

На правах рукописи

ВЛАСОВА

Галина Алексеевна

**РЕАЛИЗАЦИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ У ПАЦИЕНТОК
С ИММУНОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ РЕВМАТИЧЕСКИМИ
ЗАБОЛЕВАНИЯМИ В ПРОГРАММАХ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ
РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ**

3.1.4. Акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва 2022

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении "Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

доктор медицинских наук, доцент
кандидат медицинских наук

Перминова Светлана Григорьевна
Кошелева Надежда Михайловна

Официальные оппоненты:

Рудакова Елена Борисовна – доктор медицинских наук, профессор, научный консультант отделения вспомогательных репродуктивных технологий ГБУЗ МО «Московский областной перинатальный центр»

Трофимов Евгений Александрович – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры терапии, ревматологии, экспертизы временной нетрудоспособности и качества медицинской помощи им. Э.Э. Эйхвальда ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России (Санкт-Петербург)

Ведущая организация:

ФГАОУ ВО "Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова" Минздрава России

Защита состоится «21» июня 2022 года в 13:00 часов на заседании диссертационного совета 21.1.022.01 на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» по адресу 117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации <https://science.ncagp.ru/upfiles/pdf/Vlasova%20GAdisser.pdf?882076641>

Автореферат разослан «___» _____ 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

Калинина Елена Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

В настоящее время все большую актуальность приобретают программы сохранения генетического материала в рамках лечения онкологических заболеваний. Однако возможность сохранения генетического материала у женщин с неонкологическими заболеваниями, которым также показана длительная гонадотоксическая терапия, рассматривается лишь в отдельных случаях. При этом многие неонкологические заболевания, в частности, иммуновоспалительные ревматические заболевания (ИВРЗ), а также их длительная терапия отрицательно влияют на качество жизни пациентов и препятствуют реализации их репродуктивных возможностей [Østensen M., 2017].

ИВРЗ — это класс разнородных по клиническим проявлениям нозологий, развивающихся вследствие патологической выработки антител и/или продукции аутоагрессивных клонов киллерных клеток против здоровых тканей организма. К наиболее распространенным ИВРЗ относят: ревматоидный артрит (РА), системную красную волчанку (СКВ) с наличием или отсутствием сопутствующего антифосфолипидного синдрома (АФС), а также спондилоартриты, например, анкилозирующий спондилит (АС) [Е.Л. Насонов, 2017].

ИВРЗ часто требуют проведения иммуносупрессивной терапии, которая нередко ассоциирована с гонадотоксичностью [Somers E.C., 2005]. Влияние различных видов терапии ИВРЗ на овариальный резерв остается малоизученным [Brouwer J., 2013]. В ряде исследований показано снижение уровня антимюллерова гормона (АМГ) и числа антральных фолликулов при применении гонадотоксической терапии [Henes M., 2012] [Choux C., 2018]. Частота развития преждевременной недостаточности яичников (ПНЯ) при применении циклофосфида достигает 50% среди пациенток моложе 30 лет, 60% - среди пациенток от 30 до 40 лет, а при применении препарата у девочек до полового созревания ПНЯ наблюдается в 11% случаев

[Hermine I., 2015]. Учитывая токсичность определенных видов терапии основного заболевания, в литературе обсуждается целесообразность сохранения генетического материала (криоконсервация ооцитов и/или эмбрионов) у данной группы больных [Orquevaux P., 2017].

В ряде публикаций отмечается, что программы ВРТ могут успешно применяться у пациенток с ИВРЗ [Bellver J., 2009]. Так, частота наступления беременности у женщин с СКВ вне стадии обострения заболевания в программах ВРТ сопоставима с общепопуляционными показателями и достигает 30%. Однако стандартные протоколы стимуляции яичников в программе ЭКО у пациенток с ИВРЗ не всегда применимы вследствие гиперэстрогении, обусловленной овариальной стимуляцией, которая может приводить к обострению основного заболевания и тромботическим осложнениям. Так, риск тромбоза у женщин с СКВ и наличием волчаночного антикоагулянта во время овариальной стимуляции повышен в шесть раз. [Andreoli L., 2017].

Таким образом, в настоящее время отсутствуют единые подходы к вопросам сохранения фертильности и реализации репродуктивной функции у пациенток с ИВРЗ, а имеющиеся данные свидетельствуют о необходимости разработки персонализированных подходов к проведению программ ВРТ у пациенток данной группы.

Степень разработанности темы исследования

В течение многих десятилетий вопрос реализации репродуктивной функции у женщин с ИВРЗ не освещался, в ряде случаев наличие заболевания являлось абсолютным противопоказанием для беременности. Сегодня беременность таким пациенткам зачастую не противопоказана, однако вопрос о методах ее достижения остается открытым. Все вышеизложенное создает предпосылки для рассмотрения и обсуждения вопросов реализации репродуктивной функции и сохранения генетического материала у данного контингента больных с использованием программ ВРТ.

Цель исследования

Повысить эффективность и безопасность реализации репродуктивной функции в программах ВРТ у женщин с иммуновоспалительными ревматическими заболеваниями.

Задачи исследования

1. Изучить клинико-anamnestические данные и лабораторные параметры женщин с иммуновоспалительными ревматическими заболеваниями, обратившихся для проведения программ ВРТ или сохранения генетического материала.
2. Оценить уровни антинуклеарных и антиовариальных антител в сыворотке крови и фолликулярной жидкости пациенток с ИВРЗ и их влияние на репродуктивную функцию.
3. Изучить влияние вида и продолжительности иммуносупрессивной терапии на состояние овариального резерва и определить возможности и показания для сохранения генетического материала у женщин с ИВРЗ.
4. Оценить эффективность и безопасность программ ВРТ у женщин с ИВРЗ на основе анализа параметров стимулированного цикла, эмбриологического этапа и уровня тканевого фактора, ассоциированного с внеклеточными везикулами.
5. Разработать персонафицированный алгоритм подготовки и ведения пациенток с ИВРЗ в программах ВРТ.

Научная новизна

Получены данные о снижении фертильности, большей распространенности бесплодия неясного генеза и снижении параметров овариального резерва у женщин с ИВРЗ. У пациенток с ИВРЗ повышены концентрации антинуклеарных антител в сыворотке крови и в фолликулярной жидкости как маркера бесплодия неясного генеза. Показано, что снижение овариального резерва у женщин с ИВРЗ ассоциировано с проведением иммуносупрессивной гонадотоксической терапии.

У пациенток с ИВРЗ выявлена низкая частота наступления беременности как в стимулированных циклах, так и в криоциклах, что ассоциировано с отрицательным влиянием основного заболевания и проводимой терапии, а также значительное повышение уровня тканевого фактора, ассоциированного с внеклеточными везикулами (ТФ-ВВ), как маркера риска тромботических осложнений в программах ВРТ на фоне овариальной стимуляции.

Для пациенток с риском обострения основного заболевания и тромботических осложнений обоснована целесообразность применения модифицированного клинико-эмбриологического протокола в программе ЭКО.

Практическая значимость

Определены группы пациенток с ИВРЗ, у которых разработаны дифференцированные подходы к проведению программ ВРТ. Установлены основные риски применения программ ВРТ у этих категорий пациенток. Разработан и предложен для клинического применения модифицированный клинико-эмбриологический протокол проведения программы ЭКО у пациенток с СКВ и/или АФС.

Методология и методы исследования

Настоящая работа выполнена в научно-клиническом отделении вспомогательных репродуктивных технологий им. Ф. Паулсена-старшего (заведующий - д.м.н., проф. Т.А. Назаренко) ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (директор - академик РАН Г.Т. Сухих), где в период с сентября 2018 и по май 2021 гг. обследовано 156 женщин, обратившихся для оценки фертильности и/или проведения программы ЭКО и сохранения генетического материала.

Положения, выносимые на защиту

1. Репродуктивный анамнез пациенток с иммуновоспалительными ревматическими заболеваниями характеризуется низкой частотой наступления беременности и родов и высокой частотой ранних репродуктивных потерь. Для женщин репродуктивного возраста характерно снижение параметров

овариального резерва и преимущественно бесплодие неясного генеза, которое можно расценивать как аутоиммунное, что подтверждается высокими уровнями антинуклеарных антител. Аутоиммунный генез ревматического заболевания, его длительное хроническое течение и использование иммуносупрессивной гонадотоксической терапии приводят к риску преждевременного снижения овариального резерва и потери репродуктивной функции.

2. У пациенток с ревматоидным артритом иммуносупрессивная терапия метотрексатом способствует подавлению активности аутоиммунного процесса, что в меньшей степени приводит к риску снижения овариального резерва. У женщин с системной красной волчанкой гонадотоксическая терапия циклофосфамидом повышает риск снижения овариального резерва в 30 раз. У больных анкилозирующим спондилитом длительное течение ревматического заболевания ассоциировано со снижением овариального резерва в большей степени, чем иммуносупрессивная терапия сульфасалазином. Начало использования гонадотоксической терапии в старшем репродуктивном возрасте сопряжено с высоким риском развития преждевременной овариальной недостаточности, что обуславливает необходимость сохранения генетического материала перед ее проведением у пациенток с иммуновоспалительными ревматическими заболеваниями.

3. Для пациенток с иммуновоспалительными ревматическими заболеваниями в программе ЭКО характерно меньшее число полученных ооцитов и эмбрионов, низкая частота наступления беременности и родов и высокая частота ранних репродуктивных потерь, что обусловлено отрицательным влиянием основного заболевания и проводимой терапией. Высокая концентрация тканевого фактора, ассоциированного с внеклеточными везикулами, является ранним маркером риска тромботических осложнений овариальной стимуляции, что обуславливает необходимость использования безопасных персонифицированных протоколов стимуляции яичников у данного контингента больных.

4. Применение модифицированного клинико-эмбриологического протокола в программе ЭКО у женщин с системной красной волчанкой и антифосфолипидным синдромом способствует снижению уровня гиперэстрогении по сравнению со стандартным протоколом овариальной стимуляции с анТГнРГ при сопоставимых эмбриологических параметрах и эффективности программы ЭКО, уменьшая риск обострения основного заболевания, а в сочетании с профилактическими дозами низкомолекулярных гепаринов позволяет снизить риск тромботических осложнений.

Личный вклад автора

Автор участвовал в выборе научного направления исследования, разработке цели и задач исследования, аналитической и статистической обработке полученных данных. Автор лично проводил обследование и ведение пациенток на всех этапах лечения бесплодия методом ЭКО и переноса эмбрионов (ПЭ), включая формирование базы данных пациентов, а также анализ клинико-лабораторных показателей и научную интерпретацию результатов исследования.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 3.1.4. – «Акушерство и гинекология». Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 4 и 5 паспорта специальности «Акушерство и гинекология».

Апробация работы

Работа обсуждена на межклинической конференции сотрудников научно-клинического отделения вспомогательных репродуктивных технологий им. Ф. Паулсена-старшего (26.05.2021) и заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (протокол №7 от 15.11.2021).

Внедрение результатов исследования в практику

Разработанная тактика по обследованию, подготовке и проведению программы ЭКО у женщин с ИВРЗ внедрена в практическую деятельность

научно-клинического отделения вспомогательных репродуктивных технологий им. Ф. Паулсена-старшего ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России.

Результаты диссертационной работы доложены на ежегодной научно-практической конференции ФГБНУ «НИИР им. В.А. Насоновой» с международным участием «Современная ревматология – эволюция взглядов: pro et contra» (Москва, 2019), XXIX Международной конференции Российской Ассоциации Репродукции Человека (РАРЧ) «Репродуктивные технологии сегодня и завтра» (Ростов-на-Дону, 2019), V Форуме антикоагулянтной и антиагрегантной терапии «Факт plus» (Москва, 2020), XX Юбилейной всероссийской школе ревматологов имени академика В.А. Насоновой (Москва, 2021), 37 ежегодной международной конференции Европейского Общества Репродукции Человека (ESHRE) (Брюссель, 2021).

Основное содержание диссертационной работы отражено в 5 опубликованных работах, в том числе в 5, входящих в перечень рецензируемых научных журналов и изданий.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 167 страницах компьютерного текста, состоит из введения и 4 глав (обзор литературы, материал и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение полученных результатов), выводов, практических рекомендаций, списка литературы, приложения. Работа иллюстрирована 25 таблицами и 18 рисунками. Библиографический указатель включает 6 работ на русском языке и 150 работ на английском языке.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В проспективное клиническое исследование были включены 156 женщин с бесплодием, обратившихся для проведения программ ВРТ. Основную группу исследования составили 106 пациенток с ИВРЗ: 46 женщин с РА, 32 пациентки с СКВ и 28 больных АС. Группу контроля - 50 соматически здоровых женщин.

Критериями включения в основную группу являлись: достоверный диагноз ИВРЗ, возраст женщин от 18 до 42 лет, заключение ревматолога о возможности проведения программ ВРТ, информированное согласие на участие в исследовании.

Критериями невключения являлись все состояния, являющиеся противопоказаниями к проведению ВРТ и вынашиванию беременности, а также недостоверный диагноз ИВРЗ.

Критериями включения в контрольную группу были: неотягощенный соматический анамнез, возраст женщин от 18 до 42 лет, селективный перенос одного эмбриона, информированное согласие на участие в исследовании.

Все пациентки были обследованы в соответствии с приказом Минздрава России № 803н "О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению" от 31 июля 2020г. Пациентки основной группы были обследованы ревматологом.

В стандартном протоколе с анТГнРГ овариальную стимуляцию проводили препаратами рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона (рФСГ) или менотропинов. В качестве триггера овуляции использовали хорионический гонадотропин человека (ХГч) в дозе 10 000 МЕ. Трансвагинальную пункцию (ТВП) яичников проводили через 36 часов после введения триггера овуляции. Оплодотворение ооцитов осуществляли методом ЭКО или, по показаниям, методом интрацитоплазматической инъекции сперматозоида в ооцит (ИКСИ). Морфологическую оценку эмбрионов проводили на 5-е сутки культивирования согласно модифицированной классификации Гарднера. Перенос эмбриона в полость матки осуществляли на 5-е сутки после ТВП. Всем пациенткам проводили селективный перенос одного эмбриона в полость матки. Оставшиеся эмбрионы хорошего качества криоконсервировали. Ведение посттрансферного периода проводили с использованием препаратов микронизированного прогестерона (600 мг/сут) вагинально со следующего дня после ТВП. При наличии положительного результата анализа β-хорионического гонадотропина

(β-ХГ) (через 12-14 дней после ПЭ) УЗИ органов малого таза выполняли на 21 день после ПЭ в полость матки с целью визуализации плодного яйца в полости матки. Следующее УЗИ органов малого таза проводили через 5-6 недель после ПЭ в полость матки с целью определения сердцебиения плода.

В модифицированном клинико-эмбриологическом протоколе стимуляцию яичников начинали с 4-5 дня менструального цикла (а не со 2-3 дня, как в стандартном протоколе с антГнРГ). Протокол характеризовался менее продолжительной стимуляцией яичников (8 [7;10] дней) и более ранним введением антГнРГ (на 5-й [3;6] день стимуляции), который продолжали до дня введения триггера овуляции – ХГч (10000 МЕ). Средняя суммарная доза гонадотропинов при использовании модифицированного клинико-эмбриологического протокола составила 1600 [1215;2175] МЕ. ТВП осуществляли через 36 часов после введения триггера овуляции.

С целью профилактики тромботических осложнений женщины с ИВРЗ в модифицированном клинико-эмбриологическом протоколе получали терапию НМГ (Эноксипарин натрия 0,4 мл/сут, п/к) с 1-го дня стимуляции до введения триггера овуляции (ХГч), с возобновлением терапии со следующего дня после ТВП яичников. Пациентки, дополнительно по рекомендации ревматолога принимавшие ацетилсалициловую кислоту в профилактической дозе (75-100 мг/сут *per os*), отменяли прием препарата за 3 дня до ТВП яичников, и, в условиях отсутствия кровотечения, возобновляли на следующие сутки.

Эмбриологический этап модифицированного клинико-эмбриологического протокола характеризовался созреванием незрелых ооцитов M1 *in vitro* в течение 24 ч с использованием культуральных сред для In Vitro Maturation (IVM). Ооциты, дозревшие до стадии M2, также оплодотворялись. Перенос эмбриона, ведение посттрансферного периода и диагностика беременности осуществлялись по стандартным методикам.

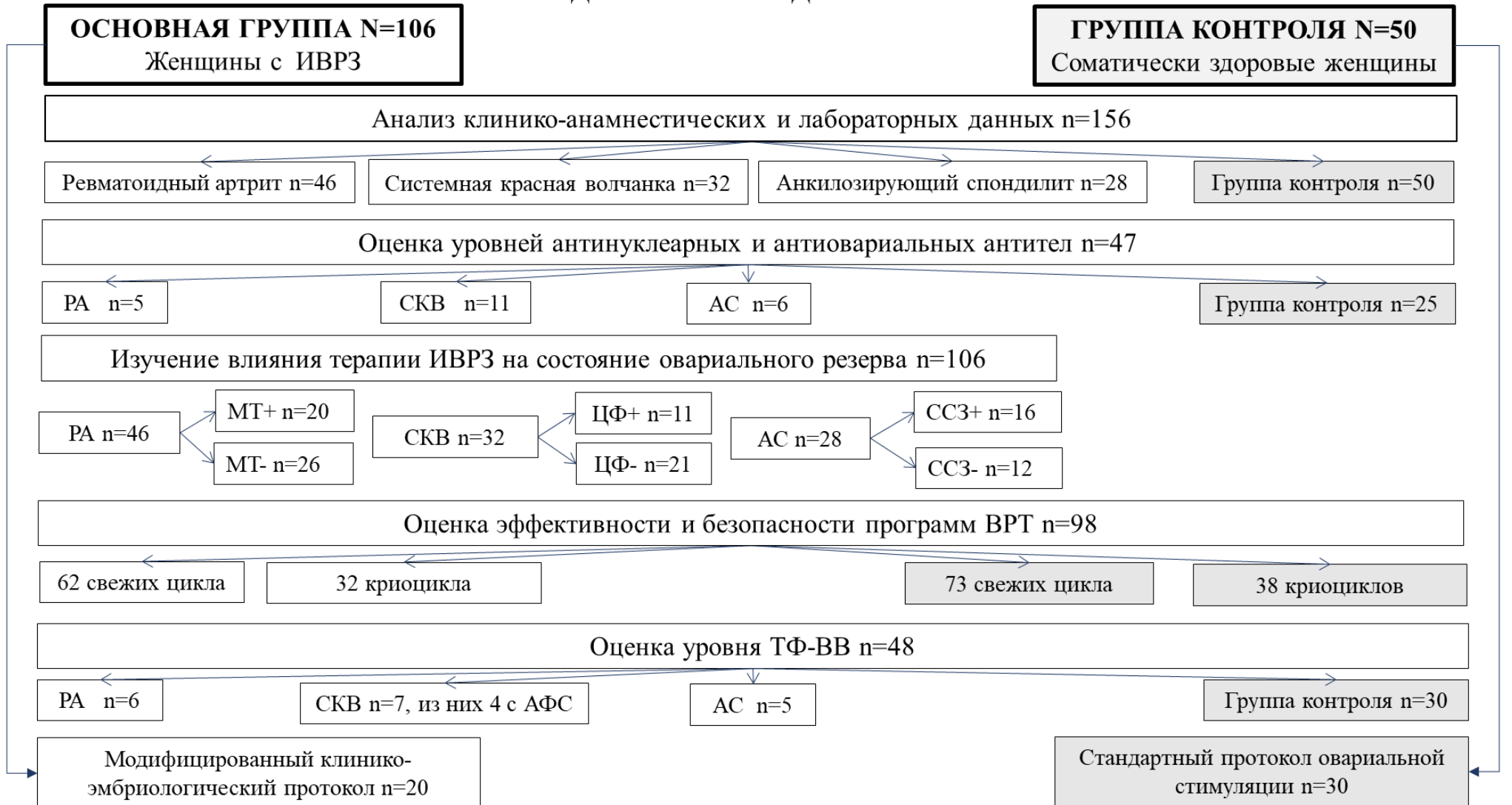
В криоцикле подготовку эндометрия осуществляли с использованием препаратов эстрогенов трансдермального пути введения (3 г/сут) и микронизированного прогестерона (600 мг/сут) вагинально под контролем УЗИ.

Специальные методы исследования включали исследование уровня аутоантител и тканевого фактора, ассоциированного с внеклеточными везикулами (ТФ-ВВ). Определение уровня аутоантител проводили с помощью иммуноферментного анализа в сыворотке крови и фолликулярной жидкости: были изучены антинуклеарные антитела, антитела к экстрагируемым ядерным антигенам (SSA/Ro, SSB/La), антиовариальные антитела и антитела к zona pellucida. Измерение прокоагулянтной активности ТФ-ВВ проводили с помощью коммерческого набора ZYMUPHEN MP-TF kit в соответствии с инструкцией производителя с добавлением VIIa, X и Xa факторов свертывания.

Статистическая обработка данных выполнена на индивидуальном компьютере с использованием программы Statistica 10 for Windows (StatSoft Inc., USA).

Дизайн исследования иллюстрируется рисунком 1.

ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ



РА- ревматоидный артрит, СКВ- системная красная волчанка, АС- анкилозирующий спондилит, АФС- антифосфолипидный синдром, МТ- метотрексат, ЦФ- циклофосфамид, ССЗ- сульфасалазин, ТФ-ВВ- тканевого фактора, ассоциированного с внеклеточными везикулами

Рис. 1. Дизайн исследования

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ клинико-anamнестических и лабораторных параметров пациенток показал, что у женщин с вторичным бесплодием число беременностей было значимо ниже при РА и АС по сравнению с группой контроля ($p_{РА-К}=0,042$, $p_{АС-К}=0,029$), в этой же группе отмечалось меньшее число родов ($p_{РА-К}=0,035$, $p_{АС-К}=0,018$). Число беременностей в группе женщин с СКВ оказалось сопоставимым с показателями контрольной группы, однако у больных СКВ было зафиксировано меньшее число родов ($p_{СКВ-К}=0,027$) и большее число ранних репродуктивных потерь ($p_{СКВ-К}=0,012$). Среди пациенток с ИВРЗ преобладало бесплодие неясного генеза, распространенность которого достигала 21,7% у женщин с РА, 28,1% - у пациенток с СКВ, 28,6% - у больных АС и лишь 8% в группе соматически здоровых женщин ($p_{РА-К}=0,047$, $p_{СКВ-К}=0,038$, $p_{АС-К}=0,015$). В основной группе также существенно превалировала доля пациенток со снижением овариального резерва (АМГ менее 1,0 нг/мл): в группе пациенток с РА - у 32,6% больных, при СКВ - у 43,8% и при АС - у 28,6% против 8% в группе контроля ($p_{РА-К}=0,003$, $p_{СКВ-К}=0,001$, $p_{АС-К}=0,016$).

Оценка показателей гормонального профиля продемонстрировала, что концентрация АМГ была существенно ниже у больных ИВРЗ по сравнению с группой контроля: при РА - 1,8 нг/мл ($p=0,013$), СКВ - 1,3 нг/мл ($p=0,018$) и АС 1,45 нг/мл ($p=0,021$) против 2,73 нг/мл в контрольной группе. Уровни ФСГ были значимо выше у больных ИВРЗ по сравнению со здоровыми женщинами: 7,4 МЕ/л у больных РА ($p=0,009$), 7,8 МЕ/л у больных СКВ ($p=0,011$), и 7,6 МЕ/л у пациенток с АС против 6,1 МЕ/л в группе контроля ($p=0,017$) (Таблица 1).

Полученные данные о повышенной частоте бесплодия неясного генеза у пациенток с ИВРЗ согласуются с результатами исследования Eudy A. M., 2019, а о значимом снижении овариального резерва у этой группы больных - с результатами исследования Henes M., 2015.

Таблица 1. Клинико-анамнестические и лабораторные характеристики пациенток с ИВРЗ

Показатель	РА, n=46	СКВ, n=32	АС, n=28	Группа контроля, n=50	p
Возраст больных Me [Q1;Q3], (min-max) лет	34 [32;38] (25-42)	34 [28;37] (27-40)	34,5 [32;39] (27-42)	35 [33;39] (25-41)	нд
Число беременностей у пациенток с беременностью в анамнезе (min-max)	24 у 22 пациенток (1-2)	31 у 12 пациенток (1-6)	14 у 12 пациенток (1-2)	46 у 28 пациенток (1-4)	$p_{РА-К} = \mathbf{0,042}$ $p_{СКВ-К} = 0,439$ $p_{АС-К} = \mathbf{0,029}$
Число родов у пациенток с родами в анамнезе (min-max)	9 у 8 пациенток (1-2)	6 у 5 пациенток (1-2)	4 у 4 пациенток (1)	20 у 14 пациенток (1-2)	$p_{РА-К} = \mathbf{0,035}$ $p_{СКВ-К} = \mathbf{0,027}$ $p_{АС-К} = \mathbf{0,018}$
Число самопроизвольных потерь беременности у пациенток с беременностью в анамнезе (min-max)	10 у 22 пациенток (1-2)	22 у 12 пациенток (1-5)	9 у 12 пациенток (1-2)	22 у 28 пациенток (1-2)	$p_{РА-К} = 0,528$ $p_{СКВ-К} = \mathbf{0,012}$ $p_{АС-К} = 0,136$
Бесплодие неясного генеза n (%)	10 (21,7)	9 (28,1)	8 (28,6)	4 (8)	$p_{РА-К} = \mathbf{0,047}$ $p_{СКВ-К} = \mathbf{0,038}$ $p_{АС-К} = \mathbf{0,015}$
Снижение овариального резерва n (%)	15 (32,6)	14 (43,8)	8 (28,6)	4(8)	$p_{РА-К} = \mathbf{0,003}$ $p_{СКВ-К} = \mathbf{0,001}$ $p_{АС-К} = \mathbf{0,016}$
АМГ Me [Q1;Q3] нг/мл	1,80 [0,9-2,5]	1,30 [0,6;2,5]	1,45 [0,3-2,2]	2,73[1,7-6,2]	$p_{РА-К} = \mathbf{0,013}$ $p_{СКВ-К} = \mathbf{0,018}$ $p_{АС-К} = \mathbf{0,021}$
ФСГ Me [Q1;Q3] МЕ/л	7,9 [6,1-9,4]	7,8 [6,3-9,2]	7,6 [6,5-9,2]	6,1 [5,2-7,3]	$p_{РА-К} = \mathbf{0,009}$ $p_{СКВ-К} = \mathbf{0,011}$ $p_{АС-К} = \mathbf{0,017}$

НД – не достоверно; $p_{РА-К}$ – для больных РА и группы контроля; $p_{СКВ-К}$ – для больных СКВ и группы контроля; $p_{АС-К}$ – для больных АС и группы контроля

Далее было проведено исследование профиля антинуклеарных и антиовариальных антител в сыворотке крови и фолликулярной жидкости у 22 пациенток с ИВРЗ и 25 соматически здоровых женщин группы контроля. В сыворотке крови средняя концентрация АНА среди пациенток основной группы составила 1,2 [0,5;2,2] Ед, что значимо превышало соответствующий показатель среди пациенток группы контроля, - 0,4 [0,3;2,5] Ед ($p < 0,001$). Средняя концентрация SSA/Ro антител в основной группе составила 7,0 [3,2;33,1] Ед/мл против 3,7 [3,3;4,3] МЕ/мл в группе контроля, $p = 0,015$. Средняя концентрация SSB/La антител в основной группе составила 4,2 [3,0;5,0] МЕ/мл против 3,0 [2,0;3,7] МЕ/мл в группе контроля, $p = 0,045$. В фолликулярной жидкости также была выявлена значительно более высокая концентрация АНА среди пациенток основной группы - 1,1 [0,8;1,8] Ед против 0,6 [0,5;0,8] Ед среди пациенток группы контроля, $p = 0,0015$. Однако средние уровни как SSA/Ro (9,2 [4,7;23,8] МЕ/мл и 7,2 [5,3;9,1] МЕ/мл) так и SSB/La (6,6 [3,9;10,8] МЕ/мл и 4,8 [3,5;8,4] МЕ/мл) антител оказались сопоставимыми в обеих группах ($p > 0,05$).

Полученные данные о повышенных уровнях АНА в сыворотке крови и фолликулярной жидкости пациенток с ИВРЗ подтверждают их тесную ассоциацию с бесплодием неясного генеза и снижением овариального резерва аутоиммунной этиологии [Parks C.G., 2014] [Deroux A., 2017] [Zeng M., 2019].

Не было выявлено значимой разницы в уровнях антиовариальных антител и антител к zona pellucida ни в сыворотке крови, ни в фолликулярной жидкости у пациенток основной и контрольной групп ($p > 0,05$), что может свидетельствовать о преобладании системного, а не локального аутоиммунного процесса у пациенток с ИВРЗ.

С целью анализа влияния терапии основного заболевания на показатели овариального резерва пациентки с ИВРЗ были разделены согласно их нозологической принадлежности (РА, СКВ и АС) и в зависимости от использования отдельных препаратов (метотрексат (МТ), циклофосфамид (ЦФ) и сульфасалазин (ССЗ)).

Было установлено, что средний уровень АМГ пациенток с РА, как получавших, так и не получавших терапию МТ, был значимо ниже уровня АМГ пациенток контрольной группы (Таблица 2).

Таблица 2. Уровни АМГ пациенток с РА в зависимости от использования МТ

Параметр	Подгруппа 1а РА МТХ(+) n=26	Подгруппа 1б РА МТХ(-) n=20	Группа контроля n=50	p
АМГ Ме [Q1-Q3] нг/мл	1,87 [1,4;2,9]	1,37 [0,8;3,3]	2,73 [1,5;6,1]	p _{1а-1б} =0,588 p _{1а-к} = 0,034 p _{1б-к} = 0,029

p_{1а-1б} – для подгрупп больных получавших и не получавших МТ; p_{1а-к} – для больных получавших МТ и группы контроля; p_{1б-к} – для больных не получавших МТ и группы контроля.

Снижение овариального резерва чаще имело место у больных РА (15/46 (32,6%)), чем у пациенток группы контроля (4/50 (8%)), ОШ 5.56; 95% ДИ (1,68; 18,36), p=0,001. При этом, ОШ снижения овариального резерва для группы пациенток с РА, принимавших МТ составило 4,03; 95% ДИ (1,06; 15,33), p=0,031, для группы пациенток, не принимавших МТ - 8,36; 95% ДИ (2,12; 33,12), p=0,030. Таким образом, больные РА, получавшие МТ, имели менее высокий риск развития овариальной недостаточности по сравнению с больными, не получавшими препарат, что, вероятно, обусловлено подавлением активности аутоиммунного процесса и его отрицательного влияния на репродуктивную функцию при приеме препарата.

Была также отмечена слабая отрицательная корреляция уровня АМГ с возрастом начала терапии МТ (rs= -0,459), (p<0,05) (Рисунок 2).

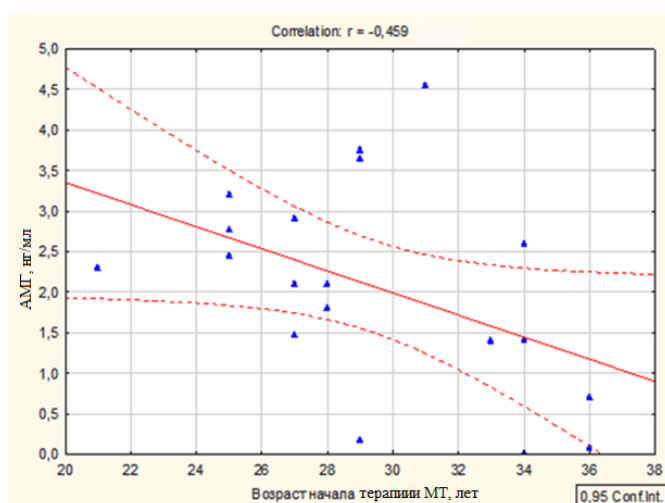


Рис. 2. Корреляция АМГ и возраста начала приема МТ

Средний уровень АМГ пациенток с СКВ, как получавших, так и не получавших терапию ЦФ, был значимо ниже уровня АМГ пациенток контрольной группы, при этом наиболее выраженное снижение уровня гормона было отмечено у пациенток с СКВ, получавших ЦФ, как по сравнению со здоровыми женщинами, так и по сравнению с больными СКВ, не получавшими терапию ЦФ (Таблица 3).

Таблица 3. Уровни АМГ пациенток с СКВ в зависимости от использования ЦФ

Параметр	Подгруппа 2а СКВ ЦФ(+) n=11	Подгруппа 2б СКВ ЦФ(-) n=21	Группа контроля n=50	p
АМГ Ме [Q1-Q3] нг/мл	0,8 [0,5;1,2]	1,8 [0,8;2,7]	2,73 [1,5;6,1]	p _{2а-2б} = 0,041 p _{2а-к} = 0,001 p _{2б-к} = 0,014

p_{2а-2б} – для подгрупп больных получавших и не получавших ЦФ; p_{2а-к} – для больных получавших ЦФ и группы контроля; p_{2б-к} – для больных не получавших ЦФ и группы контроля.

Снижение овариального резерва чаще имело место у больных СКВ (14/32 (43,8%)), чем у пациенток группы контроля (4/50 (8%)), ОШ 8.94; 95% ДИ (2,61; 30,88), p=0,020. При этом ОШ снижения овариального резерва для группы пациенток с СКВ, принимавших ЦФ составило 30,67; 95% ДИ (5,81; 162,39), p=0,017, для группы пациенток, не принимавших ЦФ - 9,86; 95% ДИ (2,23; 43,82), p=0,010. Таким образом, у женщин с СКВ, получавших ЦФ, риск развития овариальной недостаточности в 30 раз выше по сравнению с женщинами контрольной группы.

Была также отмечена сильная отрицательная корреляция значения АМГ с возрастом начала терапии ЦФ (rs= -0,723), (p<0,05) (Рисунок 3).

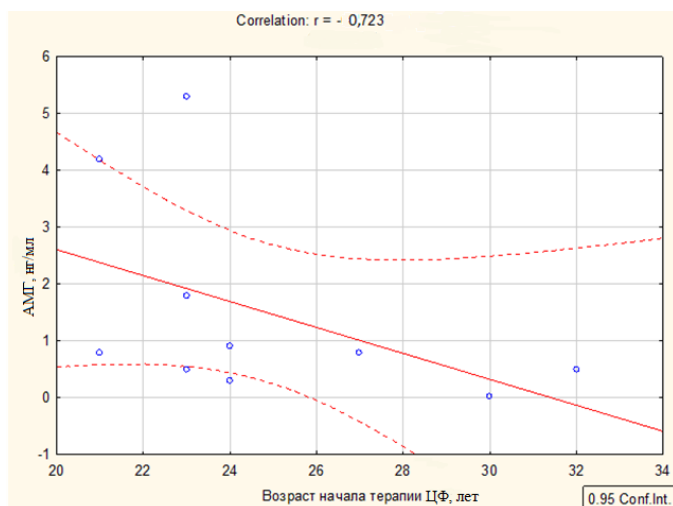


Рис. 3. Корреляция АМГ и возраста начала приема ЦФ

Полученные данные о высоком риске развития ПНЯ при приеме ЦФ совпадают с результатами Somers E.C., 2005. При этом начало терапии как МТ так и ЦФ в более старшем репродуктивном возрасте ассоциировано с более выраженным отрицательным влиянием препаратов на овариальный резерв.

Средний уровень АМГ пациенток с АС, как получавших, так и не получавших терапию ССЗ, был значимо ниже, чем уровень АМГ пациенток группы контроля (Таблица 4).

Таблица 4. Уровни АМГ пациенток с АС в зависимости от использования ССЗ

Параметр	Подгруппа 3а АС ССЗ(+) n=16	Подгруппа 3б АС ССЗ(-) n=12	Группа контроля n=50	p
АМГ Ме[Q1-Q3] нг/мл	1,6 [1,2;2,5]	1,15 [0,8;2,5]	2,73 [1,5;6,1]	p _{3а-3б} =0,523 p _{3а-к} = 0,025 p _{3б-к} = 0,018

p_{3а-3б} – для подгрупп больных получавших и не получавших ССЗ; p_{3а-к} – для больных получавших ССЗ и группы контроля; p_{3б-к} – для больных не получавших ССЗ и группы контроля.

Показатель АМГ ниже 1,0 нг/мл был выявлен у 2 из 16 (12,5%) больных АС, получавших ССЗ, и у 6 из 12 (50%) пациенток, не получавших препарат, то есть снижение овариального значимо чаще встречалось у больных, не получавших препарат: 50% против 12,5%, $\chi^2=4,811$, p=0,029, что могло быть обусловлено более длительным течением заболевания в группе пациенток без терапии ССЗ в анамнезе. Полученные результаты позволяют обсуждать отрицательное влияние аутоиммунного ревматического заболевания и его длительности на показатели овариального резерва в большей степени, чем прием ССЗ.

На следующем этапе был проведен анализ параметров овариальной стимуляции, эмбриологического этапа и исходов программ ЭКО у 48 женщин с ИВРЗ и у 50 соматически здоровых женщин в стандартном протоколе с антГнРГ. В основной группе проведено 62 «свежих» цикла ЭКО и 32 криоцикла, в группе контроля – 73 «свежих» цикла ЭКО и 38 криоциклов. Суммарная доза гонадотропинов оказалась значимо выше в основной группе (2650 [1215;2800] МЕ против 2000 [1650;2250] МЕ; p=0,045), что обусловлено снижением овариального резерва у пациенток с ИВРЗ и, соответственно, необходимостью применения более высоких доз гонадотропинов.

Анализ параметров эмбриологического этапа показал, что у пациенток с ИВРЗ по сравнению с женщинами контрольной группы было получено меньшее количество ооцитов (5 [2;10] и 10 [7;17]; $p=0,016$), зрелых ооцитов (4 [2;9] и 8 [5;12]; $p=0,023$), зигот (3 [1;7] и 7 [4;10]; $p=0,05$), эмбрионов на стадии дробления (4 [2;7] и 6 [4;10]; $p=0,032$), бластоцист (1 [0;3] и 3 [1;6]; $p=0,001$), бластоцист отличного качества (15 (24,2%) и 31 (42,5%); $p=0,003$) и криоконсервированных эмбрионов (1(0;2) и 2(0;4); $p=0,015$).

Проведенный анализ исходов «свежих» циклов ЭКО показал, что у пациенток с РА по сравнению со здоровыми женщинами отмечалась более низкая частота клинической беременности ($p=0,032$) и родов ($p=0,027$). Среди больных СКВ и женщин контрольной группы выявлена сопоставимая частота клинической беременности и родов. Однако частота ранних репродуктивных потерь была значимо выше среди пациенток с СКВ ($p=0,042$). У пациенток с АС по сравнению со здоровыми женщинами выявлена более низкая частота клинической беременности ($p=0,032$) и родов ($p=0,001$). Для пациенток с АС была также характерна более высокая частота ранних репродуктивных потерь ($p=0,034$) (Рисунок 4).

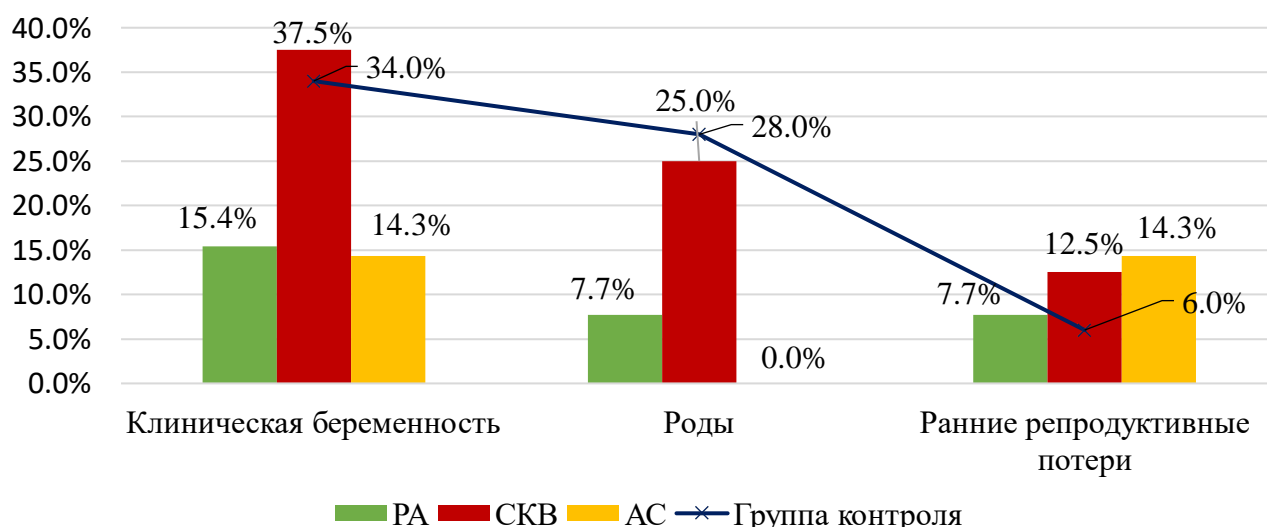


Рис. 4. Исходы «свежих» циклов ЭКО у пациенток с ИВРЗ

Анализ исходов криоциклов показал, что у пациенток с РА по сравнению со здоровыми женщинами отмечалась низкая частота клинической беременности ($p=0,048$) и родов ($p=0,032$). Среди больных СКВ и женщин контрольной группы выявлена сопоставимая частота клинической

беременности и родов. Однако частота ранних репродуктивных потерь была значимо выше среди пациенток с СКВ ($p=0,042$). У пациенток с АС по сравнению со здоровыми женщинами выявлена более низкая частота клинической беременности ($p=0,036$) и родов ($p=0,008$) (Рисунок 5).

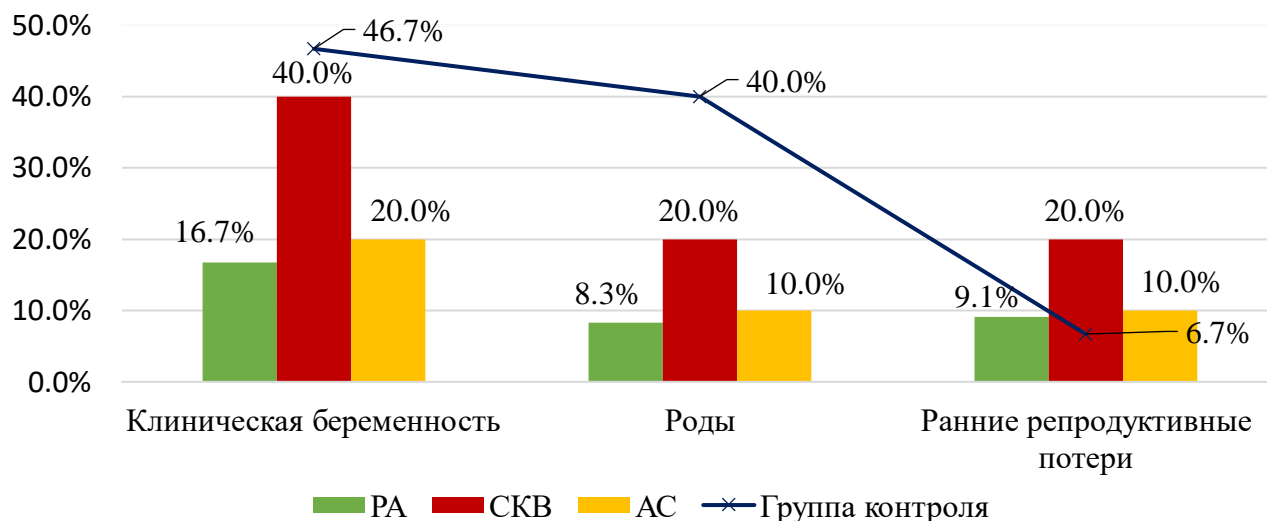


Рис. 5. Исходы криоциклов у пациенток с ИВРЗ

Полученные результаты демонстрируют, что для пациенток с РА в программах ВРТ характерны низкие показатели наступления беременности и родов; у пациенток с СКВ показатели наступления беременности и родов сопоставимы с показателями соматически здоровых женщин, однако у женщин с СКВ значимо чаще наблюдалось самопроизвольное прерывание беременности, что согласуется с данными литературы [Oktem O., 2016]. В группе больных АС были зафиксированы самые низкие показатели беременности и родов как в «свежих» циклах ЭКО, так и в криоциклах. В ряде исследований обсуждается негативное влияние наличие HLAB27-антигена на наступление и вынашивание беременности у пациенток с АС [Kollnberger S., 2016].

Оценка уровня ТФ-ВВ в плазме крови как маркера риска тромботических осложнений в программе ЭКО была проведена у 18 пациенток с ИВРЗ и у 30 соматически здоровых женщин.

Средняя концентрация ТФ-ВВ у пациенток с ИВРЗ была существенно выше по сравнению с соматически здоровыми женщинами как до начала овариальной стимуляции (0,438 [0,16;1,82] пг/мл против 0,121 [0,0;1,36] пг/мл,

$p=0,039$), так и после ее завершения ($0,901 [0,0;2,19]$ пг/мл против $0,222 [0,0;0,59]$ пг/мл, $p=0,018$) (Рисунок 6).

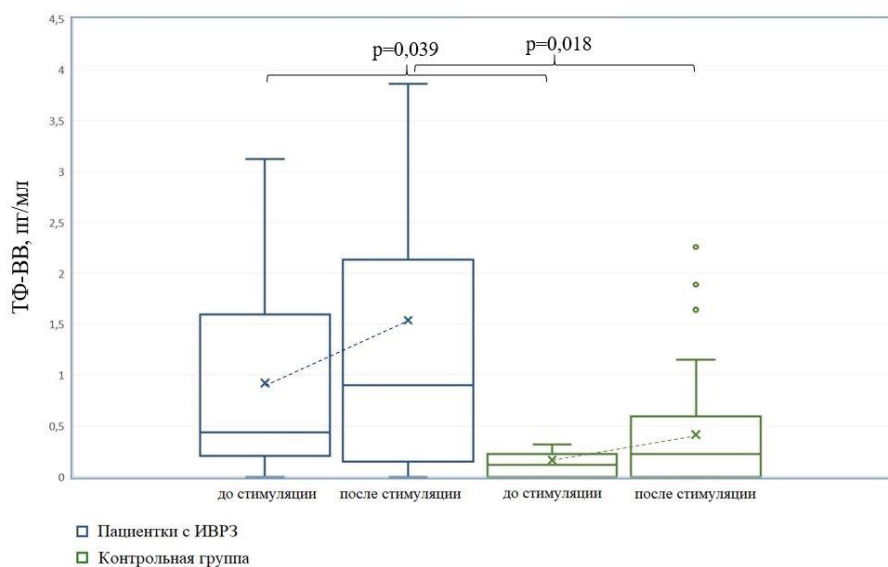


Рис. 6. Уровень тканевого фактора, ассоциированного с внеклеточными везикулами плазмы крови, у пациенток с ИВРЗ и контрольной группы

Таким образом, высокий уровень ТФ-ВВ у пациенток с ИВРЗ свидетельствует о повышенном риске тромботических осложнений на фоне овариальной стимуляции, сопровождающейся гиперэстрогенией, и обуславливает необходимость разработки и применения персонализированных протоколов стимуляции, снижающих риск гиперэстрогении, обострений основного заболевания и тромботических осложнений.

В связи с этим был разработан модифицированный клиничко-эмбриологический протокол программы ЭКО для пациенток с СКВ с/без АФС. Разработанный модифицированный клиничко-эмбриологический протокол заключался в снижении интенсивности и длительности овариальной стимуляции, применении профилактических доз низкомолекулярных гепаринов, а также дозревании незрелых ооцитов с использованием культуральных сред для IVM с последующим оплодотворением. С целью анализа эффективности и безопасности разработанного протокола было проведено сравнение параметров овариальной стимуляции, эмбриологического этапа и исходов программы ЭКО при применении

модифицированного клинико-эмбриологического протокола и стандартного протокола с антГнРГ у репрезентативных групп больных. Основную группу составили 20 пациенток с СКВ с/без АФС в модифицированном клинико-эмбриологическом протоколе, группу сравнения - 30 соматически здоровых женщин в стандартном протоколе с антГнРГ.

В модифицированном клинико-эмбриологическом протоколе по сравнению со стандартным протоколом с антГнРГ значительно меньше были длительность стимуляции (8 [7;10] против 10 [9;10], $p=0,045$), суммарная доза гонадотропинов (1600 [1215;2175] МЕ против 2100 [1650;2250] МЕ, $p=0,015$) и уровень Е2 в день введения триггера овуляции (922,4 [836;1112,2] пкмоль/л против 2535 [2289,2;2787,5] пкмоль/л, $p=0,048$), что указывало на снижение уровня эстрогенов и, соответственно, риска обострений основного заболевания и тромботических осложнений.

При этом показатели эмбриологического этапа и исходов программ оказались сопоставимы в обеих группах (Рисунок 7).

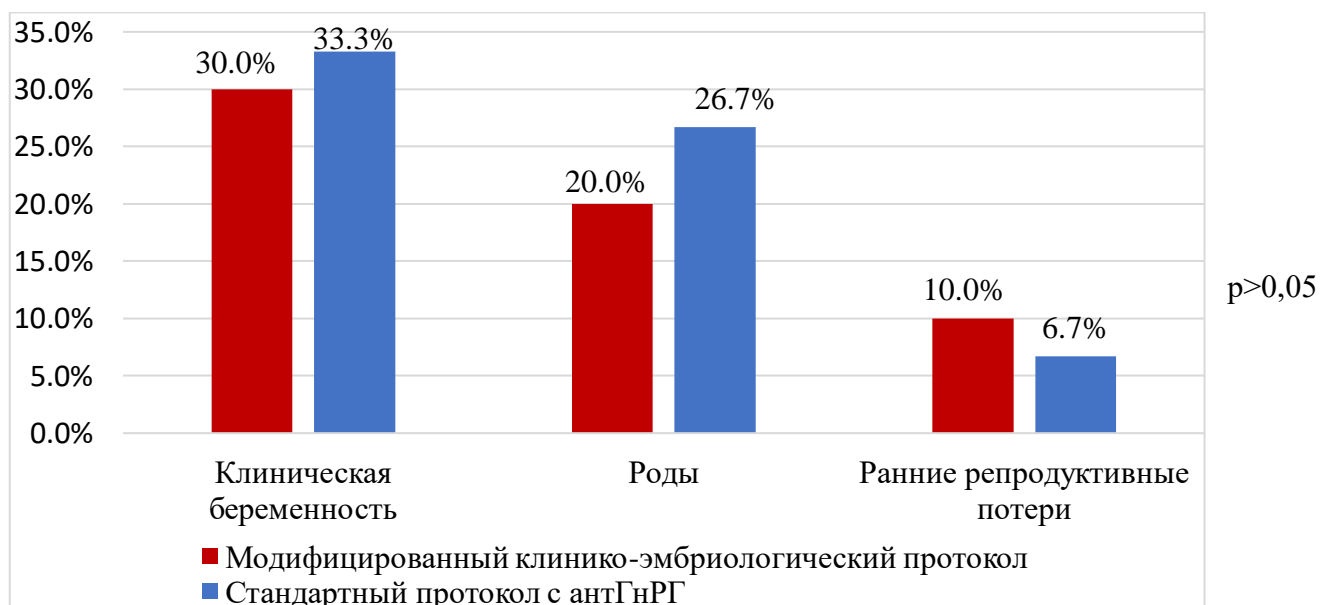


Рис. 7. Исходы «свежих» циклов у пациенток с СКВ и группы сравнения при применении модифицированного клинико-эмбриологического протокола

Анализ течения основного заболевания во время и после проведения программы ЭКО с применением модифицированного клинико-эмбриологического протокола не выявил серьезных обострений основного заболевания и тромботических осложнений.

Таким образом, применение модифицированного клинико-эмбриологического протокола овариальной стимуляции способствует снижению уровня гиперэстрогении и риска обострений основного заболевания, а также тромботических осложнений у больных СКВ с/без АФС при сопоставимых показателях эффективности программы ЭКО и может быть рекомендован женщинам с тяжелым течением ИВРЗ.

ВЫВОДЫ

1. Для репродуктивного анамнеза пациенток с ИВРЗ и вторичным бесплодием по сравнению с соматически здоровыми женщинами характерно: снижение числа беременностей и родов в анамнезе при РА ($p=0,042$) и АС ($p=0,029$) и высокая частота ранних репродуктивных потерь при СКВ ($p=0,012$). Для всей группы пациенток с ИВРЗ характерно преобладание бесплодия неясного генеза ($p_{РА-К}=0,047$, $p_{СКВ-К}=0,038$, $p_{АС-К}=0,015$) и высокая частота снижения овариального резерва ($p_{РА-К}=0,013$, $p_{СКВ-К}=0,018$, $p_{АС-К}=0,021$).

2. У пациенток с ИВРЗ по сравнению с соматически здоровыми женщинами значимо выше уровни сывороточных АНА ($p<0,001$), SSA/Ro ($p=0,015$) и SSB/La ($p=0,045$) антител; и АНА ($p=0,0015$) в фолликулярной жидкости, что позволяет рассматривать АНА в качестве маркеров бесплодия неясного генеза.

3. Для женщин ИВРЗ по сравнению с соматически здоровыми женщинами характерно снижение параметров овариального резерва, обусловленное как длительностью и тяжестью основного заболевания, так и используемой иммуносупрессивной терапией, о чем свидетельствует снижение уровня АМГ при РА и терапии МТ ($p=0,034$); при СКВ и терапии ЦФ ($p=0,001$); при АС и терапии ССЗ ($p=0,025$). Риск развития преждевременной овариальной недостаточности повышен при РА и терапии МТ (ОШ 4,03 95% ДИ [1,06; 15,33], $p=0,031$) и при СКВ и терапии ЦФ (ОШ 30,67, 95% ДИ [5,81; 162,39], $p=0,017$).

4. У пациенток с ИВРЗ по сравнению с соматически здоровыми женщинами в программе ЭКО снижено количество полученных ооцитов ($p=0,016$), зрелых ооцитов ($p=0,023$), зигот ($p=0,005$), эмбрионов на стадии дробления ($p=0,032$), бластоцист ($p=0,001$) и криоконсервированных эмбрионов ($p=0,015$).

5. В «свежих» циклах ЭКО для женщин с РА по сравнению с соматически здоровыми женщинами характерна низкая частота клинической беременности ($p=0,032$) и родов ($p=0,027$); для пациенток с СКВ – высокая частота ранних репродуктивных потерь ($p=0,042$), для больных АС - низкая частота клинической беременности ($p=0,032$), родов ($p=0,001$) и высокая частота ранних репродуктивных потерь ($p=0,034$). В криоциклах для женщин с РА характерна низкая частота клинической беременности ($p=0,048$) и родов ($p=0,032$); для пациенток с СКВ – высокая частота ранних репродуктивных потерь ($p=0,042$), для больных АС - низкая частота клинической беременности ($p=0,036$) и родов ($p=0,008$).

6. У пациенток с ИВРЗ уровень ТФ-ВВ плазмы крови статистически значимо выше по сравнению с соматически здоровыми женщинами как до проведения овариальной стимуляции ($p=0,039$), так и после ее завершения ($p=0,018$), что свидетельствует о высоком риске тромботических осложнений.

7. У пациенток с СКВ при применении модифицированного клинико-эмбриологического протокола показатели эмбриологического этапа и исходов программы сопоставимы ($p>0,05$), а длительность стимуляции ($p=0,045$), суммарная доза гонадотропинов ($p=0,015$) и уровень Е2 в день введения триггера овуляции ($p=0,048$) значимо ниже, чем в группе сравнения, что свидетельствует о его эффективности и безопасности.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Женщинам с ИВРЗ, планирующим использование гонадотоксической терапии, показана оценка уровня АМГ. При уровне АМГ $<1,0$ нг/мл следует не откладывать реализацию репродуктивной функции при достижении стойкой ремиссии основного заболевания.

2. При планировании терапии МТ и ЦФ пациенткам с ИВРЗ старшего репродуктивного возраста рекомендовано сохранение генетического материала (ооцитов и/или эмбрионов) в программе ЭКО.

3. Женщинам с СКВ и «акушерским АФС» в анамнезе при тяжелом течении основного заболевания и высоком риске акушерских и тромботических осложнений рекомендовано сохранение генетического материала для последующей реализации программы суррогатного материнства.

4. У пациенток с СКВ с/без АФС в программе ЭКО целесообразно использование модифицированного клинико-эмбриологического протокола овариальной стимуляции, который заключается в снижении интенсивности и длительности овариальной стимуляции, применении профилактических доз НМГ, а также дозревании незрелых ооцитов с использованием культуральных сред для ИVM, с целью минимизации гиперэстрогении, риска осложнений основного заболевания и тромбоза.

5. Женщинам с ИВРЗ как в циклах ЭКО с переносом нативного эмбриона, так и в криоциклах рекомендован перенос 1-го эмбриона с целью профилактики риска наступления многоплодной беременности и осложнений основного заболевания.

6. Пациенткам с наличием АФС и/или аФЛ с целью профилактики тромботических осложнений в программе ЭКО рекомендовано назначение профилактических доз НМГ с 1-го дня овариальной стимуляции до введения триггера овуляции и возобновлением терапии со следующего дня после ТВП яичников.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. Репродуктивная функция у женщин с иммуновоспалительными ревматическими заболеваниями / **Г.А. Власова**, С.Г. Перминова, Н.М. Кошелева, Т.А. Назаренко // **Акушерство и гинекология**. 2019; 10: 51-59.
2. Репродуктивная функция у женщин с ревматоидным артритом: влияние заболевания и терапии метотрексатом на уровень антимюллерова гормона / С.Г. Перминова, **Г.А. Власова**, Н.М. Кошелева // **Акушерство и гинекология**. 2020; 4: 104-110.
3. Применение программы вспомогательных репродуктивных технологий у пациентки с системной красной волчанкой и антифосфолипидным синдромом. Клиническое наблюдение/ Н.М. Кошелева, С.Г. Перминова, **Г.А. Власова**, А.О. Кириллова// **Акушерство и гинекология**. 2020; 4: 224-229.
4. Подходы к реализации репродуктивной функции у женщин с системной красной волчанкой и антифосфолипидным синдромом / **Г.А. Власова**, С.Г. Перминова, Н.М. Кошелева // **Гинекология**. 2021; 23 (2): 167-172.
5. Влияние терапии иммуновоспалительных ревматических заболеваний на репродуктивную функцию/ **Г.А. Власова**, С.Г. Перминова, Н.М. Кошелева, М.А. Веюкова // **Акушерство и гинекология**. 2021; 7: 53-60.