 5.9), данные различия также достоверны ($\chi^2=17,6$ $p<0,001$).

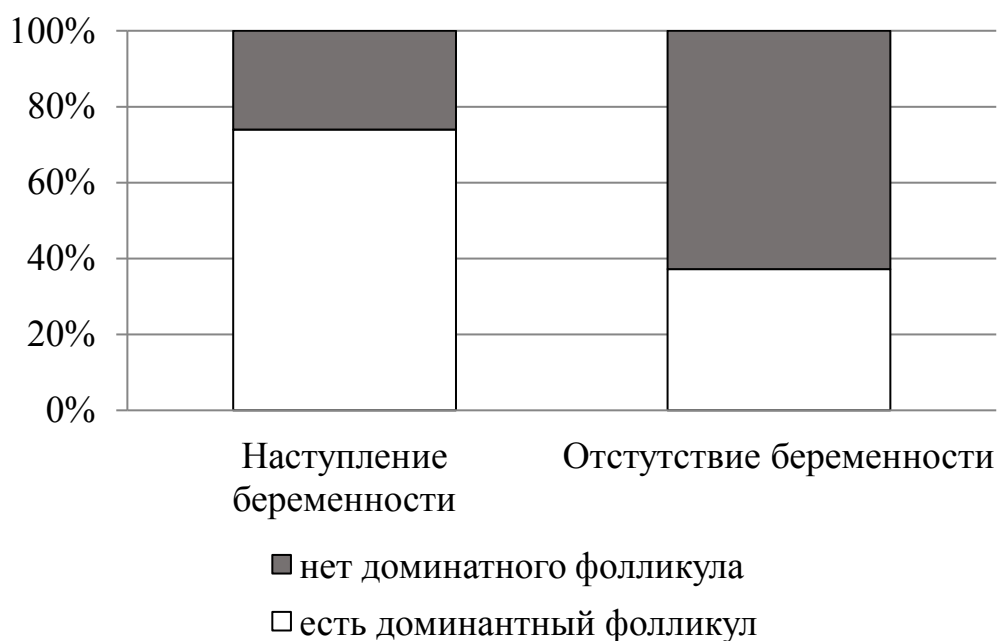


Рисунок 5.9 - Количество базальных фолликулов / наличие доминантного фолликула и наступление беременности

При этом важно отметить, что у части забеременевших пациенток даже при снижении количества фолликулов обнаруживался доминантный фолликул. При сопоставлении уровня гормонов и УЗИ картиной оказалось, что число фолликулов имеет отрицательную корреляцию средней силы с уровнем ФСГ (коэффициент корреляции Спирмена равен $-0,63$) и положительную корреляцию средней силы с уровнем ингибина В и АМГ (коэффициенты корреляции Спирмена $0,65$ и $0,69$ соответственно). При этом число фолликулов и наличие доминантного фолликула имеют между собой сильную положительную корреляцию (коэффициент корреляции Спирмена равен $0,73$). Полученные данные говорят о том, что при прогнозировании шансов на самопроизвольную беременность наиболее благоприятным является нормальное число фолликулов и обнаружение доминантного фолликула. Однако пониженное число фолликулов в сочетании с наличием доминантного фолликула также являлось хорошим прогностическим признаком и позволяло предположить хорошие шансы на самопроизвольную беременность.

При сопоставлении данных гормонального исследования и УЗИ было выявлено, что у 91% пациенток при нормальном уровне всех трех гормонов был доминантный фолликул. При этом отсутствию доминантного фолликула всегда соответствовало повышение уровня ФСГ выше 12 Ме/мл, снижение уровня ингибина В ниже 19 пг/мл и уровня АМГ ниже $0,7$ нг/мл. При выявлении по данным УЗИ более 6 фолликулов значения гормонов соответствовали нормативным: ФСГ был ниже $9,5$ Ме/мл, ингибин В был выше $30,5$ пг/мл, уровень АМГ был выше $1,1$ нг/мл. У тех пациенток, у кого на УЗИ было выявлено менее 3 фолликулов отмечалось стойкое повышение ФСГ выше 12 Ме/мл, снижение уровня ингибина В ниже $9,5$ пг/мл, и уровня АМГ ниже $0,5$ нг/мл. При выявлении от 3 до 6 фолликулов уровни гормонов варьировали в пограничных значениях: ФСГ от $10,0$ до $12,1$ Ме/мл, ингибина В от 30 до 10 пг/мл, АМГ в диапазоне $0,7-0,9$ нг/мл.

АМГ секретируется преантральными фолликулами, которые мало чувствительны к концентрации ФСГ [25]. В связи с этим АМГ считается более независимым и надежным маркером ранней активности антрального фолликула, чем ингибин В и ФСГ, определяемыми в раннюю фолликулярную фазу цикла. Известно,

что ФСГ практически не влияет на экспрессию АМГ на ранней фолликулярной фазе, тогда как концентрации ингибина В и эстрадиола зависят не только от количества активных клеток гранулезы, находящихся в зрелых фолликулах, но и от стимуляции ФСГ [47,48]. Нами была выявлена отрицательная корреляция между уровнем АМГ и ФСГ. Но поскольку их уровни были связаны с третьим общим параметром (количеством антральных фолликулов), их взаимная корреляция, по-видимому, является косвенной, а не причинной. Аналогично, корреляция, наблюдаемая между уровнями АМГ и ингибина В, не указывает на прямую взаимосвязь между обоими гормонами.

Мы провели ROC-анализ для определения вероятности наступления самопроизвольной беременности у пациенток с различным уровнем ФСГ, ингибина В и АМГ (Рисунок 5.10).

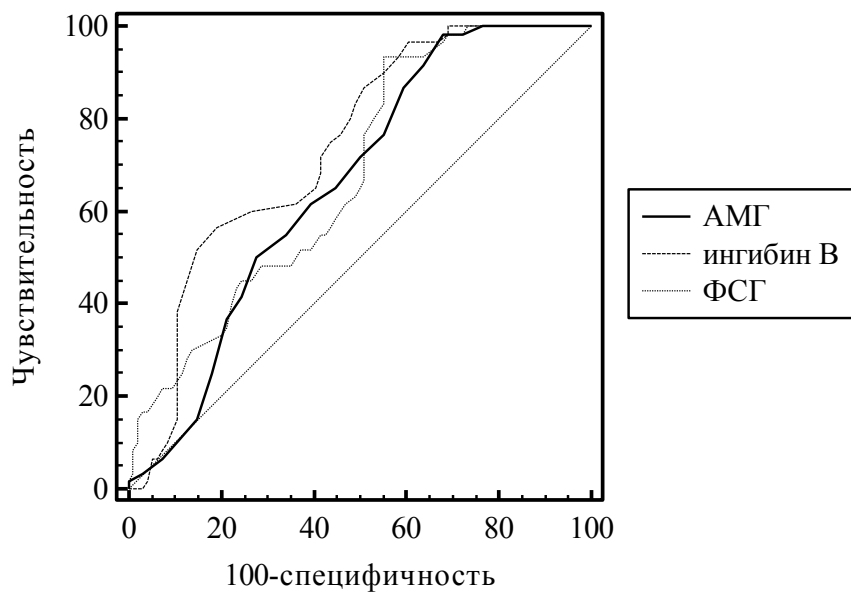


Рисунок 5.10 - Кривые характеристик для ФСГ, ингибина В и АМГ

Все три критерия обладают неплохими прогностическими характеристиками в отношении прогнозирования беременности: $AUC_{\text{ФСГ}}=0,68$, $AUC_{\text{ИНГ}}=0,74$, $AUC_{\text{АМГ}}=0,66$. Однако при детальном анализе было установлено, что отклонения данных параметров являются исключающими наступление беременности, тогда как даже при нормальных концентрациях ФСГ, ингибина В и АМГ у пациенток, перенесших оперативное лечение по поводу НГЭ, не всегда возможно наступление самопроизвольной беременности.

Из данных представленных в Таблица 5.5 следует, что при ФСГ более 12 МЕ/мл практически невозможно наступление самопроизвольной беременности

Таблица 5.5 - Прогнозирование наступления самопроизвольной беременности по уровню ФСГ

Уровень ФСГ, МЕ/мл	Чувствит.	Специфич.	+LR	95% ДИ	-LR	95% ДИ
≤8	45,00	75,53	1,84	1,4 - 2,5	0,73	0,5 - 1,1
≤9	51,67	60,64	1,31	1,0 - 1,8	0,80	0,6 - 1,1
≤10	66,67	48,94	1,31	1,0 - 1,7	0,68	0,5 - 1,0
≤11	93,33	44,68	1,69	1,3 - 2,1	0,15	0,06 - 0,4
≤12	98,33	30,85	1,42	1,0 - 1,9	0,054	0,008 - 0,4
≤12,2	98,33	28,72	1,38	1,0 - 1,9	0,058	0,008 - 0,4
≤12,4	100,00	26,60	1,36	1,0 - 1,9	0,00	

Проведенный анализ не позволил установить уровень ФСГ ниже которого с высокой вероятностью возможно наступление беременности. Снижение уровня АМГ <0,5 нг/мл является надежным предиктором отсутствия самопроизвольной беременности, тогда как при АМГ более 2нг/мл шанс наступления беременности значительно повышен. Прогностические сложности наблюдаются в диапазоне АМГ 0,9-1,2 нг/мл (Таблица 5.6).

Таблица 5.6 - Прогнозирование наступления самопроизвольной беременности по уровню АМГ

Уровень АМГ, нг/мл	Чувствит.	Специфич.	+LR	95% ДИ	-LR	95% ДИ
<0,5	100,00	23,40	1,31	0,9 - 1,9	0,00	
>0,7	98,33	31,91	1,44	1,1 - 1,9	0,052	0,007 - 0,4
>0,8	91,67	36,17	1,44	1,1 - 1,9	0,23	0,10 - 0,5
>0,9	86,67	40,43	1,45	1,1 - 1,9	0,33	0,2 - 0,6
>1	76,67	44,68	1,39	1,1 - 1,8	0,52	0,3 - 0,9
>1,1	71,67	50,00	1,43	1,1 - 1,9	0,57	0,4 - 0,9
>1,2	65,00	55,32	1,45	1,1 - 1,9	0,63	0,4 - 1,0
>1,5	50,00	72,34	1,81	1,4 - 2,4	0,69	0,5 - 1,0
>2	6,67	92,55	0,90	0,3 - 2,3	1,01	0,5 - 2,1
>2,1	1,67	100,00			0,98	

В литературе приводится большое количество исследований о прогностической ценности уровня сывороточного АМГ для определения ответа яичников на введение стимуляторов овуляции и вероятности наступления беременности после

ЭКО [140, 212, 226]. Broer et al. отметили, что измерение уровня АМГ является более предпочтительным, чем ФСГ, при этом уровень АМГ имеет практически такую же точность в прогнозе наступления беременности после ВРТ, что и число антральных фолликулов [140]. Назаренко и Краснопольская К.В. считают повышение ФСГ более 10 МЕ/мл критерием снижения овариального резерва и предполагаемого «бедного» ответа яичников в ответ на стимуляцию суперовуляции [60]. В клинических рекомендациях 2019 года по ведению пациенток с бесплодием указывается, что уровень ФСГ более 12 МЕ/мл ассоциирован с низкой вероятностью наступления беременности, причем у пациенток старше 38 лет уровень ФСГ в большей степени отражает показатели овариального резерва [36]. Однако исследования, касающиеся прогнозирования наступления самопроизвольной беременности на основании определения ФСГ, АМГ, ингибина В крайне противоречивы. В исследовании, включавшем женщин старше 30 лет, была выявлена положительная корреляция между сывороточным АМГ и естественным зачатием [348], в то время как в другой работе, не было найдено взаимосвязи между уровнем АМГ у пациенток до 30 лет и наступлением беременности [201]. Dermann M. et al. сообщают, что на основании АМГ, ФСГ и числа антральных фолликул не возможно прогнозировать наступление беременности у женщин с регулярным менструальным циклом в возрасте от 18 до 46 лет [175]. Мы считаем, что на основании изменений показателей ФСГ, ингибина В и АМГ необходимо определять группу пациенток для проведения ВРТ, однако мы согласны с предыдущими исследователями, что их определение должно проводиться не ранее, чем через 3-6 месяцев после операции, что в определенной степени ограничивает использования этих маркеров в качестве предиктора наступления беременности.

Нами были оценены показатели толщины эндометрия, а также внутриматочной перфузии у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием.

У всех пациенток как с наступившей беременностью, так и в ее отсутствии толщина М-эха была более 8 мм. По литературным данным толщина эндометрия является предиктором наступления как самопроизвольной беременности, так и эффективности программы ЭКО/ИКСИ. Так Багдасарян Л.А. и Корнеева И.Е. в

своем обзоре литературы указывают, что наименьшая частота наступления беременности в программах ВРТ была у пациенток с М-эхо менее 7-8 мм [12]. Троскина И.Ю. указывает, что более информативным для прогнозирования наступления беременности является определение показателей доплерометрии в сосудистом «древе» маточной артерии [98].

Нами были изучены показатели внутриматочной перфузии у 144 пациенток с наружным генитальным эндометриозом (Рисунок 5.11).

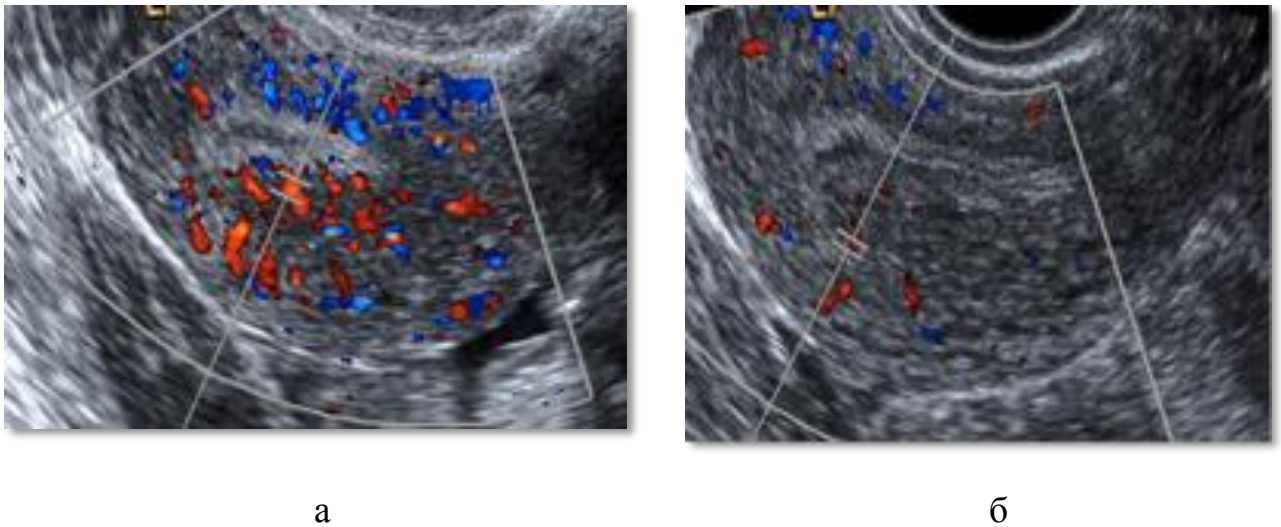


Рисунок 5.11 - Внутриматочная перфузия: а – достаточная, б – сниженная. Цветовое доплеровское картирование. Продольное ТВ-сканирование (автор изображений: Бугеренко Е.Ю.).

Эти показатели были соотнесены с соответствующими параметрами у пациенток с ТПБ ($n=76$) и здоровыми фертильными женщинами ($n=40$).

Нами было установлено, что у пациенток с бесплодием (как с НГЭ, так и ТПБ) достоверно чаще регистрировались нарушения интенсивности внутриматочной перфузии как на субэндометриальном, так и эндометриальном уровнях. У пациенток с НГЭ в период «окна имплантации» достаточный уровень перфузии в миометрии был выявлен у 134 (93,1%) пациенток, в субэндометрии у 73 (78,5%) пациенток и в эндометрии у 51 (35,4%). Статистический анализ установил, что достоверные различия наблюдались в числе пациенток, имеющих достаточный уровень перфузии на эндометриальном уровне, в группе эндометриоз-ассоциированного бесплодия и здоровых фертильных женщин ($\chi^2=17,5$, $p<0,001$) (Рисунок 5.12).

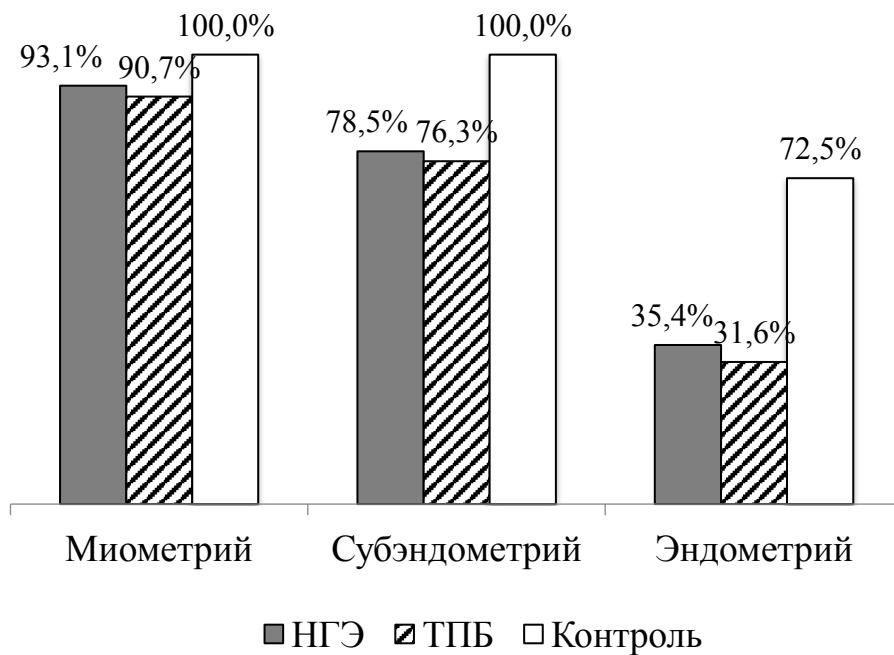


Рисунок 5.12 - Интенсивность внутриматочной перфузии у пациенток с НГЭ, ТПБ и здоровых фертильных женщин.

При анализе частоты гемодинамических нарушений в сосудах различного калибра, кровоснабжающих матку, было установлено, что уголнезависимые показатели сосудистого сопротивления в маточных и радиальных артериях у большинства пациенток с НГЭ были в пределах нормативных значений, тогда как изменения были зарегистрированы в базальных и спиральных артериях. Так в маточных артериях повышение индекса резистентности было у 13 (9,0%) пациенток, в радиальных у 23 (16,0%), что достоверно не отличалось в сравнении с пациентками с ТПБ и здоровыми фертильными женщинами. Напротив, в базальных артериях индекс резистентности был повышен у 90 (62,5%) пациенток, что достоверно выше ($\chi^2=40,1$, $p<0,001$), чем у здоровых фертильных женщин. Спиральные артерии визуализировались только у 57 (39,6%) пациенток с НГЭ, при их визуализации изменения уголнезависимых показателей сосудистого сопротивления имели место у 40 (70,1%) больных, то есть нарушения гемодинамических показателей было выявлено у достоверно ($\chi^2=17,2$, $p<0,001$). большего количества пациенток по сравнению со здоровыми фертильными женщинами (Рисунок 5.13).

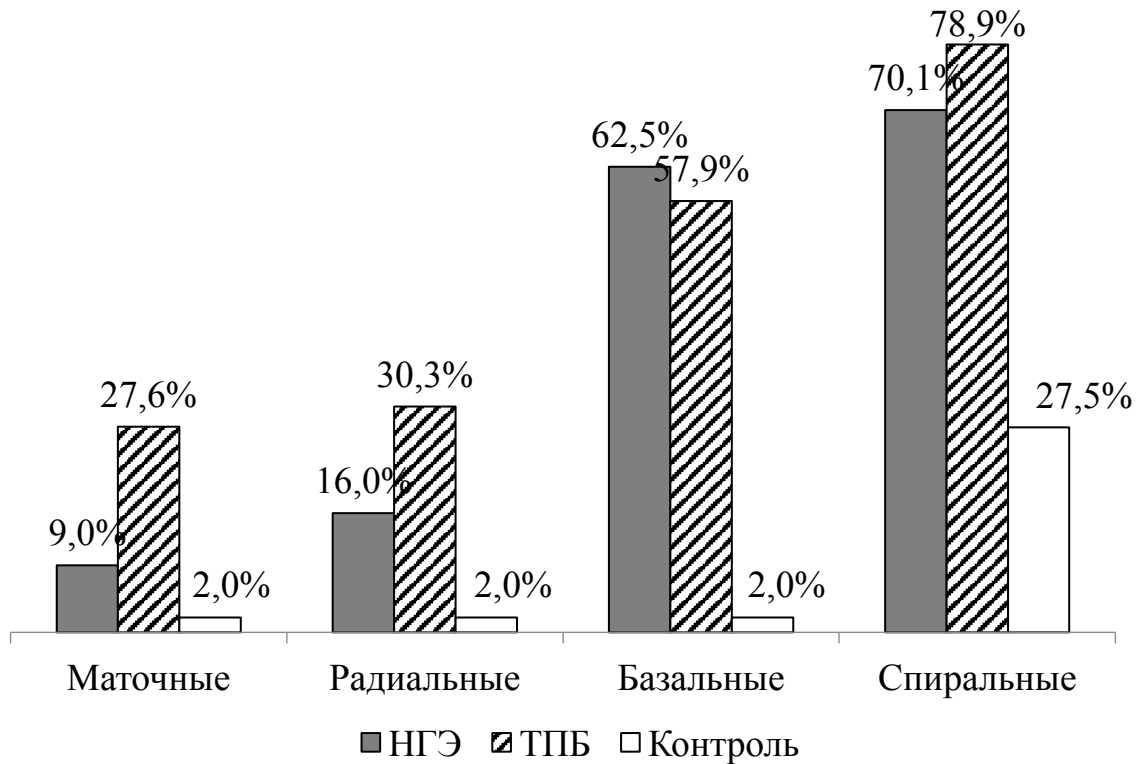


Рисунок 5.13 - Гемодинамические нарушения сосудов матки у пациенток с НГЭ, ТПБ и фертильных женщин

У пациенток с НГЭ могут быть и признаки внутреннего эндометриоза, известно, что аденомиоз проявляет ангиогенные свойства, в тоже время было показано, что эндометрий пациенток с аденомиозом не обладает большей ангиогенной активностью, чем здоровый эндометрий, то есть показатели субэндометриального и эндометриального кровотоков у пациенток с бесплодием, по-видимому, не зависят от наличия сопутствующего аденомиоза [332]. Нарушения кровотока на субэндометриальном и эндометриальном уровнях у пациенток с НГЭ могут быть связаны с резистентностью эутопического эндометрия к прогестерону: было продемонстрировано, что существует положительная корреляция между скоростью кровотока в эндометрии и уровнем эстрадиола, однако при повышении прогестерона такой связи не наблюдалась [382]. При этом дисгормональные нарушения приводят к неоптимальному ангиогенезу в эндометрии или динамическим изменениям сосудов, такими как вазоконстрикция или уменьшенная вазодилатация [318].

Показатели доплерометрии в маточных артериях, в радиальных, базальных и спиральных артериях мы сопоставили с фактом наступления беременности.

Следует отметить, что у части пациенток с недостаточной внутриматочной перфузией и повышенными индексами резистентности проводилась прегравидарная подготовка, направленная на улучшение кровоснабжения субэндометриального и эндометриального слоя матки. Комплекс мер, направленных на адаптацию сосудистой системы матки к беременности, привел к нормализации показателей доплерометрии в концевых ветвях маточной артерии. У таких пациенток прогнозирование наступления беременности проводилось на основании показателей доплеровского картирования на фоне проведения комплекса мер прегравидарной подготовки. Более подробно о нормализации показателей доплерометрии на фоне прегравидарной терапии будет подробно изложено в следующем разделе диссертации.

Нами не было установлено существенных различий в частоте встречаемости нарушений кровотока в маточной артерии у пациенток как с наступившей, так и с ненаступившей беременностью: они были выявлены у 8,0% забеременевших пациенток и 9,6% незабеременевших пациенток. Изменения показателей доплерометрии чаще выявлялись в радиальных, артериях, проходящих в толще миометрия, в базальных артериях, кровоснабжающих одноименный слой эндометрия или концевых спиральных артериях, локализованных в функциональном слое эндометрия. Мы считали значимыми нарушения внутриматочной перфузии при повышении уголнезависимых показателей сосудистого сопротивления в 2 и более сосудах или сочетание повышения данных показателей в одном сосуде с отсутствием визуализации спиральных артерий, такого рода нарушения были выявлены у 79 (54,9%) пациенток. При таком подходе нами было установлено, что нарушения внутриматочной перфузии выявлялись у 65 (72,2%) пациенток с ненаступившей беременностью, тогда как при ее наступлении они были выявлены у меньшего числа пациенток у 14 (28,0%) ($\chi^2=25,6$, $p<0,001$) (Рисунок 5.14).

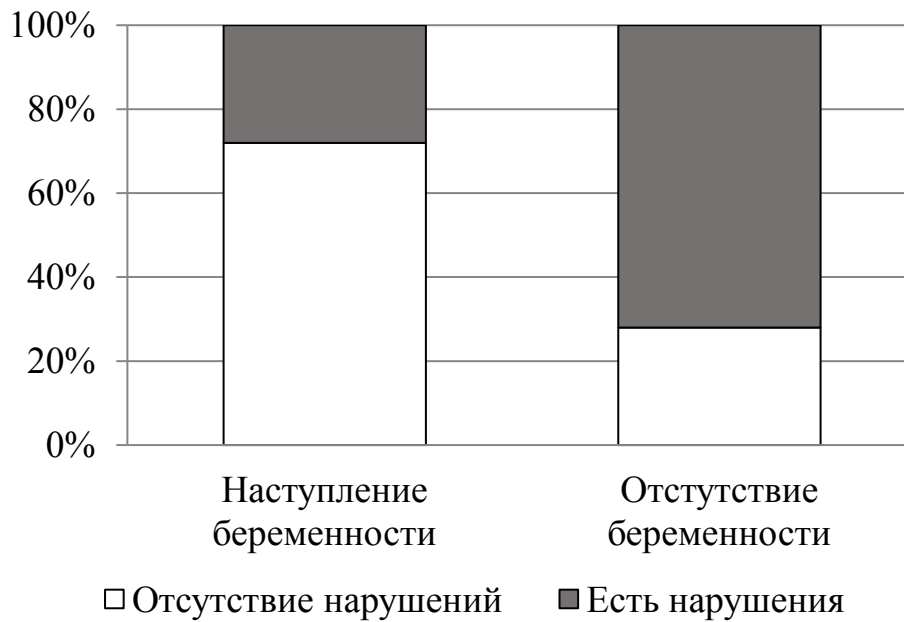


Рисунок 5.14 - Наличие значимых нарушений внутриматочной перфузии у пациенток с НГЭ и наступление беременности.

В литературе приводится значительное число исследований о возможности прогнозирования наступления беременности в программе ВРТ на основании толщины эндометрия и/или показателей доплерометрии в бассейне маточной артерии [12, 25, 74, 77, 234, 251, 264]. Однако, работы о связи параметров доплерометрии в маточных, радиальных, базальных и спиральных артериях и частотой наступления самопроизвольной беременности практически отсутствуют. Связано это с тем, что, безусловно, у одной и той же пациентки в разных менструальных циклах могут быть различные параметры внутриматочной перфузии. Мы проводили исследование только во время овуляторного менструального цикла при визуализации желтого тела в яичнике, что нивелирует возможное снижение внутриматочной перфузии в ановуляторных циклах. У пациенток с ненаступившей беременностью нарушения субэндометриального и эндометриального кровотока были зарегистрированы чаще, чем у пациенток с наступлением самопроизвольной беременности. В настоящее время не подвергается сомнению, что плацентация и дальнейшее развитие плодного яйца невозможны без активного кровоснабжения эндометрия и подлежащего миометрия в зоне имплантации. В связи с этим мы считаем, что исследование параметров внутриматочной перфузии целесообразно проводить пациенткам не только в программе ВРТ, но и пациенткам с бесплоди-

ем, после проведения хирургического лечения с целью восстановления естественной фертильности.

Далее для прогнозирования наступления беременности нами был проведен расчёт отношения шансов. Факторы, влияющие на восстановление естественной фертильности после проведенного хирургического лечения эндометриоз-ассоциированного бесплодия, приведены в Таблица 5.7

Таблица 5.7 - Факторы, влияющие на восстановление естественной фертильности после проведенного хирургического лечения эндометриоз-ассоциированного бесплодия

Факторы	Отношение шансов	95 % ДИ	p
Возраст более 32 лет	0,39	0,15-0,61	p<0,05
Первичное бесплодие	0,85	0,42-1,70	p>0,05
Роды в анамнезе	1,71	0,71-4,10	p>0,05
Длительность бесплодие более 3 лет	0,49	0,26-0,98	p<0,05
НГЭ III-IV стадии	1,07	0,53-2,13	p>0,05
Эндометриоидные кисты яичников (одно- или двусторонние)	1,15	0,60-2,22	p>0,05
Двусторонние эндометриоидные кисты яичников	0,30	0,09-0,94	p<0,05
Размер эндометриоидных кист более 6 см	0,38	0,16-0,96	p<0,05
Наличие ретроцервикального эндометриоза	0,65	0,30-1,42	p>0,05
Иссечение эндометриоидных гетеротопий	0,92	0,47-1,83	p>0,05
Уровень АМГ $\leq 0,6$ нг/мл	0,04	0,006-0,34	p<0,05
Уровень ингибина В ≤ 20 пг/мл	0,07	0,017-0,32	p<0,05
Уровень ФСГ ≥ 12 МЕ/мл	0,08	0,02-0,37	p<0,05
Число фолликулов ≤ 5	0,38	0,17-0,82	p<0,05
Отсутствие доминантного фолликула	0,16	0,08-0,34	p<0,05
Нарушение внутриматочной перфузии	0,15	0,07-0,32	p<0,05
Проведение прегравидарной подготовки	2,61	1,33-5,15	p<0,05

Было установлено, что шанс наступления беременности снижается при возрасте женщин более 32 лет, с длительностью infertility более 3 лет, с двусторонней локализацией эндометриоидных кист, при удалении эндометриоидных кист более 6 см, при сниженных показателях овариального резерва по данным УЗИ и гормонального исследования, при наличии нарушений внутриматочной

перфузии. Проведение прегравидарной подготовки повышало вероятность наступления беременности.

5.4. Роль прегравидарной подготовки у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием

На втором этапе исследования для определения роли прегравидарной подготовки в наступлении беременности было проведено разделение пациенток на две группы: в первой группе проводилась ПП ($n=56$), во второй ПП отсутствовала ($n=98$).

Нами были получены значимые различия в частоте наступления беременности в двух группах пациенток: самопроизвольно беременность наступила у 53,6% пациенток, получавших ПП и у 30,6% без проведения ПП (Рисунок 5.15).

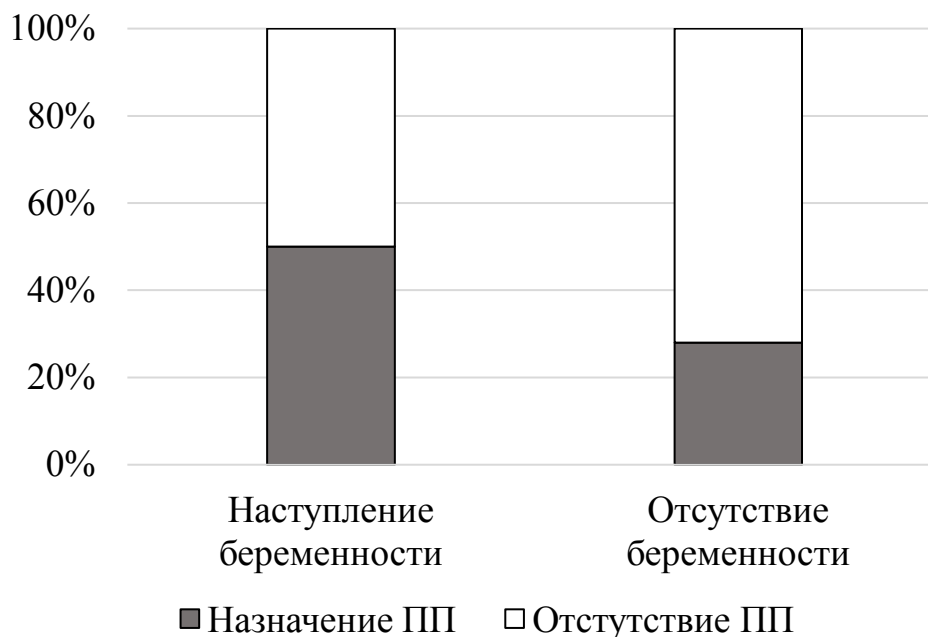


Рисунок 5.15 - Наступление беременности при назначении ПП

Основу прегравидарной подготовки составляли препараты прогестерона. Эффективность гестагенов для профилактики рецидивов эндометриоза показана во многих исследованиях [93, 156, 255]. По данным Булатовой Л.С. и др. при рецидивировании эндометриоза наблюдается изменение спектра рецепторов эстрадиола на фоне интактного рецепторного аппарата для прогестерона, это обуславливает клиническую эффективность терапии гестагенами для профилактики ре-

цидива заболевания, а также для наступления беременности [18]. Анализ схем ПП выявил, что добавление к гормональной терапии НМГ существенно повышает шанс наступления беременности. При комбинации гестагенов и НМГ беременность наступила в 80% наблюдений, в отсутствии назначения НМГ частота наступления беременности была в 1,8 раза ниже и составила 44%, данные различия статистически значимы ($p < 0,05$). Назначение диеногеста на первом этапе ПП эффективности не показало (беременность наступила у 20% пациенток после отмены диеногеста). Несмотря на то, что согласно исследованиям последних лет, назначение диеногеста после этапа хирургического лечения является эффективным у пациенток с эндометриозом, чаще он назначается при неполной элиминации всех очагов эндометриоза во время операции (например, в связи с высоким риском повреждения мочеточника, вскрытия просвета прямой кишки и мочевого пузыря при локализации эндометриоидных очагов в этих областях) [9, 26, 71, 128, 238, 244]. В нашем исследовании целью лапароскопии была элиминация всех очагов эндометриоза, в том числе проводилось иссечение эндометриоидных гетеротопий после предварительной диссекции мочеточника, «шейвинг» очагов, поражающих серозную оболочку прямой кишки и паравезикулярную область, возможно при таком хирургическом подходе дополнительная медикаментозная терапия, приводящая к гипоестрогении, пациенткам не требуется.

Более эффективной оказалась схема с включением в комплекс ПП препаратов НМГ (Рисунок 5.16).

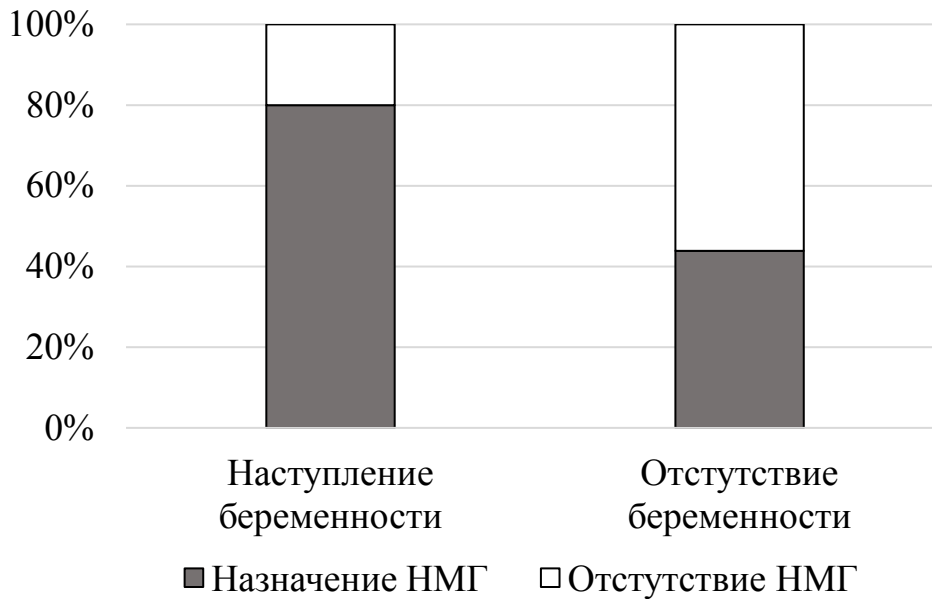


Рисунок 5.16 - Наступление беременности при назначении НМГ

Эффективность НМГ показана для улучшения имплантационных способностях у пациенток с привычным невынашиванием и поздними акушерскими осложнениями [17, 50, 51, 61]. У пациенток с бесплодием при доплерометрии выявляются такие патологические изменения, как увеличение резистентности кровотока как в маточных и радиальных, так и в спиральных и базальных сосудах [98]. У пациенток с бесплодием и эндометриоидными кистами индекс резистентности кровотока в маточных артериях значительно повышен ($IR \geq 0,8$) по сравнению с показателями кровотока у здоровых пациенток, что подтверждает возможную роль аномалий маточных артерий в эндометриоз-ассоциированном бесплодии. В связи с этим мы посчитали дополнить прегравидарную терапию комплексом препаратов с вазоактивным эффектом: ангиопротекторы, антиагреганты, корректоры микроциркуляции, НМГ. Нормализуя кровоток в маточных артериях, НМГ способствуют формированию достаточной для имплантации толщины эндометрия, а также оказывают благоприятное влияние на рецептивность эндометрия. Показано, что гепарин напрямую влияет на клетки трофобласта независимо от его антикоагулянтной активности, взаимодействуя с ключевыми белками и сигнальными путями. НМГ способствует дифференцировке и инвазии клеток трофобласта, эндотелиальному ангиогенезу, уменьшает апоптоз в эндометрии,

вызванный окислительным стрессом и снижает сосудистое сопротивление [136, 379]. Эффективность ПП может быть связана и с нормализацией свободно-радикальных показателей у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием.

Эффективность мероприятий, направленных на улучшение рецептивных свойств эндометрия, нами оценивалась и по показателям доплерометрии в маточных, радиальных, базальных и спиральных артериях. Основанием для назначения прегравидарной подготовки было в том числе и зарегистрированное снижение интенсивности кровоснабжения эндометрия. До начала прегравидарной подготовки показатели доплерометрии в маточной артерии и в ее концевых ветвях были оценены у всех 56 пациенток, на фоне проводимой терапии у 50 пациенток. У 6 пациенток беременность наступила в ближайший цикл проведения терапии, в связи с этим у них цветное доплеровское картирование проведено не было, но с учетом факта наступления беременности мы посчитали, что у прегравидарная подготовка у этих наблюдаемых привела к нормализации параметров перфузии. До начала прегравидарной терапии нарушения гемодинамики в бассейне маточной артерии на уровне миометрия были выявлены у 51 (91,1%) пациентки, на субэндометриальном уровне у 42 (75,0%), в эндометрии у 12 (21,4%). Проводимый комплекс мероприятий позволил улучшить интенсивность кровоснабжения субэндометриального слоя матки у 5 пациенток и эндометриального в 16 наблюдениях. То есть на фоне прегравидарной подготовки количество пациенток с достаточной перфузией эндометрия достоверно ($\chi^2=9,9$ $p=0,002$) увеличилось в 2,3 раза и составило 28 (50,0%) пациенток (Рисунок 5.17).

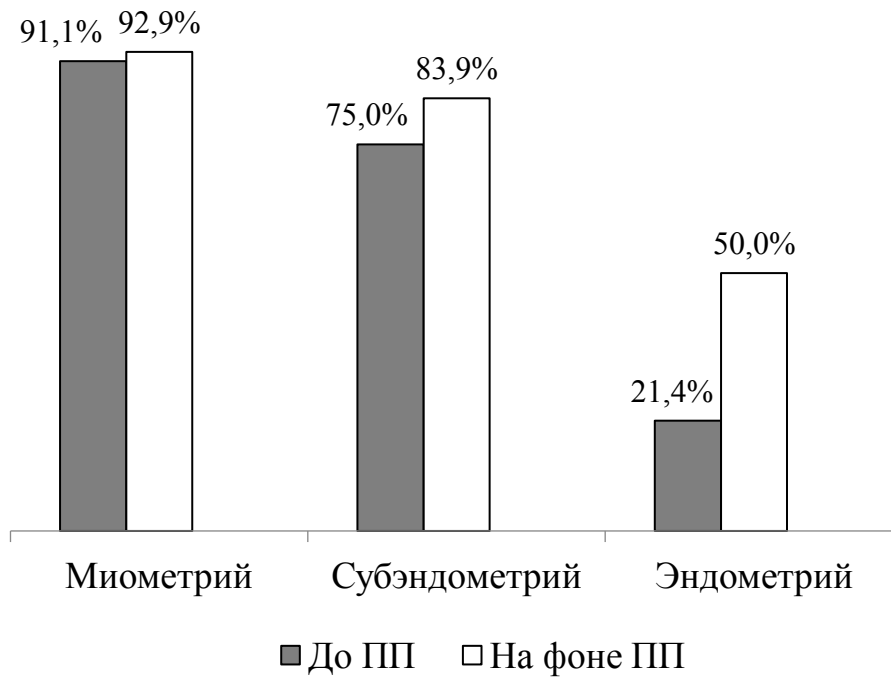


Рисунок 5.17 - Интенсивность внутриматочной перфузии у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием до и на фоне проведения прегравидарной подготовки

При анализе частоты гемодинамических нарушений в сосудах различного калибра, кровоснабжающих матку, было установлено, что уголнезависимые показатели сосудистого сопротивления в маточных и радиальных артериях у большинства пациенток с НГЭ были в пределах нормативных значений и до проведения прегравидарной подготовки и терапия не оказала существенного влияния на кровоток в данных сосудах. Повышение индекса резистентности в маточных артериях было выявлено до этапа терапии у 5 (8,9%) пациенток, на фоне у 4 (7,1%), в радиальных артериях у одинакового числа до и на фоне лечения – у 12 (21,4%). До начала комплекса мер, направленных на улучшение рецептивности эндометрия, в базальных артериях индекс резистентности был повышен у 37 (66,1%) пациенток, тогда как ПП снизила ($\chi^2=4,4$, $p<0,05$) число пациенток с этими нарушениями до 46,4% (26 пациенток). Снижение уголнезависимых показателей сосудистого сопротивления на уровне спиральных артерий произошло у 10 пациенток ($\chi^2=4,5$, $p<0,05$): до начала терапии повышение индекса резистентности выявлялось у 40 (71,4%) пациенток, на фоне у 29 (51,8%) (Рисунок 5.18).

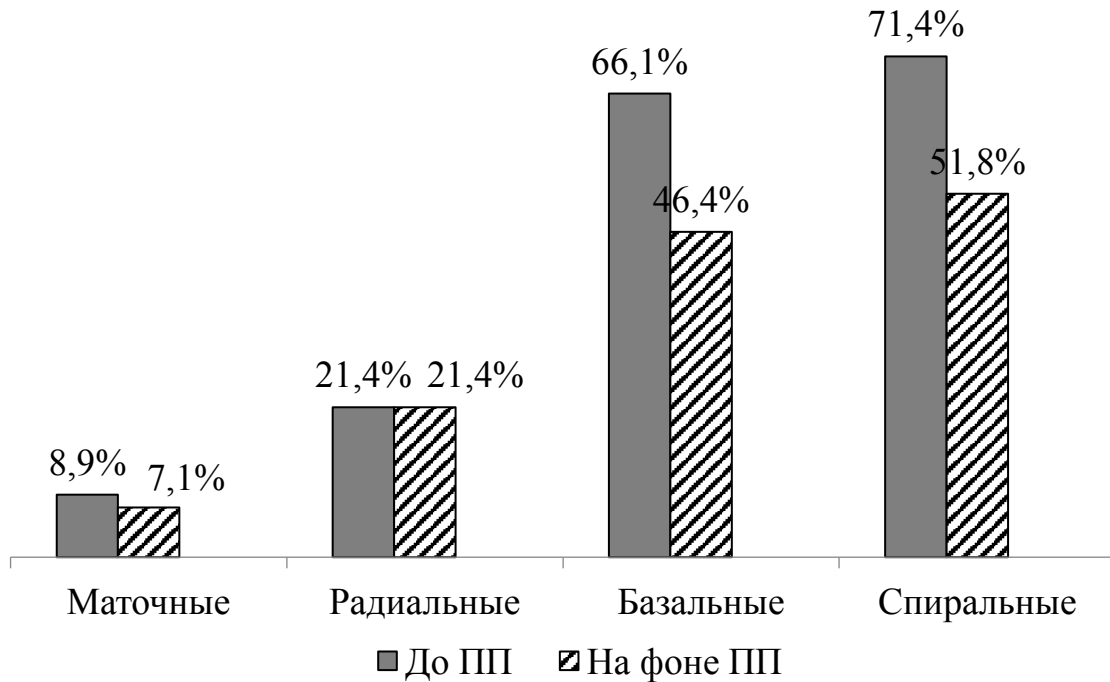


Рисунок 5.18 - Наличие значимых нарушений внутриматочной перфузии у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием до и на фоне проведения прегравидарной подготовки

В настоящее время не подвергается сомнению, что плацентация и дальнейшее развитие плодного яйца невозможны без активного кровоснабжения эндометрия и подлежащего миометрия в зоне имплантации. Допплерометрия маточных артерий является важнейшим показателем, позволяющим своевременно выявить и скорректировать патологические изменения кровотока в рамках прегравидарной подготовки, что в свою очередь способствует восстановлению естественной фертильности у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием. Об эффективности прегравидарной подготовки у пациенток с привычным невынашиванием беременности, неэффективными попытками ЭКО, с плацента-ассоциированными осложнениями течения беременности в анамнезе указывают и другие исследователи [17, 61, 64, 79, 80].

Таким образом, лечение эндометриоз-ассоциированного бесплодия требует сбалансированного подхода. Широкое распространение в рутинной клинической практике эндоскопических методов с использованием современных технических средств ознаменовало новый этап в лечении бесплодия. Важное значение в лечении эндометриоз-ассоциированном бесплодия является элиминация всех очагов

эндометриоза, а также бережное вылущивание эндометриоидных кист с сохранением овариального резерва. Такой подход способствует восстановлению свободно-радикального гомеостаза и наступлению беременности. Однако хирургическая операция сама по себе не решает всех проблем, связанных с эндометриозом, и поэтому существует необходимость в комбинированных вариантах консервативного и хирургического лечения. Пациенткам с длительным анамнезом бесплодия, с двусторонними эндометриомами яичников, с эндометриоидными кистами больших размеров (более 6 см), со сниженными показателями овариального резерва рекомендуется проведение ЭКО, а оперативное лечение является подготовительным этапом для уменьшения болевого синдрома и облегчения доступа к фолликулам во время пункции. Важное значение для повышения частоты наступления самопроизвольной беременности у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием имеет прегравидарная подготовка. Медикаментозная терапия должна осуществляться по индивидуально составленной программе с учетом возраста пациентки, показателей овариального резерва, распространенности эндометриоза, проведенного хирургического лечения. Эта программа обязательно должна включать терапию, направленную на адаптацию сосудистой системы матки к беременности. Взвешенный подход к алгоритму лечения бесплодной пары и своевременное применение высокотехнологичных методов способно как повысить эффективность лечения бесплодия в целом, так и уменьшить необходимость в дорогостоящих вспомогательных репродуктивных технологиях.

ГЛАВА 6. ЭКО У ПАЦИЕНТОК С ЭНДОМЕТРИОЗ-АССОЦИИРОВАННЫМ БЕСПЛОДИЕМ

6.1. Особенности процедуры ЭКО у пациенток с наружным генитальным эндометриозом (обзор литературы)

В предыдущей главе рассмотрены вопросы, касающиеся восстановления естественной фертильности у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием, определены предикторы наступления самопроизвольной беременности и показания к проведению ВРТ. В этой главе будут рассмотрены особенности ЭКО у пациенток с НГЭ.

Традиционно, показаниями к проведению к ЭКО у пациенток с эндометриозом являются двусторонняя непроходимость маточных труб (вследствие перенесенных ранее операций и/или ИППП или спаечного процесса при распространенном эндометриозе), снижение овариального резерва (вплоть до применения донорских программ), тяжелое мужское бесплодие, необходимость проведения предимплантационного скрининга на наличие генетически наследственных патологий [165, 181]. Несмотря на то, что ЭКО в последние годы стало «золотым стандартом» лечения тяжелых форм бесплодия, его применение бывает ограничено морально-этическими и религиозными нормами, материальными затратами, а также риском развития грозных осложнений, таких как синдром гиперстимуляции яичников, тромбоэмболические осложнения, внематочная беременность, перекрут придатков, внутрибрюшное кровотечение, гнойно-септические осложнения. Сложность для врача в выборе алгоритма ведения бесплодных женщин с эндометриозом возникают и в следствие противоречивых литературных данных относительно результатов ЭКО [68].

В мета-анализе 2002 года, ставшим уже классическим, было показано, что у пациенток с НГЭ по сравнению с ТПБ при ЭКО наблюдается уменьшение ответа яичника на введение индукторов овуляции, более низкий ответ яичников, снижение частоты имплантации и беременности, а при распространенным эндометриозе ухудшаются и исходы ЭКО [125]. В двух более поздних мета-анализах сообщает-

ся об одинаковых показателях рождаемости после ЭКО при эндометриозе I-II стадии и по сравнению с другими причинами бесплодия, тогда как у пациенток с умеренным/тяжелым эндометриозом результаты были хуже: отмечалось снижение количества полученных ооцитов, сниженные показатели имплантации и более низкий уровень рождаемости [202, 207]. Кроме того, Hamdan et al. обнаружили, что снижение частоты оплодотворения в большей степени выражены при эндометриозе I - II стадии эндометриоза, чем при III - IV степени распространенности заболевания [202]. Авторы объясняют данный феномен повышенной активностью эндометриоидных гетеротопий на I - II стадии заболевания, которая приводит к ухудшению качества ооцитов и снижает показатели оплодотворения.

Есть данные и противоречащие, приведенным выше мета-анализам. Так, в обзоре Barbosa et al. сообщается об отсутствии значительных различий в показателях живорождения и клинической беременности среди женщин с эндометриозом по сравнению с другими причинами бесплодия, кроме того, авторы пришли к выводу, что результаты ЭКО не зависели от тяжести эндометриоза [124]. По данным крупного ретроспективного когортного исследования, включавшего 22416 женщин, среднее количество полученных ооцитов было значительно меньшим у пациенток с НГЭ по сравнению с другими причинами бесплодия, но значимых различий в частоте клинической беременности, показателях живорождения и частоте выкидышей получено не было, при этом данные показатели были сопоставимы у женщин в возрасте до 35 лет и 35-40 лет [197]. Одним из объяснением противоречивости результатов разных авторов может быть включение в исследования пациенток с сочетанным бесплодием, когда помимо эндометриоза есть и другие причины снижения фертильности. Так согласно данным из регистра ASRM (Общества вспомогательных репродуктивных технологий) уровень рождаемости у женщин с изолированным эндометриозом был таким же или немного выше по сравнению с женщинами с другими причинами бесплодия, тогда как при сочетании эндометриоза и других факторов бесплодия коэффициент рождаемости был наименьшим [333].

В литературе широко обсуждается вопрос о влиянии эндометриом на результаты ЭКО [296, 308, 328, 368]. В трех мета-анализах сообщается, что у пациенток с эндометриоидными кистами яичников по сравнению с их отсутствием было получено меньше ооцитов и эмбрионов, при этом отсутствовали различия в частоте беременностей и уровни рождаемости [203, 357, 384]. Показаниями для удаления эндометриоидных кист перед проведением ЭКО считаются: подозрение на злокачественный процесс в яичнике (быстрый рост образования, данные УЗИ), выраженный болевой синдром, вероятность разрыва кисты во время беременности, отсутствие доступа к фолликулам при трансвагинальной пункции [296]. Согласно отечественным клиническим рекомендациям удаление эндометриоидных кист у пациенток с бесплодием показано при размере кист более 3 см, уменьшения риска инфекции, улучшения доступа к созревающим фолликулам при ЭКО, исключения отрицательного воздействия содержимого кисты на процесс овуляции и оплодотворения [109].

Существуют три мета-анализа, в которых оценивалось влияние резекции эндометриомы на исходы ЭКО. Tsoumprou et al. при анализе пяти исследований не продемонстрировали существенных различий в ответе яичников на стимуляцию суперовуляции и в частоте клинической беременности у пациенток, перенесших резекцию яичников по сравнению с отсутствием лечения [364]. Кокрановский метаанализ с участием 312 пациентов, подтвердили, что хирургическое лечение эндометриомы не дало никаких преимуществ для последующего цикла ЭКО [131]. В недавнем мета-анализе Nickkho-Amiry et al., включавшем 11 исследований, не было выявлено существенных различий в дозах введенных гонадотропинов, количестве полученных ооцитов, частоте клинической беременности и показателях рождаемости между прооперированными и непрооперированными пациентками [296]. К сожалению, ограничением приведенных исследований является отсутствие учета метода хирургического лечения (аспирация, абляция, частичное или полное удаление эндометриоидной кисты), размера и латеральности удаленных эндометриом, временного интервала после проведенной операции. Только в мета-анализе Nickkho-Amiry et al. сообщается о сходной частоте клинической беремен-

ности у пациенток, у которых проводилось удаление эндометриом в сравнении с аспирацией содержимого кисты [296]. Значение для наступления беременности после ЭКО имеет и временной интервал после проведенной операции. Так согласно исследованиям Nesbitt-Hawes et al. наибольшая частота беременностей наблюдалась через 12-13 месяцев после лапароскопии по поводу III-IV стадии эндометриоза [294]. AlKudmani et al. считают, что необходим 6-месячный интервал между оперативным лечением по поводу эндометриоза и проведением ЭКО [117]. Безусловно, наихудшие результаты ЭКО наблюдаются у пациенток с повторными операциями на яичниках. Согласно руководству ESHRE (2014), если у пациентки уже было оперативное лечение эндометриоидной кисты яичников в анамнезе, рекомендуется тщательно взвешивать возможные показания и противопоказания из-за высокой вероятности значительного снижения функции яичников после повторной операции [181].

Существенной проблемой является и риск прогрессирования эндометриоза во время стимуляции суперовуляции. В недавнем систематическом обзоре, опубликованном Somigliana et al. были сделаны выводы, что 1) ЭКО не усугубляет болевые симптомы, связанные с эндометриозом (доказательства среднего качества); 2) ЭКО не увеличивает риск рецидива эндометриоза (доказательства среднего качества); 3) ЭКО оказывает незначительное влияние на эндометриомы яичников (доказательства низкого качества), 4) при стимуляции яичников возможно прогрессирование глубокого инфильтративного эндометриоза (доказательства очень низкого качества) [344].

Снижение частоты имплантации и частоты клинической беременности у пациенток с НГЭ могут быть связаны с различными причинами. Для успешной имплантации требуются сложные взаимодействия и синхронность процессов, происходящих в эндометрии и развитии эмбриона. Эндометриоз оказывает влияние на качество ооцитов: считается, что ооциты, полученные у пациенток с эндометриозом характеризуются измененной морфологией и более низким количеством митохондрий, по сравнению с женщинами с другими причинами бесплодия [66, 99, 328]. Что касается качества эмбрионов, то исследование Boynukalin et al. пока-

зало значительное увеличение длительности ранних морфокинетических событий и клеточных циклов у эмбрионов, полученных у пациенток с эндометриозом по сравнению с контрольной группой, тогда как параметры, оцениваемые в более поздние сроки развития эмбрионов, были сходными [138]. Назаренко Т.А. и др. указывают, что у молодых пациенток с ранними нарушениями раннего эмбриогенеза, когда не менее чем в 2 попытках лечения не оказалось эмбрионов, пригодных для переноса, эндометриоз яичников выявлялся в 14% наблюдений, авторы считают, что повторные операции на яичниках являются одним из факторов неудачных попыток ЭКО [59]. В нескольких исследованиях было показано, что эутопический эндометрий у женщин с эндометриозом имеет значительные биохимические и ультраструктурные отличия по сравнению со «здоровым» эндометрием, что может быть связано с изменениями в экспрессии генов интегрина α и β , HOXA10 и HOXA11 в лютеиновую фазу в эндометрии женщин с эндометриозом [40, 141, 143, 144, 304]. Кроме того, в эндометрии пациенток с эндометриозом отмечается аномальное образование пиноподий [143]. Поскольку эндометриоз является эстроген-зависимым заболеванием, разумно предположить, что высокий уровень стероидов на фоне стимуляции суперовуляции может в большей степени изменять экспрессию генов в эутопическом эндометрии пациенток с эндометриозом, что будет приводить к снижению рецептивности эндометрия [97]. Чрезмерное гормональное воздействие на эутопический эндометрий у пациенток с эндометриозом может быть нивелировано в протоколах с переносом витрифицированных эмбрионов [392]. В недавних исследованиях было показано увеличение частоты наступления клинической беременности у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием при переносе витрифицированных эмбрионов по сравнению с нативными циклами [137, 305].

В последние годы увеличилось количество работ, посвященных роли АФК и антиоксидантов в развитии и созревании ооцитов [127, 144, 194, 225, 338, 359]. В настоящее время предполагается, что АФК участвуют в созревании ооцитов. Ооцит содержится в премордиальном фолликуле, далее происходит созревание фолликулов в первичные, вторичные и антральные и зрелые фоллику-

лы. Процесс созревания ооцитов требует большого количества АТФ. Генерация АТФ митохондриальной цепью в процессе созревания ооцитов неизбежно приводит к образованию АФК. Однако в течение репродуктивной жизни лишь небольшая часть фолликулов, присутствующих при рождении в яичнике, завершает свой путь овуляцией, в то время как остальные подвергаются атрезии. Известно, что атрезия фолликулов вызвана апоптозом клеток гранулезы [268]. Апоптоз является клеточно-специфическим механизмом регресса клеток в антральном фолликуле без развития воспалительного ответа. Накопленные данные показывают, что в апоптозе клеток гранулезы решающую роль играют АФК, а избыточное образование АФК приводит к атрезии антрального фолликула [194]. АФК также участвуют в потере чувствительности клеток гранулезы к гормонам гонадотропина, что приводит к утрате стероидогенеза. Кроме того, АФК могут инициировать апоптоз в лютеиновых клетках и ингибировать функцию желтого тела в конце менструального цикла [225]. Важно отметить, что небольшие концентрации АФК необходимы для созревания ооцитов. Физиологическая концентрация АФК играет важную роль в разрыве фолликула и действует путем модуляции экспрессии генов, которые управляют процессами созревания ооцитов [194, 228]. Клинически было отмечено, что концентрация АФК в фолликулярной жидкости является решающим фактором успеха ЭКО. В обзоре Kala et al. сообщается о более высоком уровне АФК в фолликулярной жидкости у пациенток с наступившей беременностью по сравнению с отсутствием беременности [225]. Однако большинство исследований ограничиваются изучением влияния АФК на созревание и развитие ооцитов, не сосредотачиваясь на физиологической концентрации АФК, необходимой для нормального развития фолликула.

Известно, что избыток АФК приводит к развитию окислительного стресса. Защита клеток от избыточной выработки АФК осуществляется антиоксидантами, которые в высокой концентрации содержатся в фолликулярной жидкости. И АФК, и антиоксиданты необходимы для овуляции, и дисбаланс между ними может привести к нарушению процесса созревания ооцитов, а также к повреждению ДНК, цитоскелета или мембраны ооцита [194, 359]. Все антиоксиданты подразде-

ляются на ферментативные и неферментативные, причем ферментативная детоксикация более эффективна [228]. Ферментативные антиоксиданты состоят из СОД, каталазы, глутатионпероксидазы. Фермент супероксиддисмутаза катализируют дисмутацию супероксидного аниона в кислород и пероксид, который под действие каталазы превращается в кислород и воду. Глутатионпероксидаза превращает пероксиды в воду и спирт. Неферментативные антиоксиданты состоят из глутатиона, витамина С, таурина, гипотаурина, витамина Е, цинка, селена, бета-каротина и каротина. Важнейшим из неферментативных антиоксидантов является глутатион, который при ассоциации с глутатион-пероксидазой и глутатион-редуктазой отвечает за поддержание окислительно-восстановительного состояния в клетках. Витамин С (аскорбиновая кислота) является известным окислительно-восстановительным катализатором, который может уменьшить и нейтрализовать АФК. Витамин Е может непосредственно разрушать свободные радикалы, такие как пероксид и алкоксил ($\text{ROO} \bullet$), образующиеся во время перекисного окисления липидов.

Добавление к средам IVM ферментативных антиоксидантов, таких как СОД, каталаза и тиоредоксин, способствуют развитию ооцитов и эмбрионов у мышей, свиньи и крупного рогатого скота [228]. Ряд неферментативных антиоксидантов также защищает ооциты от повреждения АФК во время созревания ооцитов. Недавние сообщения показали, что в присутствии аланина и цистеамин в средах IVM улучшалось цитоплазматическое созревание ооцитов и развитие эмбрионов за счет увеличения синтеза глутатиона в экспериментах на свиньях [243, 246].

Данные фундаментальные исследования явились предпосылкой для изучения роли маркеров окислительного стресса в результатах ЭКО. Оптимальным и легкодоступным источником изучения биохимических показателей является фолликулярная жидкость, которая обеспечивает важную среду для развития ооцитов. Разумно предположить, что характеристики фолликулярной жидкости, окружающей ооцит, могут играть решающую роль в качестве ооцитов и их последующем потенциале для оплодотворения, развития эмбрионов и беременности.

Большинство клиник ЭКО во всем мире продолжает отбирать эмбрионы для переноса, основываясь на скорости их развития и морфологических особенностях, которые оцениваются с помощью световой микроскопии [361]. Однако, некоторые параметры свободно-радикального гомеостаза фолликулярной жидкости могут быть связаны с результатами ЭКО и быть использованы в качестве прогностических критериев развития и имплантационных способностей эмбриона.

Важнейшим этапом в результативности программы ЭКО является процесс оплодотворения ооцитов и отбор качественных эмбрионов. В первый день оценивают признаки оплодотворения, в эмбрионе оценивают наличие и количество пронуклеусов. На второй день начинается дробление эмбриона, оценивают количество бластомеров, форма и степень фрагментации. На третьи сутки эмбрион состоит из 7–9 бластомеров.

На третьи сутки выделяют четыре класса эмбрионов:

- тип А – эмбрион отличного качества без ануклеарных фрагментов;
- тип В – эмбрион среднего качества с фрагментацией <20%;
- тип С – эмбрион удовлетворительного качества с фрагментацией от 21% до 50%;
- тип D – эмбрион неудовлетворительного качества с фрагментацией >50% [16].

На четвертый день происходит компактизация, эмбрион находится на стадии морулы. На пятый день появляется полость внутри морулы, и эмбрион становится бластоцистой.

На пятый день эмбрионы находятся в стадии бластоцисты (Таблица 6.1).

Таблица 6.1 - Схема определения градации эмбрионов на стадии бластоцисты [16].

Оценка экспандирования	Статус экспандирования	Класс ВКМ/ТЭ*	ВКМ	ТЭ
6	Бластоциста после хэтчинга (бластоциста покинула лучистую оболочку)			
5	Бластоциста в процессе хэтчинга (ТЭ выступает через лучистую оболочку)			
4	Экспандированная бластоциста (объем бластоцеле больше эмбриона, лучистая оболочка истончается)	A	ВКМ явно выступает, легко различима, плотно расположенные компактные клетки	Равномерный слой мелких одинаковых клеток
3	Полная бластоциста (бластоцеле полностью выполняет эмбрион)	B	ВКМ выступает менее (есть компактные клетки большего размера, более рыхлые)	Меньше клеток с промежутками, слой прерывистый
2	Бластоциста (бластоцеле >50% объема эмбриона)	C	Небольшое количество видимых клеток ВКМ (сходные с ТЭ)	Большие клетки и немного мелких, слой прерывистый
1	Ранняя бластоциста (бластоцеле <50% объема эмбриона)	D	Нет видимых клеток или клетки дегенерированы и некротизированы	Распластаные клетки (большие, плоские, дегенеративные)

Прмечание: * Оценивается степень зрелости бластоцисты, внутриклеточная масса (ВКМ), трофобластический слой (ТЭ).

Физиологические уровни окислительно-восстановительных реакций могут иметь важное значение для эмбриогенеза. Избыток АФК вреден для эмбриона, так как он вызывает нарушение внутриклеточной среды и метаболизмом [208]. Сильный окислительный стресс может оказывать вредное воздействие на клеточную среду и как следствие приводить к нарушению клеточного роста у эмбрионов или

апоптозу, что приводит к фрагментации эмбрионов. Раннее развитие эмбрионов у млекопитающих после оплодотворения происходит путем дифференцировки основных систем органов в среде с низким содержанием кислорода [152]. Сообщалось о незначительном улучшении эмбриональной жизнеспособности в преимплантационном периоде при низких концентрациях кислорода у пациентов, перенесших ЭКО и ИКСИ. Более низкие концентрации кислорода в культуре эмбрионов свиней уменьшали содержание H_2O_2 и приводили к уменьшению фрагментации ДНК, что, таким образом, улучшало способность к развитию качественных эмбрионов [282]. На сегодняшний день доказано, что при низких (2-5%) концентрациях кислорода наблюдается ускоренное развитие эмбрионов [282].

АФК могут генерироваться эндогенно или экзогенно, но в любом случае они оказывают влияние на ооцит и эмбрион. Культуральные среды ЭКО могут быть экзогенным источником АФК, влияющим на ооциты и преимплантационный эмбрион. Harvey et al. было высказано предположение, что окислительно-восстановительные реакции влияют на активацию ооцитов, опосредованную сперматозоидами, активации эмбрионального генома и выходу эмбриона из *zona pellucida* [208]. Более высокий уровень АФК в первый день эмбрионального развития в культуральных средах был связан с задержкой эмбрионального развития, высокой фрагментацией и развитием морфологически аномальных бластоцист. Более низкие уровни АФК были связаны с более высокими показателями оплодотворения, что указывает на физиологическую значимость низких уровней АФК в культуральной среде.

В исследовании Nishihara et al. было показано снижение в фолликулярной жидкости уровня глутатиона и повышение маркера повреждения ДНК 8-OHdG при сниженных показателях оплодотворения и низком качестве эмбрионов [298]. Исследование Jana et al. продемонстрировало, значительное снижение общей антиоксидантной емкости (ОАЕ) в фолликулярной жидкости у пациенток с ооцитами плохого качества и с низким уровнем оплодотворения [221]. О положительной корреляции ОАЕ в фолликулярной жидкости с качеством эмбрионов сообщается и в исследованиях Pasqualotto et al. [309]. ОАЕ является суммарным показателем

активности как гидрофильных антиоксидантов, включая витамин С и глутатион, так и гидрофобных антиоксидантов, таких как витамин Е. Исследования Шестаковой М.А. и др. показали, что для успешного развития эмбриона необходим оптимальный уровень антиоксидантной защиты в фолликулярной жидкости: в их исследованиях было показано, что как окислительный, так и антиоксидантный стресс в фолликулярной жидкости приводит к снижению качества эмбрионов [106].

Результаты литературы о прогностической способности показателей окислительного стресса фолликулярной жидкости в отношении наступления беременности крайне противоречивы. Pasqualotto et al. продемонстрировали, что у пациенток с неэффективной попыткой ЭКО отмечались значительно более низкие уровни ПОЛ и ОАЕ по сравнению с женщинами, у кого беременность наступила [310]. По данным Singh et al. повышенные концентрации АФК, оксида азота, ПОЛ, кадмия и свинца наблюдались у женщин в отсутствии беременности в сравнении с беременными пациентками [338]. Напротив, работы da Broi et al. выявили более высокие уровни ОАЕ в фолликулярной жидкости женщин, которые не смогли забеременеть, предполагая, что окислительный стресс в этой микросреде связан с худшими исходами ИКСИ [145]. В исследовании Nishihara et al. не было выявлено корреляции антиоксидантного статуса и маркеров окислительного стресса между беременными и небеременными группами [298]. Разноречивые литературные данные в отношении показателей свободно-радикального гомеостаза в фолликулярной жидкости у беременных и небеременных пациенток могут быть связаны как с различными причинами бесплодия в когорте обследованных, так и с использованием различных схем стимуляции суперовуляции.

На сегодняшний день основными протоколами ЭКО являются: «длинный» протокол с а-ГнРГ, «супердлинный» протокол с а-ГнРГ, протокол с ант-ГнРГ и ЭКО в естественном цикле. Выбор определенного протокола зависит от возраста пациентки, гормонального статуса, количества антральных фолликулов, результата предыдущих попыток ЭКО [42]. Согласно клиническим рекомендациям 2019 года отсутствуют доказательства в различии эффективности протоколов с а-ГнРГ

и ант-ГнРГ в циклах ВРТ у пациенток с эндометриозом (уровень доказательности 1 А) [36]. Некоторым преимуществом могут обладать «супердлинные» протоколы с а-ГнРГ у пациенток с инфильтративными формами эндометриоза (уровень доказательности 1В) [200].

В последние годы увеличивается количество работ, изучающий уровень окислительного стресса при различных схемах ЭКО. Известно, что оксидативный стресс может развиваться под действием экзогенной гормональной стимуляции. При этом с увеличением дозы гонадотропинов наблюдается нарастание индекса окислительного стресса в фолликулярной жидкости [122]. Tulic et al. обнаружили разницу в концентрации маркеров окислительного стресса до и после стимуляции яичников, подчеркивая более высокую эффективность ЭКО без окислительного стресса после гормональной стимуляции [365]. Нарушение механизмов антиоксидантной защиты из-за избыточной продукции свободных радикалов в фолликулах или недостаточного количества эндогенных антиоксидантов может привести к снижению общей антиоксидантной способности, что может обуславливать низкое качество ооцитов [260].

С другой стороны, применение длинных протоколов с а-ГнРГ также сопряжено со сниженной ОАЕ фолликулярной жидкости [122, 158, 341]. Mathyk и соавт. было показано, что общая антиоксидантная активность фолликулярной жидкости значительно выше у пациенток, которые вступили в протокол с а-ГнРГ, по сравнению с теми, кто использовал протокол ЭКО с ант-ГнРГ [122]. При этом качество ооцитов и частота наступления беременности в обеих группах не различались, несмотря на более короткий срок стимуляции пациенток во втором случае. Авторы считают, что при использовании больших доз гонадотропинов может возникать оксидативный стресс. Уровень глутатионпероксидазы и количество полученных ооцитов были значительно выше у пациенток, вступивших в протокол с а-ГнРГ, что может быть связано со стимулирующим действием гонадотропинов на восстановленную форму глутатиона, который также обладает антиоксидантными свойствами и присутствует в клетках гранулезы на различных стадиях фолликулогенеза [360]. Напротив, в исследовании Celik et al. было показано, что

средние концентрации глутатионпероксидазы и глутатиона не различались в фолликулярной жидкости пациенток, которые вступили в протокол с а-ГнРГ, по сравнению с циклами с ант-ГнРГ [158]. Авторы это объясняют, тем, что гонадотропины оказывают стимулирующее действие на систему глутатиона, который присутствует в клетках гранулезы на различных стадиях фолликулогенеза. В группе с а-ГнРГ общее количество полученных фолликулов было значительно выше, также, как и зрелых ооцитов. Следовательно, средняя концентрация антиоксиданта может быть повышена на разных стадиях развития фолликула.

В последнее время появилось все больше публикаций о *проникновении анестетиков в фолликулярную жидкость* яичника и их пагубном влиянии на развитие будущего эмбриона. В связи с этим существует необходимость сокращения длительности фолликулярной пункции, с целью минимизировать количество анестетика, попавшего в фолликулярную жидкость. В исследовании Abou-Setta et al. было показано, что концентрация пропофола в сыворотке крови была значительно выше, чем в фолликулярной жидкости, а колебания его уровня в сыворотке не влияет на проникновение пропофола в фолликулярную жидкость [114]. На основе этого предполагается, что стенка фолликула или сама ткань яичника представляет своеобразный барьер для уравнивания уровня пропофола между сывороткой и фолликулярной жидкостью. Однако Christiaens et al. сообщают, что нет никакой корреляции между уровнем пропофола в фолликулярной жидкости и уровнем пропофола в сыворотке крови [161].

Существуют ранее опубликованные данные Tatoni и Derupere о дозозависимым токсическим эффекте пропофола на скорость оплодотворения ооцитов у мышей. Было высказано предположение, что применение пропофола может быть связано с более низкими показателями оплодотворения по сравнению с другими методами анестезии, такими как крем EMLA® (2,5% лидокаина и 2,5% прилокаина) или севофлурана [198, 315]. По данным исследования Ben-Shlomo et al., применение пропофола не влияет на качество эмбрионов и частоту наступления беременности, по сравнению с тиопенталом натрия, однако существует тенденция к более низкой частоте имплантации эмбриона при длительном воздействии про-

пофолла во время фолликулярной пункции [129]. В этом исследовании также упоминается о более высокой концентрации пропофолла в первом фолликуле яичника, по сравнению с последним.

Ученые из Греции обнаружили, что частота наступления беременности была значительно выше у пациенток, анестезия которым проводилась с использованием изофлурана или закиси азота, по сравнению с теми, кто получал пропофол [272]. Они также выявили, что выбор анестетика может влиять на скорость оплодотворения ооцитов. Женщины, которым выполняли процедуру ЭКО с использованием севофлурана имели значительно более высокие показатели оплодотворения по сравнению с теми, кто получал пропофол или тиопентал натрия. Alsalili et al. сравнили результаты различных концентраций пропофолла (от 0,1 до 10 мкг/мл) на способность созревания ооцитов *in vitro* [118]. Значительное снижение созревания ооцитов было при использовании концентрации 10 мкг/мл в течение 30 минут. При этом даже после длительного воздействия высокой концентрацией пропофолла зрелые ооциты имели одинаковую скорость оплодотворения.

В последние годы появились работы, изучающие влияние летучих анестетиков на антиоксидантную систему различных тканей. По данным Turkan et al. в легких крыс отмечалось увеличение малонового диальдегида при воздействии севофлурана, однако значимых различий в концентрации ферментативных антиоксидантов в печени, почках, и мозге крыс выявлено не было [366]. Исследование Doğru et al. показало, что вдыхание севофлурана не влияет на маркеры окислительного стресса в репродуктивных тканях самок крыс [386]. Эти результаты свидетельствуют о том, что севофлуран является безопасным анестетиком у женщин репродуктивного возраста. Оптимальный по характеристике анестетик должен обеспечивать хороший хирургический эффект, обладать минимальными побочными эффектами, коротким временем восстановления и по возможности не оказывать влияние на эффективность ЭКО. К сожалению, данных о влиянии анестетика на показатели свободно-радикального гомеостаза в фолликулярной жидкости в литературе отсутствуют.

В течение последних нескольких лет активно проводится изучение *показателей окислительного стресса в фолликулярной жидкости у пациенток с НГЭ*. Однако литературные данные крайне противоречивы. Масс-спектроскопия протеомики фолликулярной жидкости у женщин с эндометриозом указывает на повышенный уровень окислительного стресса [321]. В исследовании Song et al. было установлено, что в фолликулярной жидкости у пациенток с НГЭ по сравнению с его отсутствием уровень AOPP (advanced oxidation protein products) значительно повышен [347]. AOPP являются маркером опосредованного окислением повреждения белка. При повышенном уровне AOPP происходит задержка созревания ооцитов и дальнейшего развития эмбриона [204]. AOPP также могут нарушать функциональную способность клеток гранулезы к выработке прогестерона. Из-за отсутствия достаточной гормональной поддержки прогестероном созревание ооцитов прекращается, что негативно влияет на последующие процессы, включая оплодотворение, образование бластоцисты и развитие эмбрионов [347]. AOPP исследовали в фолликулярной жидкости и Da Broi et al., однако по их данным повышение этого маркера повреждения белка у больных эндометриозом не наблюдалось. Авторы указывают на увеличение концентрации маркера повреждения ДНК - 8-OHdG в фолликулярной жидкости и сыворотке крови у пациенток с малыми формами эндометриоза, на основании чего они приходят к выводу, что системный и фолликулярный окислительный стресс также присутствует у женщин с эндометриозом I-II стадии и могут быть причиной бесплодия [142]. Аналогичные данные о повышении 8-OHdG в фолликулярной жидкости у женщин с эндометриозом I-II и III-IV стадий по сравнению с его отсутствием продемонстрировано и в других исследованиях [217, 367]. В фолликулярной жидкости больных эндометриозом выявляются и повышенные концентрации маркеров повреждения липидов (повышение ПОЛ) [338].

В нескольких исследованиях в фолликулярной жидкости больных эндометриозом проводилось изучение уровня антиоксидантов. Работы Da Broi et al., Huang et al., Várnagy et al., Singh et al. показали снижение OAE фолликулярной жидкости у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием по сравне-

нию с другими причинами бесплодия [142, 213, 338, 367]. Кроме того, имеются указание на снижение в фолликулярной жидкости уровня ферментативных антиоксидантов (СОД, каталазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы) и неферментативных антиоксидантов (витамины А, С, Е) при эндометриозе в сравнении с ТПБ [338].

Для доказательства зависимости качества ооцитов и эмбрионов от параметров фолликулярной жидкости проводились исследования на ооцитах животных. Ооциты животных используются из-за этического запрета на исследования, которые могли бы целенаправленно повредить ооциты человека. Показано, что при инкубации ооцитов второго мейотического деления крупного рогатого скота и мыши в фолликулярной жидкости пациенток с НГЭ наблюдалось существенное смещение хромосом и веретена по сравнению с использованием фолликулярной жидкости здоровых доноров [271]. В исследовании Hamdan et al. было показано, что в фолликулярной жидкости при эндометриозе наблюдалась повышенная продукция АФК, которая приводила к повреждению ДНК в ооците мыши, тогда как в отсутствии эндометриоза таких изменений не отмечалось [204]. В литературе высказано предположение, что если повышенная продукция АФК и / или более низкая антиоксидантная активность ответственна за повреждение, нанесенное гаметам и эмбрионам, инкубированным в фолликулярной жидкости пациенток с эндометриозом, то добавление антиоксидантов в фолликулярную жидкость инкубационную среду должно снизить скорость повреждения гамет и эмбрионов. Показано, что при добавлении в фолликулярную жидкость пациенток с НГЭ антиоксидантов *N*-ацетилцистеина или *L*-карнитина снижало частоту хромосомных и веретенообразных аномалий в ооцитах мыши и быка [195, 267].

Несмотря на то, что большинство исследователей указывают на повышенный окислительный стресс в фолликулярной жидкости пациенток с НГЭ, однако есть и противоречивые данные. Так в работе Nakagawa et al. повышения показателей общего окислительного стресса в фолликулярной жидкости между пациентами с односторонней эндометриомой и здоровыми пациентами выявлено не было [288]. Кроме того, в работах одних и тех же авторов нередко изучаются несколько

маркеров окислительного стресса, авторы делают выводы о нарушениях окислительно-восстановительного баланса в фолликулярной жидкости только на изменении одного-двух параметров, тогда как остальные показатели не отличаются по сравнению с пациентками с другими причинами бесплодия или даже регистрируются изменения в сторону увеличения антиоксидантов. Все это является предпосылкой к тому, что нельзя рассматривать маркеры окислительного стресса по отдельности, а должно проводиться изучение антиоксидантного и прооксидантного профиля, который позволит оценить уровень окислительного стресса в разных звеньях свободно-радикального гомеостаза фолликулярной жидкости.

Таким образом, по литературным данным ЭКО у пациенток с эндометриозом характеризуется меньшим количеством полученных ооцитов и более низкими показателями оплодотворения и имплантации. Однозначных выводов о частоте наступления беременности после ЭКО по поводу эндометриоз-ассоциированного бесплодия на основании анализа литературы сделать нельзя. Ключевая гипотеза, которая будет рассмотрена в этой главе, заключается в том, что показатели качества эмбрионов и частота наступления беременности во многом определяются микроокружением ооцита, а нарушения свободно-радикального гомеостаза фолликулярной жидкости могут быть причиной бесплодия. Кроме того, необходимы исследования для выявления других факторов, которые могут влиять на уровень оксидативного стресса в фолликулярной жидкости. Для изучения фолликулярной жидкости были использованы оригинальные методики, которые позволили оценивать не только отдельные маркеры окислительного стресса, а использовать комплексный подход с изучением свободно-радикального профиля [73].

6.2. Дизайн исследования. Материалы и методы исследования

В исследование было включено 153 пациентки с верифицированной причиной бесплодия, которым было проведено ЭКО. Исследование проводилось в 2 этапа. Дизайн исследования приведен в

Таблица 6.2.

Таблица 6.2 - Дизайн исследования

Этап работы	Задача исследования	Группы исследований	Количество наблюдений
Ретроспективный	Определение эффективности программы ЭКО	НГЭ	50
		ТПБ	52
Проспективный	Изучение свободно-радикального гомеостаза фолликулярной жидкости	НГЭ	51

В первый этап (ретроспективный) были включены 102 пациентки с НГЭ и ТПБ. На первом этапе были сравнены дозы вводимых гонадотропинов, количество полученных ооцитов и оценена эффективность программы ЭКО по частоте наступления беременности на перенос эмбриона. Исход беременности при оценке эффективности лечения не учитывался. Для исключения влияния протокола стимуляции суперовуляции на исследуемые параметры в исследование включались только пациентки с короткой схемой стимуляции с применением ант-ГнРГ. Все пациентки были разделены на две группы в зависимости от выявленного генеза бесплодия. В первую группу были объединены пациентки с НГЭ ($n=50$), во вторую - с ТПБ ($n=52$).

На втором этапе (проспективном) проводилось изучение показателей свободно-радикального гомеостаза фолликулярной жидкости у 51 пациентки, а также влияние на эти показатели протокола стимуляции суперовуляции и используемого анестетика. Критерием исключения пациенток из исследования явилось применение донорских программ ооцитов.

Стимуляция суперовуляции осуществлялась по длинному, короткому протоколу или в естественном цикле. По длинному протоколу ЭКО с 21-го дня менструального цикла (с середины лютеиновой фазы) назначались ежедневные инъекции в дозе 0.5 мг. Начиная со 2-3 дня наступившей менструации, к терапии до-

бавляли инъекции гонадотропинов в суточной дозе 225-450 МЕ. Дозы вводимых гонадотропинов подбирались индивидуально в зависимости от возраста пациентки, показателей овариального резерва и эффективности предыдущих попыток ЭКО. После визуализации при ультразвуковом исследовании не менее 2 фолликулов диаметром более 18 мм вводили 10 000 ЕД рекомбинантного ХГЧ, а через 36 часов проводили трансвагинальную пункцию фолликулов яичника. В коротком протоколе ЭКО препараты рекомбинантного ФСГ вводили со 2-3 дня менструального цикла, по достижению доминантным фолликулом диаметра 14 мм к терапии добавляли ант-ГнРГ. При экстракорпоральном оплодотворении в естественном цикле гормональная стимуляция не проводилась. Введение ХГЧ и пункция фолликулов в коротких протоколах и в естественном цикле проводились аналогично длинному протоколу.

Трансвагинальная пункция 1-2 яйцеклеток осуществлялась без применения анестезии. Получение большего количества ооцитов проводилось с использованием внутривенного анестетика - пропофола или ингаляционного анестетика – севофлурана. Пропофол (2,6 – диизопропилфенол), представляет собой эффективный внутривенный анестетик, который замедляет закрытие канала в ГАМК-рецепторе, потенцируя гамма-аминомасляную кислоту (ГАМК), которая является важнейшим тормозным медиатором в центральной нервной системе. Севофлуран ((1,1,1,3,3,3 – гексафтор-2-(фторметокси)-пропил)) является средством для ингаляционного наркоза, его механизм действия заключается в усилении активности ингибирующих постсинаптических каналов (ГАМК и глицин) и ингибировании активности возбуждающих синаптических каналов (*N*-метил-D-аспартат (NMDA), никотиновый ацетилхолин, серотонин и глутамат) в ЦНС.

При оценке эмбрионов на 3 сутки использовали численно-буквенную классификацию, при этом выделяли эмбрионы «хорошего» качества (А), «среднего» качества (В) и «плохого» качества (С). Эмбрионы переходного качества, у которых невозможно точно определить степень фрагментации, обозначались как АВ, ВС, СВ и т.д. На 5-е сутки культивирования оценка степени

зрелости бластоцист проводилась на основе их размера, состояния внутриклеточной массы и степени зрелости трофобласта. Бластоцисты хорошего качества считались размером 3–5, с плотной упаковкой внутриклеточной массой и содержащих однослойный трофобласт.

Для оценки уровня окислительного стресса в фолликуле, использовали методику кинетической хемилюминесценции [73].

Типичная кривая хемилюминесценции при исследовании антиоксидантных свойств фолликулярной жидкости фолликулярной жидкости представлена на Рисунок 6.1.

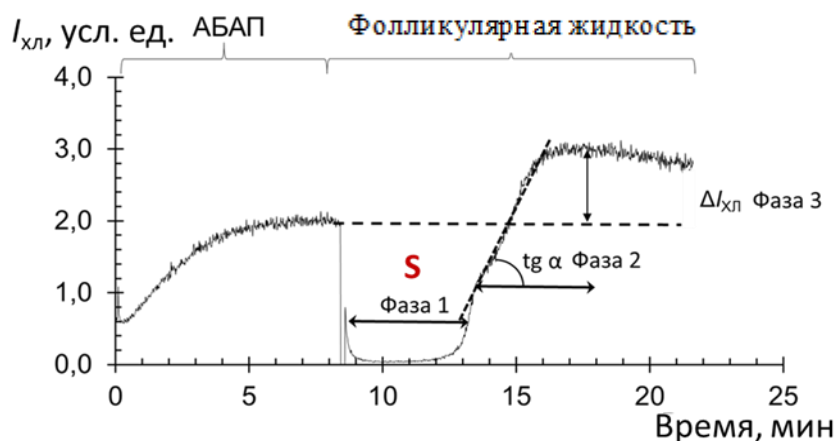


Рисунок 6.1 - Типичная кривая хемилюминесценции при исследовании антиоксидантных свойств фолликулярной жидкости. I_0 – начальный уровень стационарного свечения (до внесения исследуемого образца фолликулярной жидкости); S – площадь подавляемого свечения за счет действия антиоксидантов; I – уровень стационарного свечения после израсходования антиоксидантов образца; $\Delta I = I - I_0$ – разность между уровнем свечения после внесения образца и начального уровня стационарного свечения.

На хемилюминограмме антиоксидантного профиля фолликулярной жидкости оценивались два параметра: площадь подавления свечения S , отражающее действие сильных антиоксидантов фолликулярной жидкости мочевой кислоты и аскорбата, и прирост стационарного уровня, вызванный прооксидантной активностью альбумина за счет реакций единственной тиоловой группы. Параметр ΔI характеризовал уровень окислительной модификации альбумина: чем сильнее было выражено окисление альбумина, тем меньшим было значение ΔI .

Кривая хемилюминесценции при исследовании прооксидантных свойств фолликулярной жидкости представлена на Рисунок 6.2.

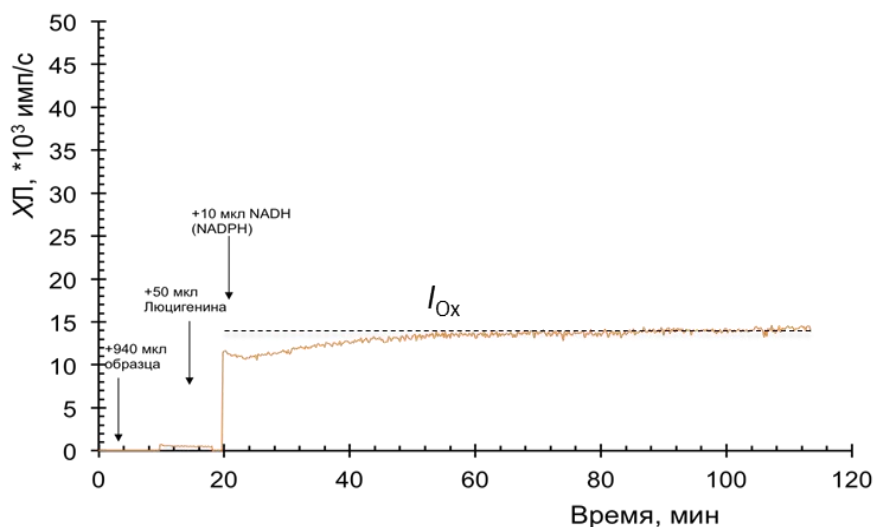


Рисунок 6.2 - Типичная кривая хемилюминесценции при исследовании прооксидантных свойств фолликулярной жидкости. $I_{сп}$ – спонтанная хемилюминесценция фолликулярной жидкости; $I_{люц}$ – хемилюминесценция после внесения ХЛ-зонда (люцигенина); $I_{Ох}$ – хемилюминесценция после внесения НАДН (активность прооксидантных ферментов).

На кинетических кривых, характеризующих активность прооксидантных ферментов фолликулярной жидкости, измеряли параметр $I_{Ох}$: при этом учитывали, что чем активнее действие ксантиноксидазы, тем выше было значение $I_{Ох}$.

Клиническая характеристика пациенток, включенных в первый этап исследования (Таблица 6.3).

Таблица 6.3 - Клиническая характеристика пациенток, включенных в первый этап исследования

Параметр	НГЭ (n=50)	ТПБ (n=52)	p
Возраст, лет	37,6 ± 0,5	37,8 ± 1,2	p>0,05
Количество пациенток с первичным бесплодием	18 (36,0%)	20 (38,5%)	p>0,05
Количество пациенток с родами в анамнезе	14 (28,0%)	14 (26,9%)	p>0,05
Уровень АМГ, нг/мл	2,98 ± 1,86	2,63 ± 2,79	p>0,05
Уровень ФСГ, МЕ/мл	8 ± 3,6	7,5 ± 2,9	p>0,05
Количество пациенток с первой предстоящей попыткой ЭКО	31 (62,0%)	35 (67,3%)	p>0,05

Средний возраст пациенток с НГЭ ($n=50$) составил $37,6 \pm 0,5$ лет, из них первичное бесплодие было диагностировано у 18 обследованных, вторичное бесплодие — у 32. При анализе акушерского анамнеза было установлено, что среди пациенток, страдающих эндометриоз-ассоциированным бесплодием у 18 пациенток беременность отсутствовала, у 14 наблюдаемых отмечены роды через естественные родовые пути, либо путем операции кесарева сечения, у 4 пациенток были аборт в анамнезе. Длительность бесплодия варьировала от 1 до 8 лет, при этом срок инфертильности менее 3 лет был у 18 пациенток, более 3 лет у 31 наблюдаемой. Анализ гинекологического анамнеза вновь показал неоправданно завышенную частоту воспалительных заболеваний половых путей, которая выявлялась у 15 пациенток, кроме того из гинекологических заболеваний выявлялась миома матки у 9 больных, фоновые заболевания шейки матки у 3 обследованных, гиперпластические процессы эндометрия у 2 пациенток, у 18 пациенток отсутствуют указания на перенесенные гинекологические заболевания. Распространенность эндометриоза, оцененная по классификации американского общества фертильности (1996г.), соответствовала I–II стадии у 24 пациенток, III–IV стадии – у 26. Во время ранее перенесенных оперативных вмешательств 18 пациенткам выполнялась резекция яичников по поводу одно- или двусторонних эндометриоидных кист, у 9 женщин была произведена тубэктомия в связи с выраженным вследствие эндометриоза спаечным процессом в малом тазу с вовлечением маточных труб. Снижение показателей овариального резерва на основании уменьшения уровня АМГ менее 1,0 нг/мл выявлялось у 10 пациенток, повышения уровня ФСГ более 10 МЕ/л у 15 наблюдаемых, определения числа антральных фолликулов менее 5 у 29 пациенток. При этом средний уровень АМГ составил $2,98 \pm 1,86$ нг/мл и ФСГ $8 \pm 3,6$ МЕ/мл. Первая попытка ЭКО была проведена 31 пациентке, у остальных данная попытка была повторной.

Средний возраст пациенток с ТПБ ($n=52$) составил $37,8 \pm 1,2$ года. Из них первичное бесплодие было выявлено у 20 женщин, вторичное бесплодие - у 32. Длительность бесплодия менее 3 лет была зарегистрирована у 17 пациенток, у

остальных женщин неэффективные попытки зачатия были в течение 3 и более лет. Из 32 пациенток, имевших в анамнезе беременность: самопроизвольные или оперативные роды были отмечены у 14 пациенток, внематочная беременность была у 24 пациенток, искусственный аборт по желанию пациентки был произведен в 12 наблюдениях, самопроизвольное прерывание беременности было у 3 обследованных. У 32 пациенток группы ТПБ гинекологический анамнез был отягощен перенесенным острым воспалением придатков, причиной которой была урогенитальная инфекция, у 5 пациенток производились гистероскопии с раздельным диагностическим выскабливанием по поводу гиперпластических процессов эндометрия, у 4 пациенток была выявлена патология шейки матки. Отсутствие указаний на перенесенные гинекологические заболевания в анамнезе была выявлено у 8 пациенток. Оперативные вмешательства на органах малого таза в объеме резекции яичников по поводу доброкачественных опухолей (за исключением эндометриоидных кист) проводились 5 наблюдаемым и удаления маточных труб 20 пациенткам. Снижение уровня АМГ менее 1 нг/мл было диагностировано у 11 женщин, повышение ФСГ более 10 МЕ/л у 9 обследованных. По данным трансвагинальной эхографии менее 5 антральных фолликулов в срезе яичника визуализировалось у 14 пациенток. При этом средний уровень АМГ составил $2,63 \pm 2,79$ нг/мл и ФСГ $7,5 \pm 2,9$ МЕ/мл. Первая попытка ЭКО была проведена 35 пациенткам, повторная – 27.

Клиническая характеристика пациенток, включенных во второй этап исследования

Средний возраст пациенток с НГЭ ($n=51$) составил $37,2 \pm 5,6$ лет, из них первичное бесплодие было диагностировано у 32 обследованных, вторичное бесплодие — у 19. Средний уровень АМГ составил $1,87 \pm 2,29$ нг/мл и ФСГ $5,5 \pm 2,18$ МЕ/мл, более 5 антральных фолликулов в одном срезе было выявлено у 32 пациенток. Первая попытка ЭКО была проведена 28 пациенткам, у остальных данная попытка была повторной. Схема стимуляции суперовуляции с применением антагониста ГнРГ была проведена 31 пациенткам, с а-ГнРГ 17 пациенткам, без стимуляции —

3. Общая доза введенных гонадотропинов составила 2190 ± 98 МЕ/мл. (Таблица 6.4).

Таблица 6.4 - Клиническая характеристика пациенток, включенных во второй этап исследования

Возраст, лет	$37,18 \pm 5,6$
Количество пациенток с первичным бесплодием	32 (62,7%)
Уровень АМГ, нг/мл	$1,87 \pm 2,29$
Уровень ФСГ, мЕд/л	$5,5 \pm 2,18$
Схема стимуляции суперовуляции: с ант-ГнРГ с а-ГнРГ без стимуляции	$n = 31$ (60,8%) $n = 17$ (33,3%) $n = 3$ (5,8%)
Общая доза рФСГ, МЕ	2190 ± 98
Используемый анестетик: севофлуран пропофол без анестезии	$n = 20$ (39,2%) $n = 21$ (1,2%) $n = 2$ (3,9%)
Количество полученных ооцитов: 1–3 4–9 10 и более	$n = 24$ (47,1%) $n = 11$ (21,6%) $n = 16$ (31,4%)
Частота наступления беременности (на перенос эмбриона)	45,1%

Без анестезии трансвагинальная пункция фолликулов проводилась 10 пациенткам, с применением анестетиков 41 пациентке (из них ингаляционная анестезия с применением севофлурана у 20, внутривенная анестезия с применением пропофола у 21). От 1-3 ооцитов было получено у 24 пациенток, в диапазоне 4-9 ооцитов у 11 и более 10 яйцеклеток у 16. Качество эмбрионов, оцененное по A. Van Steirterghem (1995) на 3-й день развития и по D.Gardner (1999) на 5-й день развития соответствовало высокому у 15 пациенток. Беременность наступила у 23 пациенток.

6.3.Эффективность ЭКО у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием

Анализ эффективности настоящей попытки ЭКО (Таблица 6.4) выявил отсутствие значимых различий в частоте наступления беременности, рассчитыва-

емой на перенос эмбриона, у пациенток с НГЭ и ТПБ (40,4% и 38,0% соответственно). Известно, что результативность ЭКО во многом определяется возрастом пациентки, состоянием овариального резерва яичников, количеством полученных ооцитов и качеством эмбрионов. Для исключения влияния протокола стимуляции суперовуляции на исследуемые параметры в исследование включались только пациентки с короткой схемой стимуляции с применением ант-ГнРГ. Возраст и показатели овариального резерва у пациенток двух изучаемых групп также были схожими (Таблица 6.3). Следовательно, можно предположить, что ответ яичников на стимуляцию в цикле ЭКО и качество эмбрионов определялись генезом бесплодия включенных в исследование пациенток. В настоящем исследовании был выявлен существенно более бедный ответ яичников в протоколе ЭКО у пациенток с НГЭ по сравнению с ТПБ: при НГЭ было получено $4,6 \pm 2,23$ ооцита, при ТПБ $10,67 \pm 7,5$ ооцитов ($p < 0,05$). При этом пациенткам с эндометриоз-ассоциированным бесплодием была введена достоверно ($p < 0,05$) большая доза рекомбинантного ФСГ в сравнении с группой ТПБ (2542 ± 98 МЕ и 2205 ± 115 МЕ соответственно). Несмотря на то, что количество пациенток, которым проводилась повторная попытка ЭКО в двух группах было сопоставимым, мы посчитали необходимым сравнить ответ яичников в первую или единственную попытку ЭКО. При первой стимуляции суперовуляции у пациенток с НГЭ было получено $6,7 \pm 4,8$ ооцитов, что достоверно меньше, чем у пациенток с ТПБ - $11,0 \pm 6,25$ ооцитов. То есть при эндометриозе наблюдается более бедный ответ яичников уже при первой стимуляции суперовуляции. Кроме того, при эндометриоз-ассоциированном бесплодии происходит уменьшение получаемых ооцитов в последующих попытках, тогда как у пациенток с ТПБ было получено схожее количество ооцитов в первой и последующей попытках (Таблица 6.5).

Таблица 6.5 - Сравнительная характеристика программы ЭКО у пациенток с различным генезом бесплодия

Параметр	НГЭ (<i>n</i> =50)	ТПБ (<i>n</i> =52)	<i>p</i>
Общая доза рФСГ, МЕ	2542 ± 98	2205 ± 115	<i>p</i> =0,01
Количество полученных ооцитов (в данную попытку)	4,6 ± 2,2	10,7 ± 7,5	<i>p</i> =0,04
Количество полученных ооцитов (в первую или единственную попытку)	6,7 ± 4,16	11 ± 6,25	<i>p</i> =0,05
Количество эмбрионов высокого качества, <i>n</i>	22	26	<i>p</i> >0,05
Количество пациенток, которым осуществлен перенос эмбриона, <i>n</i>	47	50	<i>p</i> >0,05
Частота наступления беременности (на перенос эмбриона)	40,4%	38,0%	<i>p</i> >0,05

По литературным данным считается, что циклы ЭКО у пациенток с НГЭ характеризуются более бедным ответом, однако показатели беременности после ЭКО, проводимого по поводу эндометриоз-ассоциированного бесплодия, у разных авторов разнятся. В мета-анализе 2002 года, было показано, что у пациенток с НГЭ по сравнению с ТПБ при ЭКО наблюдается уменьшение ответа яичника на введение индукторов овуляции, более низкий ответ яичников, снижение частоты имплантации и беременности, а при распространённым эндометриозе ухудшаются и исходы ЭКО [125]. В более позднем мета-анализе сообщается об одинаковых показателях рождаемости после ЭКО при эндометриозе по сравнению с другими причинами бесплодия, но при этом у пациенток с НГЭ отмечалось снижение количества полученных ооцитов, сниженные показатели имплантации и более низкая частота наступления беременности [202]. В обзоре Barbosa et al. сообщается об отсутствии значительных различий в показателях живорождения и клинической беременности среди женщин с эндометриозом по сравнению с другими причинами бесплодия [124]. По данным крупного ретроспективного когортного исследования, включавшего 22416 женщин, среднее количество полученных ооцитов было значительно меньшим у пациенток с НГЭ по сравнению с другими причинами бесплодия, но значимых различий в частоте клинической беременности, показателях живорождения и частоте выкидышей получено не было [197].

Эффективность ЭКО у пациенток с НГЭ в зависимости от распространенности процесса представлена на Рисунок 6.3.

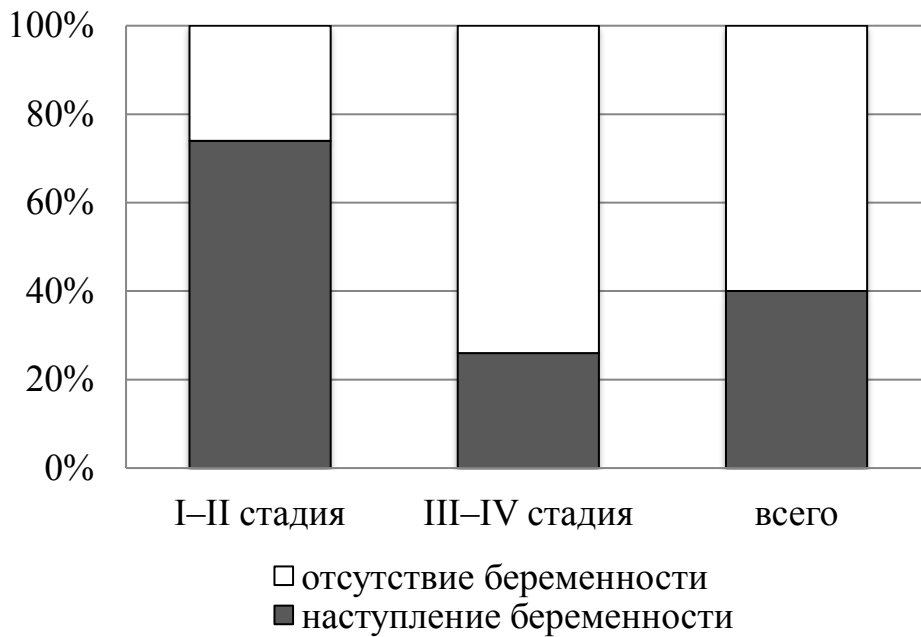


Рисунок 6.3 - Эффективность ЭКО у пациенток с различной стадией распространенности НГЭ

У пациенток с НГЭ I–II стадии частота наступления беременности составила 74%. При III–IV стадии распространенности эндометриоза эффективность ЭКО составила 26%.

Большинство исследователей сходятся во мнении, что результаты ЭКО при тяжелом эндометриозе хуже в сравнении с более ранними стадиями заболевания. В мета-анализе Harb et al. сообщается об одинаковых показателях рождаемости после ЭКО при эндометриозе I–II стадии по сравнению с другими причинами бесплодия, тогда как у пациенток с умеренным/тяжелым эндометриозом результаты были хуже: отмечалось снижение количества полученных ооцитов, сниженные показатели имплантации и более низкий уровень рождаемости [207]. Паскарь С.С. и др. констатируют, что у пациенток с НГЭ III–IV стадии после первого протокола ВРТ беременность не наступает [67]. Адамян Л.В. и др. в своем обзоре литературы, посвященном эндометриоз-ассоциированному бесплодию указывают, что даже получение полноценных здоровых ооцитов не обеспечивает 100% наступления беременности в программе ЭКО ввиду характерных для эндометриоз-

ассоциированного бесплодия системных гормональных, иммунных и рецептивных нарушений [1].

Нами было установлено, что из 18 пациенток с удалением эндометриом яичников в анамнезе беременность наступила у 8 (44,4%), то есть эффективность ЭКО у обследованных после резекции яичников при сохранном овариальном резерве была сопоставима с остальными пациентками. Следует отметить, что у большинства пациенток удаление эндометриом проводилось 3-10 лет назад.

Результаты трех мета-анализов свидетельствуют об отсутствии существенных различий в дозах введенных гонадотропинов, количестве полученных ооцитов, частоте клинической беременности и показателях рождаемости между пациентками, перенесшими операцию по поводу эндометриом и непрооперированными пациентками [131, 296, 364]. К сожалению, ограничением приведенных исследований является отсутствие учета временного интервала после проведенной операции. В настоящее время считается, хирургическое лечение эндометриоидных кист яичников не дает преимуществ для последующего цикла ЭКО и возможно проведение ЭКО на фоне эндометриом менее 3 см. Но следует ли из данных рекомендаций вывод, что выжидательная тактика рекомендуется всем женщинам с небольшими эндометриоидными кистами яичников вне зависимости от возраста и паритета? В предыдущих главах диссертации было показано, что эндометриома сама по себе негативно влияет на резерв яичника даже до операции и что некоторые молекулярные механизмы предполагают прямое токсическое воздействие эндометриом на паренхиму яичника и фолликулогенез. Поэтому длительное существование эндометриоидных кист может быть более пагубным для овариального резерва яичников, чем своевременное и бережное удаление эндометриом. Проведенное нами исследование показало, что удаление эндометриоидных кист у молодых пациенток и длительный срок после операции позволяет нивелировать как возможное негативное воздействие как самой эндометриоидной кисты, так и последствий, связанных с ее удалением. О целесообразности перерыва между лапароскопией по поводу эндометриоза и проведением ЭКО указывают и другие исследователи. Так согласно исследованиям Nesbitt-Hawes et al. наибольшая частота

беременностей наблюдалась через 12-13 месяцев после лапароскопии по поводу III-IV стадии эндометриоза [294]. AlKudmani et al. считают, что необходим 6-месячный интервал между оперативным лечением по поводу эндометриоза и проведением ЭКО [117].

Для успешной имплантации требуются сложные взаимодействия и синхронность процессов, происходящих в эндометрии и развитии эмбриона. В нашем исследовании качество эмбрионов у пациенток с НГЭ и ТПБ было сходным: эмбрионы хорошего качества были получены у 44% наблюдаемых в группе НГЭ и 50% в группе ТПБ. Наши данные согласуются с исследованием Boynukalin et al., которое показало, что параметры, оцениваемые в более поздние сроки развития эмбрионов, были сходными у пациенток с эндометриозом по сравнению с контрольной группой, а изменения происходят только на ранних стадиях клеточных циклов [138].

Нами было отмечено увеличение частоты наступления беременности у пациенток с НГЭ до 71% при переносе витрифицированных эмбрионов. В недавних исследованиях также было показано увеличение частоты наступления клинической беременности у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием при переносе витрифицированных эмбрионов по сравнению с нативными циклами [137, 305]. Эутопический эндометрий у женщин с эндометриозом имеет значительные биохимические и ультраструктурные отличия по сравнению со «здоровым» эндометрием [141, 143, 144, 304]. Поскольку эндометриоз является эстроген-зависимым заболеванием, разумно предположить, что высокий уровень стероидов на фоне стимуляции суперовуляции может еще в большей степени снижать рецептивные свойства эутопического эндометрия. В протоколах с переносом витрифицированных эмбрионов чрезмерное гормональное воздействие на эутопический эндометрий у пациенток с эндометриозом было нивелировано, что привело к значительному увеличению результативности ЭКО. С другой стороны, основой любого криоцикла является подготовка эндометрия к имплантации (гормональная, применение вазоактивных препаратов), по сути пациенткам проводилась прегравидарная подготовка, то есть увеличение эффективности криопопытки

могло быть связано и с улучшением имплантационных свойств эндометрия на прегравидарном этапе. Целесообразность прегравидарной подготовки пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием нами была показана ранее.

В предыдущей главе диссертации были подробно рассмотрены предикторы наступления самопроизвольной беременности у пациенток с НГЭ. Факторы, способствующие успеху ЭКО при эндометриоз-ассоциированным бесплодием, оказались схожими (Таблица 6.6).

Таблица 6.6 - Предикторы наступления беременности после ЭКО при эндометриоз-ассоциированном бесплодии

Предиктор наступления беременности	Отношение шансов	95 % ДИ	p
Возраст менее 35 лет	0,58	0,17-2,07	p>0,05
Первичное бесплодие	1,31	0,39-4,32	p>0,05
Роды в анамнезе	1,11	0,22-5,63	p>0,05
Длительность бесплодия менее 3 лет	6,36	1,75-23	p<0,05
Эндометриоз 1-2 степени	5,89	1,65-21	p<0,05
Резекция яичников в анамнезе	1,31	0,39-4,32	p>0,05
Уровень АМГ $\leq 0,6$ нг/мл	0,64	0,14-2,9	p>0,05
Уровень ФСГ ≥ 10 МЕ/л	0,19	0,04-0,82	p<0,05
Число антральных фолликулов по данным УЗИ ≤ 5	0,10	0,03-0,39	p<0,05
Число ооцитов >8 в данную попытку ЭКО	2,67	1,74-9,59	p<0,05

Суммируя полученные данные можно сделать выводы, что наибольшая частота наступления беременности наблюдалась у пациенток с I-II стадиями эндометриоза с длительностью бесплодия менее 3 лет и при пункции более 8 ооцитов; тогда уменьшение эффективности ЭКО было выявлено при сниженных показателях овариального резерва по данным УЗИ и гормонального исследования, сопровождающихся более бедным ответом яичников на стимуляцию суперовуляции. О важности овариального резерва для наступления беременности в программе ЭКО свидетельствуют многие авторы. Краснопольская К.В. свидетельствует, что наилучшие показатели ЭКО при переносе свежих эмбрионов наблюдаются в циклах, в которых было получено 8-22 ооцита [44].

Таким образом, применение высокодозовых протоколов стимуляции овуляции у пациенток с сохранным овариальным резервом при эндометриоз-

ассоциированном бесплодии позволило получить достаточное количество эмбрионов высокого качества, что определило высокую частоту наступления беременности.

6.4. Показатели оксидантно-антиоксидантного профиля фолликулярной жидкости у пациенток в цикле ЭКО по поводу эндометриоз-ассоциированного бесплодия

На втором этапе (проспективном) проводилось изучение показателей свободно-радикального гомеостаза фолликулярной жидкости у 51 пациентки. Были изучены показатели окислительного стресса в фолликулярной жидкости, а также влияние на эти показатели протокола стимуляции суперовуляции и используемого анестетика.

Мы рассматривали прооксидантную и антиоксидантную активность фолликулярной жидкости в комплексе. В связи с этим нами были рассчитаны коэффициенты корреляции Спирмена между параметрами кинетических кривых прооксидантной и антиоксидантной активности: была выявлена слабая обратная связь между параметрами ΔI и I_{Ox} ($r = -0,38$), и обратная связь умеренной силы между параметрами S и I_{Ox} ($r = -0,51$) (Рисунок 6.4).

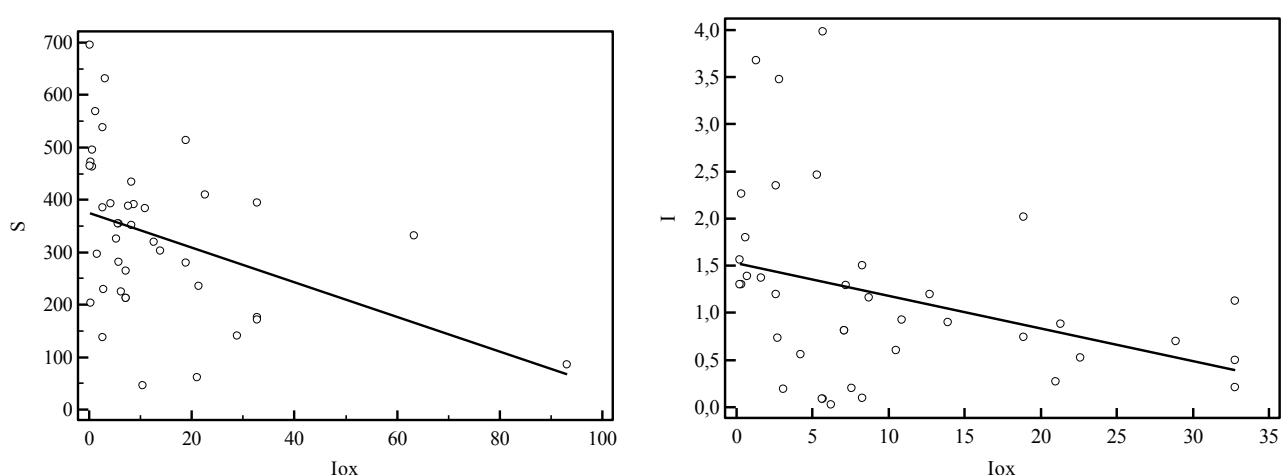


Рисунок 6.4 - Корреляция между параметрами кинетических кривых прооксидантной и антиоксидантной активности

У пациенток с НГЭ были вычислены следующие показатели свободно-радикального гомеостаза фолликулярной жидкости: Медиана $Me\ S = 339$ (138;568), $Me\ \Delta I = 1,0$ (0,09; 3,98), $Me\ I_{NADH} = 5,7$ (1,3; 32,8). При индивидуальном анализе хемилюминограмм было установлено, что из 51 пациенток с бесплодием, обусловленным НГЭ, окислительный стресс по двум показателям диагностирован у $n = 5$, по белковому показателю у $n = 21$; нормальные показатели или небольшое повышение антиоксидантной активности у $n = 25$.

Суммирую представленные данные, можно сделать вывод о наличии значимых различий в показателях свободно-радикального гомеостаза фолликулярной жидкости при НГЭ. В фолликулярной жидкости у подавляющего числа пациенток выявлялся окислительный стресс, затрагивающий в первую очередь белковое звено: мы наблюдали снижение показателя ΔI , свидетельствующее об увеличении уровня окислительной модификации альбумина и снижении антиоксидантного потенциала системы глутатиона. При окислительном стрессе в фолликулярной жидкости, затрагивающим белковое звено нарушается функциональная способность клеток гранулезы к выработке прогестерона [204]. Из-за отсутствия достаточной гормональной поддержки прогестероном созревание ооцитов замедляется, что негативно влияет на последующие процессы, включая оплодотворение, образование бластоцисты и развитие эмбрионов [347]. Глутатион, обладающий антиоксидантными свойствами, присутствует в клетках гранулезы на различных стадиях фолликулогенеза [360]. Снижение антиоксидантного потенциала системы глутатиона свидетельствует о снижении активности клеток гранулезы, и косвенно отражает недостаточную зрелость ооцитов. Кроме того, известно, что глутатион играет важную роль в функции веретена ооцитов и развитии пронуклеуса [298].

В нашем исследовании показатели антиоксидантной защиты, обусловленные действием сильных антиоксидантов - мочевой кислоты и аскорбата, были в пределах референтных значений, а у некоторых пациенток даже отмечалось некоторое повышение параметра S . Мы считаем, что данные изменения носят компенсаторный характер в ответ на повышение активности прооксидантного фермента ксантиоксигеназы.

Литературные данные относительно показателей окислительного стресса в фолликулярной жидкости крайне противоречивы. Маркер опосредованного окислением повреждения белка (AOPP) в фолликулярной жидкости у пациенток с НГЭ по сравнению с его отсутствием уровень был значительно повышен по данным Song et al., тогда как по данным Da Broi et al., повышение этого показателя у больных эндометриозом не наблюдалось. В работе Nakagawa et al. повышения уровня окислительного стресса в фолликулярной жидкости между пациентами с односторонней эндометриомой и здоровыми пациентами также выявлено не было [288]. Наши результаты согласуются с исследованием Nishihara об отсутствии значимых различий в концентрации глутатиона в фолликулярной жидкости у пациенток с эндометриозом в сравнении с группой ТПБ [298]. Следует учитывать, что в работах одних и тех же авторов нередко изучаются несколько маркеров окислительного стресса, авторы делают выводы о нарушениях окислительно-восстановительного баланса в фолликулярной жидкости только на изменении одного-двух параметров, тогда как остальные показатели не отличаются по сравнению с пациентками с другими причинами бесплодия или даже регистрируются изменения в сторону увеличения антиоксидантов. Все это является предпосылкой к тому, что нельзя рассматривать маркеры окислительного стресса по отдельности, а должно проводиться изучение антиоксидантного и прооксидантного профиля, который позволяет оценить уровень окислительного стресса в разных звеньях свободно-радикального гомеостаза фолликулярной жидкости.

Параметры свободно-радикального гомеостаза яичника зависят *от схемы стимуляции суперовуляции*.

Нами было установлено, что в длинном ($n=17$) протоколе индукции суперовуляции $Me (S)$ составила 254 (61; 563) имп/с, $Me (\Delta I) = 1,24$ (0,21; 3,67) имп/с, $Me (I_{NADH}) = 7,68$ (0,30; 91,18) имп/с (Таблица 6.7).

Таблица 6.7 - Оксидантно-антиоксидантный профиль фолликулярной жидкости при разных схемах стимуляции суперовуляции

Показатели свободно-радикального профиля*	Длинный протокол ЭКО ($n = 17$)	Короткий протокол ЭКО ($n = 31$)	p
S, Me(MP)	254 (61; 563)	385,49 (45,81; 696,16)	0,035
ΔI , Me(MP)	1,24 (0,21; 3,67)	1,13 (0,03; 3,98)	0,632
I_{Ox} , Me(MP)	7,68 (0,3; 91,18)	5,67 (0,22; 63,29)	0,123
Количество пациенток с окислительным стрессом, %	7 (41,2%)	5 (16,1%)	$p > 0,05$

При этом из 17 пациенток окислительный стресс по двум показателям диагностирован у $n = 3$, по белковому показателю у $n = 4$; нормальные показатели или небольшое превышение антиоксидантной активности у $n = 10$. Анализ соответствующих данных при коротком ($n=25$) протоколе ЭКО показал, что Me (S) составила 385 (45;696) имп/с, Me (ΔI) = 1,12 (0,03; 3,98) имп/с, Me (I_{NADH}) = 5,66 (0,22; 63,29) им/с. В итоге, из 25 пациенток, получавших ант-ГнРГ окислительный стресс по двум показателям диагностирован у 2, по белковому показателю также у 2; нормальные показатели или небольшое повышение антиоксидантной активности у $n = 27$. В естественном цикле ЭКО ($n=3$) Me (S) составила 355 (264; 514) имп/с, Me (ΔI) = 0,83 (0,52; 1,29) имп/с, Me (I_{NADH}) = 16,43 (7,24; 22,63) имп/с.

Нами было установлено, что при длинном протоколе стимуляции суперовуляции наблюдается снижение антиоксидантной активности фолликулярной жидкости (параметр S), что согласуется с результатами других исследователей. В работе Mathyk et al. было показано, что общая антиоксидантная активность фолликулярной жидкости значительно выше у пациенток, которые вступили в протокол с а-ГнРГ, по сравнению с теми, кто использовал протокол ЭКО с ант-ГнРГ [122]. Развитие окислительного стресса в длинных протоколах может быть связано с использованием больших доз гонадотропинов по сравнению с короткими циклами. Известно, что с увеличением дозы гонатропинов наблюдается нарастание индекса окислительного стресса в фолликулярной жидкости [122].

С другой стороны, мы не наблюдали существенных различий в показателе ΔI при стимуляции суперовуляции с применением а-ГнРГ и ант-ГнРГ, что свидетельствует об отсутствии влияния протокола стимуляции овуляции на уровень окислительной модификации альбумина и опосредованно на антиоксидантный потенциал системы глутатиона. В исследовании Celik et al. также было показано, что средние концентрации глутатионпероксидазы и глутатиона не различались в фолликулярной жидкости пациенток, которые вступили в протокол с а-ГнРГ, по сравнению с циклами с ант-ГнРГ [158].

Исследования *влияние применяемых анестетиков* на показатели оксидантно-антиоксидантного профиля фолликулярной жидкости проводились совместно с Ушаковым И.Л.

У пациенток, у которых при проведении анестезии с использовался севофлуран, были вычислены следующие показатели свободно-радикального гомеостаза фолликулярной жидкости: Me $S = 395$ (229; 696), Me $\Delta I = 1,3$ (0,10; 3,67), Me $I_{NADH} = 2,80$ (0,22; 32,77) (Таблица 6.8).

Таблица 6.8 - Оксидантно-антиоксидантный профиль фолликулярной жидкости в зависимости от препарата для анестезии

Показатели свободно- радикального профиля*	Анестетик			Достоверность		
	Севофлу- ран ($n = 20$)	Пропо- фол ($n = 21$)	Без ане- стезии ($n = 10$)	p между севоф. и проп.	p между севофл. и без анест.	p между пропоф. и без анест.
S, Me (MP)	395 (229; 696)	306 (84; 630)	272 (45; 538)	0,01	0,02	0,12
ΔI , Me (MP)	1,3 (0,1; 3,6)	0,5 (0,03; 2,3)	0,8 (0,2; 2,4)	0,08	0,38	0,08
I_{Ox} , Me (MP)	2,8 (0,2; 32,7)	5,1 (2,3; 93,1)	11,6 (0,3; 32,7)	0,06	0,5	0,17
Количество пациенток с оксид. стрессом, %	4 (20,0%)	12 (57,1%)	6 (60,0%)	0,03	0,02	$p > 0,05$

Средние значения антиоксидантной и прооксидантной активности фолликулярной жидкости при использовании пропофола были следующими: $Me\ S = 306$ (84; 630), $Me\ \Delta I = 0,55$ (0,03; 2,35), $Me\ I_{NADH} = 5,18$ (2,39; 93,18). В группе пациенток, пункция которым проводилась без анестезии показатели хемилюминограмм были следующими: $Me\ S = 272$ (45; 538), $Me\ \Delta I = 0,86$ (0,21; 2,46), $Me\ INADH = 11,6$ (0,3; 32,77)

Клинические исследования последних лет показали, что женщины, которым выполняли процедуру ЭКО с использованием севофлурана, имели значительно более высокие показатели оплодотворения по сравнению с теми, кто получал пропофол или тиопентал натрия [272].

Наши результаты могут объяснить это положительное влияние севофлурана на результат ЭКО. При использовании севофлурана отмечается значимое увеличение антиоксидантной емкости фолликулярной жидкости, что, по-видимому, связано с эффектом прекондиционирования, ранее описанным при кардиохирургических операциях с применением севофлурана [123]. Прекондиционирование относится к адаптационным механизмам, который позволяет тканям лучше переносить серьезное неблагоприятное событие (например, ишемию), если эти ткани уже подвергались воздействию и адаптировались к незначительным неблагоприятным явлениям. Известно, что некоторые ингаляционные анестетики, например, севофлуран, обладают эффектом прекондиционирования. Защитные свойства севофлурана обусловлены сохранением уровней АТФ во время ишемии, снижением адгезии полиморфноядерных нейтрофилов, увеличением продукции оксида азота и ингибированием продукции свободных радикалов [53]. К сожалению, литературные данные о влиянии анестетика на показатели свободно-радикального гомеостаза в фолликулярной жидкости в литературе отсутствуют. Наши исследования являются пилотными в этой области и имеют большую перспективу. Полученные нами данные об увеличении антиоксидантной емкости фолликулярной жидкости у пациенток, получавших севофлуран, подтверждаются описанной ранее возможностью севофлурана ингибировать продукцию свободных радикалов в сердце и головном мозге.

В нашем исследовании была выявлена связь между уровнем окислительного стресса в фолликулярной жидкости и **качеством эмбрионов** (Таблица 6.9).

Таблица 6.9 - Оксидантно-антиоксидантный профиль фолликулярной жидкости и качество эмбрионов

Показатели свободно-радикального профиля*	Качество эмбриона			p
	Хорошее качество, $n = 16$	Среднее качество, $n = 21$	Плохое качество, $n = 14$	
S , Me (MP)	320 (145; 564)	343 (161; 634)	273 (84; 495)	$p > 0,05$
ΔI , Me (MP)	1,16 (0,15; 3,66)	1,38 (0,03; 3,48)	1,21(0,54; 1,84)	$p > 0,05$
I_{Ox} , Me (MP)	8,71 (0,3; 63,39)	4,78 (0,68; 63,2)	5,44 (0,3; 93,18)	$p > 0,05$
Количество пациенток с окислительным стрессом, %	4 (25%)	5 (23,8%)	10 (71,4%) ^{##}	$p = 0,056$

Примечание: ^{##} $p = 0,017$ при сравнении пациенток с плохим качеством эмбрионов против пациенток с хорошим+средним качеством (критерий хи-квадрат)

У пациенток, у которых были получены эмбрионы хорошего качества, были вычислены следующие показатели свободно-радикального гомеостаза фолликулярной жидкости: Me $S = 320$ (145; 564), Me $\Delta I = 1,16$ (0,15; 3,66), Me $I_{NADH} = 8,71$ (0,3; 63,39). Средние значения антиоксидантной и прооксидантной активности фолликулярной жидкости при получении эмбрионов среднего качества были: Me $S = 343$ (161; 634), Me $\Delta I = 1,38$ (0,03; 3,48), Me $I_{NADH} = 4,78$ (0,68; 63,2). В группе пациенток с плохим качеством эмбрионов показатели хемилюминограмм были следующими: Me $S = 273$ (84; 495), Me $\Delta I = 1,21$ (0,54; 1,84), Me $I_{NADH} = 5,44$ (0,3; 93,18). Несмотря на то, что антиоксидантная емкость фолликулярной жидкости была наименьшей при плохом качестве эмбрионов, различия между группами были не достоверными в силу небольшой выборки пациенток ($p = 0,06$).

При комплексном анализе показателей свободно-радикального гомеостаза в фолликулярной жидкости было установлено, что при получении эмбрионов хорошего качества ($n=14$) окислительный стресс в фолликулярной жидкости хотя

бы по одному показателю был выявлен у 4 (25%) пациенток, у пациенток со средним качеством эмбрионов ($n=21$) окислительный стресс наблюдался у 5 (23,5%), с плохим качеством ($n=16$) – у 10 (71,4%). При сравнении уровня окислительного стресса у пациенток с плохим качеством эмбрионов против пациенток с хорошим+средним качеством различия были достоверными ($p<0,05$). Мы считаем, что нарушения оксидантно-антиоксидантного состояния фолликулярной жидкости определяют дальнейшее качество эмбрионов.

О влиянии окислительного стресса в фолликулярной жидкости на показатели качества эмбрионов указывают и другие авторы. В исследовании Nishihara et al. было показано снижение в фолликулярной жидкости уровня глутатиона и повышение 8-OHdG при низком качестве эмбрионов [298]. О положительной корреляции ОАЕ в фолликулярной жидкости с качеством эмбрионов сообщается в нескольких исследованиях [221, 309]. В работе Шестаковой М.А. и др. было показано, что как окислительный, так и антиоксидантный стресс в фолликулярной жидкости приводит к снижению качества эмбрионов [106].

При изучении связи оксидантно-антиоксидантного профиля фолликулярной жидкости с наступлением беременности были выявлены следующие показатели $Me\ S = 229$ (45; 631), $Me\ \Delta I = 0,73$ (0,03; 3,47), $Me\ I_{NADH} = 6,16$ (2,6; 63,2). Средние значения антиоксидантной и прооксидантной активности фолликулярной жидкости у небеременных пациенток были: $Me\ S = 323$ (61; 563), $Me\ \Delta I = 1,24$ (0,1; 3,67), $Me\ I_{NADH} = 9,16$ (0,3; 93,8). Статистически значимых различий в изучаемых показателях выявлено не было. Комплексный анализ хемиллюминограмм показал, что у пациенток с отсутствием беременности окислительный стресс выявлялся несколько чаще по сравнению с беременными пациентками (31,1% против 18,2%), однако данные различия также недостоверны. В случае наступившей беременности и ее отсутствии параметры свободнорадикального профиля были сопоставимы (Таблица 6.10).

Таблица 6.10 - Оксидантно-антиоксидантный профиль фолликулярной жидкости и наступление беременности

Показатели свободно- радикального профиля*	Беременность		Достоверность различий
	Наступление <i>n</i> = 22	Отсутствие <i>n</i> = 29	
S, Me (MP)	229 (45; 631)	323 (61; 563)	$p > 0,05$
ΔI , Me (MP)	0,73 (0,03; 3,47)	1,24 (0,1; 3,67)	$p > 0,05$
I_{Ox} , Me (MP)	6,16 (2,6; 63,2)	9,16 (0,3; 93,8)	$p > 0,05$
Количество пациен- ток с окислительным стрессом	4 (18,2%)	9 (31,1%)	$p > 0,05$

Результаты литературы о прогностической способности показателей окислительного стресса фолликулярной жидкости в отношении наступления беременности крайне противоречивы. Pasqualotto et al. продемонстрировали, что у пациенток с неэффективной попыткой ЭКО отмечались значительно более низкие уровни ОАЕ по сравнению с женщинами, у кого беременность наступила [310]. Напротив, работы da Broi et al. выявили более высокие уровни ОАЕ в фолликулярной жидкости женщин, которые не смогли забеременеть [145]. В исследовании Nishihara et al. не было выявлено корреляции антиоксидантного статуса и маркеров окислительного стресса между беременными и небеременными группами [298].

Таким образом, ЭКО у пациенток с эндометриозом характеризовалось меньшим количеством полученных ооцитов и требовало введение большей суммарной дозы гонатропинов. Применение высокодозовых протоколов стимуляции овуляции и получение достаточного количества эмбрионов высокого качества предопределило хорошие показатели наступления беременности при НГЭ. Наибольшая частота наступления беременности наблюдалась у пациенток с I-II стадиями эндометриоза с длительностью бесплодия менее 3 лет и при пункции более 8 ооцитов; тогда как уменьшение эффективности ЭКО было выявлено при сниженных показателях овариального резерва по данным УЗИ и гормонального

исследования, сопровождающихся более бедным ответом яичников на стимуляцию суперовуляции. Ключевая гипотеза, которая была рассмотрена в этой главе, заключалась в том, что свободно-радикальные изменения в микроокружении ооцита, главным образом в белковом звене, могли приводить к развитию бесплодия, причем стимуляция суперовуляции с применением α -ГнРГ усугубляла окислительный стресс. Использование анестетиков также влияло на оксидантно-антиоксидантный профиль фолликулярной жидкости: севофлуран повышал антиоксидантную емкость фолликулярной жидкости, что могло привести к эффекту preconditionирования и благоприятно повлиять на показатели оплодотворения. Фолликулярная жидкость является оптимальным и легкодоступным источником изучения биохимических показателей, которая отражает важную микросреду для развития ооцитов. Мы считаем, что показатели свободно-радикального гомеостаза фолликулярной жидкости являются перспективными маркерами прогностических критериев развития и имплантационных способностей эмбриона и могут использоваться в дополнении к традиционным оценкам качества эмбрионов для переноса, основанных на скорости их развития и морфологических особенностях.

ГЛАВА 7. ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ У ПАЦИЕНТОК С ВЕРИФИЦИРОВАННЫМ ЭНДОМЕТРИОЗОМ

7.1. Влияние эндометриоза на течение и исход беременности: материнские и плодовые осложнения (обзор литературы)

В последние годы число исследований, изучающих влияние эндометриоза на исходы беременности, значительно возросло, подтверждая растущую актуальность этой темы в эпоху все более широкого использования вспомогательных репродуктивных технологий. Однако исследований, посвященных исключительно влиянию эндометриоза на течение и исход беременности почти нет. Тем не менее, анализ литературы, посвященной влиянию эндометриоза в целом на течение беременности важен для оценки возможного влияния эндометриоза на материнские и неонатальные исходы. Тем более, что пациентки с эндометриозом часто включаются в подгруппы в составе более крупных исследований, посвященных эндометриозу в целом.

В литературе описано несколько возможных механизмов, которые приводят к осложнениям во время беременности и родов у пациенток с эндометриозом. Наиболее частыми осложнениями во время беременности у пациенток с эндометриозом, согласно литературным данным, являются преэклампсия, предлежание плаценты, самопроизвольные аборт и преждевременные роды, задержка роста плода. Считается, что предлежание плаценты и преэклампсия при эндометриозе возникают вследствие изменений в продукции фактора роста эндотелия сосудов и изменения в ангиогенезе [242]; поздней имплантации из-за измененной сократимости матки и повышенной резистентности к прогестерону [247]; изменений эндометрия из-за повышенной секреции интерлейкинов и хронического воспаления [147]. Помимо нарушения плацентации, повышенная экспрессия циклооксигеназы-2, секреция простагландинов и хроническое воспаление в эндометрии, раннее созревание шейки матки и повышение тонуса и сократительной способности матки у женщин с эндометриозом может привести к различным неблагоприятным эффектам для плода и новорожденного [147, 248].

В литературе имеются противоречивые данные о взаимосвязи между эндометриозом и *преэклампсией*: в некоторых исследованиях сообщается о повышенном риске [132], об отсутствии риска [120, 166, 253, 276, 350, 372] и даже о снижении риска [147]. В ретроспективном исследовании «случай-контроль» 2007 года указывается, что частота преэклампсии была значительно ниже в группе женщин, пораженных эндометриозом, по сравнению с контрольной группой [147]. Последующие исследования не обнаружили связи между эндометриозом и преэклампсией [120, 166, 253, 276, 350, 372]. В мета-анализе Lalani et al., проведенном в 2018 году, анализировалось 13 исследований, посвященных этой проблеме [240]. Авторы считают, что при объединении данных из всех исследований можно говорить о наличии связи между эндометриозом и преэклампсией. Точно так же было обнаружено, что эндометриоз связан с гестационным сахарным диабетом. Однако этот вывод контрастирует с другим обзором, проведенном в 2017 году, в котором авторы не нашли связи между эндометриозом и гестационным сахарным диабетом [313]. В исследовании Mannini et al. (2017) сообщалось о повышенном риске гестационного холестаза у пациенток с эндометриозом [266]. Таким образом, потенциальная корреляция между эндометриозом и преэклампсией, а также другими материнскими осложнениями, все еще остается предметом дискуссий.

В литературе есть указания о более высокой частоте *предлежания плаценты* у пациенток с эндометриозом. В общенациональном когортном исследовании в Швеции было показано, что эндометриоз ассоциирован с различными аномалиями расположения плаценты [349]. В 2012 году Vercellini et al. ретроспективно оценили исходы беременности у пациенток, достигших первой самопроизвольной одноплодной беременности после операции по поводу эндометриоза, и стратифицировали результаты в зависимости от локализации эндометриоза [91]. Случаев предлежания плаценты у пациенток с эндометриоидными кистами яичников не наблюдалось, тогда как у пациенток с ретроцервикальным эндометриозом почти в 6 раз был увеличен риск аномалия расположения плаценты по сравнению с женщинами с сочетанием эндометриоидных кист и поверхностных эндометриоидных гетеротопий. В японском ретроспективном анализе 318 беременностей, насту-

пивших при помощи ВРТ, была доказана высокая корреляционная связь эндометриоза с предлежанием плаценты [355]. Также ретроспективное когортное исследование, сравнивающее 249 пациенток с эндометриозом и 249 женщин без него (самопроизвольные одноплодные беременности) показало более высокий риск предлежания плаценты в подгруппе женщин, страдающих этим заболеванием [253].

В ряде исследований изучалась распространенность *отслойки плаценты* у пациенток с эндометриозом. В некоторых работах показано отсутствие связи между эндометриозом и данным осложнением [253, 372]. В исследовании Exacoustos et al. изучались исходы и осложнения беременности у пациенток с глубоким инфильтрирующим эндометриозом, сохранившимся после операции по сравнению с контрольной группой пациенток без эндометриоза. При сравнении с контрольной группой у пациенток с эндометриозом была отмечена большая частота предлежания или отслойки плаценты [186]. В национальном исследовании Berlac et al., включавшем всех беременных женщин и их новорожденных в Дании в период с 1997 г. по 2014 г., изучались акушерские осложнения и неонатальные исходы у пациенток с эндометриозом по сравнению с беременными без эндометриоза. У пациенток с эндометриозом был более высокий риск кровотечения во время беременности, предлежания и отслойки плаценты [132]. С высокой распространенностью предлежания плаценты связана и повышенная частота госпитализаций пациенток с эндометриозом во время беременности. Ретроспективное когортное исследование Nealy et al. было единственным, посвященным риску послеродового кровотечения, в данной работе авторы указывают, что эндометриоз ассоциирован с повышенным риском послеродовых кровотечений [209]. В литературе было высказано предположение, что большая частота предлежания плаценты у пациенток с эндометриозом может быть связана с более широким использованием у них вспомогательных репродуктивных технологий, однако в недавнем мета-анализе сообщается о большей распространенности данного осложнения у пациенток с эндометриозом, которые забеременели как самостоятельно, так и при помощи ВРТ [241].

В литературе описывается несколько ретроспективных исследований изучающих взаимосвязь между *самопроизвольным прерыванием беременности* и эндометриозом [120, 276, 372]. Сложность интерпретации данных, приведенных в исследованиях, связана с тем, что они включали пациенток как с самопроизвольным наступлением беременности, так и с индуцированной беременностью. В частности, в ретроспективном когортном исследовании, включающем только те беременности, которые наступили после ЭКО/ИКСИ, сравнивалась группа пациенток с эндометриозом I стадии с группой пациенток с трубным фактором бесплодия и с бесплодием неясного генеза в качестве группы контроля. Вероятность выкидыша в первом триместре оставалась выше как для группы с эндометриозом, так и для группы с трубным фактором бесплодия по сравнению с группой контроля. Кроме того, в ретроспективном когортном исследовании, посвященном как самопроизвольным, так беременностям после ВРТ, сравнивались пациентки с эндометриозом и здоровые женщины. Авторами было выявлено увеличение частоты самопроизвольных аборт у женщин с эндометриозом по сравнению с группой контроля. Стоит отметить, что в данном исследовании также сообщалось о наличии значительной связи между эндометриозом и мертворождением, что подтверждает идею о том, что эндометриоз может представлять постоянную угрозу на протяжении всей беременности [120].

Vercellini et al. ретроспективно исследовали выборку, состоящую только первобеременных пациенток с самопроизвольно наступившей беременностью, разделив их на четыре группы в зависимости от типа эндометриоза: глубокий ретроцервикальный эндометриоз, эндометриоз яичников и брюшины, изолированные эндометриодные кисты яичников и изолированный эндометриоз тазовой брюшины [372]. При общем анализе частота невынашивания беременности была достоверно выше у женщин с эндометриодными кистами яичников и перитонеальными поражениями, но при анализе по возрастным группам разница уже не была значимой. При объединении двух групп женщин с эндометриодными кистами яичников выкидыш наблюдался в 26,6% случаев по сравнению с 16,8% у остальных женщин ($p < 0,05$).

Остальные ретроспективные исследования не выявили тенденции к взаимосвязи между эндометриозом и выкидышем. Candiani et al. провели исследование случай–контроль у 241 пациентки с подтвержденным эндометриозом и 437 пациентки, у которых заболевание было исключено, в качестве контрольной группы [153]. Не было выявлено связи между эндометриозом и невынашиванием беременности в анамнезе. В последнем исследовании, посвященном исключительно самопроизвольным беременностям, сравнивалось 49 пациенток с эндометриозом, подтвержденным лапароскопически, с 59 женщинами без заболевания. Авторами не было обнаружено существенной разницы в частоте выкидышей между группами [276]. Согласно данным отечественного исследования, опубликованного в 2017 году, у пациенток с НГЭ частота угрозы прерывания беременности в 1 триместре составляет 41,1%, ретрохориальной гематомы – 13,3%, репродуктивных потерь – 18,8% [54]. В 2014 году Barbosa et al. провели систематический обзор и мета-анализ для определения исхода программы ВРТ у женщин с эндометриозом различной стадии и без него [124]. В обзор были включены 99 исследований, а в метаанализ – 78: пациентки с эндометриозом сравнивались со здоровыми женщинами, пациентки с эндометриозом III/IV стадии сравнивались с пациентками с эндометриозом I/II стадии. Было показано, что у пациенток с эндометриозом наблюдался более высокий риск выкидыша, хотя и не отличался у женщин с разными стадиями заболевания: риск выкидыша составил 1,31 (95% доверительный интервал 1,07–1,59) при сравнении пациенток с эндометриозом и женщин без него. Однако, по мнению авторов, выводы из данного исследования нужно делать с осторожностью из-за очень низкого качества имеющихся доказательств. Эндометриоз может быть ассоциирован и с риском привычного невынашивания беременности. Согласно данным Ярмолинской М.И. привычное невынашивание наблюдается у 23,6% пациенток с НГЭ, при этом во время лапароскопии у 79,2% пациенток с привычным невынашиванием выявлял [29] НГЭ, преимущественно I-II стадий.

Преждевременные роды являются не только причиной неонатальной заболеваемости, но потенциально и будущих заболеваний во взрослом возрасте. В

различных исследованиях изучалась возможная связь между эндометриозом и преждевременными родами. Считается, что патофизиологическая связь между эндометриозом и преждевременными родами в основном представлена усилением локального воспаления и тесно связанного с ним окислительного стресса [314]. О роли окислительного стресса в патогенезе эндометриоза подробно сообщалось в предыдущих главах диссертации. В этом разделе хотелось бы более подробно остановиться на изменениях в уровнях гормонов, провоспалительных цитокинов и факторах роста, приводящих к развитию преждевременных родов.

Начало беременности сигнализируется секрецией ХГЧ и выработкой желтым телом прогестерона и релаксина. В более поздние сроки повышение в сыворотке крови матери уровней эстрогенов и прогестерона связано с гормональной активностью плаценты, которая по сути является дополнительной эндокринной железой. Эстрогены и прогестерон являются важнейшими гормонами для сохранения беременности. Прогестерон, синтезируемый желтым телом, а далее плацентарными синцитиотрофобластами, играет критическую роль в имплантации эмбрионов и в поддержании миометриальной релаксации. Эстрогены также являются продуктами трофобласта, действующими на материнский гомеостаз. К моменту родов изменяется соотношение прогестероновых рецепторов в пользу прогестероновых рецепторов α , а также изменение соотношения между эстриолом и эстрадиолом. Половые стероидные гормоны влияют на иммунную систему и модулируют воспалительное состояние. Врожденная иммунная система играет ключевую роль в успешной имплантации: ранняя беременность характеризуется доминирующим провоспалительным профилем с высоким уровнем цитокинов и хемокинов, снижающимся в середине беременности и затем снова увеличивающимся к моменту родов. В конце беременности провоспалительные цитокины активно реконструируют шейку матки, обеспечивая ее подготовку к родам, и активируют сокращения матки, обеспечивая начало родовой деятельности. В частности, провоспалительные цитокины ФНО- α и ИЛ-1 β оказывают сходное воздействие с окситоцином на миометрий, цитокин ИЛ-6 усиливает экспрессию рецепторов окситоцина в клетках миометрия.

Патогенез самопроизвольного аборта, преждевременного разрыва плодных оболочек и преждевременных родов во многом связан с изменением в балансе цитокинов в сторону каскада выработки провоспалительных цитокинов и активации оксидативного стресса. В нескольких исследованиях было показано, что у пациенток с преждевременными родами наблюдается гиперсекреция эстриола вследствие повышенной секреции андрогенов надпочечниками [342]. Снижение антиконтрактивной активности прогестерона связано с пониженным количеством прогестероновых рецепторов β и повышенная экспрессия рецепторов α , что является характерным для пациенток с преждевременными родами [277]. Дисбаланс между противовоспалительными и провоспалительными механизмами в матке и плаценте в настоящее время рассматривается как ключевой элемент патогенеза преждевременных родов. В исследовании Коваленко А.Е. и др. была показана возможность прогнозирования преждевременных родов на основании повышения провоспалительного цитокина ИЛ-6 в цервикальной слизи [41]. В крупном систематическом обзоре 2018 года были обобщены результаты 30 исследований, авторы пришли к выводу, что существуют существенные доказательства, что изменение баланса между прооксидантами и антиоксидантами может приводить к преждевременным родам [281]. В исследовании Покаленьева М.Ш. и др. было показано снижение антиоксидантной емкости плазмы у пациенток с самопроизвольным прерыванием беременности [69]. О связи изменения уровней про- и противовоспалительных цитокинов с риском преждевременных родов у беременных с эндометриозом сообщается и в отечественном исследовании Липатова И.С. и др. [54]. Авторы на 68 пациентках с НГЭ показали достоверное увеличение сывороточных уровней провоспалительных цитокинов ИЛ1 β , ИЛ6, ФНО α , ИФН γ и, напротив, снижение уровня противовоспалительных цитокинов: ИЛ-4 и ИЛ-10 по сравнению с 35 беременными в отсутствии эндометриоза. Авторы считают, что данный дисбаланс приводит к повреждению плодного яйца в ранние сроки беременности, нарушает процессы васкуло- и ангиогенеза, вызывает дисметаболические изменения, которые в дальнейшем приводят к развитию поздних гестационных ослож-

нений, обуславливают у этих пациенток высокую частоту преждевременных родов и неблагоприятных перинатальных исходов [54].

В литературе есть указания об увеличенной частоте преждевременных родов у пациенток с эндометриозом. В ретроспективном когортном исследовании Fernando et al. сравнивались случаи преждевременных родов у пациенток с эндометриоидными кистами яичников, забеременевших при помощи ЭКО ($n = 95$) по сравнению с контрольной группой здоровых женщин, не прибегавших к ВРТ, случайно отобранных из общей популяции ($n = 1140$) [189]. Это исследование показало, что частота преждевременных родов была выше в группе с эндометриоидными кистами яичников. Также была проанализирована другая подгруппа, включающая пациенток с эндометриозом, прибегших к ЭКО, но без наличия эндометриоидных кист яичников ($n = 535$). Для этой подгруппы не было выявлено повышенного риска преждевременных родов [189]. В национальном исследовании в Швеции оценивалась связь между неблагоприятным исходом беременности и эндометриозом. Сравнение между пациентками с эндометриозом и без него показало более высокий риск преждевременных родов у женщин с наличием этого заболевания [349]. И наоборот, противоположные результаты наблюдались в 12-летнем когортном исследовании, проводимом в Канаде, оценивающим влияние эндометриоза на неблагоприятные исходы беременности: частота преждевременных родов статистически не различалась у пациенток с эндометриозом и без него [120]. Еще в нескольких небольших исследованиях оценивалась взаимосвязь между эндометриозом и преждевременными родами у женщин с самопроизвольной беременностью [253, 276] или при помощи ВРТ [166]. При анализе исходов беременностей, наступивших естественным путем у пациенток с эндометриозом или без него, не было получено достоверных различий между группами [276]. Противоположные результаты были получены в ретроспективном исследовании, проведенном в Китае. Авторами был выявлен более высокий риск преждевременных родов в группе пациенток с эндометриозом [253]. Benaglia et al. в многоцентровом ретроспективном когортном исследовании, включавшем 78 пациенток с эндометриоидными кистами яичников, у которых беременность наступила при

помощи ЭКО, и 156 пациенток без эндометриоидных кист, показали, что частота преждевременных родов была ниже у пациенток с эндометриоидными кистами (7%), чем у женщин без них (14%), но эта разница не была статистически значимой [133]. В когортном исследовании Exacoustos и соавторов у пациенток с глубоким инфильтрирующим эндометриозом был более высокий риск преждевременных родов по сравнению с группой контроля [186]. Несмотря на наличие свидетельств, указывающих на связь между эндометриозом и преждевременными родами, следует учитывать, что исследования характеризуются заметными различиями в аналитических подходах, фенотипах заболеваний, выборе средств контроля и в общей методологической структуре. Это затрудняет формирование окончательных выводов.

Большой интерес вызвало возможное влияние эндометриоза на повышенный риск развития *задержки роста плода* (ЗРП) у детей после 2009 года, когда Fernando et al. опубликовали результаты ретроспективного когортного исследования 4387 женщин с одноплодной беременностью, у которых беременность наступила самопроизвольно или при помощи ВРТ [189]. В эту когорту вошли 535 пациенток с эндометриозом (исключая поражения яичников) (ВРТ), 95 пациенток с эндометриоидными кистами яичников (ВРТ), 1201 с другой этиологией бесплодия (ВРТ), 156 субфертильных женщин и группа контроля. Авторы не смогли подтвердить связь между эндометриозом в целом и младенцами с ЗРП. Однако статистически значимый повышенный риск развития ЗРП был обнаружен в группе с эндометриоидными кистами яичников (беременность после ВРТ) по сравнению с пациентками, которым проводили ВРТ по поводу других причин бесплодия. Кроме того, у пациенток с эндометриоидными кистами наблюдалась статистически повышенная вероятность рождения ребенка с ЗРП по сравнению с пациентками с другими формами эндометриоза [189]. В 2015 году Conti et al. опубликовали результаты многоцентрового когортного исследования, включающего беременных ($n = 2239$), находившихся в послеродовом стационаре [166]. Основную группу составили пациентки, у которых эндометриоз был диагностирован впервые ($n = 316$). У 60% женщин наблюдались эндометриоидные кисты яичников. В кон-

трольную группу ($n = 1923$) были включены все остальные женщины. Как у первородящих, так и у повторнородящих пациенток с эндометриозом значительно чаще рождались дети с ЗРП. В том же году Stern et al. были опубликованы данные большого ретроспективного исследования, в котором сравнивали 996 пациенток, страдающих эндометриозом (с самопроизвольной беременностью и после ВРТ), с 297 987 женщинами, которые зачали естественным путем [350]. Повышенная частота ЗРП была выявлена в группе пациенток с эндометриозом, у которых беременность наступила самопроизвольно. Однако в группе эндометриозом и беременностью при помощи ВРТ таких результатов не было получено. По данным Липатова и др. беременность у пациенток с НГЭ характеризуется рядом серьезных осложнений, таких как ЗРП, фето-плацентарная недостаточность, преэклампсия, предлежание и отслойка плаценты [54]. Другие ретроспективные анализы не выявили связи между ЗРП и эндометриозом [120, 130, 372]. В исследовании Berlac et al. (2017) у детей пациенток с эндометриозом был повышен риск рождения детей с врожденными пороками развития [132]. Однако в других исследованиях, проведенных в 2016 и 2017 годах такого влияния эндометриоза на новорожденных выявлено не было [196, 266]. Таким образом, данные о потенциальной связи между эндометриозом и риском рождения детей малыми для гестационного возраста по-прежнему противоречивы.

В заключение можно сказать, что современные литературные данные, отражающие связь между эндометриозом и самопроизвольным прерыванием беременности, преждевременными родами, преэклампсией, предлежанием и отслойкой плаценты, очень противоречивы. Это определяет актуальность и перспективность исследований, направленных на изучение особенностей течения беременности и родов у пациенток с эндометриозом.

7.2. Дизайн исследования. Материалы и методы исследования

В исследование было включено 200 пациенток с верифицированным диагнозом НГЭ и самопроизвольно наступившей одноплодной беременностью. Пациентки были разделены на две группы. В первую были включены 110 беремен-

ных с предшествующим эндометриоз-ассоциированным бесплодием, которым была проведена лапароскопия с целью восстановления фертильности. Во вторую группы вошло 90 пациенток, у которых во время беременности или во время кесарева сечения были выявлены эндометриодные кисты яичников. Пациентки с многоплодием, а также с беременностью, наступившей в результате ВРТ в первую и вторую исследуемые группы, не включались.

В качестве группы сравнения ($n=13206$) использовались данные о течение беременности и родов ГБУЗ города Москвы "Центр планирования семьи и репродукции Департамента здравоохранения города Москвы" за 2016 год.

Клиническая характеристика пациенток

Средний возраст пациенток, включенных в группу №1 ($n=110$), составил $31,1 \pm 0,5$ лет. Длительность бесплодия на момент проведения лапароскопии была от 1 года до 8 лет (в среднем $3,1 \pm 0,3$ года). Частота первичного бесплодия составила 72,7% (80 пациенток), вторичного – 27,3% (30 пациенток). Среди пациенток с вторичным бесплодием у 19 в анамнезе были современные роды, у 16 - искусственный аборт. Интраоперационно НГЭ I-II стадии был выявлен в 87 наблюдениях, III-IV стадии – в 23 (согласно классификации американского общества фертильности). Во время оперативной лапароскопии коагуляция очагов эндометриоза производилась 101 пациентке, иссечение инфильтративных очагов было произведено у 35 пациенток, в том числе ретроцервикального эндометриоза - у 8, вылушивание эндометриодных кист было выполнено в 46 наблюдениях (39 - одностороннее, 7 - двустороннее). У всех пациенток беременность наступила не позднее 18 месяцев после проведенного оперативного лечения, на момент наступления беременности клинических данных за рецидив эндометриоза выявлено не было. У 56 из 110 пациенток (50,9%) в послеоперационном периоде проводилась прегра-видарная подготовка по вышеописанной схеме.

Группа №2 была сформирована из пациенток с эндометриодными кистами ($n=90$), выявленными во время беременности/родов, средний возраст беременных составил $31,6 \pm 4,4$ года. При анализе акушерского анамнеза обследованных жен-

щин было выявлено, что настоящие роды были первыми у 70 (77,8%), как минимум один аборт в анамнезе был выполнен 12 (13,3%) пациенткам. Анализ исходов предыдущих беременностей показал, что привычное невынашивание беременности встречалось у 8 (8,9%) пациенток, а как минимум одна потеря беременности имела место у 14 (15,6%) пациенток. У 72 (80%) пациенток эндометриодные кисты были выявлены только во время беременности, причем у 28 (31,1%) образования яичников были обнаружены только во время оперативного родоразрешения и являлись «случайной находкой». Основным методом диагностики эндометриодных кист во время беременности было ультразвуковое исследование с цветным доплеровским картированием (Рисунок 7.1).

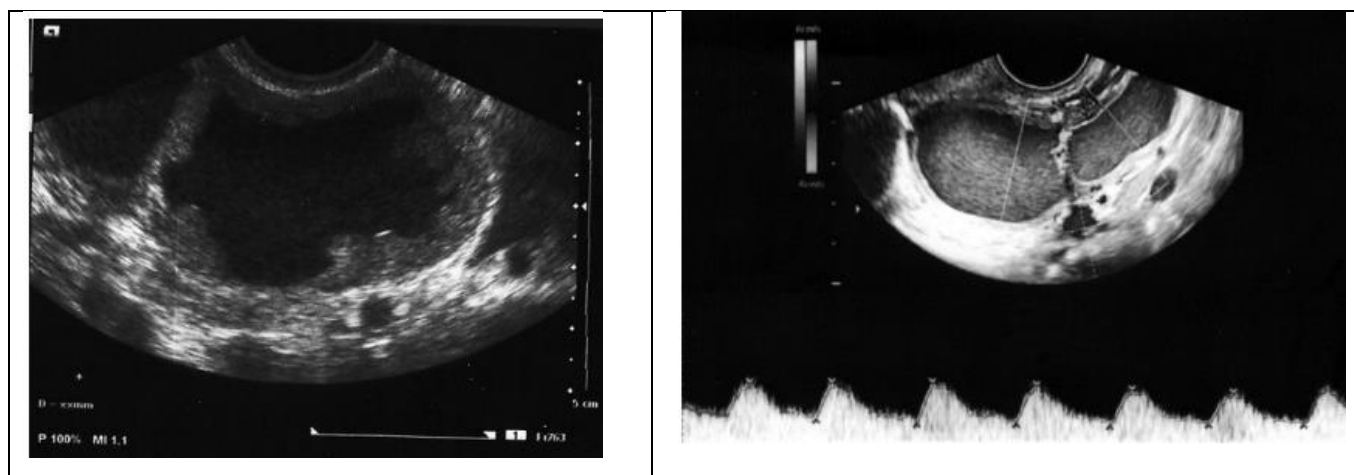


Рисунок 7.1 - Эхограммы эндометриодных кист во время беременности (автор изображений Герасимова А.А.): а) Поперечное ТВ-сканирование; б) Кривая артериального кровотока (RI=0,51), продольное ТВ-сканирование

Наиболее полно ультразвуковая характеристика эндометриодных кист у беременных приводится в исследованиях Герасимовой А.А. и др.: эндометриодные кисты характеризуются небольшими размерами, расположены сзади или сбоку от матки имеют кистозную структуру средней или высокой эхогенности с трудносмещаемой взвесью с высоко- и среднерезистентным кровотоком в капсуле [24]. У 18 пациенток (20%) эндометриодные кисты небольшого диаметра (менее 30 мм) обнаруживались до беременности. Эндометриодные кисты были двусторонними у 10 (11,1%) пациенток, таким образом общее количество кист составило 100. Среднее значение наибольшего диаметра эндометриодной кисты составило $38,8 \pm 24,1$ мм, минимальный размер диаметра кисты составил 15 мм, а максималь-

ный – 120 мм. Больше чем в половине случаев ($n=70$; 70%) из всех эндометриоидных кист наблюдались кисты больше 30 мм в диаметре (Рисунок 7.2).

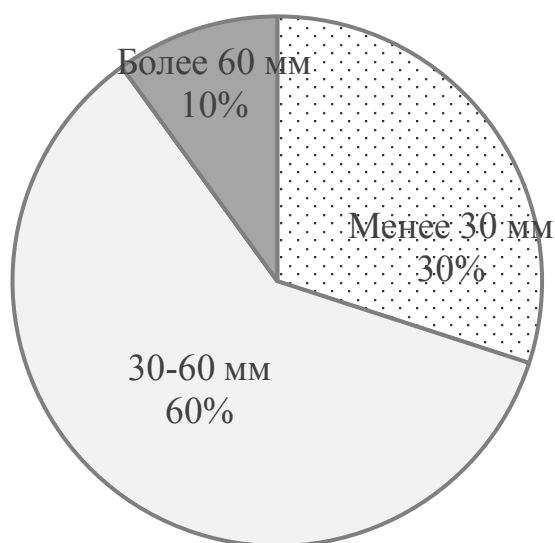


Рисунок 7.2 - Диаметр эндометриоидных кист у беременных пациенток.

7.3. Течение беременности, родов и перинатальные исходы у пациенток с наружным генитальным эндометриозом

При анализе течения первой половины беременности были выявлены следующие осложнения: угроза прерывания беременности, токсикоз, истмико-цервикальная недостаточность, анемия (Таблица 7.1).

Таблица 7.1 - Течение первой половины беременности

Осложнения	Группа №1 ($n=110$)		Группа №2 ($n=90$)		p
	Абс.	%	Абс.	%	
Угроза прерывания беременности	20	18,2	30	33,3	$p=0,01$
Токсикоз	11	10,0	12	13,3	$p>0,05$
Анемия	8	7,3	6	6,7	$p>0,05$
Истмико-цервикальная недостаточность	3	2,7	4	4,4	$p>0,05$

Наиболее частым осложнением течения беременности в обеих группах пациенток явились угроза прерывания беременности, которая выявлялась у 20

(18,2%) беременных с эндометриоз-ассоциированным бесплодием в анамнезе (из них у 15 (26,8%) в отсутствии прегравидарной подготовки и у 5 (9,2%) при ее применении) и 30 (33,3%) пациенток с эндометриоидными кистами. На втором месте по распространенности был токсикоз первой половины беременности, который наблюдался у 10 (9,5%) пациенток первой и 12 (13,3%) беременных второй группы. Частота угрозы прерывания беременности в группе сравнения составила 16,8%, что достоверно ниже ($p < 0,05$), чем в группе с эндометриоидными кистами яичников.

Репродуктивные потери в первой половине беременности оценивались только у пациенток с бесплодием в анамнезе, особенности формирования второй группы (критерий включения - наличие эндометриоидных кист во второй половине беременности) не позволили оценить частоту невынашивания у пациенток с эндометриозом, что является ограничением настоящего исследования. Беременность до 12 недель прервалась у 5 (4,5%) пациенток первой группы (все пациентки не получали прегравидарную подготовку).

Существенные различия были выявлены в частоте назначения гестаген-содержащих препаратов, а также низкомолекулярных гепаринов у пациенток с предшествующим бесплодием в анамнезе и в отсутствии бесплодия. У подавляющего числа пациенток первой группы (эндометриоз-ассоциированное бесплодие) препараты прогестерона назначались с прегравидарного этапа ($n=54$) или момента наступления беременности ($n=42$) и только 14 (12,7%) беременных гормональную поддержку во время беременности не получало (Таблица 7.2).

Таблица 7.2 - Назначение лекарственных средств во время первой половины беременности

Лекарственное средство	Группа №1 ($n=110$)		Группа №2 ($n=90$)		p
	Абс.	%	Абс.	%	
Препараты прогестерона	96	87,2	40	44,4	$<0,001$
Низкомолекулярные гепарины	56	50,1	10	11,1	$<0,001$

Тогда как в группе пациенток с эндометриоидными кистами препараты прогестерона назначались в основном при появлении признаков угрозы прерывания

беременности и количество пациенток, получавших терапию гестагенами в этой группе, было достоверно меньшим – 40 (44,4%). Схожие результаты были получены по частоте применения низкомолекулярных гепаринов: в первой группе они применялись у достоверно большего числа пациенток – у 56 (50,1%), причем у 45 наблюдаемых с прегравидарного этапа; во второй группе антикоагулянтная терапия проводилась 10 (11,1%) пациенткам. Показаниями к назначению низкомолекулярных гепаринов у них явились привычное невынашивание и/или наличие генов предрасположенности тромбофилии.

С учетом существенной разницы в течение и ведение первой половины беременности у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием в анамнезе по сравнению с пациентками с эндометриоидными кистами, отдельные показатели, характеризующие 1 триместр беременности были проанализированы, были проанализированы у пациенток группы №1 в зависимости от наличия и отсутствия прегравидарной подготовки (Таблица 7.3).

Таблица 7.3 - Течение первого триместра беременности в зависимости от наличия прегравидарной подготовки (ПП)

Осложнения	Группа с ПП (n=54)		Группа без ПП (n=56)		p
	Абс.	%	Абс.	%	
Угроза прерывания беременности	5	9,2	15	26,8	p=0,018
Репродуктивные потери	0	-	5	8,9	-
Получение препаратов прогестерона в 1 триместре	54	100	42	75	p<0,001
Получение препаратов НМГ в 1 триместре	45	83,3	11	19,6	p<0,001

Оказалось, что существенный вклад в уменьшение репродуктивных потерь и снижения частоты угрозы прерывания беременности вносит прегравидарная подготовка: угроза выкидыша в 1 триместре наблюдалась у достоверно меньшего числа пациенток, получавших прегравидарную подготовку (9,2% против 26,8%).

Таким образом, как следует из данных, представленных на Рисунок 7.3, наибольшая частота угрозы прерывания беременности в первой половине беременности наблюдалась у пациенток с эндометриоидными кистами, тогда как

наименьшей она была у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием в анамнезе, получавшим после операции прегравидарную подготовку.

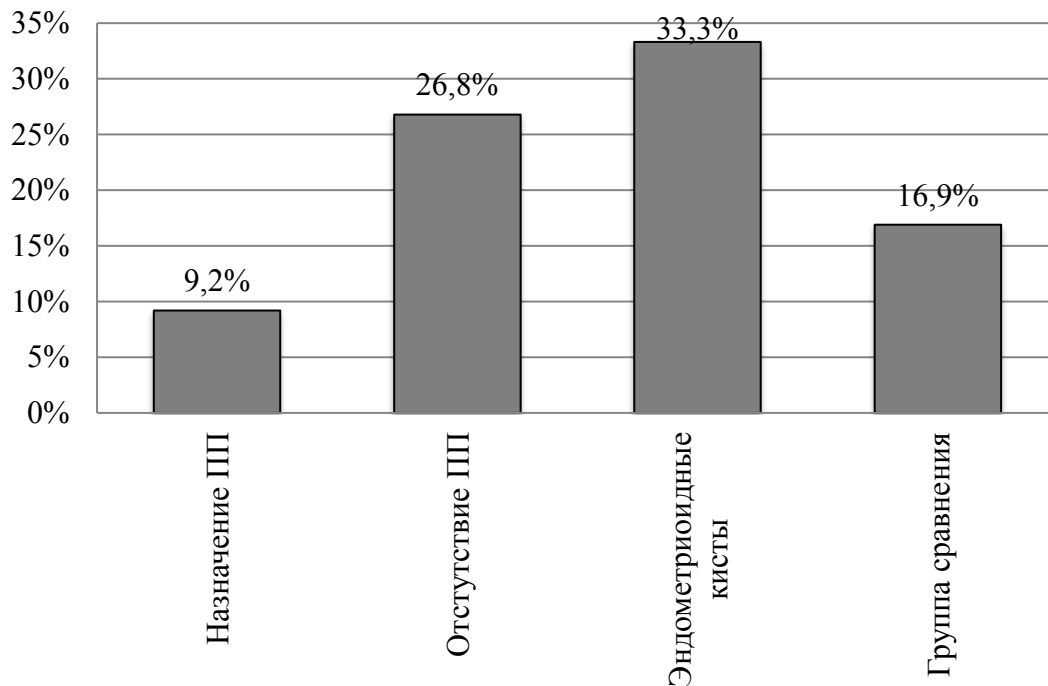


Рисунок 7.3 - Частота угрозы прерывания у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием в анамнезе (с назначением и отсутствием прегравидарной подготовки), с эндометриозными кистами и в группе сравнения

С учетом репродуктивных потерь в первой половине беременности в первой группе пациенток дальнейшее течение беременности оценивалось у 105 наблюдаемых. Во время второй половины беременности отеки выявлялись у 10 (9,5%) пациенток в группе №1 и 16 (17,8%) в группе №2. Умеренная преэклампсия была диагностирована у 6 (5,7%) беременных с бесплодием в анамнезе и 6 (6,7%) с эндометриозными кистами, случаев тяжелой преэклампсии выявлено не было. Угроза преждевременных родов была диагностирована у 11 (10,5%) и 12 (13,3%) пациенток в первой и второй группе соответственно. У 8 (7,6%) пациенток из первой группы и 6 (6,7%) пациентки из второй выявлялась анемия беременных. Предлежание плаценты было диагностировано у 7 (6,6%) пациенток с бесплодием в анамнезе (у 5 из них в анамнезе было иссечение ретроцервикального эндометриоза) и 4 (4,4%) беременных с эндометриозными кистами (Таблица 7.4).

Таблица 7.4 - Течение второй половины беременности

Осложнения	Группа №1 (n=105)		Группа №2 (n=90)		p
	Абс.	%	Абс.	%	
Угроза преждевременных родов	11	10,5	12	13,3	p>0,05
Отеки беременных	10	9,5	16	17,8	p>0,05
Преэклампсия	6	5,7	6	6,7	p>0,05
Предлежание плаценты	7	6,6	4	4,4	p=0,05
Анемия	8	7,6	6	6,7	p>0,05
Гестационный сахарный диабет	2	1,9	4	4,4	p>0,05
Гестационный пиелонефрит	2	1,9	2	2,2	p>0,05

Нами было проведено сравнение частоты угрозы прерывания беременности и преждевременных родов у пациенток изучаемых групп с «популяционными» данными (Таблица 7.5).

Таблица 7.5 - Частота угрозы прерывания и преждевременных родов у пациенток с НГЭ.

Осложнение беременности	Группа №1 (n=105)			Группа №2 (n=90)			Данные по ЦПСиР ²
	Абс.	%	Доверител. интервал ¹	Абс.	%	Доверител. интервал ¹	%
Угроза прерывания беременности	20	18,1	11,5-26,7	30	33,3*	23,7-44,0	16,86
Угроза преждевременных родов	11	10,5	5,3-18,0	12	13,3	7,1-22,1	8,74
Преждевременные роды	7	6,7	2,7-13,3	6	6,7	2,5-13,9	4,21

Примечание. * p<0,05 в сравнении с общепопуляционными данными

¹ 95% доверительный интервал Клопера-Пирсона

² Данные "Центр планирования семьи и репродукции Департамента здравоохранения города Москвы" и 15 женских консультаций за 2016 год

В качестве группы сравнения были использованы данные ГБУЗ города Москвы "Центр планирования семьи и репродукции Департамента здравоохранения города Москвы" за 2016 год о течение беременности и исходе родов 13202 беременных. В группе пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием

частота прерывания беременности и угрозы преждевременных родов не отличалась по сравнению с беременными, наблюдавшимися в 15 женских консультаций Центра планирования семьи и репродукции. Тогда как у пациенток с эндометриоз-ассоциированными кистами наблюдалось достоверное повышение частоты угрозы прерывания в сравнении с популяционными данными. При анализе срока наступления родов было установлено, что преждевременные роды наблюдались с одинаковой частотой в обеих группах: у 7 (6,7%; 95% ДИ: 2,7-13,3) пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием в анамнезе и у 6 (6,7%; 95% ДИ: 2,5-13,9) пациенток с эндометриоз-ассоциированными кистами яичников. При сравнении частоты преждевременных родов с данными ЦПСР за 2016 год (4,21%) достоверных различий также не было выявлено (Рисунок 7.4).

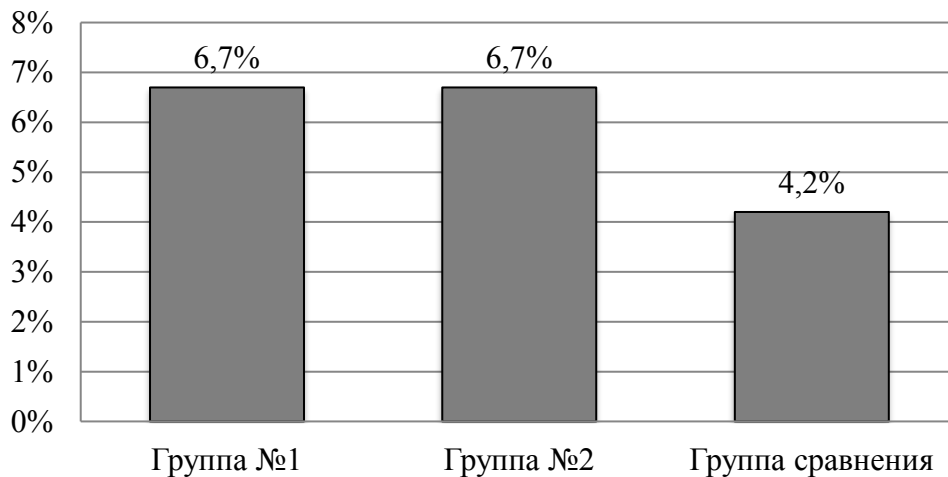


Рисунок 7.4 - Частота преждевременных родов у пациенток с НГЭ

Роды через естественные родовые пути произошли у 60 (57,1%) пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием в анамнезе и 14 (15,6%) пациенток в группе с эндометриоз-ассоциированными кистами яичников. Мы не ставили себе задачей анализ частоты оперативного родоразрешения в двух группах пациенток, в связи с тем, что около половины пациенток, составивших вторую группу, были включены в нее только в связи со «случайным» обнаружением во время кесарева сечения эндометриоз-ассоциированных кист, при самопроизвольном родоразрешении данные пациентки не вошли бы в изучаемую группу. Аналогично ограничение имеет и анализ показаний к оперативному родоразрешению у этих пациенток, так как часть из них была родоразрешена в экстренном порядке в связи с осложненным течением

родов. Мы считаем, что более целесообразным и в большей степени отражающим течение родов являются показатели, полученные при анализе первой группы пациенток (Таблица 7.6).

Таблица 7.6 - Показания к оперативному родоразрешению

	Группа №1 (n=105)		Группа №2 (n=90)	
	Абс.	%	Абс.	%
Частота кесарева сечения				
	40	38,1	76	84,4
Показания к плановому оперативному родоразрешению				
- ВПР плода	1	0,9	2	2,2
- неправильное положение	5	4,8	12	13,3
- объемное образование яичников	0		0	-
- несостоятельный рубец на матке	1	0,9	8	8,9
- предлежание плаценты	7	6,7	4	4,4
- общеравномерно суженный таз	1	0,9	-	-
- симфизит	1	0,9	4	4,4
- врожденный вывих бедра	0	-	2	2,2
- возраст первородящей	5	4,8	4	4,44
- миопия высокой степени	5	4,8	6	6,7
Показания к экстренному оперативному родоразрешению				
Преждевременная отслойка плаценты	2	1,9	4	4,4
Слабость родовой деятельности	5	4,8	10	11,1
ПИОВ*, неподготовленность родовых путей	3	2,9	10	11,1
Острая гипоксия плода	3	2,9	10	11,11

ПИОВ – преждевременное излитие околоплодных вод

Плановое оперативное родоразрешение было проведено 26 (65,0%) беременным с эндометриоз-ассоциированным бесплодием в анамнезе и 42 (55,3%) беременным с эндометриоидными кистами. Среди показаний со стороны плода к плановой операции наблюдались неправильное положение плода, врожденные пороки развития (ВПР) плода, а со стороны матери – несостоятельный рубец на матке, предлежание плаценты, симфизит, отягощенный соматический анамнез. Стоит отметить, что объемные образования яичников ни явились показанием к оперативному родоразрешению ни у одной пациентки. После родоразрешения в обеих группах не было тяжелых акушерских осложнений.

Мы считаем, что анализ исходов новорожденных, проводимый в первой группе пациенток, в большей степени отражает данные касательно перинатальных исходов при НГЭ. Формирование второй группы пациенток имело ряд ограничений, в том числе в связи с высокой частотой кесаревых сечений, проводимых в экстренном порядке и/или в интересах плода, в связи с этим показатели перинатальной заболеваемости у этих пациенток завышены. Большинство детей в обеих группах пациенток родились в удовлетворительном состоянии: у 103 (98,1%) новорожденных в группе пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием в анамнезе и у 86 (95,5%) в группе пациенток с эндометриоидными кистами оценка по шкале Апгар составила 7-9 баллов. Легкая асфиксия (6 баллов по шкале Апгар) наблюдалась у 3 (2,9%) и 4 (4,4%) новорожденных в первой и второй группах соответственно (Таблица 7.7). Перинатальной смертности ни в одной из групп зарегистрировано не было.

Таблица 7.7 - Течение периода новорожденности

Характеристика новорожденных	Группа №1 (n=105)		Группа №2 (n=90)	
	Абс.	%	Абс.	%
Ростовесовой показатель в пределах нормы	103	98,1%	90	100
Маловесный к сроку гестации	2	1,9	0	-
Врожденные пороки развития	1	0,9	2	2,22
Оценка по шкале Апгар 7-9 баллов	102	97,1	86	95,5
Родились в состоянии асфиксии:				
- легкой степени	3	2,9	4	4,44
- средней степени	0	-	0	-
- тяжелой степени	0	-	0	-

Нами была проанализирована частота перевода новорожденных на второй этап выхаживания. Не было выявлено статистически значимых различий по данному показателю между группой с эндометриоз-ассоциированным бесплодием в анамнезе и с эндометриоидными кистами яичников: 5 (4,8%) детей в группе №1 и 9 (10,0%) в группе №2. При сравнении частоты перевода детей на второй этап выхаживания с данными по ЦПСИР различий также не было выявлено (Таблица 7.8).

Таблица 7.8 - Перевод новорожденных на второй этап выхаживания

Состояние новорожденных	Группа №1 (n=105)			Группа №2 (n=90)			Данные по ЦПСиР ²
	Абс.	%	Доверительный интервал ¹ (%)	Абс.	%	Доверительный интервал ¹ (%)	%
Переведены на второй этап выхаживания	5	4,8	1,6%-10,7%	9	10,0	4,7%-18,1%	10,36

* $p < 0,05$ в сравнении с общепопуляционными данными

¹ 95% доверительный интервал Клопера-Пирсона

² В качестве общепопуляционных использовались данные ГБУЗ города Москвы "Центр планирования семьи и репродукции Департамента здравоохранения города Москвы" и 15 женских консультаций за 2016 год

В Таблица 7.9 представлены данные по заболеваемости новорожденных. В группе пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием 100 (95,2%) новорожденных и в группе с эндометриодными кистами 81 (90,0) ребенок были выписаны домой в удовлетворительном состоянии. Таким образом, нами не было выявлено увеличения перинатальной заболеваемости у пациенток с эндометриоз, несмотря даже на особенности формирования второй группы пациенток, о которых уже было упомянуто ранее.

Таблица 7.9 - Заболевания новорожденных

Наименование заболеваний	Группа №1 (n=105)		Группа №2 (n=90)	
Число детей с заболеваниями (всего)	5		9	
	Абс.	%	Абс.	%
Врожденные пороки развития	1	0,9	2	2,2
Дистресс-синдром новорожденных	2	1,8	2	2,2
Пневмония	0	-	4	4,4
Спонтанный пневмоторакс	0	9	1	1,1
Неонатальная желтуха	2	1,8	2	2,2
Нарушения церебрального статуса новорожденного	1	0,9	4	4,4
Тонкокишечная непроходимость	0	-	1	1,1

Согласно литературным данным, у большинства беременных образования яичников бессимптомны [24]. В настоящем исследовании ни одна из пациенток не предъявляла жалоб, характерных для объемного образования в области придатков матки и эндометриоидные кисты у подавляющего числа пациенток были выявлены случайно в время планового УЗИ во время 1 пренатального скрининга, либо во время оперативного родоразрешения путем операции кесарева сечения. По данным Герасимовой А.А. и др. у беременных УЗИ с цветным доплеровским картированием позволяет провести дифференциальную диагностику опухолей яичников по тем же параметрам, что и вне беременности, хотя исследование является более затруднительным и трудоемким [24]. Некоторые исследования показывают, что ультразвуковая характеристика образований яичников может быть достаточной для определения того, какие пациентки подвержены повышенному риску развития злокачественных новообразований по сравнению с теми, кто может наблюдаться консервативно. Так Манухин И.Б. и др. указывают, что в пограничных и злокачественных опухолях у беременных при УЗИ характерными признаками являются определение центрального расположения сосудов с разветвленной сетью (в перегородках, в солидном компоненте, в папиллярных разрастаниях) и наличие низкорезистентного кровотока [55].

Нами не было выявлено осложнений со стороны образований яичников во время беременности, таких как перекрут ножки опухоли, разрыв капсулы, малигнизация. Стоит отметить, что эти осложнения так же редко описываются в литературе. Считается, что частота перекрута ножки опухоли яичников колеблется от 0,2% до 15%, однако риск данного осложнения увеличивается во время беременности [235, 302]. Перекрут чаще встречается у пациенток с образованиями яичников больших размеров от 6 до 10 см, однако образования, размер которых превышает 10 см имеют более низкий риск данного осложнения [235]. При эндометриоидных кистах яичника риск перекрута придатков также понижен. Считается, что риск разрыва кисты у беременных довольно низок, с зарегистрированной частотой менее 1% [290]. В литературе имеются сообщения о случаях инфицирования, усиленного роста и разрыва эндометриоидных кист на фоне беременности [177,

345]. Таким образом, несмотря на то, что осложнения со стороны образований яичников во время беременности маловероятны, следует помнить о них и учитывать при дифференциальной диагностике тазовых болей.

В настоящем исследовании была выявлена достоверно более частая угроза прерывания беременности у пациенток с эндометриоидными кистами по сравнению с популяцией пациенток, наблюдавшихся в 15 женских консультаций ЦПСиР. Следует отметить, что в более поздние в сроки беременности частота угрозы прерывания уменьшилась и не отличалась как у пациенток обеих исследуемых групп, так и по сравнению с популяционными данными. В литературе описано несколько возможных механизмов, которые приводят к угрозе прерывания у пациенток с эндометриозом. Считается, что прерывание беременности может произойти вследствие изменений в продукции фактора роста эндотелия сосудов и изменения в ангиогенезе [242]; поздней имплантации из-за измененной сократимости матки и повышенной резистентности к прогестерону [248]; изменений эутопического эндометрия из-за повышенной секреции интерлейкинов и хронического воспаления [147]. Взаимосвязь между эндометриозом и самопроизвольным прерыванием беременности активно исследуется, в литературе описывается несколько ретроспективных исследований изучающих взаимосвязь между самопроизвольным прерыванием беременности и эндометриозом [54, 120, 153, 276, 372], в части из них указывается о наличии связи, напротив, в других приводятся противоречащие данные. Стоит отметить, что в некоторых исследованиях риск невынашивания беременности был выше у пациенток с эндометриоидными кистами яичников [91]. Согласно данным Липаткина И.С. и др., опубликованного в 2017 году, у пациенток с НГЭ частота угрозы прерывания беременности в 1 триместре составляет 41,1%, ретрохориальной гематомы – 13,3%, репродуктивных потерь – 18,8% [54]. В нашем исследовании высокая частота прерывания беременности наблюдалась только при наличии эндометриоидных кист, тогда как у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием она была ниже. Эти данные можно объяснить тем, что большинство пациенток с НГЭ забеременели в ближайшее время после проведенной элиминации эндометриоидных очагов, ко-

торая, по-видимому, привела к уменьшению воспалительных реакций и снижению уровня оксидативного стресса. О тесной связи изменения баланса между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами, приводящими к самопроизвольному прерыванию беременности, сообщается в отечественном исследовании [54]. С другой стороны, подавляющее число пациенток, перенесших лапароскопическое лечение бесплодия, получали гормональную терапию гестагенами, начиная с ранних сроков беременности ($n=42$) или даже на этапе прегравидарной подготовки ($n=54$). В отечественных клинических рекомендациях указывается, что препараты прогестерона снижают частоту выкидыша по сравнению с плацебо или отсутствием лечения ($OR = 0,53$; 95% ДИ 0,35 - 0,79) при привычном выкидыше [22]. По нашим данным привычное невынашивание выявлялось у 8 (8,9%) пациенток с эндометриоидными кистами. Ярмолинская М.И. сообщает, что эндометриоз может быть ассоциирован не только с бесплодием но и привычным невынашиванием [29]. Кроме того, нами были получены достоверные различия в частоте применения низкомолекулярных гепаринов у пациенток обеих групп. Назначение данных препаратов также, по-видимому, снизило частоту угрозы прерывания в ранние сроки у пациенток с НГЭ. По данным Лариной Е.Б. и др. применение НМГ с прегравидарного этапа или ранних сроков беременности способствует уменьшению угрозы прерывания беременности и других плацента-ассоциированных осложнений, что в конечном итоге способствует улучшению перинатальных исходов вследствие прямого и/или косвенного влияния НМГ на формирование ворсинчатого дерева и сосудистой сети плаценты [50].

В нашем исследовании частота истмико-цервикальной недостаточности составила менее 5%, что, по-видимому, связано с генезом функциональной истмико-цервикальной недостаточности, которая более характерна для пациенток с исходной гиперандрогенией, которая довольно редко выявляется при НГЭ. В более поздние сроки гестации признаки угрозы прерывания регистрировались у значительно меньшего числа пациенток, различий не было выявлено ни между группами, ни в сравнении с другими беременными, наблюдавшимися в ЦПСиР. О благоприятном течение беременности пациенток после хирургического лечения эндо-

метриоза сообщается и в исследовании Šalamun et al.: частота преждевременных родов составила 10,3% у пациенток, у которых беременность наступила самопроизвольно после лапароскопии, тогда так, при наступлении беременности после ЭКО у 43,7% женщин произошли преждевременные роды [326].

В литературе указывается на возможную связь между эндометриоз и предлежанием плаценты. В нашем исследовании большинство пациенток с лапароскопическим лечением эндометриоз-ассоциированного бесплодия были первобеременными и первородящими, однако у 7 (6,6%) пациенток этой группы было выявлено предлежание плаценты, которое в большей мере характерно для повторнобеременных пациенток, причем у 5 из 7 пациенток во время лапароскопии проводилось иссечение ретроцервикального эндометриоза. Vercellini et al. также указывают, что у пациенток с ретроцервикальным эндометриозом почти в 6 раз был увеличен риск аномалия расположения плаценты по сравнению с женщинами с сочетанием эндометриоидных кист и поверхностных эндометриоидных гетеротопий [372].

Небольшой процент осложнений течения второй половины беременности у обследованных пациенток не привел к увеличению частоты преждевременных родов. Литературные данные относительно преждевременных родов у пациенток с эндометриозом противоречивы: одни авторы указывают на повышенный риск [186, 189, 253], напротив, другие свидетельствуют об отсутствии достоверных различий в сроке родоразрешения между пациентками с НГЭ и без него [120, 276]. Данные разночтения связаны с тем, что указанные исследования характеризуются заметными различиями в аналитических подходах, фенотипах заболевания, выборе средств контроля и в общей методологической структуре, что затрудняет формирование окончательных выводов.

В отличие от других исследований [120, 189, 350], в которых предполагалось, что эндометриоидные кисты яичников могут быть связаны с неблагоприятными перинатальными исходами, мы не обнаружили различий в частоте перевода новорожденных на второй этап выхаживания у пациенток с образованиями яичников по сравнению с общей популяцией. Наиболее часто описывается вероят-

ность влияния эндометриоза, эндометриоидных кист в частности, на рождение детей малыми для гестационного возраста [120, 189, 350]. Однако в нашем исследовании задержка роста плода была отмечена в 2 (1,9%) наблюдениях в первой группе пациенток и отсутствовала во второй группе.

Таким образом, в нашем исследовании не было выявлено осложнений (перекрут, разрыв) со стороны эндометриоидных кист во время беременности. Наблюдалось достоверное повышение частоты угрозы прерывания в первой половине беременности, протекающей на фоне эндометриоидных кист. У пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием в анамнезе течение беременности, в том числе частота угрозы прерывания и репродуктивных потерь в 1 триместре, не отличалась от показателей когорты пациенток, наблюдавшихся в этот же период в ЦПСиР. Что, по-видимому, было связано с уменьшением воспалительных реакций и снижением уровня оксидативного стресса после элиминации эндометриоидных гетеротопий, которые по литературным данным, являются одним из элементов патогенеза потери беременности у пациенток с эндометриозом. Важную роль в снижении репродуктивных потерь у пациенток с бесплодием в анамнезе имел комплекс мер прегравидарной подготовки. Частота осложнений течения второй половины беременности у пациенток с эндометриозом не отличалась от группы сравнения. Перинатальные исходы также были благоприятными и у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием в анамнезе и с наличием эндометриоидных кист во время беременности. Мы считаем, что у молодых пациенток с хорошим овариальным резервом и нормальными показателями спермограммы партнера на первом этапе рекомендуется хирургическое лечение эндометриоза, в комплексную терапию должна включаться прегравидарная подготовка пациенток. Ранее в работах в Лариной Е.Б. и др. было показано, что прегравидарная подготовка значительно уменьшает перинатальные потери у пациенток с отягощенным акушерским анамнезом [50, 51]. Наши данные также доказывают, что прегравидарная подготовка у пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием не только способствует наступлению беременности, но и снижает перинатальные потери.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, представленные в диссертации исследования подтверждают причинно-следственную связь эндометриоза и бесплодия. Лечение эндометриоза - это лечение хронического состояния в течение репродуктивной жизни, которое требует сбалансированного подхода, основанного на симптомах, ожиданиях пациентки и желании беременности. Одним из ключевых моментов, определяющих эффективность лечения бесплодия, связанного с НГЭ, является своевременность и квалификация хирургического лечения. Лапароскопия при бесплодии показана молодым пациенткам в возрасте до 32 лет, с длительностью бесплодия до 3 лет, с отсутствием поражения эндометриозом яичников или односторонними эндометриомами до 6 см и сохранным овариальным резервом. Несмотря на то, что хирургическое лечение эндометриоза значительно улучшает показатели фертильности, оно не позволяет полностью восстановить репродуктивный потенциал женщины и решить всех проблем, связанных с эндометриозом. Существует необходимость в комбинированных вариантах хирургического и консервативного лечения. Проведение прегравидарной подготовки во многом способствует улучшению результатов операции по поводу эндометриоз-ассоциированного бесплодия. У ряда пациенток единственным методом достижения беременности является применение вспомогательных репродуктивных технологий. ВРТ у пациенток с НГЭ рекомендуется проводить по коротким протоколам с антагонистами Гн-РГ, а в качестве анестетика использовать севофлуран (Рисунок 8.1).

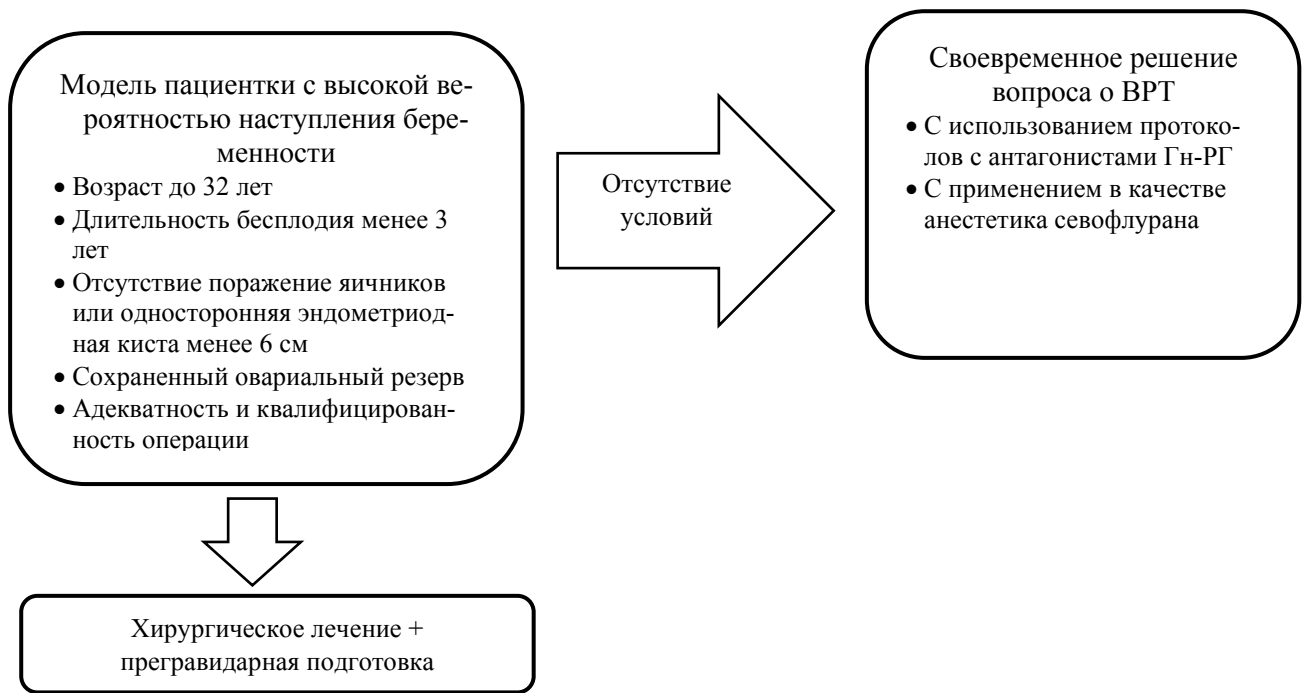


Рисунок 8.1 - Алгоритм ведения пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием

Успех лечения эндометриоз-ассоциированного бесплодия во многом определяется достижением свободно-радикального баланса как на локальном, так и на системном уровнях. Эндометриоз связан с хроническим воспалением и генерацией АФК, что приводит к изменению антиоксидантного статуса и может вызывать локальный окислительный или антиоксидантный стресс, который в свою очередь может отражаться и на системном уровне. Повышение концентрации антиоксидантов в перитонеальной жидкости, казалось бы, должно способствовать преодолению бесплодия у пациенток с распространенными формами эндометриоза. В то же время АФК в небольших концентрациях всегда находятся в перитонеальной и фолликулярной жидкостях и являются сигнальными модуляторами овуляции, развития эмбрионов и имплантации. Но при повышении выработки АФК происходит окислительное модифицирование митохондриальной и геномной ДНК, вызывающее ее повреждение, которое, по-видимому, приводит к гибели эндометриальных клеток. Эффективная антиоксидантная функция, в свою очередь, может замедлить гибель клеток, вызванную АФК, и привести к формированию «порочного круга»: большее количество эндометриоидных имплантов продуцирует большее количество АФК, что вызывает активацию антиоксидантной защиты и

«выживаемость» клеток под действием сублетальных концентраций АФК и как следствие образованию новых очагов эндометриоза. Наши исследования относительно роли антиоксидантного стресса в прогрессировании эндометриоза и возникновении глубокого инфильтративного эндометриоза являются пилотными. Мы считаем, что полученные данные, могут расширить понимание роли окислительно-антиоксидантного баланса в брюшной полости, и пагубности сдвигов как в сторону окислительного, так и сторону антиоксидантного стресса. Логично предположить, что элиминация эндометриоидных очагов приводит к восстановлению свободно-радикального гомеостаза и наступлению беременности, что и подтверждено в нашем исследовании, тогда как при исходно неизмененном балансе про- и антиоксидантов хирургическое лечение эндометриоз-ассоциированного бесплодия оказалось малоэффективным.

Нарушения оксидантно-антиоксидантных взаимосвязей играют ключевую роль и в снижении овариального резерва при эндометриозе яичников. Содержимое эндометриомы является источником свободных радикалов, нейтрализация которых происходит, в том числе за счет активации НАДН-зависимой цитохром b5-редуктазы, а при недостатке резервов антиоксидантной защиты запускается цитохром-активированная гибель митохондрий в микроокружении эндометриоидной кисты яичника, приводящая к апоптозу и возникновению фиброза, а, следовательно, и снижению овариального резерва. К развитию бесплодия при НГЭ могут приводить и свободно-радикальные изменения в микроокружении ооцита, главным образом в белковом звене, причем стимуляция суперовуляции с применением а-ГнРГ усугубляет окислительный стресс. Повышению антиоксидантной емкости фолликулярной жидкости, а следовательно, уменьшению оксидативного стресса, способствует использование в качестве препарата для анестезии во время пункции ооцитов севофлурана, обеспечивающего эффект preconditionирования. Мы считаем, что показатели свободно-радикального гомеостаза фолликулярной жидкости являются перспективными маркерами прогностических критериев развития и имплантационных способностей эмбриона и могут использоваться в

дополнении к традиционным оценкам качества эмбрионов для переноса, основанных на скорости их развития и морфологических особенностях.

Таким образом, свободно-радикальный дисбаланс как на локальном, так и на системном уровнях может приводить к снижению репродуктивного потенциала пациенток с эндометриозом (Рисунок 8.2).

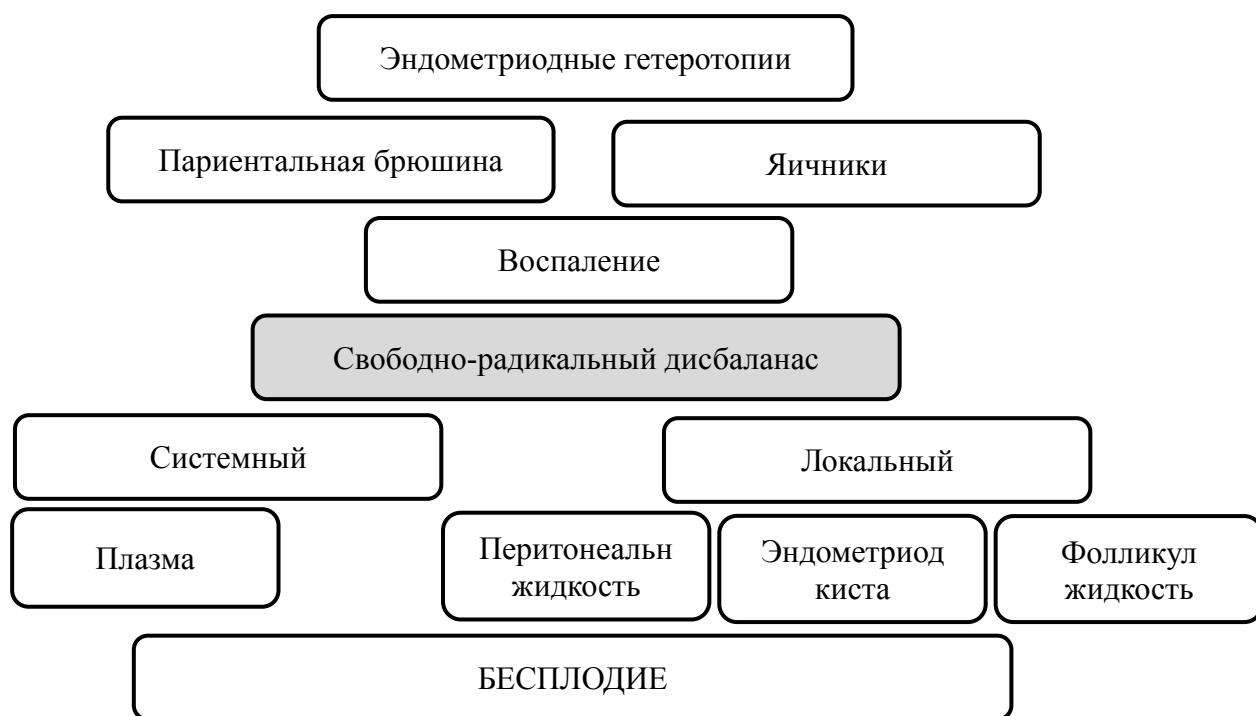


Рисунок 8.2 -Роль свободно-радикального дисбаланса в патогенезе эндометриоз-ассоциированного бесплодия

Таким образом, в диссертации, на основании изучения патогенеза нарушений оксидантно-антиоксидантного баланса и выявления факторов, влияющих на фертильность, была создана новая современная концепция восстановления репродуктивной функции пациенток с наружным генитальным эндометриозом с учетом степени его тяжести.

ВЫВОДЫ

1. Важным звеном патогенеза распространенных форм наружного генитального эндометриоза (III-IV стадии) является активация локальной антиоксидантной функции: показатели антиоксидантного профиля перитонеальной жидкости в 1,5 раза выше таковых при наружном генитальном эндометриозе I-II стадии. Состояние системного антиоксидантного профиля (плазма крови) не зависит от стадии эндометриоза.

2. В генезе бесплодия, обусловленного наружным генитальным эндометриозом, важную роль играет как активация антиоксидантной защиты, так и истощение ее резервов в перитонеальной жидкости и плазме крови, то есть наступлению беременности при наружном генитальном эндометриозе препятствует как недостаток антиоксидантов (у 30% пациенток в плазме крови и у 44% в перитонеальной жидкости), так и их избыток (у 48% пациенток в плазме крови и у 35% в перитонеальной жидкости).

3. Содержимое эндометриоидной кисты является сильным проокисдантом - источником активных форм кислорода, инициирующим свободно-радикальный дисбаланс в стенке кисты, степень которого находится в прямой зависимости от ее размеров, а также в прилежащей ткани яичника. Для устранения редокс-дисбаланса в стенке эндометриоидной кисты, происходит активация антиоксидантной защиты (НАДН-зависимой цитохром b5-редуктазы), истощение резервов которой приводит к снижению овариального резерва

4. Частота окислительного стресса в фолликулярной жидкости не зависит от генеза бесплодия и составляет 50% при наружном генитальном эндометриозе, 72% при трубно-перитонеальном бесплодии и 45% в позднем репродуктивном возрасте пациенток, проходящих лечение в программе ЭКО.

5. Наиболее эффективным в программе ЭКО у пациенток с бесплодием является применение схем стимуляции суперовуляции с антагонистами гонадотропин рилизинг-гормона, при которых частота окислительного стресса в фолликулярной жидкости снижается до 16% (против 38% при использовании агонистов

гонадотропин рилизинг-гормона). Препаратом выбора при анестезии трансвагинальной пункции ооцитов является севофлуран, способствующий снижению частоты оксидантного стресса до 17% (против 55% при использовании пропофола). Эффективность ЭКО при эндометриоз-ассоциированном бесплодии составляет 40%.

6. Эффективность восстановления естественной фертильности при бесплодии, обусловленном наружным генитальным эндометриозом, независимо от его формы, после хирургического удаления эндометриоидных гетеротопий составляет 31% и повышается до 54% после проведения комплексной прегравидарной подготовки.

7. Хирургическая элиминация очагов эндометриоза - источников локального окислительного и антиоксидантного стресса - приводит к восстановлению свободно-радикального баланса и способствует наступлению беременности у 68% пациенток при исходном недостатке антиоксидантной защиты и у 62% при высоком уровне антиоксидантной защиты.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для диагностики наружного генитального эндометриоза I-II стадий целесообразно включать совместное определение интерлейкина-6 и СА-125.
2. Хорошие шансы на самопроизвольное наступление беременности после хирургического лечения эндометриоз-ассоциированного бесплодия имеют пациентки в возрасте до 32 лет, с длительностью бесплодия до 3 лет, с отсутствием поражения эндометриозом яичников или односторонними эндометриоидными кистами до 6 см и сохранным овариальным резервом. Хирургическое лечение должно проводиться квалифицированным хирургом и включать тщательную элиминацию всех эндометриоидных гетеротопий.
3. Прогностически благоприятным ультразвуковым критерием наступления самопроизвольной беременности после удаления эндометриоидных кист является наличие доминантного фолликула и число антральных фолликулов более 5.
4. Послеоперационное ведение пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием должно дополняться прегравидарной подготовкой по индивидуальной подобранной схеме с включением гормональных и вазоактивных препаратов.
5. Выжидательная тактика в отношении эндометриоидных кист должна быть ограничена в связи с высокой вероятностью повреждения овариального резерва за счет редокс-дисбаланса, возникающего в окружении кисты.
6. ЭКО по поводу эндометриоз-ассоциированного бесплодия целесообразно проводить по коротким протоколам стимуляции суперовуляции с антагонистами гонадотропин релизинг-гормона и использовать в качестве анестетика севофлуран.
7. Показатели оксидантно-антиоксидантного профиля фолликулярной жидкости являются перспективными маркерами прогностических критериев развития и имплантационных способностей эмбриона и могут использоваться в до-

полнении к традиционным оценкам качества эмбрионов, основанных на скорости их развития и морфологических особенностях.

8. Уменьшению частоты угрозы прерывания и как следствие снижению репродуктивных потерь в I триместре беременности у пациенток с самопроизвольно наступившей беременностью после лапароскопии по поводу эндометриоз-ассоциированного бесплодия способствует прегравидарная подготовка, направленная на адаптацию сосудистой системы матки к беременности.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

8-OHdG - 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина

AOPP (advanced oxidation protein products) –

AUC (area under ROC curve) - площадь под ROC-кривой

EFI (endometriosis fertility index) - индекс фертильности при эндометриозе

LR (likelihood ratio) – критерии правдоподобия

PAI - ингибитора активатора плазминогена

ROC-кривые (receiver operating characteristic) - рабочая характеристика приемника

TGF - трансформирующий фактор роста

tPA - тканевой активатор плазминогена

АБАП - 2',2-азо-бис(2-амиди-нопропан) гидрохлорид

а-ГнРГ- агонисты гонадотропин рилизинг-гормона

АМГ – антимюллеров гормон

ант-ГнРГ – антагонисты гонадотропин рилизинг-гормона

АТФ – аденинтрифосфат

АФК – активные формы кислорода

ВЗОМТ - воспалительные заболевания органов малого таза

ВКМ - внутриклеточная масса (ВКМ)

ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии

ГАМК- гамма-аминомасляная кислота

ДИ – доверительный интервал

ЗРП – задержка роста плода

ИКСИ – интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида

ИЛ – интерлейкин

ИППП - инфекции, передающиеся половым путем

ИФА – иммуноферментный анализ

КА - коэффициент активации

ЛГ – лютеинизирующий гормон

ЛПНП - липопротеиды низкой плотности

ММР – матриксные металлопротеиназы
МРТ – магнитно-резонансная томография
НАДН – никотинамидадениндинуклеотид
НАДФН – никотинамидадениндинуклеотидфосфат
НГЭ – наружный генитальный эндометриоз
НМГ – низкомолекулярные гепарины
НПВП – нестероидные противовоспалительные препараты
ОАЕ – общая антиоксидантная емкость
ОШ – отношение шансов
ПЖ – перитонеальная жидкость
ПОЛ – перекисное окисление липидов
ПП – прегравидарная подготовка
РВ – репродуктивный возраст
СА (carbohydrate antigen) - углеводный антиген 125
СОД – супероксиддисмутаза
СПКЯ – синдром поликистозных яичников
ТВ-трансвагинальный
ТПБ – трубно-перитонеальное бесплодие
ТЭ - трофобластический слой
ФБ-раствор - фосфатный буферный раствор
ФНО- α – фактор некроза опухоли α
ФСГ- фолликулостимулирующий гормон
ХЛ - хемилюминесценция

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адамян А.В., Мартиросян Я.О., Асатурова А.В. Этиопатогенез эндометриоз-ассоциированного бесплодия (обзор литературы) // Проблемы репродукции. – 2018. – №2. – С.28-33.
2. Адамян Л.В., Осипова А.А., Азнаурова Я.Б. и др. Анализ экспрессии генов и активации сигнальных путей в эутопическом и эктопическом эндометрии пациенток с наружным генитальным эндометриозом // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2019. – №1. – С.6-10.
3. Адамян Л.В., Логинова О.Н., Соснова М.М., Арсланян К.Н. Антиоксидантная защита у больных наружным генитальным эндометриозом // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2014. – №3. – С.18-21.
4. Адамян Л.В., Серов В.Н., Сухих Г.Т., Филлипов О.С. Клинические рекомендации. Акушерство и гинекология. Эндометриоз: диагностика, лечение и реабилитация. // Проблемы репродукции (специальный выпуск). – 2017. – № 6. – С.553-605.
5. Адамян Л.В., Азнаурова Я.В., Л.В. А. и др. Молекулярные аспекты патогенеза эндометриоза // Проблемы репродукции. – 2015. – №21. – С.66-77.
6. Адамян Л.В., Азнаурова Я.Б. Биомаркеры эндометриоза — современные тенденции // Проблемы репродукции. – 2018. – №1. – С.57-62.
7. Азнаурова Я.Б., Петров И.А., Сунцова М.В. и др. Взаимосвязь экспрессии генов и степени активации сигнальных путей в эутопическом и эктопическом эндометрии пациенток с наружным генитальным эндометриозом // Проблемы репродукции. – 2018. – №4. – С.13-22.
8. Айламазян Э.К., Ярмолинская М.И., Молотков А.С., Цицкарава Д.З. Классификации эндометриоза // Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – №66. – С.77-92.
9. Артымук Н.В., Данилова А.Н., Нервов В.О. и др. Сравнительная оценка комбинированного лечения пациенток, страдающих эндометриозом и бесплодием, с

применением агонистов гонадотропин-рилизинг-гормона и диеногеста // Проблемы репродукции. – 2017. – №2. – С.61-65.

10. Артымук Н.В., Зотова О.А., Шакирова Е.А. и др. Эффективность комбинированного лечения эндометриом яичников // Эндоскопическая хирургия. – 2019. – №2. – С.35-39.

11. Аскеров А.А., Сатыбалдиева А.Ж., Жумабекова А.Ж. Неинвазивная ранняя диагностика эндометриоза яичников посредством онкомаркера СА-125 и оценка овариального резерва после лечения через антимюллеров гормон // Вестник КГМА им. И.К. Ахунбаева. – 2018. – №2. – С.102-105.

12. Багдасарян Л.А., Корнеева И.Е. Толщина эндометрия: предиктор эффективности программы ЭКО/ICSI (обзор литературы) // Гинекология. – 2018. – №20, №1. – С.113-116.

13. Безруков Е.А., Проскура А.В. Взаимосвязь окислительного стресса и повреждения генетического материала сперматозоидов // Проблемы репродукции. – 2016. – №6. – С.103-109.

14. Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению. /под редакцией Г.Т. Сухих, Т.А. Назаренко. //М: Геотар-Медиа. – 2010. – 784с.

15. Борисова А.В., Козаченко А.В., Франкевич В.Е., Чаговец В.В. Факторы риска развития рецидива наружного генитального эндометриоза после оперативного лечения: проспективное когортное исследование // Медицинский совет. – 2018. – №7. – С.32-38.

16. Брусиловский И.А., Лившиц И.В. Морфологическая оценка эмбрионов человека. «Коллеги, давайте договоримся!» // Проблемы репродукции. – 2018. – №2. – С.63-68.

17. Бугеренко Е.Ю. Прегравидарная подготовка пациенток с отягощенным акушерским анамнезом // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2012. – №3. – С.18-24.

18. Булатова Л.С., Соломатина А.А., Карева Е.Н., Коцюбинская Н.А. Особенности экспрессии генов рецепторов стероидных гормонов в тканях первичных и реци-

дивирующих эндометриодных образований яичников // Вестник РГМУ. – 2018. – №1. – С.60-64.

19. Бурлев В.А., Ильясова Н.А. Нитрозативный стресс при эндометриозе // Проблемы репродукции. – 2019. – №3. – С.11-19.

20. Владимиров Ю.А., Проскурнина Е.В. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция // Успехи биологической химии. – 2009. – №49. – С.341-388.

21. Волгина Н.Е., Щипицына В.С., Хилькевич Е.Г. и др. Исследование роли окислительного стресса и уровня IL-6 в перитонеальной жидкости в развитии эндометриоза // Иммунология. – 2016. – №3. – С.182-184.

22. Выкидыш в ранние сроки беременности: диагностика и тактика ведения. Клинические рекомендации (протоклы лечения).

23. Гаспаров А.С., Дорфман М.Ф., Дубинская Е.Д. и др. Парапортальная локализация эндометриоидной кисты яичника и ее влияние на овариальный резерв и интенсивность хронических тазовых болей // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2019. – №2. – С.27-33.

24. Герасимова А.А., Швырев С.Л., Шевченко Ю.В. и др. Характеристика ультразвуковых критериев образований придатков матки у беременных // Вестник РГМУ. – 2013. – №1. – С.35-41.

25. Гзгзян А.М., Ниаури Д.А., Коган И.Ю. и др. Допплерометрические показатели сосудов матки в оценке имплантационной способности эндометрия при проведении программ экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) // Журнал акушерства и женских болезней. – 2013. – №4. – С.29-36.

26. Давыдов А.И., Белоцерковцева Л.Д., Таирова М.Б. Эндометриоидные кисты яичников: обоснование послеоперационной гормональной терапии // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2019. – №2. – С.122-128.

27. Давыдов А.И., Михалева Л.М., Пацап О.И. К вопросу о маркерах ранней детекции эндометриоз-ассоциированных опухолей яичника // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2019. – №4. – С.133-137.

28. Давыдов А.И., Таирова М.Б., Шахламова М.Н. Аспирационная (склерозирующая) терапия эндометриом яичников: возможности, перспективы, отдаленные ре-

- зультаты // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2018. – №1. – С.18-31.
29. Денисова В.М., Ярмолинская М.И. Наружный генитальный эндометриоз и беременность: различные грани проблемы // Журнал акушерства и женских болезней. – 2015. – №1. – С.44-52.
30. Джатдоева А.А., Полимова А.М., Проскурнина Е.В., Владимиров Ю.А. Тканевая хемилюминесценция как метод оценки супероксид радикал-продуцирующей способности митохондрий // Вестник РГМУ. – 2016. – №1. – С.54-60.
31. Дубинская Е.Д., Гаспаров А.С., Косаченко А.Г. и др. «Агрессивность» цистэктомии при эндометриоидных кистах яичников // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2018. – №1. – С.5-12.
32. Дубинская Е.Д., Гаспаров А.С., Дутов А.А. и др. Овариальный резерв и эндометриоидные кисты яичников: клинические и ультразвуковые аспекты // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2017. – №4, №27-34.
33. Дубинская Е.Д., Дутов А.А. Отдаленные результаты лечения пациенток с бесплодием и эндометриоидными кистами яичников // Тенденции развития науки и образования. – 2018. – №4. – С.52-56.
34. Дубровина С.О., Берлим Ю.Д. Медикаментозное лечение боли, связанной с эндометриозом // Акушерство и гинекология. – 2019. – № 2_2019. – С.34-40.
35. Дятлова А.С., Линькова Н.С., Полякова В.О. и др. Эндометриоз и эндометриодные гетеротопии: от теорий происхождения к молекулярным маркерам диагностики // Успехи современной биологии. – 2017. – №5. – С.458-467.
36. Женское бесплодие (современные подходы к диагностике и лечению) // Клинические рекомендации *протоколы лечения). – 2019. – С.99.
37. Зайратьянц О.В., Адамян Л.В., Манукян Л.М. и др. Экспрессия моэзина, p21-активированной киназы 4 (РАК 4), матриксных металлопротеиназ (ММР 2, ММР 9) и CD34в эутопическом и эктопическом эндометрии при аденомиозе // Архив патологии. – 2018. – №80, №6. – С.14.
38. Каракашян Н.Р., Манухина Е.И., Геворкян М.А., Манухин И.Б. Клиническое значение естественного аутоиммунитета у пациенток со спаечным процессом и

- наружным генитальным эндометриозом // Медицинский совет. – 2016. – №2. – С.100-101.
39. Караченцева И.В., Логачева Т.М., Кашоян А.Р. Ранние диагностические признаки эндометриоза // Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирёва. – 2018. – №3. – С.152-156.
40. Князева Е.А., Калинина Е.А., Быстрицкий А.А. и др. Роль НОХ-генов при заболеваниях репродуктивной системы женщины, ассоциированных с бесплодием // Акушерство и гинекология. – 2017. – №11. – С.16-22.
41. Коваленко А.Е., Калинина Н.И., Алексеенкова М.В. и др. Биохимические маркеры угрожающих преждевременных родов // Акушерство и гинекология. – 2013. – №3. – С.43-47.
42. Коган И.Ю., Гзгзян А.М., Лесик. Е.А. Протоколы стимуляции яичников в циклах ЭКО / Коган, И.Ю., Гзгзян, А.М., Лесик., Е.А. //М: ГЕОТАР-Медиа. – 2018. – 160с.
43. Коренная В.А. Эндометриоз-время новостей // Status Praesens. – 2018. – №4. – С.106-111.
44. Краснопольская К.В., Назаренко Т.А., Здановский В.М. и др. Влияние количественных параметров фолликулогенеза при контролируемой стимуляции яичников на эффективность ЭКО // Проблемы репродукции. – 2017. – №3. – С.55-61.
45. Краснопольский В.И., Попов А.А., Краснопольская К.В., Федоров А. Краткие итоги и перспективы 5-летнего использования роботизированной хирургии в оперативной гинекологии // Акушерство и гинекология. – 2019. – №9. – С.92-101.
46. Кузнецова М.В., Пшеничнюк Е.Ю., Бурменская О.В. и др. Исследование экспрессии генов в эутопическом эндометрии женщин с эндометриодными кистами яичников // Акушерство и гинекология. – 2017. – №8. – С.93-102.
47. Кузьмина Н.С., Беженарь В.Ф., Калугина А.С. Опыт интраоперационного использования гемостатических матриц для сохранения овариального резерва у больных с эндометриомами // Проблемы репродукции. – 2018. – №2. – С.54-62.

48. Кузьмина Н.С., Беженарь В.Ф., Калугина А.С. Эндометриоз и бесплодие. Операция или вспомогательные репродуктивные технологии? // Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирёва. – 2018. – №1. – С.31-36.
49. Кулаевский В.А., Зиганшин А.М., Кулавский Е.В. Клинические аспекты профилактики спаечного процесса при острых воспалительных заболеваниях органов малого таза у женщин. // Акушерство и гинекология. – 2019. – №2. – С.14-20.
50. Ларина Е.Б., Лозинская Д.Б., Бугеренко Е.Ю., Панина О.Б. Использование низкомолекулярных гепаринов в профилактике плацентарной недостаточности // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2016. – №5. – С.32-37.
51. Ларина Е.Б., Олейникова Н.А., Ревина Д.Б. и др. Применение низкомолекулярных гепаринов для профилактики плацентарной недостаточности: клинкоморфологические параллели // Клиническая фармакология и терапия. – 2017. – №26. – С.35-40.
52. Леваков С.А., Буданов П.В., Громова Т.А., Юрова М.В. Опыт противоречивой терапии эндометриоза яичников // Акушерство и гинекология. – 2019. – №1. – С.133-138.
53. Левченкова О.С., Новиков В.Е. Возможности фармакологического прекондиционирования // Актуальные вопросы кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии. – 2016. – №71. – С.16-24.
54. Липатов И.С., Мартынова Н.В., Тезиков Ю.В. Лабораторные предикторы ранних репродуктивных потерь и поздних осложнений гестации у женщин с генитальным эндометриозом // Практическая медицина. – 2017. – №7. – С.92-97.
55. Манухин И.Б., Ашрафян Л.А., Курцер М.А. и др. Дифференциальная диагностика опухолей и опухолевидных образований у беременных // Онкогинекология. – 2017. – №3. – С.12-20.
56. Матвеева Н.С., Любицкий О.Б., Осипов А.Н., Владимиров Ю.А. Активированная люцигенином хемилюминесценция тканей животных // Биофизика. – 2007. – Т. 6, №1120. – С.1120-1127.

57. Михалева Л.М., Соломатина А.А., Курцер М.А. и др. Иммуногистохимический фенотип рецидивирующих эндометриoidных образований яичников // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2017. – №4. – С.15-21.
58. Морозова А.В., Ищенко А.И. Результативность метода ЭКО после оперативных вмешательств на яичниках. // Вестник Санкт–Петербургской государственной медицинской академии им. И.И.Мечникова. – 2007. – №1. – С.125-128.
59. Назаренко Т.А., Краснопольская К.В., Сесина Н.И. и др. Клинические характеристики пациенток с нарушением показателей раннего эмбриогенеза в программах ЭКО // Проблемы репродукции. – 2019. – №2. – С.60-66.
60. Назаренко Т.А., Краснопольская К.В. Бедный ответ. Тактика ведения пациенток со сниженной реакцией на стимуляцию гонадотропинами в программах ЭКО / Назаренко, Т.А., Краснопольская, К.В. //М: МЕДпресс-информ. – 2013. – 80с.
61. Озолиния Л.А., Овсепян Н.Р. Коррекция изменений гемостаза при привычном невынашивании беременности на фоне хронической вирусной инфекции // Медицина и здравоохранение. – 2017. – №13. – С.110-117.
62. Оразов М.Р., Радзинский В.Е., Хамошина М.Б. и др. Эффективность лечения бесплодия, обусловленного рецидивирующим наружным генитальным эндометриозом // Гинекология. – 2019. – Т. 21, №1. – С.38-43.
63. Оразов Р.М., Радзинский В.М., Хамошина М.Б. и др. Бесплодие, ассоциированное с эндометриозом: от легенды к суровой реальности // Трудный пациент. – 2019. – №1-2. – С.6-12.
64. Папышева Е.И., Коноплянников А.Г., Караганова Е.Я. Значимость прегравидарной подготовки в повышении эффективности экстракорпорального оплодотворения // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2019. – №19. – С.29-37.
65. Парамонова Н.Б., Коган Е.А., Колотовкина А.В., Бурменская О.В. Морфологические и молекулярно-биологические признаки нарушения рецептивности эндометрия при бесплодии женщин, страдающих наружным генитальным эндометриозом // Архив патологии. – 2018. – Т. 80, №3. – С.11.

66. Парамонова Н.Б., Т.Б. Семерюк. Морфология и патогенез нарушения овариального резерва при эндометриозе и методы его сохранения // Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирёва. – 2018. – №3. – С.140-147.
67. Паскарь С.С., Калугина А.С., Боярский К.Ю., Губанов С.А. Клинико-анамнестическая характеристика и прогноз исходов ВРТ у пациентов молодого репродуктивного возраста // Проблемы репродукции. – 2018. – №6. – С.76-82.
68. Подзолкова Н.М., Колода Ю.А., Скворцова М.Ю., Шамугия Н.Л. Бесплодие. Диагностика, современные методы лечения / Подзолкова, Н.М., Колода, Ю.А., Скворцова, М.Ю. и др. //М: ГЕОТАР-Медиа. – 2018. – 144с.
69. Покаленьева М.Ш., Нестерова А.М., Соснова Е.А., Проскурнина Е.В. Оксидативный статус плазмы крови при привычном невынашивании беременности // Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирёва. – 2017. – №4. – С.214-220.
70. Пономаренко И.В., Полоников А.В., Чурносков М.И. Молекулярные механизмы и факторы риска развития эндометриоза // Акушерство и гинекология. – 2019. – №3. – С.26-31.
71. Попов А.А., Федоров А.А., Мананникова Т.Н. Комбинированное лечение (лапароскопия + диеногест) эндометриозассоциированного бесплодия. // Проблемы репродукции. – 2016. – С.76-80.
72. Попов Э.Н., Русина Е.И., Судаков Д.С., Думырская Ю.Р. Оптимизация хирургического лечения эндометриозных опухолей яичников в репродуктивном возрасте // Проблемы репродукции. – 2019. – №25. – С.66-73.
73. Проскурнина Е.В. Методы оценки свободнорадикального гомеостаза крови: автореф. дис.д-ра мед. наук / Проскурнина, Е.В. – //М. – 2018. – 48с.
74. Рабаданова А.К., Шалина Р.И., Гугушвили Н.А. Гемодинамика матки и состояние овариального резерва в оценке эффективности экстракорпорального оплодотворения // Вестник РГМУ. – 2018. – №2. – С.52-59.
75. Радзинский В.Е., Алтухова О.Б. Молекулярно-генетические детерминанты бесплодия при генитальном эндометриозе // Научные результаты биомедицинских исследований. – 2018. – №3. – С.28-37.

76. Радзинский В.Е., Оразов М.Р., Костин И.Н. Хроническая тазовая боль в гинекологической практике // Доктор.ру. – 2019. – Т. 162, №7. – С.30-35.
77. Руденко Ю.А., Кулагина Е.В., Кравцова О.А. и др. Готовность эндометрия к экстракорпоральному оплодотворению: прогноз по данным ультразвукового и морфологического исследований // Гены и клетки. – 2019. – №3. – С.142-146.
78. Савельева Г.М., Сухих Г.Т., Серов В.Н. и др. Гинекология: национальное руководство / Савельева, Г.М., Сухих, Г.Т., Серов, В.Н. и др. //М: ГЕОТАР-Медиа. – 2019. – 1008с.
79. Савельева Г.М., Бугеренко Е.Ю., Панина О.Б., Клименко П.А. Нарушения внутриматочного кровообращения и их прегравидарная коррекция у пациенток с тяжелым гестозом в анамнезе // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2010. – №3. – С.5-10.
80. Савельева Г.М., Бугеренко Е.Ю., Панина О.Б. Прегравидарные нарушения маточного кровотока у пациенток с преждевременными родами в анамнезе // Акушерство и гинекология. – 2012. – №4(1).
81. Саидданеш Ш.Ф., Чупрынин В.Д., Хилькевич Е.Г. и др. Современные методы диагностики распространенных форм эндометриоза // Акушерство и гинекология. – 2017. – №5. – С.39-43.
82. Самошкин Н.Г., Ярмолинская М.И., Полякова В.О. Эффективность применения селективных ингибиторов циклооксигеназы-2 в терапии наружного генитального эндометриоза // журнал акушерства и женских болезней. – 2018. – №2. – С.52-60.
83. Сенча А.Н., Федоткина Е.Н. Ультразвуковое исследование с применением контрастов. Эхогистеросальпингография // Медицинский оппонент. – 2019. – №1. – С.52-58.
84. Скулачев В.П. Явление запрограммированной смерти. Митохондрии, клетки и органы: роль активных форм кислорода. // Соросовский образовательный журнал. – 2001. – №7. – С.4-10.

85. Согоян Н.С., Козаченко И.Ф., Адамян А.В. Роль антимюллера гормона в репродуктивной системе женщин (обзор литературы) // Проблемы репродукции. – 2017. – №1. – С.37-42.
86. Соколов Д.И., Кондратьева П.Г., Ярмолинская М.И. и др. Содержание хемокинов и провоспалительных цитокинов в перитонеальной жидкости больных наружным генитальным эндометриозом // Медицинская иммунология. – 2007. – №2. – С.3-11.
87. Соколова Е.И., Куценко И.И., Кравцова Е.И., Батмен С.К. Показатели овариального резерва, про- и антиоксидантной системы, цитокинового статуса периферической крови и перитонеальной жидкости у пациенток с эндометриодными кистами яичников // Кубанский научный медицинский вестник. – 2019. – №26. – С.138-145.
88. Соломатина А.А., Хамзин И.З., Стрыгина В.А. и др. Влияние аргонно-плазменной коагуляции на овариальный резерв при органосохраняющих операциях на яичниках // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2016. – №5. – С.20-25.
89. Соломатина А.А., Сафронова Д.А., Братчикова О.В. и др. Возможности трехмерной эхографии в оценке морфофункционального состояния яичников у пациенток, перенесших органосохраняющие операции на яичниках // Вестник Украинской медицинской стоматологической академии. – 2009. – №28. – С.87-92.
90. Соломатина А.А., Каппушева Л.М., Хамзин И.З. и др. Интраовариальное использование лигатурного гемостаза при органосохраняющих операциях на яичниках. Овариальный резерв // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2017. – №2. – С.32-37.
91. Соломатина А.А., Стрыгина В.А., Хамзин И.З. и др. Ультразвуковые индикаторы овариального резерва при впервые выявленных и рецидивирующих эндометриодных образованиях яичников // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2017. – №4. – С.43-48.
92. Соломатина А.А., Садовникова Е.А., Тюменцева М.Ю. и др. Эндометриоз яичников малой величины. Состояние овариального резерва до и после органосо-

- храняющих операций // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2019. – №1. – С.20-27.
93. Сухих Г.Т., Громова О.А., Торшин И.Ю. и др. Молекулярные механизмы ди-дрогестерона (Дюфастон). Полногеномное исследование тран-скрипционных эф-фектов рецепторов прогестерона, андрогенов и эстрогенов // Гинекология. – 2009. – №5. – С.9-15.
94. Сухих Г.Т., Шуршалина А.В. Хронический эндометрит: руководство / Сухих, Г.Т., Шуршалина, А.В. //М: ГЕОТАР-Медиа. – 2013. – 64с.
95. Тихомиров А.Л. Триггеры и профилактика эндометриоза // Трудный пациент. – 2018. – №17. – С.13-19.
96. Тихомиров А.Л., Геворкян М.А., Сарсания С.И. Риски спаечного процесса при хирургических вмешательствах в гинекологии и их профилактика // Проблемы репродукции. – 2016. – С.66-73.
97. Тихончук Е.Ю., Асатурова А.В., Адамян А.В. Молекулярно-биологические изменения эндометрия у женщин с наружным генитальным эндометриозом // Акушерство и гинекология. – 2016. – №11. – С.42-48.
98. Троскина Е.Ю. Бесплодие неясного генеза. Значение внутриматочной перфу-зии. / Троскина, Е.Ю. // Автореф. дисс. ...к-та мед. наук. – 2014. – С.31.
99. Трубицына М.В., Асатурова А.В., Адамян Л.В. Эндометриоз и ооциты (обзор литературы) // Проблемы репродукции. – 2018. – Т. 1. – С.67-70.
100. Филиппова Е.С., Козаченко И.Ф., Адамян Л.В., Дементьева В.О. Влияние хи-рургического лечения эндометриоидных кист яичников на состояние овариально-го резерва у женщин репродуктивного возраста // Проблемы репродукции. – 2018. – №4. – С.71-80.
101. Филиппова Е.С., Межлумова Н.А., Гамисония А.М. и др. Профилирование микроРНК и мРНК в тканях эутопического и эктопического эндометрия при эн-дометриоидных кистах яичников // Проблемы репродукции. – 2019. – №2. – С.27-45.
102. Филиппова Е.С., Козаченко И.Ф., Быков А.Г. и др. Современный взгляд на овариальный резерв у женщин репродуктивного возраста с эндометриоидными

кистами яичников (обзор литературы) // Проблемы репродукции. – 2017. – №2. – С.72-80.

103. Цицкарава Д.З., Ярмолинская М.И., Селютин А.В., Сельков С.А. Оценка содержания и патогенетической роли цитокинов перитонеальной жидкости у пациенток с глубоким инфильтративным эндометриозом // Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – №1. – С.38-45.

104. Чупрынин В.Д., Хилькевич Е.Г., Буралкина Н.А. и др. Взгляд общего хирурга на оперативное лечение глубокого инфильтративного эндометриоза. // Акушерство и гинекология. – 2017. – №4. – С.45-52.

105. Швед Н.Ю., Малышева О.В., Осинская Н.С. и др. Анализ экспрессии генов ароматазы CYP19A1, рецепторов прогестерона PGR и эстрогена ESR1 в биоптатах тканей эндометриодных гетеротопий и эндометрия методом ОТ-ПЦР // Журнал акушерства и женских болезней. – 2019. – №2. – С.79-86.

106. Шестакова М.А., Проскурнина Е.В., Рабаданова А.К. и др. Антиоксидантный статус фолликулярной жидкости у пациенток с бесплодием, проходящих процедуру экстракорпорального оплодотворения, и его связь с качеством эмбриона // Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирёва. – 2017. – №3. – С.159-164.

107. Щепеткин И.А., Ахмеджанов Р.Р., Кагия В.Т. Влияние производных азолов на люцигенин-зависимую хемилюминесценцию микросом. // Биомедицинская химия. – 2003. – №49. – С.278-283.

108. Щербакова Л.Н., Иванова Н.В., Бугеренко А.Е., Панина О.Б. Предупреждение развития синдрома гиперстимуляции яичников в программе экстракорпорального оплодотворения // Российский медицинский журнал. – 2015. – №21. – С.28-31.

109. Эндометриоз: диагностика, лечение, и реабилитация. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных. – 2013 г.

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

111. Ярмолинская М.И., Молотков А.С., Денисова В.М. роль матриксных металлопротеиназ в патогенезе генитального эндометриоза // Журнал акушерства и женских болезней. – 2012. – №2. – С.92-100.
112. Adamson G.D., Pasta D.J. Endometriosis fertility index: the new, validated endometriosis staging system // Fertil. Steril. – 2010. – Vol. 94, N 5. – P.1609-1615.
113. Agarwal A., Aponte-Mellado A., Premkumar B.J. et al. The effects of oxidative stress on female reproduction: a review // Reprod. Biol. Endocrinol. – 2012. – Vol. 10, N 1. – P.49.
114. Ahmed A.-S., Ragaa M., Hesham A.-I. et al. Difficult embryo transfer: the impact of propofol anesthesia // Middle East Fertil. Soc. – 2007. – Vol. 12. – P.97-102.
115. Alammari R., Lightfoot M., Hur H.-C. Impact of Cystectomy on Ovarian Reserve: Review of the Literature. // J. Minim. Invasive Gynecol. – 2017. – Vol. 24, N 2. – P.247-257.
116. Alio L., Angioni S., Arena S. et al. When more is not better: 10 ‘don’ts’ in endometriosis management. An ETIC* position statement // Hum. Reprod. Open. – 2019. – Vol. 2019, N 3.
117. AlKudmani B., Gat I., Buell D. et al. In Vitro Fertilization Success Rates after Surgically Treated Endometriosis and Effect of Time Interval between Surgery and In Vitro Fertilization // J. Minim. Invasive Gynecol. – 2018. – Vol. 25, N 1. – P.99-104.
118. Alsalili M., Thornton S., Fleming S. The effect of the anaesthetic, Propofol, on in-vitro oocyte maturation, fertilization and cleavage in mice. // Hum. Reprod. – 1997. – Vol. 12, N 6. – P.1271-4.
119. Araujo R.S. da C., Maia S.B., Baracat C.M.F. et al. Ovarian function after the use of various hemostatic techniques during treatment for endometrioma: protocol for a randomized clinical trial // Trials. – 2019. – Vol. 20, N 1. – P.410.
120. Aris A. A 12-year cohort study on adverse pregnancy outcomes in Eastern Townships of Canada: impact of endometriosis. // Gynecol. Endocrinol. – 2014. – Vol. 30, N 1. – P.34-7.

121. Asghari S., Valizadeh A., Aghebati-Maleki L. et al. Endometriosis: Perspective, lights, and shadows of etiology. // *Biomed. Pharmacother.* – 2018. – Vol. 106. – P.163-174.
122. Aydogan Mathyk B., Aslan Cetin B., Vardagli D. et al. Comparison of antagonist mild and long agonist protocols in terms of follicular fluid total antioxidant capacity // *Taiwan. J. Obstet. Gynecol.* – 2018. – Vol. 57, N 2. – P.194-199.
123. Bałkowiec M., Maksym R., Włodarski P. The bimodal role of matrix metalloproteinases and their inhibitors in etiology and pathogenesis of endometriosis (Review) // *Mol. Med. Rep.* – 2018.
124. Barbosa M.A.P., Teixeira D.M., Navarro P.A.A.S. et al. Impact of endometriosis and its staging on assisted reproduction outcome: systematic review and meta-analysis. // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* – 2014. – Vol. 44, N 3. – P.261-78.
125. Barnhart K., Dunsmoor-Su R., Coutifaris C. Effect of endometriosis on in vitro fertilization. // *Fertil. Steril.* – 2002. – Vol. 77, N 6. – P.1148-55.
126. Barros I.B.L. de, Malvezzi H., Gueuvoghlanian-Silva B.Y. et al. “What do we know about regulatory T cells and endometriosis? A systematic review”. // *J. Reprod. Immunol.* – 2017. – Vol. 120. – P.48-55.
127. Becatti M., Fucci R., Mannucci A. et al. A Biochemical Approach to Detect Oxidative Stress in Infertile Women Undergoing Assisted Reproductive Technology Procedures. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. – Vol. 19, N 2.
128. Bedaiwy M.A., Allaire C., Alfaraj S. Long-term medical management of endometriosis with dienogest and with a gonadotropin-releasing hormone agonist and add-back hormone therapy // *Fertil. Steril.* – 2017. – Vol. 107, N 3. – P.537-548.
129. Ben-Shlomo I., Moskovich R., Golan J. et al. The effect of propofol anaesthesia on oocyte fertilization and early embryo quality. // *Hum. Reprod.* – 2000. – Vol. 15, N 10. – P.2197-9.
130. Benaglia L., Somigliana E., Santi G. et al. IVF and endometriosis-related symptom progression: insights from a prospective study // *Hum. Reprod.* – 2011. – Vol. 26, N 9. – P.2368-2372.

131. Benschop L., Farquhar C., Poel N. van der, Heineman M.J. Interventions for women with endometrioma prior to assisted reproductive technology. // *Cochrane database Syst. Rev.* – 2010. – №11. – P.CD008571.
132. Berlac J.F., Hartwell D., Skovlund C.W. et al. Endometriosis increases the risk of obstetrical and neonatal complications. // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 2017. – Vol. 96, N 6. – P.751-760.
133. Berlanda N., Alberico D., Barbara G. et al. Exploring the relationship between endometriomas and infertility. // *Womens. Health (Lond. Engl).* – 2015. – Vol. 11, N 2. – P.127-35.
134. Berlanda N., Somigliana E., Frattaruolo M.P. et al. Surgery versus hormonal therapy for deep endometriosis: is it a choice of the physician? // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2017. – Vol. 209. – P.67-71.
135. Biobaku O., Afolabi B.M., Ajayi V. et al. Endometriosis and Infertility: An Appraisal of Articles. // *West Afr. J. Med.* – Vol. 35, N 3. – P.168-172.
136. Bolnick A.D., Bolnick J.M., Kohan-Ghadr H.-R. et al. Enhancement of trophoblast differentiation and survival by low molecular weight heparin requires heparin-binding EGF-like growth factor // *Hum. Reprod.* – 2017. – Vol. 32, N 6. – P.1218-1229.
137. Bourdon M., Santulli P., Maignien C. et al. The deferred embryo transfer strategy improves cumulative pregnancy rates in endometriosis-related infertility: A retrospective matched cohort study. // *PLoS One.* – 2018. – Vol. 13, N 4. – P.e0194800.
138. Boynukalin F.K., Serdarogullari M., Gultomruk M. et al. The impact of endometriosis on early embryo morphokinetics: a case-control study. // *Syst. Biol. Reprod. Med.* – 2019. – Vol. 65, N 3. – P.250-257.
139. Bressler L.H., Bernardi L.A., Snyder M.A. et al. Treatment of endometriosis-related chronic pelvic pain with Ulipristal Acetate and associated endometrial changes. // *HSOA J. Reprod. Med. Gynaecol. Obstet.* – 2017. – Vol. 2.
140. Broer S.L., Mol B.W.J., Hendriks D., Broekmans F.J.M. The role of antimullerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count // *Fertil. Steril.* – 2009. – Vol. 91, N 3. – P.705-714.

141. Broi M.G. Da, Rocha C. V, Meola J. et al. Expression of PGR, HBEGF, ITGAV, ITGB3 and SPP1 genes in eutopic endometrium of infertile women with endometriosis during the implantation window: a pilot study. // JBRA Assist. Reprod. – 2017. – Vol. 21, N 3. – P.196-202.
142. Broi M.G. Da, Jordão-Jr A.A., Ferriani R.A., Navarro P.A. Oocyte oxidative DNA damage may be involved in minimal/mild endometriosis-related infertility // Mol. Reprod. Dev. – 2018. – Vol. 85, N 2. – P.128-136.
143. Broi M.G. Da, Rocha C. V, Carvalho F.M. et al. Ultrastructural Evaluation of Eutopic Endometrium of Infertile Women With and Without Endometriosis During the Window of Implantation: A Pilot Study. // Reprod. Sci. – 2017. – Vol. 24, N 10. – P.1469-1475.
144. Broi M.G. Da, Ferriani R.A., Navarro P.A. Ethio-pathogenic mechanisms of endometriosis-related infertility. // JBRA Assist. Reprod. – 2019.
145. Broi M.G. Da, Navarro P.A. Oxidative stress and oocyte quality: ethio-pathogenic mechanisms of minimal/mild endometriosis-related infertility // Cell Tissue Res. – 2016. – Vol. 364, N 1. – P.1-7.
146. Brosens I., Benagiano G. Is neonatal uterine bleeding involved in the pathogenesis of endometriosis as a source of stem cells? // Fertil. Steril. – 2013. – Vol. 100, N 3. – P.622-3.
147. Brosens I.A., Sutter P. De, Hamerlynck T. et al. Endometriosis is associated with a decreased risk of pre-eclampsia. // Hum. Reprod. – 2007. – Vol. 22, N 6. – P.1725-9.
148. Brown J., Crawford T.J., Allen C. et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs for pain in women with endometriosis. // Cochrane database Syst. Rev. – 2017. – Vol. 1. – P.CD004753.
149. Brown J., Farquhar C. Endometriosis: an overview of Cochrane Reviews // Cochrane Database Syst. Rev. – 2014.
150. Brown J., Pan A., Hart R.J. Gonadotrophin-releasing hormone analogues for pain associated with endometriosis. // Cochrane database Syst. Rev. – 2010. – №12. – P.CD008475.

151. Burney R.O., Giudice L.C. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. // *Fertil. Steril.* – 2012. – Vol. 98, N 3. – P.511-9.
152. Burton G.J., Hempstock J., Jauniaux E. Oxygen, early embryonic metabolism and free radical-mediated embryopathies // *Reprod. Biomed. Online.* – 2003. – Vol. 6, N 1. – P.84-96.
153. Candiani G.B., Danesino V., Gastaldi A. et al. Reproductive and menstrual factors and risk of peritoneal and ovarian endometriosis. // *Fertil. Steril.* – 1991. – Vol. 56, N 2. – P.230-4.
154. Carneiro M.M., Costa L.M.P., Ávila I. de. To operate or not to operate on women with deep infiltrating endometriosis (DIE) before in vitro fertilization (IVF). // *JBRA Assist. Reprod.* – 2017. – Vol. 21, N 2. – P.120-125.
155. Caruso S., Cianci S., Vitale S.G. et al. Sexual function and quality of life of women adopting the levonorgestrel-releasing intrauterine system (LNG-IUS 13.5 mg) after abortion for unintended pregnancy. // *Eur. J. Contracept. Reprod. Health Care.* – 2018. – Vol. 23, N 1. – P.24-31.
156. Casper R.F. Progestin-only pills may be a better first-line treatment for endometriosis than combined estrogen-progestin contraceptive pills // *Fertil. Steril.* – 2017. – Vol. 107, N 3. – P.533-536.
157. Cecchino G.N., García-Velasco J.A. Endometrioma, fertility, and assisted reproductive treatments: connecting the dots. // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* – 2018. – Vol. 30, N 4. – P.223-228.
158. Celik E., Celik O., Kumbak B. et al. A comparative study on oxidative and antioxidative markers of serum and follicular fluid in GnRH agonist and antagonist cycles // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2012. – Vol. 29, N 11. – P.1175-1183.
159. Chen C., Zhou Y., Hu C. et al. Mitochondria and oxidative stress in ovarian endometriosis. // *Free Radic. Biol. Med.* – 2019. – Vol. 136. – P.22-34.
160. Chen S., Du X., Chen Q., Chen S. Combined Real-Time Three-Dimensional Hysterosalpingo-Contrast Sonography with B Mode Hysterosalpingo-Contrast Sonography in the Evaluation of Fallopian Tube Patency in Patients Undergoing Infertility Investigations // *Biomed Res. Int.* – 2019. – Vol. 2019. – P.1-7.

161. Christiaens F., Janssenswillen C., Verborgh C. et al. Propofol concentrations in follicular fluid during general anaesthesia for transvaginal oocyte retrieval. // *Hum. Reprod.* – 1999. – Vol. 14, N 2. – P.345-8.
162. Chu J., Harb H.M., Gallos I.D. et al. Salpingostomy in the treatment of hydrosalpinx: a systematic review and meta-analysis. // *Hum. Reprod.* – 2015. – Vol. 30, N 8. – P.1882-95.
163. Chua S.J., Akande V.A., Mol B.W.J. Surgery for tubal infertility. // *Cochrane database Syst. Rev.* – 2017. – Vol. 1. – P.CD006415.
164. Coccia M.E., Rizzello F., Capezzuoli T. et al. Bilateral Endometrioma Excision: Surgery-Related Damage to Ovarian Reserve // *Reprod. Sci.* – 2019. – Vol. 26, N 4. – P.543-550.
165. Cohen J., Mathieu d'Argent E., Salleret L. et al. Endométriose profonde et fertilité // *Presse Med.* – 2017. – Vol. 46, N 12. – P.1184-1191.
166. Conti N., Cevenini G., Vannuccini S. et al. Women with endometriosis at first pregnancy have an increased risk of adverse obstetric outcome. // *J. Matern. Fetal. Neonatal Med.* – 2015. – Vol. 28, N 15. – P.1795-8.
167. Costello M.F., Garad R.M., Hart R. et al. A Review of Second- and Third-line Infertility Treatments and Supporting Evidence in Women with Polycystic Ovary Syndrome // *Med. Sci.* – 2019. – Vol. 7, N 7. – P.75.
168. Cousins F.L., O D.F., Gargett C.E. Endometrial stem/progenitor cells and their role in the pathogenesis of endometriosis. // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* – 2018. – Vol. 50. – P.27-38.
169. Czyzyk A., Podfigurna A., Szeliga A., Meczekalski B. Update on endometriosis pathogenesis. // *Minerva Ginecol.* – 2017. – Vol. 69, N 5. – P.447-461.
170. D'Hooghe T.M. Clinical relevance of the baboon as a model for the study of endometriosis. // *Fertil. Steril.* – 1997. – Vol. 68, N 4. – P.613-25.
171. Daniilidis A., Pados G. Comments on the ESHRE recommendations for the treatment of minimal endometriosis in infertile women // *Reprod. Biomed. Online.* – 2018. – Vol. 36, N 1. – P.84-87.

172. Daraï E., Cohen J., Ballester M. Colorectal endometriosis and fertility. // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2017. – Vol. 209. – P.86-94.
173. Davydov A.I., Tairova M.B., Shakhlamova M.N. Ablation, excision, sclerotherapy: what is better in cases of small ovarian endometriomas? // *Vopr. Ginekol. akušerstva i Perinatol.* – 2019. – Vol. 18, N 4. – P.138-140.
174. Dawood A.S., Elgergawy A.E. Incidence and sites of pelvic adhesions in women with post-caesarean infertility. // *J. Obstet. Gynaecol.* – 2018. – Vol. 38, N 8. – P.1158-1163.
175. Depmann M., Broer S.L., Eijkemans M.J.C. et al. Anti-Müllerian hormone does not predict time to pregnancy: results of a prospective cohort study // *Gynecol. Endocrinol.* – 2017. – Vol. 33, N 8. – P.644-648.
176. Ding G.-L., Chen X.-J., Luo Q. et al. Attenuated oocyte fertilization and embryo development associated with altered growth factor/signal transduction induced by endometriotic peritoneal fluid. // *Fertil. Steril.* – 2010. – Vol. 93, N 8. – P.2538-44.
177. Dogan E., Okyay E., Saatli B. et al. Tuba ovarian abscesses formation from decidualized ovarian endometrioma after appendiceal endometriosis presenting as acute appendicitis in pregnancy. // *Iran. J. Reprod. Med.* – 2012. – Vol. 10, N 3. – P.275-8.
178. Donnez J., Nisolle M., Gillet N. et al. Large ovarian endometriomas // *Hum. Reprod.* – 1996. – Vol. 11, N 3. – P.641-645.
179. Dorien O., Flores I., Waelkens E., D’Hooghe T. Noninvasive diagnosis of endometriosis: Review of current peripheral blood and endometrial biomarkers. // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* – 2018. – Vol. 50. – P.72-83.
180. Dubinskaya E.D., Gasparov A.S., Radzinsky V.E. et al. Surgery for endometriomas within the context of infertility treatment // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2019. – Vol. 241. – P.77-81.
181. Dunselman G.A.J., Vermeulen N., Becker C. et al. ESHRE guideline: management of women with endometriosis // *Hum. Reprod.* – 2014. – Vol. 29, N 3. – P.400-412.
182. Ekarattanawong S., Tanprasertkul C., Somprasit C. et al. Possibility of using superoxide dismutase and glutathione peroxidase as endometriosis biomarkers // *Int. J. Womens. Health.* – 2017. – Vol. Volume 9. – P.711-716.

183. Elahian F., Sepehrizadeh Z., Moghimi B., Mirzaei S.A. Human cytochrome b5 reductase: structure, function, and potential applications. // *Crit. Rev. Biotechnol.* – 2014. – Vol. 34, N 2. – P.134-43.
184. Emidio G. Di, D'Alfonso A., Leocata P. et al. Increased levels of oxidative and carbonyl stress markers in normal ovarian cortex surrounding endometriotic cysts // *Gynecol. Endocrinol.* – 2014. – Vol. 30, N 11. – P.808-812.
185. Ersahin A.A., Arpaci H., Ersahin S.S. et al. AFC vs. AMH: prediction of ovarian response in women with endometrioma undergoing controlled ovarian stimulation. // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2017. – Vol. 21, N 10. – P.2499-2503.
186. Exacoustos C., Lauriola I., Lazzeri L. et al. Complications during pregnancy and delivery in women with untreated rectovaginal deep infiltrating endometriosis. // *Fertil. Steril.* – 2016. – Vol. 106, N 5. – P.1129-1135.e1.
187. Fanchin R. Serum anti-Mullerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3 // *Hum. Reprod.* – 2003. – Vol. 18, N 2. – P.323-327.
188. Fauser B.C.J.M., Heusden A.M. van. Manipulation of Human Ovarian Function: Physiological Concepts and Clinical Consequences* // *Endocr. Rev.* – 1997. – Vol. 18, N 1. – P.71-106.
189. Fernando S., Breheny S., Jaques A.M. et al. Preterm birth, ovarian endometriomata, and assisted reproduction technologies. // *Fertil. Steril.* – 2009. – Vol. 91, N 2. – P.325-30.
190. Ferrero S., Scala C., Tafi E. et al. Impact of large ovarian endometriomas on the response to superovulation for in vitro fertilization: A retrospective study. // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2017. – Vol. 213. – P.17-21.
191. Flyckt R., Kim S., Falcone T. Surgical Management of Endometriosis in Patients with Chronic Pelvic Pain. // *Semin. Reprod. Med.* – 2017. – Vol. 35, N 1. – P.54-64.
192. Foda A.A., Aal I.A.A. Role of some biomarkers in chronic pelvic pain for early detection of endometriosis in infertile women // *Middle East Fertil. Soc. J.* – 2012. – Vol. 17, N 3. – P.187-194.

193. Frank P., McNamee R., Hannaford P.C. et al. The effect of induced abortion on subsequent fertility. // *Br. J. Obstet. Gynaecol.* – 1993. – Vol. 100, N 6. – P.575-80.
194. Freitas C., Neto A.C., Matos L. et al. Follicular Fluid redox involvement for ovarian follicle growth. // *J. Ovarian Res.* – 2017. – Vol. 10, N 1. – P.44.
195. Giorgi V.S.I., Broi M.G. Da, Paz C.C.P. et al. N-Acetyl-Cysteine and l-Carnitine Prevent Meiotic Oocyte Damage Induced by Follicular Fluid From Infertile Women With Mild Endometriosis. // *Reprod. Sci.* – 2016. – Vol. 23, N 3. – P.342-51.
196. Glavind M.T., Forman A., Arendt L.H. et al. Endometriosis and pregnancy complications: a Danish cohort study. // *Fertil. Steril.* – 2017. – Vol. 107, N 1. – P.160-166.
197. González-Comadran M., Schwarze J.E., Zegers-Hochschild F. et al. The impact of endometriosis on the outcome of Assisted Reproductive Technology // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2017. – Vol. 15, N 1. – P.8.
198. Goutziomitrou E., Venetis C.A., Kolibianakis E.M. et al. Propofol versus thiopental sodium as anaesthetic agents for oocyte retrieval: a randomized controlled trial. // *Reprod. Biomed. Online.* – 2015. – Vol. 31, N 6. – P.752-9.
199. Guardo F. Di, Shah M., Cerana M.C. et al. Management of women affected by endometriosis: Are we stepping forward? // *J. Endometr. Pelvic Pain Disord.* – 2019. – Vol. 11, N 2. – P.77-84.
200. Guideline N. Endometriosis: diagnosis and management / Guideline, N. – 2017. – 363 p.
201. Hagen C.P., Vestergaard S., Juul A. et al. Low concentration of circulating antimüllerian hormone is not predictive of reduced fecundability in young healthy women: a prospective cohort study // *Fertil. Steril.* – 2012. – Vol. 98, N 6. – P.1602-1608.e2.
202. Hamdan M., Omar S.Z., Dunselman G., Cheong Y. Influence of endometriosis on assisted reproductive technology outcomes: a systematic review and meta-analysis. // *Obstet. Gynecol.* – 2015. – Vol. 125, N 1. – P.79-88.
203. Hamdan M., Dunselman G., Li T.C., Cheong Y. The impact of endometrioma on IVF/ICSI outcomes: a systematic review and meta-analysis // *Hum. Reprod. Update.* – 2015. – Vol. 21, N 6. – P.809-825.

204. Hamdan M., Jones K.T., Cheong Y., Lane S.I.R. The sensitivity of the DNA damage checkpoint prevents oocyte maturation in endometriosis. // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol. 6. – P.36994.
205. Hamilton J.A., Larson A.J., Lower A.M. et al. Routine use of saline hysterosonography in 500 consecutive, unselected, infertile women. // *Hum. Reprod.* – 1998. – Vol. 13, N 9. – P.2463-73.
206. Harada T., Kubota T., Aso T. Usefulness of CA19-9 versus CA125 for the diagnosis of endometriosis. // *Fertil. Steril.* – 2002. – Vol. 78, N 4. – P.733-9.
207. Harb H.M., Gallos I.D., Chu J. et al. The effect of endometriosis on in vitro fertilisation outcome: a systematic review and meta-analysis. // *BJOG.* – 2013. – Vol. 120, N 11. – P.1308-20.
208. Harvey A., Kind K., Thompson J. REDOX regulation of early embryo development // *Reproduction.* – 2002. – P.479-486.
209. Healy D.L., Breheny S., Halliday J. et al. Prevalence and risk factors for obstetric haemorrhage in 6730 singleton births after assisted reproductive technology in Victoria Australia. // *Hum. Reprod.* – 2010. – Vol. 25, N 1. – P.265-74.
210. Hirsch M., Duffy J.M.N., Deguara C.S. et al. Diagnostic accuracy of Cancer Antigen 125 (CA125) for endometriosis in symptomatic women: A multi-center study. // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2017. – Vol. 210. – P.102-107.
211. Hoenderboom B.M., Benthem B.H.B. Van, Bergen J.E.A.M. Van et al. Relation between Chlamydia trachomatis infection and pelvic inflammatory disease, ectopic pregnancy and tubal factor infertility in a Dutch cohort of women previously tested for chlamydia in a chlamydia screening trial // *Sex. Transm. Infect.* – 2019. – Vol. 95, N 4. – P.300-306.
212. Hosseini E. Controlled Ovarian Stimulation in Endometriosis Patients Can Be Individualized by Anti-Mullerian Hormone Levels // *Acta Endocrinol.* – 2017. – Vol. 13, N 2. – P.195-202.
213. Huang B., Li Z., Ai J. et al. Antioxidant capacity of follicular fluid from patients undergoing in vitro fertilization. // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* – 2014. – Vol. 7, N 5. – P.2273-82.

214. Hughesdon P.E. The structure of endometrial cysts of the ovary. // J. Obstet. Gynaecol. Br. Emp. – 1957. – Vol. 64, N 4. – P.481-7.
215. Ignatov T., Eggemann H., Dan Costa S., Ignatov A. Endometrial cancer after ulipristal acetate for uterine fibroma // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. – 2017. – Vol. 219. – P.134.
216. Ikechebelu J.I., Eleje G.U., Joe-Ikechebelu N.N. et al. Comparison of the prevalence of adhesions at the time of diagnostic laparoscopy for infertility between patient who had open myomectomy and those who had no previous pelvic-abdominal surgery or pelvic inflammatory disease. // Niger. J. Clin. Pract. – 2018. – Vol. 21, N 11. – P.1415-1421.
217. Ito F., Yamada Y., Shigemitsu A. et al. Role of Oxidative Stress in Epigenetic Modification in Endometriosis. // Reprod. Sci. – 2017. – Vol. 24, N 11. – P.1493-1502.
218. Iwabuchi T., Yoshimoto C., Shigetomi H., Kobayashi H. Cyst fluid hemoglobin species in endometriosis and its malignant transformation: The role of metallobiology. // Oncol. Lett. – 2016. – Vol. 11, N 5. – P.3384-3388.
219. Iwabuchi T., Yoshimoto C., Shigetomi H., Kobayashi H. Oxidative Stress and Antioxidant Defense in Endometriosis and Its Malignant Transformation // Oxid. Med. Cell. Longev. – 2015. – Vol. 2015. – P.1-7.
220. Jacobson T.Z., Duffy J.M.N., Barlow D.H. et al. WITHDRAWN: Laparoscopic surgery for subfertility associated with endometriosis. // Cochrane database Syst. Rev. – 2014. – №8. – P.CD001398.
221. Jana S.K., Babu N., Chattopadhyay R. et al. Upper control limit of reactive oxygen species in follicular fluid beyond which viable embryo formation is not favorable. // Reprod. Toxicol. – 2010. – Vol. 29, N 4. – P.447-51.
222. Jensen J.T., Schlaff W., Gordon K. Use of combined hormonal contraceptives for the treatment of endometriosis-related pain: a systematic review of the evidence // Fertil. Steril. – 2018. – Vol. 110, N 1. – P.137-152.e1.
223. Jiang J., Jiang Z., Xue M. Serum and peritoneal fluid levels of interleukin-6 and interleukin-37 as biomarkers for endometriosis. // Gynecol. Endocrinol. – 2019. – Vol. 35, N 7. – P.571-575.

224. Johnson N.P.N.P., Hummelshoj L., Abrao M.S. et al. Consensus on current management of endometriosis // *Hum. Reprod.* – 2013. – Vol. 28, N 6. – P.1552-1568.
225. Kala M., Shaikh M.V., Nivsarkar M. Equilibrium between anti-oxidants and reactive oxygen species: a requisite for oocyte development and maturation. // *Reprod. Med. Biol.* – 2017. – Vol. 16, N 1. – P.28-35.
226. Keane K., Cruzat V.F., Wagle S. et al. Specific ranges of anti-Mullerian hormone and antral follicle count correlate to provide a prognostic indicator for IVF outcome. // *Reprod. Biol.* – 2017. – Vol. 17, N 1. – P.51-59.
227. Kersten F.A.M., Hermens R.P.G.M., Braat D.D.M. et al. Overtreatment in couples with unexplained infertility. // *Hum. Reprod.* – 2015. – Vol. 30, N 1. – P.71-80.
228. Khazaei M., Aghaz F. Reactive Oxygen Species Generation and Use of Antioxidants during In Vitro Maturation of Oocytes. // *Int. J. Fertil. Steril.* – Vol. 11, N 2. – P.63-70.
229. Kho R.M., Andres M.P., Borrelli G.M. et al. Surgical treatment of different types of endometriosis: Comparison of major society guidelines and preferred clinical algorithms // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* – 2018. – Vol. 51. – P.102-110.
230. Kitajima M., Khan K.N., Harada A. et al. Association between ovarian endometrioma and ovarian reserve. // *Front. Biosci. (Elite Ed).* – 2018. – Vol. 10. – P.92-102.
231. Kitajima M., Defrère S., Dolmans M.-M. et al. Endometriomas as a possible cause of reduced ovarian reserve in women with endometriosis // *Fertil. Steril.* – 2011. – Vol. 96, N 3. – P.685-691.
232. Kobayashi Y., Osanai K., Tanaka K. et al. Endometriotic cyst fluid induces reactive oxygen species (ROS) in human immortalized epithelial cells derived from ovarian endometrioma // *Redox Rep.* – 2017. – Vol. 22, N 6. – P.361-366.
233. Koninckx P.R., Ussia A., Adamyan L. et al. Pathogenesis of endometriosis: the genetic/epigenetic theory // *Fertil. Steril.* – 2019. – Vol. 111, N 2. – P.327-340.
234. Koo H.S., Park C.W., Cha S.H., Yang K.M. Serial Evaluation of Endometrial Blood Flow for Prediction of Pregnancy Outcomes in Patients Who Underwent Controlled Ovarian Hyperstimulation and In Vitro Fertilization and Embryo Transfer // *J. Ultrasound Med.* – 2018. – Vol. 37, N 4. – P.851-857.

235. Koo Y.-J., Kim T.-J., Lee J.-E. et al. Risk of torsion and malignancy by adnexal mass size in pregnant women. // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 2011. – Vol. 90, N 4. – P.358-61.
236. Kurdoglu Z., Gursoy R., Kurdoglu M. et al. Comparison of the clinical value of CA 19-9 versus CA 125 for the diagnosis of endometriosis. // *Fertil. Steril.* – 2009. – Vol. 92, N 5. – P.1761-3.
237. Kuroda M., Kuroda K., Arakawa A. et al. Histological assessment of impact of ovarian endometrioma and laparoscopic cystectomy on ovarian reserve // *J. Obstet. Gynaecol. Res.* – 2012. – Vol. 38, N 9. – P.1187-1193.
238. Laganà A.S., Vitale S.G., Granese R. et al. Clinical dynamics of Dienogest for the treatment of endometriosis: from bench to bedside // *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* – 2017.
239. Laganà A.S., Salmeri F.M., Vitale S.G. et al. Stem Cell Trafficking During Endometriosis: May Epigenetics Play a Pivotal Role? // *Reprod. Sci.* – 2018. – Vol. 25, N 7. – P.978-979.
240. Lalani S., Choudhry A.J., Firth B. et al. Endometriosis and adverse maternal, fetal and neonatal outcomes, a systematic review and meta-analysis. // *Hum. Reprod.* – 2018. – Vol. 33, N 10. – P.1854-1865.
241. Lalani S., Choudhry A.J., Firth B. et al. Endometriosis and adverse maternal, fetal and neonatal outcomes, a systematic review and meta-analysis. // *Hum. Reprod.* – 2018. – Vol. 33, N 10. – P.1854-1865.
242. Laschke M.W., Menger M.D. Basic mechanisms of vascularization in endometriosis and their clinical implications. // *Hum. Reprod. Update.* – 2018. – Vol. 24, N 2. – P.207-224.
243. Lee H., Elahi F., Lee J. et al. Supplement of cilostamide in growth medium improves oocyte maturation and developmental competence of embryos derived from small antral follicles in pigs. // *Theriogenology.* – 2017. – Vol. 91. – P.1-8.
244. Lee J.H., Song J.Y., Yi K.W. et al. Effectiveness of Dienogest for Treatment of Recurrent Endometriosis: Multicenter Data // *Reprod. Sci.* – 2018. – Vol. 25, N 10. – P.1515-1522.

245. Lee Y., Lee Y., Lee S. et al. Correlation of Preoperative Biomarkers with Severity of Adhesion in Endometriosis. // J. Gynecol. Obstet. Hum. Reprod. – 2019. – P.101637.
246. Lee Y., Shim J., Ko N. et al. Effect of alanine supplementation during in vitro maturation on oocyte maturation and embryonic development after parthenogenesis and somatic cell nuclear transfer in pigs. // Theriogenology. – 2019. – Vol. 127. – P.80-87.
247. Leone Roberti Maggiore U., Ferrero S., Mangili G. et al. A systematic review on endometriosis during pregnancy: diagnosis, misdiagnosis, complications and outcomes. // Hum. Reprod. Update. – Vol. 22, N 1. – P.70-103.
248. Leone Roberti Maggiore U., Ferrero S., Mangili G. et al. A systematic review on endometriosis during pregnancy: diagnosis, misdiagnosis, complications and outcomes. // Hum. Reprod. Update. – Vol. 22, N 1. – P.70-103.
249. Leone Roberti Maggiore U., Gupta J.K., Ferrero S. Treatment of endometrioma for improving fertility. // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. – 2017. – Vol. 209. – P.81-85.
250. Lessey B.A., Kim J.J. Endometrial receptivity in the eutopic endometrium of women with endometriosis: it is affected, and let me show you why. // Fertil. Steril. – 2017. – Vol. 108, N 1. – P.19-27.
251. Li Z., Wang X., Guan Y. et al. Uterine artery blood flow and microvessel density by vaginal color Doppler ultrasonography in embryo implantation failure. // Exp. Ther. Med. – 2017. – Vol. 14, N 5. – P.4797-4800.
252. Lim C.P., Hasafa Z., Bhattacharya S., Maheshwari A. Should a hysterosalpingogram be a first-line investigation to diagnose female tubal subfertility in the modern subfertility workup? // Hum. Reprod. – 2011. – Vol. 26, N 5. – P.967-71.
253. Lin H., Leng J.-H., Liu J.-T., Lang J.-H. Obstetric outcomes in Chinese women with endometriosis: a retrospective cohort study. // Chin. Med. J. (Engl). – 2015. – Vol. 128, N 4. – P.455-8.
254. Lin Y.-H., Chen Y.-H., Chang H.-Y. et al. Chronic Niche Inflammation in Endometriosis-Associated Infertility: Current Understanding and Future Therapeutic Strategies. // Int. J. Mol. Sci. – 2018. – Vol. 19, N 8.

255. Lindsay T.J., Vitrikas K.R. Evaluation and treatment of infertility. // *Am. Fam. Physician.* – 2015. – Vol. 91, N 5. – P.308-14.
256. Lissi E., Salim-Hanna M., Pascual C., Castillo M.D. del. Evaluation of total antioxidant potential (TRAP) and total antioxidant reactivity from luminol-enhanced chemiluminescence measurements. // *Free Radic. Biol. Med.* – 1995. – Vol. 18, N 2. – P.153-8.
257. Liu Y.-Y., Liu Y.-K., Hu W.-T. et al. Elevated heme impairs macrophage phagocytosis in endometriosis. // *Reproduction.* – 2019.
258. Lu J., Wang Z., Cao J. et al. A novel and compact review on the role of oxidative stress in female reproduction // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2018. – Vol. 16, N 1. – P.80.
259. Luckow Invitti A., Schor E., Martins Parreira R. et al. Inflammatory cytokine profile of co-cultivated primary cells from the endometrium of women with and without endometriosis. // *Mol. Med. Rep.* – 2018. – Vol. 18, N 2. – P.1287-1296.
260. Luddi A., Capaldo A., Focarelli R. et al. Antioxidants reduce oxidative stress in follicular fluid of aged women undergoing IVF // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2016. – Vol. 14, N 1. – P.57.
261. Ludwin I., Ludwin A., Wiechec M. et al. Accuracy of hysterosalpingo-foam sonography in comparison to hysterosalpingo-contrast sonography with air/saline and to laparoscopy with dye // *Hum. Reprod.* – 2017. – P.1-12.
262. Macer M.L., Taylor H.S. Endometriosis and Infertility // *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* – 2012. – Vol. 39, N 4. – P.535-549.
263. Mafra F., Mazzotti D., Pellegrino R. et al. Copy number variation analysis reveals additional variants contributing to endometriosis development. // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2017. – Vol. 34, N 1. – P.117-124.
264. Maged A.M., Kamel A.M., Abu-Hamila F. et al. The measurement of endometrial volume and sub-endometrial vascularity to replace the traditional endometrial thickness as predictors of in-vitro fertilization success. // *Gynecol. Endocrinol.* – 2019. – Vol. 35, N 11. – P.949-954.

265. Mallen A., Soong T.R., Townsend M.K. et al. Surgical prevention strategies in ovarian cancer // *Gynecol. Oncol.* – 2018. – Vol. 151, N 1. – P.166-175.
266. Mannini L., Sorbi F., Noci I. et al. New adverse obstetrics outcomes associated with endometriosis: a retrospective cohort study. // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2017. – Vol. 295, N 1. – P.141-151.
267. Mansour G., Aziz N., Sharma R. et al. The impact of peritoneal fluid from healthy women and from women with endometriosis on sperm DNA and its relationship to the sperm deformity index // *Fertil. Steril.* – 2009. – Vol. 92, N 1. – P.61-67.
268. Marcozzi S., Rossi V., Salustri A. et al. Programmed cell death in the human ovary // *Minerva Ginecol.* – 2018. – Vol. 70, N 5.
269. Martin-Montalvo A., Sun Y., Diaz-Ruiz A. et al. Cytochrome b 5 reductase and the control of lipid metabolism and healthspan. // *NPJ aging Mech. Dis.* – 2016. – Vol. 2. – P.16006.
270. Matalliotakis M., Matalliotaki C., Goulielmos G. et al. Association between ovarian cancer and advanced endometriosis // *Oncol. Lett.* – 2018.
271. Máté G., Bernstein L.R., Török A.L. Endometriosis Is a Cause of Infertility. Does Reactive Oxygen Damage to Gametes and Embryos Play a Key Role in the Pathogenesis of Infertility Caused by Endometriosis? // *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. – 2018. – Vol. 9.
272. Matsota P., Kaminioti E., Kostopanagiotou G. Anesthesia Related Toxic Effects on In Vitro Fertilization Outcome: Burden of Proof. // *Biomed Res. Int.* – 2015. – Vol. 2015. – P.475362.
273. Matsuzaki S., Schubert B. Oxidative stress status in normal ovarian cortex surrounding ovarian endometriosis. // *Fertil. Steril.* – 2010. – Vol. 93, N 7. – P.2431-2.
274. McGee E.A., Hsueh A.J.W. Initial and Cyclic Recruitment of Ovarian Follicles 1 // *Endocr. Rev.* – 2000. – Vol. 21, N 2. – P.200-214.
275. Mehdizadeh Kashi A., Chaichian S., Ariana S. et al. The impact of laparoscopic cystectomy on ovarian reserve in patients with unilateral and bilateral endometrioma. // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* – 2017. – Vol. 136, N 2. – P.200-204.

276. Mekaru K., Masamoto H., Sugiyama H. et al. Endometriosis and pregnancy outcome: are pregnancies complicated by endometriosis a high-risk group? // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2014. – Vol. 172. – P.36-9.
277. Mesiano S., Chan E.-C., Fitter J.T. et al. Progesterone withdrawal and estrogen activation in human parturition are coordinated by progesterone receptor A expression in the myometrium. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2002. – Vol. 87, N 6. – P.2924-30.
278. Mihalyi A., Gevaert O., Kyama C.M. et al. Non-invasive diagnosis of endometriosis based on a combined analysis of six plasma biomarkers. // *Hum. Reprod.* – 2010. – Vol. 25, N 3. – P.654-64.
279. Miller J.E., Ahn S.H., Monsanto S.P. et al. Implications of immune dysfunction on endometriosis associated infertility // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8, N 4.
280. Montoya-Estrada A., Coria-García C.F., Cruz-Orozco O.P. et al. Increased systemic and peritoneal oxidative stress biomarkers in endometriosis are not related to retrograde menstruation. // *Redox Rep.* – 2019. – Vol. 24, N 1. – P.51-55.
281. Moore T.A., Ahmad I.M., Zimmerman M.C. Oxidative Stress and Preterm Birth: An Integrative Review. // *Biol. Res. Nurs.* – 2018. – Vol. 20, N 5. – P.497-512.
282. Morin S.J. Oxygen tension in embryo culture: does a shift to 2% O₂ in extended culture represent the most physiologic system? // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2017. – Vol. 34, N 3. – P.309-314.
283. Moris D., Chakedis J., Rahnemai-Azar A.A. et al. Postoperative Abdominal Adhesions: Clinical Significance and Advances in Prevention and Management. // *J. Gastrointest. Surg.* – 2017. – Vol. 21, N 10. – P.1713-1722.
284. Mosbah A., Nabil Y., Khashaba E. Interleukin-6, intracellular adhesion molecule-1, and glycodelin A levels in serum and peritoneal fluid as biomarkers for endometriosis. // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* – 2016. – Vol. 134, N 3. – P.247-51.
285. Mourad J., Henderson S., Magrina J. Complications of Laparoscopy / Mourad, J., Henderson, S., Magrina, J. // *Minimally Invasive Gynecology.* – Cham: Springer International Publishing, 2018. – P.363-374.

286. Mu F., Harris H.R., Rich-Edwards J.W. et al. A Prospective Study of Inflammatory Markers and Risk of Endometriosis. // *Am. J. Epidemiol.* – 2018. – Vol. 187, N 3. – P.515-522.
287. Muzii L., Tucci C. Di, Felicianantonio M. Di et al. Antimüllerian hormone is reduced in the presence of ovarian endometriomas: a systematic review and meta-analysis // *Fertil. Steril.* – 2018. – Vol. 110, N 5. – P.932-940.e1.
288. Nakagawa K., Hisano M., Sugiyama R., Yamaguchi K. Measurement of oxidative stress in the follicular fluid of infertility patients with an endometrioma. // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2016. – Vol. 293, N 1. – P.197-202.
289. Nanadikar M.S., Vergel Leon A.M., Borowik S. et al. O₂ affects mitochondrial functionality ex vivo. // *Redox Biol.* – 2019. – Vol. 22. – P.101152.
290. Naqvi M., Kaimal A. Adnexal masses in pregnancy. // *Clin. Obstet. Gynecol.* – 2015. – Vol. 58, N 1. – P.93-101.
291. Nasiri N., Moini A., Eftekhari-Yazdi P. et al. Oxidative Stress Statues in Serum and Follicular Fluid of Women with Endometriosis. // *Cell J.* – 2017. – Vol. 18, N 4. – P.582-587.
292. Nazarenko T.A., Kalinina E.A., Knyazeva E.A. et al. The role of abnormal hypermethylation of the HOXA10 and HOXA11 promoters in implantation failures in IVF programs // *Gynecol. Endocrinol.* – 2019. – Vol. 35, N sup1. – P.31-34.
293. Negi N., Roy K.K., Kumar S. et al. Clinical outcome analysis and correlation of reproductive outcome with endometriosis fertility index in laparoscopically managed endometriosis patients: A retrospective cohort study // *J. Hum. Reprod. Sci.* – 2019. – Vol. 12, N 2. – P.98-103.
294. Nesbitt-Hawes E.M., Campbell N., Maley P.E. et al. The Surgical Treatment of Severe Endometriosis Positively Affects the Chance of Natural or Assisted Pregnancy Postoperatively. // *Biomed Res. Int.* – 2015. – Vol. 2015. – P.438790.
295. Ng K.Y.B., Cheong Y. Hydrosalpinx - Salpingostomy, salpingectomy or tubal occlusion. // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* – 2019.
296. Nickkho-Amiry M., Savant R., Majumder K. et al. The effect of surgical management of endometrioma on the IVF/ICSI outcomes when compared with no treatment? A

- systematic review and meta-analysis // Arch. Gynecol. Obstet. – 2018. – Vol. 297, N 4. – P.1043-1057.
297. Nisenblat V., Bossuyt P.M.M., Shaikh R. et al. Blood biomarkers for the non-invasive diagnosis of endometriosis. // Cochrane database Syst. Rev. – 2016. – №5. – P.CD012179.
298. Nishihara T., Matsumoto K., Hosoi Y., Morimoto Y. Evaluation of antioxidant status and oxidative stress markers in follicular fluid for human in vitro fertilization outcome // Reprod. Med. Biol. – 2018. – Vol. 17, N 4. – P.481-486.
299. Oh S.R., Choe S.Y., Cho Y.J. Clinical application of serum anti-Müllerian hormone in women. // Clin. Exp. Reprod. Med. – 2019. – Vol. 46, N 2. – P.50-59.
300. Oliveira M.A.P., Raymundo T.S., Soares L.C. et al. How to Use CA-125 More Effectively in the Diagnosis of Deep Endometriosis. // Biomed Res. Int. – 2017. – Vol. 2017. – P.9857196.
301. Onwuchekwa C., Oriji V. Hysterosalpingographic (HSG) pattern of infertility in women of reproductive age // J. Hum. Reprod. Sci. – 2017. – Vol. 10, N 3. – P.178.
302. Oprescu N.D., Ionescu C.A., Drăgan I. et al. Adnexal masses in pregnancy: perinatal impact. // Rom. J. Morphol. Embryol. – 2018. – Vol. 59, N 1. – P.153-158.
303. Othman E.E.-D.R., Hornung D., Salem H.T. et al. Serum cytokines as biomarkers for nonsurgical prediction of endometriosis. // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. – 2008. – Vol. 137, N 2. – P.240-6.
304. Özcan C., Özdamar Ö., Gökbayrak M.E. et al. HOXA-10 gene expression in ectopic and eutopic endometrium tissues: Does it differ between fertile and infertile women with endometriosis? // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. – 2019. – Vol. 233. – P.43-48.
305. Ozgur K., Bulut H., Berkkanoglu M., Coetzee K. Reproductive Outcomes of Segmented In Vitro Fertilization in Patients Diagnosed with Endometriomas. // J. Minim. Invasive Gynecol. – 2018. – Vol. 25, N 1. – P.105-110.
306. Pankhurst M.W. A putative role for anti-Müllerian hormone (AMH) in optimising ovarian reserve expenditure. // J. Endocrinol. – 2017. – Vol. 233, N 1. – P.R1-R13.

307. Pardali E., Sanchez-Duffhues G., Gomez-Puerto M.C., Dijke P. Ten. TGF- β -Induced Endothelial-Mesenchymal Transition in Fibrotic Diseases. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2017. – Vol. 18, N 10.
308. Park H.J., Kim H., Lee G.H. et al. Could surgical management improve the IVF outcomes in infertile women with endometrioma?: a review. // *Obstet. Gynecol. Sci.* – 2019. – Vol. 62, N 1. – P.1-10.
309. Pasqualotto E.B., Agarwal A., Sharma R.K. et al. Effect of oxidative stress in follicular fluid on the outcome of assisted reproductive procedures. // *Fertil. Steril.* – 2004. – Vol. 81, N 4. – P.973-6.
310. Pasqualotto E.B., Lara L.V., Salvador M. et al. The role of enzymatic antioxidants detected in the follicular fluid and semen of infertile couples undergoing assisted reproduction. // *Hum. Fertil. (Camb).* – 2009. – Vol. 12, N 3. – P.166-71.
311. Patel B.G., Lenk E.E., Lebovic D.I. et al. Pathogenesis of endometriosis: Interaction between Endocrine and inflammatory pathways. // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* – 2018. – Vol. 50. – P.50-60.
312. Patrelli T.S., Berretta R., Gizzo S. et al. CA 125 serum values in surgically treated endometriosis patients and its relationships with anatomic sites of endometriosis and pregnancy rate. // *Fertil. Steril.* – 2011. – Vol. 95, N 1. – P.393-6.
313. Pérez-López F.R., Martínez-Domínguez S.J., Viñas A. et al. Endometriosis and gestational diabetes mellitus risk: a systematic review and meta-analysis. // *Gynecol. Endocrinol.* – 2018. – Vol. 34, N 5. – P.363-369.
314. Petraglia F., Arcuri F., Ziegler D. de, Chapron C. Inflammation: a link between endometriosis and preterm birth. // *Fertil. Steril.* – 2012. – Vol. 98, N 1. – P.36-40.
315. Piroli A., Marci R., Marinangeli F. et al. Comparison of different anaesthetic methodologies for sedation during in vitro fertilization procedures: effects on patient physiology and oocyte competence. // *Gynecol. Endocrinol.* – 2012. – Vol. 28, N 10. – P.796-9.
316. Polak G., Barczyński B., Wertel I. et al. Disrupted iron metabolism in peritoneal fluid may induce oxidative stress in the peritoneal cavity of women with endometriosis. // *Ann. Agric. Environ. Med.* – 2018. – Vol. 25, N 4. – P.587-592.

317. Polak G., Wertel I., Barczyński B. et al. Increased levels of oxidative stress markers in the peritoneal fluid of women with endometriosis // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2013. – Vol. 168, N 2. – P.187-190.
318. Porpora M.G., Tomao F., Manganaro L. et al. Impaired uterine artery flow associated with the presence of ovarian endometrioma: preliminary results of a prospective study. // *J. Ovarian Res.* – 2014. – Vol. 7. – P.1.
319. Raffi F., Metwally M., Amer S. The Impact of Excision of Ovarian Endometrioma on Ovarian Reserve: A Systematic Review and Meta-Analysis // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2012. – Vol. 97, N 9. – P.3146-3154.
320. Rahaman M.M., Nguyen A.T., Miller M.P. et al. Cytochrome b5 Reductase 3 Modulates Soluble Guanylate Cyclase Redox State and cGMP Signaling. // *Circ. Res.* – 2017. – Vol. 121, N 2. – P.137-148.
321. Regiani T., Cordeiro F.B., Costa L. do V.T. da et al. Follicular fluid alterations in endometriosis: label-free proteomics by MS E as a functional tool for endometriosis // *Syst. Biol. Reprod. Med.* – 2015. – Vol. 61, N 5. – P.263-276.
322. Rehmer J.M., Flyckt R.L., Goodman L.R., Falcone T. Management of Endometriomas. // *Obstet. Gynecol. Surv.* – 2019. – Vol. 74, N 4. – P.232-240.
323. Rizzello F., Coccia M.E. Direct shedding of endometrioma contents through the follicle rupture: Insight on the pathogenesis of endometriosis. // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2018. – Vol. 223. – P.144-145.
324. Robertshaw I.M., Sroga J.M., Batcheller A.E. et al. Hysterosalpingo-contrast sonography with a saline-air device is equivalent to hysterosalpingography only in the presence of tubal patency // *J. Ultrasound Med.* – 2016. – Vol. 35, N 6. – P.1215-1222.
325. Rolla E. Endometriosis: advances and controversies in classification, pathogenesis, diagnosis, and treatment // *F1000Research.* – 2019. – Vol. 8. – P.529.
326. Šalamun V., Verdenik I., Laganà A.S., Vrtačnik-Bokal E. Should we consider integrated approach for endometriosis-associated infertility as gold standard management? Rationale and results from a large cohort analysis // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2018. – Vol. 297, N 3. – P.613-621.

327. Sampson J.A. Metastatic or Embolic Endometriosis, due to the Menstrual Dissem-ination of Endometrial Tissue into the Venous Circulation. // Am. J. Pathol. – 1927. – Vol. 3, N 2. – P.93-110.43.
328. Sanchez A.M., Vanni V.S., Bartiromo L. et al. Is the oocyte quality affected by en-dometriosis? A review of the literature // J. Ovarian Res. – 2017. – Vol. 10, N 1. – P.43.
329. Sanchez A.M., Viganò P., Somigliana E. et al. The Endometriotic Tissue Lining the Internal Surface of Endometrioma // Reprod. Sci. – 2015. – Vol. 22, N 4. – P.391-401.
330. Santulli P., Chouzenoux S., Fiorese M. et al. Protein oxidative stress markers in peritoneal fluids of women with deep infiltrating endometriosis are increased. // Hum. Reprod. – 2015. – Vol. 30, N 1. – P.49-60.
331. Saridogan E., Becker C.M., Feki A. et al. Recommendations for the Surgical Treatment of Endometriosis. Part 1: Ovarian Endometrioma†‡¶ // Hum. Reprod. Open. – 2017. – Vol. 2017, N 3.
332. Schindl M., Birner P., Obermair A. et al. Increased microvessel density in adeno-myosis uteri. // Fertil. Steril. – 2001. – Vol. 75, N 1. – P.131-5.
333. Senapati S., Sammel M.D., Morse C., Barnhart K.T. Impact of endometriosis on in vitro fertilization outcomes: an evaluation of the Society for Assisted Reproductive Technologies Database. // Fertil. Steril. – 2016. – Vol. 106, N 1. – P.164-171.e1.
334. Senapati S., Atashroo D., Carey E. et al. Surgical interventions for chronic pelvic pain // Curr. Opin. Obstet. Gynecol. – 2016. – Vol. 28, N 4. – P.290-296.
335. Shen A., Xu S., Ma Y. et al. Diagnostic value of serum CA125, CA19-9 and CA15-3 in endometriosis: A meta-analysis. // J. Int. Med. Res. – 2015. – Vol. 43, N 5. – P.599-609.
336. Sikora J., Smycz-Kubańska M., Mielczarek-Palacz A., Kondera-Anasz Z. Abnor-mal peritoneal regulation of chemokine activation-The role of IL-8 in pathogenesis of endometriosis. // Am. J. Reprod. Immunol. – 2017. – Vol. 77, N 4.
337. Sikora J., Mielczarek-Palacz A., Kondera-Anasz Z. Association of the Precursor of Interleukin-1 β and Peritoneal Inflammation-Role in Pathogenesis of Endometriosis. // J. Clin. Lab. Anal. – 2016. – Vol. 30, N 6. – P.831-837.

338. Singh A.K., Chattopadhyay R., Chakravarty B., Chaudhury K. Markers of oxidative stress in follicular fluid of women with endometriosis and tubal infertility undergoing IVF // *Reprod. Toxicol.* – 2013. – Vol. 42. – P.116-124.
339. Singh S.S., Suen M.W.H. Surgery for endometriosis: beyond medical therapies // *Fertil. Steril.* – 2017. – Vol. 107, N 3. – P.549-554.
340. Singh V., Mishra B., Sinha S. et al. Role of saline infusion sonohysterography in infertility evaluation // *J. Hum. Reprod. Sci.* – 2018. – Vol. 11, N 3. – P.236.
341. Siristatidis C., Askoxylaki M., Varounis C. et al. E-selectin, resistin and reactive oxygen species levels in GnRH -agonist and -antagonist protocols in IVF/ICSI: a prospective cohort study // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2015. – Vol. 32, N 6. – P.959-967.
342. Smith R., Smith J.I., Shen X. et al. Patterns of plasma corticotropin-releasing hormone, progesterone, estradiol, and estriol change and the onset of human labor. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2009. – Vol. 94, N 6. – P.2066-74.
343. Somigliana E. Ovarian reserve, endometriomas, and surgery: research must go on // *Fertil. Steril.* – 2018. – Vol. 110, N 5. – P.856-857.
344. Somigliana E., Viganò P., Benaglia L. et al. Ovarian stimulation and endometriosis progression or recurrence: a systematic review. // *Reprod. Biomed. Online.* – 2019. – Vol. 38, N 2. – P.185-194.
345. Somigliana E., Berlanda N., Benaglia L. et al. Surgical excision of endometriomas and ovarian reserve: a systematic review on serum antimüllerian hormone level modifications // *Fertil. Steril.* – 2012. – Vol. 98, N 6. – P.1531-1538.
346. Somigliana E., Garcia-Velasco J.A. Treatment of infertility associated with deep endometriosis: definition of therapeutic balances // *Fertil. Steril.* – 2015. – Vol. 104, N 4. – P.764-770.
347. Song Y., Liu J., Qiu Z. et al. Advanced oxidation protein products from the follicular microenvironment and their role in infertile women with endometriosis. // *Exp. Ther. Med.* – 2017. – Vol. 15, N 1. – P.479-486.
348. Steiner A.Z., Herring A.H., Kesner J.S. et al. Antimüllerian Hormone as a Predictor of Natural Fecundability in Women Aged 30–42 Years // *Obstet. Gynecol.* – 2011. – Vol. 117, N 4. – P.798-804.

349. Stephansson O., Kieler H., Granath F., Falconer H. Endometriosis, assisted reproduction technology, and risk of adverse pregnancy outcome. // *Hum. Reprod.* – 2009. – Vol. 24, N 9. – P.2341-7.
350. Stern J.E., Luke B., Tobias M. et al. Adverse pregnancy and birth outcomes associated with underlying diagnosis with and without assisted reproductive technology treatment. // *Fertil. Steril.* – 2015. – Vol. 103, N 6. – P.1438-45.
351. Surrey E., Taylor H.S., Giudice L. et al. Long-Term Outcomes of Elagolix in Women With Endometriosis // *Obstet. Gynecol.* – 2018. – Vol. 132, N 1. – P.147-160.
352. Szubert M., Suzin J., Wierzbowski T., Kowalczyk-Amico K. CA-125 concentration in serum and peritoneal fluid in patients with endometriosis - preliminary results. // *Arch. Med. Sci.* – 2012. – Vol. 8, N 3. – P.504-8.
353. Taguchi A., Koga K., Kawana K. et al. Resveratrol Enhances Apoptosis in Endometriotic Stromal Cells // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2016. – Vol. 75, N 4. – P.486-492.
354. Takashima A., Takeshita N., Kinoshita T. Pregnancy outcomes after assisted reproductive procedures with embryos that had been derived from affected and unaffected ovaries among women with small unilateral endometriomas. // *Reprod. Med. Biol.* – 2017. – Vol. 16, N 2. – P.152-156.
355. Takemura Y., Osuga Y., Fujimoto A. et al. Increased risk of placenta previa is associated with endometriosis and tubal factor infertility in assisted reproductive technology pregnancy. // *Gynecol. Endocrinol.* – 2013. – Vol. 29, N 2. – P.113-5.
356. Tanbo T., Fedorcsak P. Endometriosis-associated infertility: aspects of pathophysiological mechanisms and treatment options. // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 2017. – Vol. 96, N 6. – P.659-667.
357. Tao X., Chen L., Ge S., Cai L. Weigh the pros and cons to ovarian reserve before stripping ovarian endometriomas prior to IVF/ICSI: A meta-analysis. // *PLoS One.* – 2017. – Vol. 12, N 6. – P.e0177426.
358. Taylor H.S., Johnson N., Carr B. et al. Maintenance of endometriosis-associated pain reduction and quality of life improvement in phase 3 extension studies with elagolix // *Fertil. Steril.* – 2017. – Vol. 108, N 3. – P.e96-e97.

359. Terao H., Wada-Hiraike O., Nagumo A. et al. Role of oxidative stress in follicular fluid on embryos of patients undergoing assisted reproductive technology treatment. // J. Obstet. Gynaecol. Res. – 2019.
360. Thaker R., Mishra V., Gor M. et al. The role of stimulation protocol, number of oocytes retrieved with respect to follicular fluid oxidative stress and IVF outcome. // Hum. Fertil. (Camb). – 2019. – P.1-9.
361. The Vienna consensus: report of an expert meeting on the development of ART laboratory performance indicators // Reprod. Biomed. Online. – 2017. – Vol. 35, N 5. – P.494-510.
362. Tomassetti C., Bafort C., Meuleman C. et al. Reproducibility of the Endometriosis Fertility Index: a prospective inter/intra-rater agreement study. // BJOG. – 2019.
363. Tomassetti C., D’Hooghe T. Endometriosis and infertility: Insights into the causal link and management strategies. // Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. – 2018. – Vol. 51. – P.25-33.
364. Tsoumpou I., Kyrgiou M., Gelbaya T.A., Nardo L.G. The effect of surgical treatment for endometrioma on in vitro fertilization outcomes: a systematic review and meta-analysis. // Fertil. Steril. – 2009. – Vol. 92, N 1. – P.75-87.
365. Tulić L., Vidaković S., Tulić I. et al. Oxidative Stress Markers in GnRH Agonist And Antagonist Protocols in IVF // J. Med. Biochem. – 2017. – Vol. 36, N 2. – P.163-170.
366. Türkan H., Aydın A., Sayal A. et al. Oxidative and antioxidative effects of desflurane and sevoflurane on rat tissue in vivo. // Arh. Hig. Rada Toksikol. – 2011. – Vol. 62, N 2. – P.113-9.
367. Várnagy Á., Kőszegi T., Györgyi E. et al. Levels of total antioxidant capacity and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine of serum and follicular fluid in women undergoing in vitro fertilization: focusing on endometriosis // Hum. Fertil. – 2018. – P.1-9.
368. Vassilopoulou L., Matalliotakis M., Zervou M.I. et al. Endometriosis and in vitro fertilisation. // Exp. Ther. Med. – 2018. – Vol. 16, N 2. – P.1043-1051.
369. Vercellini P., Crosignani P., Somigliana E. et al. 'Waiting for Godot: A commonsense approach to the medical treatment of endometriosis // Hum. Reprod. – 2011.

370. Vercellini P., Somigliana E., Vigano P. et al. 'Blood On The Tracks' from corpora lutea to endometriomas* // *BJOG An Int. J. Obstet. Gynaecol.* – 2009. – Vol. 116, N 3. – P.366-371.
371. Vercellini P., Buggio L., Frattaruolo M.P. et al. Medical treatment of endometriosis-related pain // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* – 2018. – Vol. 51. – P.68-91.
372. Vercellini P., Parazzini F., Pietropaolo G. et al. Pregnancy outcome in women with peritoneal, ovarian and rectovaginal endometriosis: a retrospective cohort study. // *BJOG.* – 2012. – Vol. 119, N 12. – P.1538-43.
373. Vercellini P., Ottolini F., Frattaruolo M.P. et al. Shifting from Oral Contraceptives to Norethisterone Acetate, or Vice Versa, because of Drug Intolerance: Does the Change Benefit Women with Endometriosis? // *Gynecol. Obstet. Invest.* – 2018. – Vol. 83, N 3. – P.275-284.
374. Villalba J.M., Navarro F., Gómez-Díaz C. et al. Role of cytochrome b5 reductase on the antioxidant function of coenzyme Q in the plasma membrane. // *Mol. Aspects Med.* – 1997. – Vol. 18 Suppl. – P.S7-13.
375. Vitale S.G., Capriglione S., Peterlunger I. et al. The Role of Oxidative Stress and Membrane Transport Systems during Endometriosis: A Fresh Look at a Busy Corner // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2018. – Vol. 2018. – P.1-14.
376. Volodarsky-Perel A., Buckett W., Tulandi T. Treatment of hydrosalpinx in relation to IVF outcome: a systematic review and meta-analysis. // *Reprod. Biomed. Online.* – 2019.
377. Wang F., Wang H., Jin D., Zhang Y. Serum miR-17, IL-4, and IL-6 levels for diagnosis of endometriosis. // *Medicine (Baltimore).* – 2018. – Vol. 97, N 24. – P.e10853.
378. Wang X.-Q., Zhou W.-J., Luo X.-Z. et al. Synergistic effect of regulatory T cells and proinflammatory cytokines in angiogenesis in the endometriotic milieu. // *Hum. Reprod.* – 2017. – Vol. 32, N 6. – P.1304-1317.
379. Wat J.M., Hawrylyshyn K., Baczyk D. et al. Effects of glycol-split low molecular weight heparin on placental, endothelial, and anti-inflammatory pathways relevant to preeclampsia† // *Biol. Reprod.* – 2018. – Vol. 99, N 5. – P.1082-1090.

380. Wayner D.D., Burton G.W., Ingold K.U., Locke S. Quantitative measurement of the total, peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation. The important contribution made by plasma proteins. // *FEBS Lett.* – 1985. – Vol. 187, N 1. – P.33-7.
381. Wu J., Xie H., Yao S., Liang Y. Macrophage and nerve interaction in endometriosis. // *J. Neuroinflammation.* – 2017. – Vol. 14, N 1. – P.53.
382. Xavier P., Beires J., Barros H., Martinez-de-Oliveira J. Subendometrial and intraendometrial blood flow during the menstrual cycle in patients with endometriosis // *Fertil. Steril.* – 2005. – Vol. 84, N 1. – P.52-59.
383. Yamaguchi K., Mandai M., Toyokuni S. et al. Contents of endometriotic cysts, especially the high concentration of free iron, are a possible cause of carcinogenesis in the cysts through the iron-induced persistent oxidative stress. // *Clin. Cancer Res.* – 2008. – Vol. 14, N 1. – P.32-40.
384. Yang C., Geng Y., Li Y. et al. Impact of ovarian endometrioma on ovarian responsiveness and IVF: a systematic review and meta-analysis. // *Reprod. Biomed. Online.* – 2015. – Vol. 31, N 1. – P.9-19.
385. Ye Y., Vattai A., Zhang X. et al. Role of Plasminogen Activator Inhibitor Type 1 in Pathologies of Female Reproductive Diseases. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2017. – Vol. 18, N 8.
386. Yılmaz Doğru H., Benli İ., Doğru S. The oxidative/anti-oxidative effects of sevoflurane on reproductive system of females: An experimental study. // *Turkish J. Obstet. Gynecol.* – 2017. – Vol. 14, N 4. – P.228-232.
387. Yuan L., Jingying H., Xiujuan C. et al. Predictive value of a modified classification of fallopian tube status on prognosis of tubal factor infertility after laparoscopic surgery. // *Medicine (Baltimore).* – 2019. – Vol. 98, N 13. – P.e14952.
388. Zhang X., Liu D., Huang W. et al. Prediction of Endometriosis Fertility Index in patients with endometriosis-associated infertility after laparoscopic treatment // *Reprod. Biomed. Online.* – 2018. – Vol. 37, N 1. – P.53-59.
389. Zhou F., Shi L.-B., Zhang S.-Y. Ovarian Fibrosis: A Phenomenon of Concern. // *Chin. Med. J. (Engl).* – 2017. – Vol. 130, N 3. – P.365-371.

390. Zhou W.-J., Yang H.-L., Shao J. et al. Anti-inflammatory cytokines in endometriosis // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2019. – Vol. 76, N 11. – P.2111-2132.
391. Zhu H., Lei H., Wang Q. et al. Serum carcinogenic antigen (CA)-125 and CA 19-9 combining pain score in the diagnosis of pelvic endometriosis in infertile women. // *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.* – 2016. – Vol. 43, N 6. – P.826-829.
392. Ziegler D. de, Pirtea P., Carbonnel M. et al. Assisted reproduction in endometriosis // *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2019. – Vol. 33, N 1. – P.47-59.