

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное учреждение
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ
И ПЕРИНАТОЛОГИИ ИМЕНИ АКАДЕМИКА В.И. КУЛАКОВА»

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

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук

С.Г. Перминова

кандидат медицинских наук

Н.М. Кошелева

Москва 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1. ОСОБЕННОСТИ РЕАЛИЗАЦИИ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ У ПАЦИЕНТОК С ИММУНОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ РЕВМАТИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ (обзор литературы)	14
1.1. Иммуновоспалительные ревматические заболевания и их распространенность	14
1.1.1. Факторы, способствующие преобладанию ИВРЗ у женщин	15
1.1.2. Репродуктивная функция у женщин с ИВРЗ	16
1.1.3. Влияние ИВРЗ на овариальный резерв и репродуктивную функцию.....	17
1.2. Влияние антинуклеарных и антиовариальных аутоантител на репродуктивную функцию пациенток с ИВРЗ	22
1.3. Влияние терапии ИВРЗ на овариальный резерв	26
1.4. Применение вспомогательных репродуктивных технологий у женщин с ИВРЗ: эффективность и безопасность.....	36
1.5. Методы сохранения репродуктивной функции у женщин с ИВРЗ	39
1.5.1. Применение аналогов ГнРГ	39
1.5.2. Сохранение генетического материала	41
1.6. Внеклеточные везикулы при ИВРЗ и их роль в системе гемостаза	43
Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	49
2.1. Материал исследования	49
2.2. Методы исследования	53
2.2.1. Общеклинические методы исследования.....	53
2.2.2. Обследование пациенток с ИВРЗ	54
2.2.3. Гормональное обследование	54
2.2.4. Овариальная стимуляция в стандартном протоколе и трансвагинальная пункция фолликулов.....	55
2.2.5 Овариальная стимуляция в модифицированном клиничко- эмбриологическом протоколе.....	56
2.2.6. Эмбриологический этап, перенос эмбрионов и посттрансферный период программы ЭКО.....	59
2.2.7. Криопротокол	60
2.3. Специальные методы исследования	61
2.3.1. Исследование уровня антинуклеарных и антиовариальных антител в сыворотке крови и фолликулярной жидкости	61
2.3.2. Исследование уровня тканевого фактора, ассоциированного с внеклеточными везикулами (ТФ-ВВ), в плазме крови	62

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	64
3.1. Клинико-anamнестические данные и лабораторные параметры женщин с ИВРЗ и группы контроля	64
3.2. Оценка уровней антинуклеарных и антиовариальных антител в сыворотке крови и фолликулярной жидкости пациенток с ИВРЗ	77
3.2.1. Оценка уровней антинуклеарных антител у пациенток с ИВРЗ	79
3.2.2. Оценка уровней антиовариальных антител у пациенток с ИВРЗ ..	83
3.3. Влияние иммуносупрессивной терапии ИВРЗ на состояние овариального резерва. Возможности и показания для сохранения генетического материала у женщин с ИВРЗ.....	85
3.3.1. Влияние терапии метотрексатом на состояние овариального резерва у больных РА.....	85
3.3.2. Влияние терапии циклофосфамидом на состояние овариального резерва у больных СКВ.....	90
3.3.3. Влияние терапии сульфасалазином на состояние овариального резерва у больных АС	95
3.3.4. Возможности и показания для сохранения генетического материала у женщин с ИВРЗ	98
3.4. Оценка эффективности безопасности программ ВРТ у больных ИВРЗ	102
3.4.1. Анализ параметров овариальной стимуляции, эмбриологического этапа и исходов программ ЭКО у женщин с ИВРЗ в стандартном протоколе овариальной стимуляции	102
3.4.2. Анализ параметров и исходов программ криопротокола у женщин с ИВРЗ.....	109
3.4.3. Оценка уровня тканевого фактора, ассоциированного с внеклеточными везикулами, в плазме крови пациенток с ИВРЗ в программе ЭКО	113
3.5. Разработка персонифицированного алгоритма подготовки и ведения больных ИВРЗ (СКВ) в программах ЭКО	118
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ СОБСТВЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	125
ВЫВОДЫ	144
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	146
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	148
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	150

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

В настоящее время все большую актуальность приобретают программы сохранения генетического материала (ооцитов и эмбрионов, криоконсервация ткани яичника) 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 [1]. В течение многих десятилетий вопрос реализации репродуктивной функции у данного контингента больных 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. Результаты ряда исследований демонстрируют снижение фертильности у женщин с ИВРЗ, ассоциированное как с течением основного заболевания, так и с проводимой терапией [2].

Все вышеизложенное создает предпосылки для рассмотрения и обсуждения вопросов возможности реализации репродуктивной функции у данного контингента больных с использованием программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ).

Степень разработанности темы исследования

Иммуновоспалительные ревматические заболевания - это класс разнородных по клиническим проявлениям заболеваний, развивающихся вследствие патологической выработки аутоиммунных антител и/или продукции аутоагрессивных клонов киллерных клеток против здоровых

тканей организма, что в свою очередь приводит к повреждению и разрушению нормальных тканей и развитию аутоиммунного воспаления. Среди наиболее распространенных ИВРЗ можно выделить: ревматоидный артрит (РА), системную красную волчанку (СКВ) с наличием или отсутствием сопутствующего антифосфолипидного синдрома (АФС), а также спондилоартриты [3]. Большинство из данных заболеваний чаще развивается у женщин молодого возраста и способно отрицательно влиять на функционирование репродуктивной системы [2]. При тяжелом течении иммуновоспалительный процесс может сопровождаться аменореей, и, соответственно, приводить к развитию бесплодия. ИВРЗ часто требуют проведения иммуносупрессивной терапии, которая нередко ассоциирована с гонадотоксичностью [4]. Разработка и внедрение в практику генно-инженерных биологических препаратов (ГИБП), позволила значительно снизить риск развития осложнений и улучшить качество жизни пациентов с ИВРЗ [5]. Однако в терапии ИВРЗ большую роль все еще отводят иммуносупрессантам (в том числе и цитотоксическим препаратам), глюкокортикостероидам и нестероидным противовоспалительным препаратам [1]. Влияние различных видов терапии ИВРЗ на овариальный резерв остается малоизученным [6]. В ряде исследований достоверно показано снижение уровня антимюллерова гормона (АМГ) и числа антральных фолликулов при применении цитотоксической терапии [7] [8]. Так, по результатам двойного слепого исследования, проведенного Hermine I. B. и соавт. в 2015 году, частота развития преждевременной яичниковой недостаточности (ПНЯ) при применении циклофосфида распределяется следующим образом: до 50% - среди пациенток моложе 30 лет, около 60% - среди пациенток в возрасте от 30 до 40 лет. При применении циклофосфида у девочек до полового развития ПНЯ наблюдается в 11% случаев [9].

Учитывая токсичность определенных видов терапии основного заболевания, в литературе обсуждается целесообразность сохранения

генетического материала (криоконсервация ооцитов и/или эмбрионов, ткани яичника) у данной группы пациенток [7]. Однако персонифицированные подходы к сохранению генетического материала у женщин с ИВРЗ в зависимости от вида гонадотоксической терапии не разработаны.

В ряде публикаций отмечается, что программы ВРТ могут успешно применяться у больных с ИВРЗ [10]. При этом частота наступления беременности у пациенток с СКВ вне стадии обострения заболевания в программах ВРТ сопоставима с показателями в популяции и достигает 30%. [2][11]. Однако стандартные протоколы стимуляции суперовуляции в программе ЭКО у пациенток с ИВРЗ не всегда применимы вследствие гиперэстрогении, обусловленной овариальной стимуляцией, которая может приводить к обострению основного заболевания. При этом параметры стимулированного цикла и показатели частоты наступления беременности на цикл ЭКО напрямую зависят от характера течения основного заболевания, его активности и вида применяемой терапии [11] [12].

Таким образом, на сегодняшний день отсутствуют однозначные данные по вопросам сохранения фертильности, а также разработки и внедрения в клиническую практику индивидуальных подходов к реализации репродуктивной функции у пациенток с ИВРЗ в программах ВРТ, что является основанием для проведения настоящего исследования.

Цель исследования - повышение эффективности и безопасности реализации репродуктивной функции в программах ВРТ у женщин с иммуновоспалительными ревматическими заболеваниями.

Задачи исследования

1. Изучить клинико-anamнестические 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 параметров стимулированного цикла, эмбриогенеза и уровня тканевого фактора, ассоциированного с внеклеточными везикулами.
5. Разработать персонифицированный 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. Разработаны практические рекомендации и предложен алгоритм подготовки и проведения программ ВРТ у пациенток с ИВРЗ.

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. Перед началом программы ВРТ всем пациенткам проведено полное клинико-лабораторное обследование в соответствии с приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации № 108н «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению» от 31 июля 2020г.

Работа осуществлялась совместно с ФГБНУ «НИИ ревматологии им. В.А. Насоновой» (директор – д.м.н. А.М. Лиля) в рамках договора о научном сотрудничестве.

Определение антинуклеарных и антиовариальных антител проводилось с помощью иммуноферментного анализа в сыворотке крови и фолликулярной жидкости пациенток.

Прокоагулянтную активность тканевого фактора, ассоциированного с внеклеточными везикулами, измеряли 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).

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 о пациентах, 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 акушерства и гинекологии.

Степень достоверности полученных результатов

Достоверность результатов исследования подтверждается количеством пациентов включенных в исследование (156 женщин), использованием современных методов исследования, соответствующих цели и задачам. Выводы и практические рекомендации закономерно вытекают из результатов исследования и подтверждают положения, выносимые на защиту.

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 на основании результатов исследования 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).

По теме диссертации опубликовано 5 статей в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендуемых ВАК.

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. Использованная литература включает 156 источников отечественной и зарубежной литературы.

Глава 1. ОСОБЕННОСТИ РЕАЛИЗАЦИИ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ У ПАЦИЕНТОК С ИММУНОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ РЕВМАТИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ (обзор литературы)

1.1. Иммуновоспалительные ревматические заболевания и их распространенность

Иммуновоспалительные ревматические заболевания (ИВРЗ) представляют собой целый класс разнородных заболеваний, характеризующихся поражением соединительной ткани в связи с нарушением иммунного гомеостаза организма (болезни соединительной ткани с иммунными нарушениями). Впервые эта группа заболеваний была выделена П. Клемперером в 1941 году на основании изучения ревматизма и системной красной волчанки и названа коллагеновыми болезнями, так как основные изменения были представлены фибриноидными поражениями коллагеновых волокон; в последующих исследованиях было показано, что при развитии данных патологий в процесс вовлекается вся соединительная ткань с парапластической субстанцией и клеточными элементами, сосудами и нервными волокнами.

Начиная с 1964 года в изучении данных заболеваний стали широко использоваться методы иммуноморфологии. Было обнаружено, что для ИВРЗ характерно иммунное воспаление, развивающееся в связи с нарушением гомеостаза. На сегодняшний день известно, что при данных заболеваниях происходит неконтролируемая выработка аутоиммунных антител или продукция аутоагрессивных клонов киллерных клеток против здоровых тканей организма, что в свою очередь приводит к повреждению тканей и развитию аутоиммунного воспаления. Всего к данной группе заболеваний относится более 80 нозологий, а среди наиболее распространенных ИВРЗ можно выделить: ревматоидный артрит (РА) – распространенность среди взрослого населения составляет до 2%; системную красную волчанку (СКВ) с наличием или отсутствием антифосфолипидного синдрома (АФС) –

заболеваемость составляет 4-250 случаев на 100 тысяч населения в год; спондилоартриты (СПА) - распространенность среди взрослого населения колеблется от 0,1 до 0,2% [3].

1.1.1. Факторы, способствующие преобладанию ИВРЗ у женщин

Известно, что у женщин развивается более сильный иммунологический ответ на антигенную стимуляцию, что объясняет различия в распространенности аутоиммунных заболеваний среди женщин и мужчин. Так, ИВРЗ чаще встречаются у женщин репродуктивного возраста [13]. Преобладание женщин репродуктивного возраста среди больных указывает на определенную роль женских половых гормонов в этиологии и патогенезе аутоиммунных процессов [14]. Считается, что метаболиты эстрогенов усиливают гуморальное звено иммунной системы. При этом для реализации функций эстрогенов необходимо наличие их рецепторов ($ER\alpha$ и $ER\beta$). В исследовании, проведенном в 2012 году, было выявлено наличие анти- $ER\alpha$ антител у 45% пациентов с СКВ, тогда как анти- $ER\beta$ антитела у этих пациентов обнаружены не были. У здоровых людей антитела против $ER\alpha$ инициируют активацию и последующий апоптоз покоящихся лимфоцитов. В то же время они способствуют пролиферации анти-CD3-стимулированных Т-лимфоцитов, что может приводить к развитию аутоиммунных реакций. В исследовании также было продемонстрировано наличие зависимости между уровнем анти- $ER\alpha$ -антител и клинико-лабораторными параметрами активности СКВ, которые определяли по шкале активности СКВ - SLEDAI [15].

Несколько других исследований подтверждают ускорение ароматазо-опосредованного превращения предшественников андрогенов в метаболиты эстрогенов в периферических тканях у больных ИВРЗ, причем как у женщин, так и у мужчин [16]. Изменение синтеза периферических половых гормонов

приводит к усиленной пролиферации макрофагов и фибробластов, а также к повышенной выработке цитокинов в синовиальной жидкости у пациентов с РА. Было показано, что на этот процесс оказывает влияние 16-альфа-гидроксиэстрон, который наряду с 17-бета-эстрадиолом, является метаболитом эстрогена, также препятствующим пролиферации моноцитов [17]. Следовательно, преобладание 16-альфа-гидроксилированных эстрогенов, возможно, потенцирует развитие синовиального воспаления. Интересно, что суточная потеря 16-альфа-гидроксиэстрона и 17-бета-эстрадиола с мочой была в 10 раз выше среди здоровых женщин по сравнению с пациентами с СКВ или РА независимо от пола или предшествующего лечения преднизолоном [18].

Таким образом, внутриклеточный синтез активных метаболитов эстрогенов оказывает влияние на реализацию иммунного ответа, и, наряду с регуляцией функции репродуктивной системы способен повышать иммунную реактивность пациентов как женского, так и мужского пола [19].

1.1.2. Репродуктивная функция у женщин с ИВРЗ

Поскольку большинство аутоиммунных заболеваний развивается у пациенток репродуктивного возраста, многие женщины сталкиваются с проблемами в реализации репродуктивной функции. Женщины с ИВРЗ имеют меньшее число детей, чем здоровые женщины, а также меньшее число детей, чем они планировали изначально [20]. О снижении фертильности у женщин с ИВРЗ сообщалось в нескольких крупных исследованиях, опубликованных в период между 2011 и 2018 годами [18] [1]. Согласно этим данным, наиболее значимыми проявлениями нарушения репродуктивной функции у больных РА является первичное и вторичное (на фоне уже развившегося заболевания) бесплодие, тогда как у больных СКВ наиболее часто наблюдаются проблемы с вынашиванием беременности, обусловленным самопроизвольным

прерыванием беременности на разных сроках гестации [20]. Отрицательное влияние на функционирование репродуктивной системы может оказывать, с одной стороны течение основного заболевания, и, с другой стороны – продолжительная цитотоксическая и противовоспалительная терапия [2].

Воздействие аутоиммунного процесса часто является многофакторным. Помимо клинических проявлений болезни у пациентов могут наблюдаться гормональный дисбаланс, негативные последствия проводимой терапии, снижение качества жизни и изменение психологического статуса [21]. Как следствие, репродуктивные проблемы у пациентов с ИВРЗ носят комплексный характер и часто усугубляются с течением времени [22].

1.1.3. Влияние ИВРЗ на овариальный резерв и репродуктивную функцию

Одним из наиболее надежных маркеров, отражающих состояние репродуктивной системы, является антимюллеров гормон (АМГ), который секретируется клетками гранулезы. Уровень АМГ в сыворотке крови довольно стабилен на протяжении всего менструального цикла и коррелирует с остаточным фолликулярным пулом у женщин репродуктивного возраста [23]. Результаты многих исследований, посвященных оценке уровня АМГ в сыворотке крови у женщин с ИВРЗ, являются противоречивыми. В ходе исследования Henes и соавт. (2015) было оценено влияние основного заболевания на уровни сывороточного АМГ пациенток. Исследователи пришли к выводу, что уровни АМГ в сыворотке крови значительно снижены у пациенток с такими заболеваниями как РА, болезнь Бехчета и спондилоартрит, которые не получали цитотоксической терапии (ввиду небольшой активности или малой длительности заболевания), что предполагает влияние наличия самого ИВРЗ на состояние овариального резерва [24]. Также в исследовании, проведенном в 2020 году, среди пациенток с анкилозирующим спондилитом (АС) было показано значительное

снижение уровня АМГ и числа антральных фолликулов у пациенток основной группы по сравнению с соматически здоровыми женщинами [25]. Напротив, в другом исследовании, проведенном в 2013 году, уровни АМГ в сыворотке крови у 72 женщин с недавно диагностированным РА, которые не получали фармакотерапию, значительно не отличались от показателей здоровых женщин соответствующего возраста [6]. Возраст женщины на момент постановки диагноза также имеет важное значение. Женщины с ревматическим поражением суставов, развившимся до 25 лет чаще сталкиваются с бесплодием, чем женщины, у которых заболевание было установлено после 25 лет, что может быть обусловлено более продолжительным течением заболевания в репродуктивном периоде. Исследования также показали, что женщины с ревматическим поражением суставов реализуют репродуктивный потенциал в более позднем возрасте и, следовательно, имеют более короткий период для реализации репродуктивной функции [26].

Отрицательный вклад течения основного заболевания на состояние овариального резерва может быть реализован за счет иммунологических нарушений. Так влияние РА на фертильность может быть опосредовано через активацию воспалительных медиаторов, таких как цитокины, хемокины и факторы роста [27], которые играют важную роль в преимплантационных взаимодействиях бластоцисты и эндометрия [28]. Однако несмотря на то, что исследования демонстрируют определенную роль простагландинов и цитокинов в реализации репродуктивной функции, их клиническое действие при РА остается неизученным [29].

Несмотря на то, что некоторые пациентки с СКВ способны достичь самостоятельной беременности, значительная часть пациенток имеет нарушения репродуктивной функции. Так, Pasoto S и соавт. (2002) обнаружили, что 53% взрослых женщин в возрасте до 40 лет с СКВ имеют различные нарушения менструального цикла [30]. Отрицательное влияние

аутоиммунного заболевания на репродуктивную систему реализуется за счет следующих механизмов. Хроническое воспаление наряду с увеличением уровней цитотоксических цитокинов ФНО и IL-6 может вызывать дисфункцию гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы (ГГЯС) посредством изменения механизмов обратной связи в регуляции выделения гонадотропных гормонов. Так женщины с СКВ имеют более высокие уровни фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и уровень пролактина (Прл), а также уровни лютеинизирующего гормона (ЛГ) и прогестерона (Пг), чем здоровые женщины [31]. Развитие аутоиммунного оофорита приводит к повреждению яичников и снижению овариального резерва [32]. Гиперпролактинемия, связанная с обострениями заболевания, может влиять на процесс овуляции [33]. Считается, что аутоантитела, продуцируемые во время болезни, оказывают влияние на стероидные ферменты, рецепторы к гонадотропинам, растущие фолликулы, ооциты и желтое тело. Воспаление яичников, вызванное некоторыми из этих аутоантител, приводит к снижению овариального резерва или преждевременной недостаточности яичников (ПНЯ) [34]. В ходе исследования, проведенного в 2016 году, было проведено сравнение уровней АМГ у пациенток с СКВ и здоровых женщин. Было установлено, что уровни АМГ у пациенток с СКВ были значительно ниже, чем у здоровых женщин [35].

Нередко СКВ ассоциирована с наличием антифосфолипидного синдрома (АФС) - тромбофилическим состоянием и связанными с ним потерями беременности, при котором аутоантитела продуцируются к множеству фосфолипидов и фосфолипидсвязывающих белков. В основе патогенеза АФС лежат тромботические эпизоды в венозном и/или артериальном сосудистом русле. При этом типичным клиническим проявлением акушерской патологии при АФС может быть потеря плода на фоне сосудистой патологии плаценты во втором или третьем триместрах беременности [36]. Однако антифосфолипидные антитела (аФЛ) участвуют и

в других формах потери беременности, включая ранние самопроизвольные выкидыши, нарушения имплантации, плацентации и раннего эмбрионального развития [37]. Лабораторным критерием АФС является наличие специфических аФЛ: волчаночного антикоагулянта (ВА), IgG и/или IgM-антител к кардиолипину (аКЛ), а также IgG и/или IgM-антител к β 2-гликопротеину 1 (Ат к β 2ГП1) [38]. Некоторые исследователи предполагают наличие связи между присутствием аФЛ и бесплодием неясного генеза, а также неблагоприятными исходами программ ВРТ [37]. В настоящее время известно, что одним из антигенов, с которым реагируют вышеуказанные антитела, является β 2ГП1. Считается, что связывание антител с β 2ГП1 отвечает за протромботические эффекты, наблюдаемые при этом синдроме, а также за разрушение молекул адгезии фосфолипидов между различными элементами трофобласта [39]. Если аФЛ способны влиять на рост и функционирование плаценты, вполне возможно, что аФЛ также могут препятствовать имплантации и приводить к бесплодию. Kaider A. S. и соавт. (1999) при исследовании распространенности аФЛ и нарушений репродуктивной функции оценивали пациентов с повторными потерями беременности, неудачами программ ЭКО, бесплодием неясного генеза, дисфункцией яичников и эндометриозом. Из пациентов с неудачными попытками ЭКО 27,9% были положительными как минимум по одному аФЛ, 14,8% имели как минимум два положительных аФЛ [40]. Однако, в исследовании Mardesic T. и соавт. (2000) влияние различных антител на результативность программ ЭКО не было найдено никаких связей между наличием аФЛ и наступлением беременности. Исследователи пришли к выводу, что наличие аФЛ не влияют на частоту бесплодия [41]. Eldar-Geva T. и соавт. (1999) также проанализировали частоту беременностей и живорождений у пациенток с положительными аФЛ в программах ЭКО. Подгруппа из 56 пациентов с не менее чем двумя неудачными циклами ЭКО была оценена на наличие ВА. Авторы пришли к заключению, что ни наличие

антител, ни уровень их позитивности не влияли на результативность программы ЭКО [42].

Американское общество репродуктивной медицины в 1999г выпустило практический бюллетень на основе систематического обзора [43], в котором отмечено, что тестирование на аФЛ у пациентов, проходящих программы ЭКО, не требуется, и лечение серопозитивным пациенткам не показано. К такому же выводу пришли Hornstein M.D. и соавт. (2000) после метаанализа исследований, в которых оценивали влияние аФЛ на эффективность программы ЭКО. Не было обнаружено значимой связи между наличием аФЛ и частотой клинической беременности или живорождений у пациенток, прошедших программу ЭКО, с отношением шансов 0,99 и 1,07, соответственно [44]. В настоящее время убедительных доказательств для рекомендации рутинного тестирования на аФЛ при бесплодии нет. Однако определение β 2ГП1-зависимых антител (помимо аКЛ и ВА) может позволить в будущем выделить определенные подгруппы больных, у которых наличие аФЛ может иметь клиническое значение.

Таким образом, на сегодняшний день нет однозначных данных о влиянии клинического течения ИВРЗ на параметры овариального резерва, репродуктивную функцию, а также результативность программ ВРТ.

1.2. Влияние антинуклеарных и антиовариальных аутоантител на репродуктивную функцию пациенток с ИВРЗ

Антинуклеарные антитела

Антитела к ядерным антигенам или антинуклеарные антитела (АНА) представляют собой гетерогенную группу аутоантител, которые реагируют с различными компонентами ядра клетки. Наличие АНА является одним из серологических критериев различных системных ревматических заболеваний, таких как СКВ, системная склеродермия, болезнь/синдром Шегрена, смешанное заболевание соединительной ткани, а также идиопатические воспалительные миопатии [45]. Золотым стандартом обнаружения АНА при диагностике ревматических заболеваний является реакция непрямой иммунофлуоресценции с использованием эпителиальных клеток человека 2 типа (HEp-2). В случае положительного результата выполняется последующее тестирование с выявлением аутоантител к отдельным экстрагируемым ядерным и цитоплазматическим антигенам (а-нДНК, Sm, SSA/Ro, SSB/La, РНП, антицентромерных антител и др.) [46]. Следует отметить, что АНА могут определяться и у пациентов с другими аутоиммунными заболеваниями (например, с аутоиммунным гепатитом, хроническим аутоиммунным тиреоидитом и др.), при приеме некоторых лекарственных препаратов (отдельных гипотензивных, психотропных и др. средств), а также у здоровых лиц [116]. Положительные АНА (АНА с титром $\geq 1: 80$ по HEp-2) являются классификационным критерием СКВ. При этом выявленные SSA/Ro и SSB/La антитела также остаются диагностическими лабораторными критериями болезни/синдрома Шегрена [47].

Еще в ходе исследования, проведенного в 1975г, была обнаружена более высокая распространенность АНА в группе соматически здоровых женщин с преждевременной недостаточностью яичников по сравнению с фертильными женщинами (20% и 3%, $p < 0,05$, соответственно) [48]. Также, согласно результатам других исследований, АНА были выявлены у 10-20% женщин с

бесплодием неясного генеза, в то время как их выявляемость среди женщин без бесплодия составила лишь 3-4% [49] [50]. В ходе одного североамериканского исследования было показано, что уровень сывороточных АНА обратно пропорционален числу родов в анамнезе (ОШ=2,0, $p = 0,001$) [51].

Многие исследования были проведены с целью оценки влияния наличия АНА на исходы программ ЭКО. Результаты одного ретроспективного исследования продемонстрировали более низкую частоту имплантации эмбрионов у женщин с положительными АНА (14 против 32,4% в контрольной группе) [52]. В других исследованиях также сообщалось о более низкой частоте наступления беременности (28,1 против 46,4%, $p < 0,05$) [53]. В более широкомасштабном исследовании приняли участие 517 женщин с бесплодием, которые обратились для проведения программы ЭКО в период с 2012 по 2014гг. Женщины были разделены на две группы в зависимости от наличия сывороточных АНА. Авторы обнаружили более низкий уровень частоты имплантации (16,09 против 27,03%, $p < 0,001$) и клинической беременности (27,72 против 45,03%, $p < 0,001$) у женщин с положительными АНА [54]. При этом механизмы, приводящие к развитию бесплодия при наличии АНА, до конца не изучены. Антитела могут быть обнаружены в фолликулярной жидкости, при этом уровень фолликулярных АНА отрицательно коррелирует с количеством полученных эмбрионов хорошего качества [124]. Наличие АНА может быть, с одной стороны, отражением иммунологических нарушений (даже в случае отсутствия установленного заболевания), и с другой стороны, оказывать прямое негативное воздействие на репродуктивную функцию. Наличие прямого отрицательного эффекта АНА было показано в работе Simerly и соавт., которые продемонстрировали, что инъекция специфических - антицентромерных АНА в мышинные ооциты блокирует их созревание на стадии прометафазы [55].

Антиовариальные антитела

По данным литературы все большую распространенность приобретает синдром преждевременной недостаточности яичников (ПНЯ) - недостаточность функции яичников у женщин в возрасте до 40 лет, которая клинически характеризуется первичной или вторичной аменореей, гипоэстрогенией и повышенным уровнем гонадотропинов в крови [56]. ПНЯ может иметь генетическую или ятрогенную этиологию. Однако в большинстве случаев причину данного состояния установить не удастся и ПНЯ носит так называемый идиопатический характер [57,58]. Ранее была замечена связь нескольких случаев идиопатической ПНЯ с различными аутоиммунными заболеваниями. При этом в сыворотке крови пациентов были обнаружены циркулирующие антитела к нормальной ткани яичников, что послужило предположением наличия аутоиммунного механизма в патофизиологии данного состояния [59,33]. Аутоиммунный оофорит был диагностирован у небольшого процента женщин, сыворотка которых содержала антитела, распознающие несколько типов клеток, продуцирующих стероидные гормоны [60]. В качестве антигенных структур для различных типов антиовариальных антител также могут выступать ооциты [35], желтое тело [61], клетки теки [62], клетки гранулезы [17, 19] и zona pellucida [63].

Отличительная черта аутоиммунной ПНЯ – наличие основного аутоиммунного заболевания, например эндокринопатии: болезни Аддисона, аутоиммунного тиреоидита, болезни Грейвса, сахарного диабета первого типа, гипопаратиреоза и т.д. [64,24]. Также сообщается о случаях развития ПНЯ, обусловленной наличием антиовариальных антител, и при ИВРЗ. Так, в исследованиях, посвящённых ПНЯ аутоиммунного генеза и вторичной аменорее, у части пациенток впоследствии были диагностированы СКВ и РА [65,66]. В одном случае имела место первичная яичниковая недостаточность, обусловленная воздействием циркулирующих антиовариальных антител у пациентки 15-ти лет с ювенильным РА [67]. В недавнем исследовании,

проведенном среди женщин с болезнью Шегрена, было также показано значимое преобладание сывороточных антиовариальных антител. Антитела были обнаружены у 10 из 37 (27%) пациенток с болезнью Шегрена, в то время как среди соматически здоровых женщин группы контроля не было зафиксировано ни одного случая определения антител [68].

Таким образом, при ИВРЗ может развиваться целый каскад иммунологических нарушений, которые приводят к образованию циркулирующих аутоантител. При этом мишенями специфических антител могут выступать как компоненты ядра клетки, так и овариальная ткань с различными структурными элементами. Наличие АНА и антиовариальных антител ассоциировано не только с нарушением репродуктивной функции и высоким риском ПНЯ, но с более низкими показателями эффективности программ ВРТ.

1.3. Влияние терапии ИВРЗ на овариальный резерв

Другим важным аспектом в вопросе реализации репродуктивной функции у женщин с ИВРЗ является терапия основного заболевания. Известно, что абсолютное большинство ИВРЗ имеют хроническое волнообразное течение. При этом терапия заболевания может продолжаться десятилетиями и меняться в зависимости от активности заболевания и наличия осложнений. В ряде случаев требуется проведение иммуносупрессивной терапии, которая нередко ассоциирована с гонадотоксичностью (Somers E. C. и соавт., 2017). Несмотря на разработку и внедрение в практику генно-инженерных биологических препаратов (ГИБП), применение которых способствует быстрому достижению ремиссии заболевания, снижению риска развития осложнений и улучшению качества жизни пациентов (Kerr L.D. и соавт., 2010), большая часть больных ИВРЗ все еще получает иммуносупрессанты (в том числе и цитотоксические препараты), глюкокортикоиды и нестероидные противовоспалительные препараты (Østensen M. и соавт., 2017). Следует отметить, что влияние различных видов терапии ИВРЗ на овариальный резерв остается либо противоречивым, либо малоизученным (Brouwer J. и соавт., 2013; ASRM, 2015).

Нестероидные противовоспалительные препараты

Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) представляют собой неселективные или селективные ингибиторы циклооксигеназы 1 и 2 типа (ЦОГ1 и ЦОГ2).

Препараты данной группы наиболее часто используются при ИВРЗ, в основном в качестве противовоспалительной терапии при суставном синдроме. Следует отметить, что применение НПВП может быть очень длительным и достигать высоких кумулятивных доз.

При приеме определенных доз НПВП происходит ингибирование синтеза простагландинов в преовуляторной фазе цикла, что препятствует

разрыву стенки фолликула и высвобождению ооцита. Данный патологический процесс носит название синдрома лютеинизационно-овулировавшего фолликула (ЛНФ). Исследования, проведенные с участием здоровых женщин и женщин с воспалительными артропатиями, которые получали высокие дозы индометацина, напроксена, диклофенака натрия, пироксикама, мелоксикама или рофекоксиба в преовуляторной фазе цикла, показали распространенность ЛНФ от 50 до 100% среди женщин основной группы [69]. В другом исследовании, проведенном в 2011 году Мису и соавт. (2011), приняли участие 14 пациенток с ИВРЗ, 29 пациенток с невоспалительными заболеваниями опорно-двигательного аппарата и 449 женщин контрольной группы. Синдром ЛНФ был отмечен у 35,6% пациенток, получавших НПВП, и лишь у 3,4% женщин контрольной группы. Следует отметить, что частота развития синдрома ЛНФ была значительно выше у женщин, получавших селективный ингибитор ЦОГ 2 - эторикоксиб, чем у женщин, получавших неселективные ингибиторы ЦОГ, такие как диклофенак натрия, ибупрофен или кетопрофен [70]. Также существуют данные об отрицательном влиянии НПВП на процессы децидуализации и имплантации эмбриона в полость матки [71].

Глюкокортикоиды

Глюкокортикоиды (ГК) по длительности действия делятся на препараты короткого–среднего и длительного действия. Считается, что ГК способны нарушать функционирование гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы как у женщин, так и мужчин [72]. ГК могут также воздействовать непосредственно на гонады, взаимодействуя с гормональными рецепторами в клетках яичников и яичек. Длительное лечение высокими дозами ГК может ингибировать продукцию лютеинизирующего (ЛГ) и фолликулостимулирующего (ФСГ) гормонов, необходимых для овуляции, и приводить к нарушению менструального цикла. Исследование с участием здоровых женщин показало, что лечение триамцинолоном подавляет пик ЛГ в середине цикла и таким образом препятствует процессу овуляции. Среди

женщин с РА у пациенток, получавших более 7,5мг преднизолона в день, был зафиксирован более длительный период бесплодия по сравнению с женщинами, получавшими препарат в меньшей дозировке [28]. Несмотря на то, что у женщин с СКВ такая связь не была выявлена, у части пациенток, подвергшихся воздействию высоких доз ГК (пульс-терапия преднизолоном), отмечались нарушения менструального цикла [73].

Циклофосфамид

Циклофосфамид (ЦФ) относится к группе алкилирующих агентов и обладает выраженным цитостатическим эффектом. Препарат используется при осложненном течении ИВРЗ, например при гломерулонефрите или поражении центральной нервной системы у пациентов с СКВ. В исследовании 2019 года Nguyen Q.N. и соавт. (2019) продемонстрировали в экспериментальных моделях на мышах, что повреждение ДНК ооцитов при использовании ЦФ происходит в фолликулах на различных стадиях фолликулогенеза. В частности, алкилирующие агенты вызывают апоптоз ооцитов примордиальных фолликулов [74].

Применение ЦФ у женщин способно вызвать стойкую аменорею, а также выраженное снижение овариального резерва, которое зависит от дозы препарата, продолжительности его приема и возраста пациентки [75]. Риск развития стойкой аменореи при приеме ЦФ может проявляться уже в подростковом возрасте [76]. Отмечено, что при приеме ЦФ частота развития аменореи увеличивается с возрастом и составляет 12% среди пациенток до 25 лет, 27% среди пациенток от 26 до 30 лет, и 62% среди пациенток старше 31 года [77]. Аменорея наступает примерно через 4 месяца после начала лечения [78]. Однако после окончания лечения, при условии восстановления менструальной функции, возможно наступление самопроизвольной беременности с благоприятным исходом [79]. Известно, что отрицательное влияние ЦФ на состояние овариального резерва является дозозависимым. В исследовании 216 пациенток с СКВ (48 из которых получали ЦФ) было

отмечено, что уровни (АМГ) были снижены у пациенток, которые получали ЦФ, а их значения были обратно пропорциональны получаемой дозе. На каждые 10г увеличения кумулятивной дозы ЦФ АМГ уменьшался на 0,74 нг/мл [80]. Однако эти данные в основном касаются пациенток, получавших ЦФ в высоких дозах (более 10 г/м²) [81]. При кумулятивной дозе ЦФ более 10 г/м² у женщин с СКВ в возрасте старше 30 лет был выявлен крайне высокий риск развития преждевременной недостаточности яичников (ПНЯ) [82]. В недавних исследованиях показано, что риск развития ПНЯ напрямую зависит от возраста пациентки, стадии полового развития на момент начала терапии, а также от кумулятивной дозы препарата. Частота развития ПНЯ распределяется следующим образом: менее 50% среди пациенток моложе 30 лет, около 60% среди пациенток от 30 до 40 лет [9]. В исследовании Silva и соавт. (2007) сообщается о случаях снижения овариального резерва у девочек с СКВ, получавших ЦФ до полового созревания, у которых ПНЯ развивалась в 11% случаев [76].

Метотрексат

Метотрексат (МТ) относится к препаратам антиметаболического ряда и используется для лечения поражений опорно-двигательного аппарата при ИВРЗ, онкологических, дерматологических, желудочно-кишечных заболеваний, в дозировке от 5-30 мг до 1 г в неделю. Известен также abortивный эффект препарата, который может быть использован с целью прерывания внематочной беременности. При оценке возможных эффектов МТ на фертильность необходимо учитывать дозировку и способ введения препарата. Исследование, в котором участвовали женщины, получавшие дозу МТ менее 50 мг/сут с целью прерывания внематочной беременности, не выявило существенного влияния препарата на овариальный резерв [83]. Уровень АМГ пациенток, получавших МТ парентерально в дозе 20 мг/неделю в течение 6 месяцев для лечения РА, был аналогичен уровню гормона у женщин, не получавших лечение [6]. Однако, в ходе исследования,

проведенного в 2020г у 40 пациенток репродуктивного возраста с РА, получавших МТ в средней дозе 12,5мг/неделю, был отмечен более высокий уровень ФСГ по сравнению с пациентками группы контроля. Известно, что повышенный уровень ФСГ является одним из индикаторов снижения овариального резерва. Также было отмечено, что уровень ФСГ имеет значимую положительную корреляцию с активностью РА, кумулятивной дозой и продолжительностью терапии МТ [6].

Лефлуноמיד

Лефлуноמיד представляет собой ингибитор синтеза пиримидина, используемый для лечения артропатий и предотвращения долговременного повреждения суставов у пациентов с РА. Данный препарат относится к категории X согласно классификации Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) и противопоказан при беременности, поскольку исследования на животных моделях выявили как эмбриотоксические, так и тератогенные эффекты препарата, в основном проявляющиеся грубыми черепно-лицевыми и скелетными пороками развития плода [84]. Специалисты Organization of Teratology Information (OTIS) провели исследование среди 64 беременных, получавших лефлуноמיד, и сравнили их данные со 108 пациентками группы контроля. Исследование не показало значимых различий в перинатальных исходах беременности среди пациенток основной и контрольной групп [85]. Однако, несмотря на обнадеживающие выводы, женщины, принимающие лефлуноמיד, должны применять эффективные методы контрацепции. Беременность следует планировать заранее, как при естественном зачатии, так и при применении программ ВРТ. На этапе подготовке к беременности или программам ВРТ препарат следует отменить, а также провести процедуру «отмывания» препарата холестирамином или активированным углем с целью выведения из организма лефлуномида и продуктов его метаболизма [48].

Микофенолата мофетил

Микофенолатамофетил (ММФ) — иммуносупрессивный препарат цитостатического механизма действия. Препарат является морфолиноэтиловым эфиром микофеноловой кислоты, продуцируемой грибом *Penicilliumstoloniferum*. Препарат широко применяется в трансплантологии, а также у больных ИВРЗ, в частности при СКВ с явлениями нефропатии. В исследовании, проведенном в 2013 году, было показано, что уровни АМГ у пациенток с СКВ, получавших ММФ, не были ниже, чем в группе контроля [36]. Однако применение препарата представляет опасность во время беременности. В экспериментальных моделях на крысах было показано что ММФ способен проникать через плацентарный барьер и вызывать выраженный тератогенный эффект. Токсическое действие препарата особенно выражено при его применении в первом триместре беременности. У женщин применение ММФ во время беременности способствует повышению риска самопроизвольной потери беременности (от 32% до 45%) и возникновению множественных черепно-лицевых аномалий развития плода (ММФ-ассоциированная эмбриопатия) [86]. Также существуют данные об отрицательном воздействии ММФ во второй половине беременности. Препарат способен вызвать аномалии в системе кроветворения плода и новорожденного. Использование ММФ должно быть немедленно прекращено при наступлении беременности, а в случае планирования беременности следует отменить препарат не менее чем за 1,5 месяца до предполагаемого зачатия [87].

Азатиоприн

Азатиоприн (АЗА) - иммунодепрессант, который используется для лечения ИВРЗ, воспалительных заболеваний кишечника и других аутоиммунных патологий. Даже при длительном применении АЗА не оказывает значительного влияния ни на женскую, ни на мужскую фертильность [88]. Несколько исследований, включая метаанализ,

подтвердили отсутствие тератогенного воздействия при приеме АЗА. Однако, препарат способен повлиять на эритропоэз и повышать риск инфекционных осложнений у новорожденных, матери которых принимали данный препарат во время беременности [36].

Сульфасалазин

Сульфасалазин (ССЗ) относится к группе сульфаниламидных препаратов и применяется для лечения спондилоартритов и серонегативного РА, а также воспалительных заболеваний кишечника. Доказано, что сульфасалазин не оказывает отрицательного влияния на женскую репродуктивную функцию, а также не обладает тератогенным эффектом [89].

У мужчин применение ССЗ способно вызывать транзиторную олигозооспермию, астенозооспермию, а также изменение морфологии сперматозоидов (тератозооспермия). Плазменные уровни половых стероидов и гонадотропинов остаются неизменными во время терапии ССЗ. Время восстановления параметров спермограммы до нормальных значений после проведенной терапии варьируется от 1 до 3 месяцев. Полагают, что за отрицательное влияние препарата на сперматогенез отвечает сульфациридинный фрагмент сульфасалазина. Данное предположение было обосновано тем, что замена сульфасалазина мезалазином у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника приводила к улучшению качества сперматозоидов [90].

Гидроксихлорохин

Гидроксихлорохин (ГХ) - противомаларийный препарат, который используется в качестве самостоятельной терапии или в комбинации с другими препаратами для предотвращения обострений у пациентов с СКВ, а также при РА. Данные о неблагоприятном влиянии ГХ как на женскую, так и на мужскую репродуктивную систему отсутствуют. ГХ способен проникать через плаценту и теоретически может накапливаться в увеальном тракте

плода. Однако до настоящего времени не было сообщений о врожденных пороках развития у детей, чьи матери принимали препарат для лечения СКВ во время беременности. Систематический обзор пяти крупных исследований, включивших 251 новорожденного от матерей, получавших ГХ во время беременности, не выявил аномалий развития детей [91]. Parke A. и соавт. (1996) пришли к выводу, что во время беременности безопаснее продолжать лечение ГХ, чем прекращать его, из-за существующего риска обострения заболевания [92]. В ходе другого исследования ретроспективно проанализировали исходы 36 беременностей у 33 пациенток с СКВ, получавших ГХ, и сравнили их с беременностями у 53 женщин контрольной группы. Акушерские исходы в двух группах оказались сопоставимыми. Кроме того, не было выявлено тератогенного действия ГХ [93].

Генно-инженерные биологические препараты

Генно-инженерные биологические препараты (ГИБП) – препараты противовоспалительного действия, созданные с помощью методов биотехнологии, применение которых, благодаря расшифровке ключевых механизмов иммунопатогенеза ИВРЗ, позволило существенно повысить эффективность терапии ряда заболеваний, а также качество жизни пациентов данной группы. К ГИБП относят моноклональные антитела к определенным детерминантам иммунокомпетентных клеток или провоспалительным цитокинам и гибридные белковые молекулы, ингибирующие активность цитокинов или взаимодействие Т- и В-лимфоцитов. Основным преимуществом ГИБП является их высокая специфичность, которая обеспечивает селективное воздействие на определенные звенья патогенеза ИВРЗ, что позволяет существенно снизить риск «генерализованной» иммуносупрессии, которая характерна для таких лекарственных средств как глюкокортикостероиды и цитотоксические препараты. ГИБП включают в себя несколько групп препаратов: ингибиторы фактора некроза опухоли α (иФНО α) (инфликсимаб, адалимумаб, голимумаб,

этанерцепт и цертолизумабпегол), ингибитор рецептов интерлейкина ИЛ6 (тоцилизумаб), анти-B-клеточный препараты (ритуксимаб, белимумаб), блокатор активации T-лимфоцитов (абатацепт) и другие [94].

Ингибиторы фактора некроза опухоли α

Ингибиторы фактора некроза опухоли α (иФНО α) наиболее часто применяются в лечении аутоиммунных заболеваний. Они представляют собой генно-инженерные препараты, искусственно синтезированные молекулы, способные ингибировать активность провоспалительного цитокина ФНО α и тем самым влиять на симптомы ряда заболеваний. К препаратам данной группы относят моноклональные IgG1 антитела – инфликсимаб, адалимумаб и голимумаб, гибридные белки – этанерцепт, а также цертолизумабпегол-пегилированный Fab-фрагмент моноклонального антитела IgG1.

Известно, что ФНО α секретируется не только врожденными иммунными клетками, но и плацентой. При этом ФНО α оказывает влияние на нормальное развитие беременности на ранних сроках - активируя экспрессию гена циклооксигеназы 2 типа, влияет на имплантацию бластоцисты, сосудистую проницаемость эндометрия; а также на исход беременности за счет процессов децидуализации и, наряду с другими провоспалительными цитокинами, индуцирует сокращения матки. При патологической беременности отмечается повышенная концентрация ФНО α в сыворотке и амниотической жидкости [95,96].

Достоверных данных о возможном влиянии иФНО α на состояние репродуктивной системы пока нет, однако механизм действия молекул не указывает на какое-либо отрицательное влияние препаратов на фертильность [97]. У женщин терапия иФНО α не была ассоциирована с сниженным числом наступивших беременностей или родившихся детей [91].

Таким образом, в рамках терапии ИВРЗ применяются препараты разных групп с различными механизмами действия. Большинство из них способно в той или иной степени оказывать отрицательное воздействие как на женскую,

так и на мужскую репродуктивную систему. При оценке действия препарата важно учитывать его дозу, длительность приема, активность основного заболевания, а также индивидуальные особенности пациентов.

Условно все вышеперечисленные препараты можно разделить на две группы относительно целесообразности сохранения генетического материала перед или во время планируемого лечения. К препаратам, перед применением которых рекомендовано сохранение генетического материала, относится прежде всего ЦФ. ЦФ является единственным препаратом, отрицательное влияние которого на функционирование репродуктивной системы и овариальный резерв достоверно доказано во многих исследованиях. Также к этой группе препаратов можно отнести МТ, особенно если планируется длительное применение препарата в высоких дозах у пациенток с уже скомпрометированной репродуктивной функцией или у пациенток старшего репродуктивного возраста. Вопрос о сохранении генетического материала может обсуждаться у пациенток, планирующих терапию ММФ и лефлуномидом. Однако следует отметить, что данные препараты в первую очередь противопоказаны во время беременности и на этапе подготовки к ней.

На сегодняшний день нет однозначных показаний к сохранению генетического материала перед применением следующих препаратов: ГК, АЗА, ССЗ. ГИБП представляют собой совершенно новые группы препаратов, эффект которых обусловлен различными иммунологическими механизмами, и на данный момент их влияние на репродуктивную функцию остается неизученным [98].

1.4. Применение вспомогательных репродуктивных технологий у женщин с ИВРЗ: эффективность и безопасность

В связи с определенными трудностями в реализации репродуктивной функции, с которыми сталкиваются пациенты с ИВРЗ, часть женщин обращается к программам ВРТ. В ряде публикаций отмечается, что программы ВРТ могут успешно применяться у больных с ИВРЗ [99]. Следует отметить, что на сегодняшний день применение программ ВРТ наиболее изучено у больных с СКВ. При этом показатели самопроизвольного наступления беременности в цикле для данной группы пациенток сопоставимы с показателями общей популяции (до 30%) [2]. Несмотря на то, что первоначально было предположено возможное отрицательное влияние антифосфолипидных антител на результативность программ ЭКО у больных с СКВ, проведенный метаанализ не подтвердил данную гипотезу [100]. В ходе одного исследования у 37 женщин с СКВ и/или АФС проведено 97 программ ЭКО. Всего наступило 27 (28%) беременностей, 23 из них закончились родами, всего родилось 26 детей (3 беременности двойней). В 2-х случаях беременность закончилась самопроизвольным прерыванием и в 2-х других - прерыванием по медицинским показаниям (были выявлены трисомии 13 и 21). В период наблюдения наступило шесть спонтанных беременностей. Наконец, 26 женщин (70%) родили по крайней мере 1 здорового ребенка. Осложнения развились в процессе проведения или после 8-ой попытки ЭКО (8%). Среди осложнений наблюдалось: обострение СКВ в 4 случаях (полиартрит у 3 пациенток и волчаночный энтерит в 1 случае) и тромбоэмболические осложнения – в 4 случаях. В одном случае обострение СКВ стало первым признаком ранее недиагностированного заболевания. Выводы данного исследования подтвердили возможность эффективного и относительно безопасного применения процедур ЭКО у женщин с СКВ [11].

У женщин с СКВ и/или АФС, вступающие в протокол стимуляции овуляции, существует риск обострения основного заболевания и тромбозов

[101]. Так, несколько ретроспективных исследований показали увеличение риска обострения СКВ после стимуляции яичников. При этом риск обострения остается низким при хорошей компенсации заболевания и назначении адекватной терапии, соответствующей степени активности заболевания [102]. Наиболее опасным нежелательным явлением у женщин, проходящих процедуру стимуляции яичников, является тромбоз. Так, по данным Andreoli L. и соавт. (2017) риск тромбоза во время овариальной стимуляции у женщин с наличием ВА увеличивается в шесть раз. Программы ВРТ, как правило, безопасны, если пациентка находится в ремиссии и получает соответствующую антитромботическую терапию в случае наличия антифосфолипидных антител. Несмотря на то, что применение одного стандартного протокола затруднительно, существуют общие меры профилактики осложнений у женщин с наличием АФС, подвергающихся стимуляции яичников. Определенный тип низкодозового аспирина, низкомолекулярного гепарина (НМГ) и дозировка (профилактическая или терапевтическая - клинически результативная) антитромботического лечения следует рекомендовать также и во время беременности в соответствии с индивидуальным профилем риска. Применение аспирина в дозе 50-100мг/сут следует прекращать за три дня до трансвагинальной пункции яичников и возобновлять на следующий день. Пациенты, получающие НМГ, должны прекратить введение препарата по крайней мере за 12 часов до процедуры и возобновить его в тот же день в условиях отсутствия кровотечения. Пациенты с наличием антифосфолипидных антител, которые не принимают аспирин во время периода стимуляции яичников, должны начать прием препарата в день переноса эмбрионов, обычно в комбинации с НМГ (прием которого будет продолжен во время беременности) [2].

Стимуляция яичников может приводить к повышению концентрации эстрадиола, что непосредственно связано с риском развития синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ), что в свою очередь увеличивает риск

развития тромбоза. Риск может быть уменьшен за счет использования «мягких» протоколов стимуляции и индукции овуляции с применением антагонистов ГнРГ [103]. Сегментация цикла с отказом от переноса эмбрионов в стимулированном цикле позволяет минимизировать риск обострения основного заболевания, связанный с повышением уровня эстрадиола [104]. Активная СКВ, плохо контролируемая артериальная гипертензия, легочная гипертензия, поражение почек, тяжелая вальвулопатия или сердечная недостаточность, а также крупные тромбозы – те ситуации, которые могут препятствовать проведению программ ВРТ у данного контингента больных [105]. Однако применение программ ВРТ у больных с СКВ является эффективным и безопасным при условии контроля активности заболевания и возможных осложнений [12].

Эффективность и безопасность проведения программ ВРТ у больных с другими ИВРЗ требует дальнейшего исследования.

1.5. Методы сохранения репродуктивной функции у женщин с ИВРЗ

Согласно клиническим рекомендациям Американского общества клинической онкологии (ASCO) и заключению этического комитета Американского общества репродуктивной медицины (ASRM) (Lee, Schover и соавт., 2006, Kim, Donnez и соавт., 2012), сохранение фертильности следует рассматривать у пациентов, не реализовавших репродуктивную функцию, которые будут проходить цитотоксическую терапию в рамках лечения онкологических и неонкологических заболеваний. Действующие руководящие принципы сохранения фертильности для женщин с неонкологическими заболеваниями также применимы к молодым женщинам с ИВРЗ, которые получают цитотоксическую терапию [12]. Несмотря на это, имеются лишь ограниченные данные о применении методов сохранения фертильности у женщин, больных ИВРЗ, которым требуется проведение цитостатической терапии. Возможности криоконсервации ткани яичника или ооцитов и/или эмбрионов в данном случае недостаточно изучены. Также следует учитывать, что данные технологии реализуются только в специализированных центрах ВРТ [7].

1.5.1. Применение аналогов ГнРГ

В качестве метода профилактики ПНЯ при использовании гонадотоксической терапии наиболее изучено применение аналогов гонадотропин-рилизинг гормона. Препараты данной группы имеют хороший профиль безопасности и эффективности (RR 0,12). Аналоги ГнРГ показали свою эффективность при применении у пациенток с онкологическими заболеваниями, а накопленные данные подтверждают эффективность препаратов данной группы для защиты яичников в рамках проведения гонадотоксической терапии при некоторых аутоиммунных заболеваниях [7]. Применение аналогов ГнРГ является предпочтительным в случаях тяжелого течения заболевания из-за отсутствия инвазивного вмешательства. Помимо

схем лечения ИВРЗ, ограничивающих кумулятивную дозу гонадотоксических препаратов (например, "Euro-lupus" [7]), вспомогательная терапия аналогами ГнРГ в настоящее время является наиболее перспективной стратегией в плане сохранения овариального резерва [106].

Агонисты ГнРГ, в частности трипторелин, оказывают протективный эффект на ткань яичников при проведении терапии циклофосфамидом [107]. Защитный эффект основан на ингибировании созревания ооцитов, при этом герминогенный клеточный эпителий не подвергается гонадотоксическому действию. Аналоги ГнРГ способны действовать как десенситизаторы рецепторов гонадотропинов в гипофизе, что приводит к подавлению секреции гонадотропинов [9].

В исследовании, проведенном среди пациенток детского и юношеского возраста с СКВ (манифестация заболевания в возрасте менее 21 года) была показана эффективность аналогов ГнРГ (трипторелина). Прием трипторелина в дозировке 120 мкг / кг массы тела, приводил к устойчивому подавлению функции яичников у 90% пациенток. После первого приема препарата для достижения полного угнетения функции яичников было необходимо 22 дня. Таким образом, в исследовании было показано, что аналоги ГнРГ следует вводить за 22 дня до начала лечения ЦФ [9].

Однако целесообразность применения аналогов ГнРГ для сохранения овариального резерва и профилактики ПНЯ у больных с ИВРЗ не достаточно изучена [4]. В 2015 году был опубликован обзор, в котором было проанализировано применение аналогов ГнРГ в качестве овариопротективной терапии при использовании ЦФ. Стандартный протокол терапии включал в себя однократные ежемесячные инъекции 3,75 мг депо ацетата лейпролида (агониста ГнРГ) на протяжении всей терапии ЦФ [126]. В целом препараты из данной группы показали свою эффективность в 20 исследованиях, включавших 2038 пациенток; однако в 8 исследованиях, включавших 509 пациенток, эффективность применения Гн-РГ не была показана [108].

1.5.2. Сохранение генетического материала

Несмотря на широкое изучение применения аналогов ГнРГ в качестве овариопротективной терапии, по мнению ASRM, единственными двумя способами сохранения женской фертильности являются криоконсервация зрелых ооцитов и криоконсервация эмбрионов [109] [110].

Криоконсервация ооцитов.

Современный протокол сохранения зрелых ооцитов снижает риск развития синдрома гиперстимуляции яичников и, таким образом, минимизирует возможность обострения заболевания и тромбоэмболический риск у больных СКВ с наличием АФС [9]. Витрифицированные ооциты могут быть использованы позже в программах криопротокола с последующим внутриматочным переносом эмбрионов без предварительной стимуляции яичников. Показатель выживаемости после витрификации и разморозки ооцитов составляет около 85% [111], а частота беременности на одну попытку криопереноса колеблется между 4,5% и 12% [112]. Вероятность достижения беременности и благополучного ее развития зависит также и от возраста женщины. Таким образом, учитывая риск развития осложнений основного заболевания, а также увеличения анеуплоидий с возрастом, рекомендовано начинать программы ВРТ как можно раньше [113].

Криоконсервация эмбрионов

Криоконсервация эмбрионов является методом сохранения генетического материала. Она требует тех же условий, что и витрификация ооцитов, но включает в себя участие партнера. В связи с этим также требуется полная оценка состояния здоровья мужчины. Метод оплодотворения (ЭКО с или без ICSI) (интрацитоплазматической инъекцией сперматозоида) выбирается в соответствии с параметрами спермограммы. Согласно данным 2015 года, частота наступления беременности на одну попытку криопереноса

у женщин с первичным бесплодием сочетанного генеза составляла 17,5% [114].

Криоконсервация ткани яичника.

Криоконсервация ткани яичника имеет несколько потенциальных преимуществ по сравнению с криоконсервацией ооцитов и эмбрионов. Во-первых, корковый слой яичника содержит много первичных фолликулов с ооцитами, находящимися в профазе первого мейотического деления. Во-вторых, забор ткани яичника можно провести в любое время, независимо от стадии менструального цикла или схем терапии основного заболевания. Тем не менее, данная процедура имеет и недостатки. В рамках процедуры необходимо проведение хирургического вмешательства. Первичные фолликулы неравномерно распределены по всей коре яичника, и фактическое количество фолликулов сильно различается в нескольких образцах из одного и того же яичника. Более того, ожидается, что по меньшей мере 60% всех фолликулов будут потеряны во время начальной ишемии ткани яичников (Baird и соавт., 1999; Nisolle и соавт., 2000; Kim и соавт., 2004) [108].

1.6. Внеклеточные везикулы при ИВРЗ и их роль в системе гемостаза

Внеклеточные везикулы (ВВ) представляют собой гетерогенное семейство внеклеточных структур, которые ограничены фосфолипидным бислоем и высвобождаются всеми типами клеток [115]. В течение многих лет ВВ рассматривались в качестве «контейнеров» для транспортировки клеточных отходов. Например, ядро эритроцита выталкивается с помощью системы везикул в процессе созревания клетки. Сегодня ВВ считаются важными посредниками в процессе передачи сигналов при межклеточной коммуникации. ВВ содержатся практически во всех жидкостях организма включая плазму, слюну, спинномозговую жидкость, грудное молоко, сперму и мочу [116]. Известно, что везикулы способны транспортировать белки, липиды и нуклеиновые кислоты; а также переносить целые органеллы, рецепторы, матричную РНК и микро-РНК из одной клетки в другую [117]. ВВ представлены тремя основными семействами: экзосомы, эктосомы/микровезикулы и апоптотические тельца. Апоптотические тельца образуются в процессе апоптотической гибели клетки, в то время как экзосомы и микровезикулы формируются живыми клетками (Рисунок 1) [118,119]. ВВ опосредуют межклеточную коммуникацию, а также могут выступать в качестве платформы для ферментативных процессов. Данные микрочастицы участвуют в различных физиологических процессах, таких как воспаление, иммунные реакции, процессы коагуляции, сосудистой реактивности, ангиогенеза, репарации тканей и др. [120]. Некоторые ВВ также рассматриваются как потенциальные биомаркеры активности или гибели клеток и предложены в качестве агентов для доставки лекарственных препаратов [121].

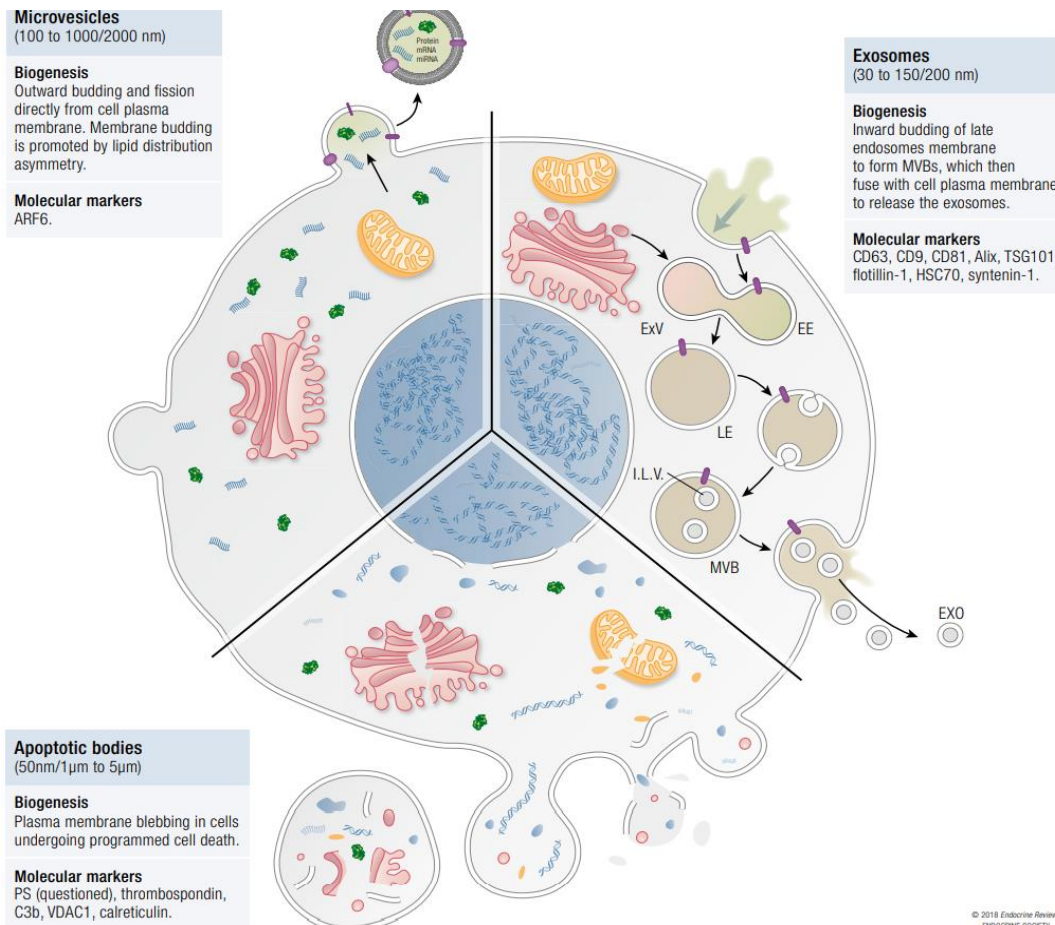


Рисунок 1. Основные типы ВВ, присутствующие в биологических жидкостях [122]

Обнаружение ВВ в биологических жидкостях репродуктивной системы указывает на их возможную роль в межклеточной коммуникации, необходимой для реализации репродуктивной функции [129]. Известно, что гаметогенез, оплодотворение, имплантация и раннее развитие эмбриона являются сложными комплексными процессами, которые в большой степени зависят от клеточной коммуникации [123]. В процессе оплодотворения и имплантации эмбриона участвуют ВВ различного происхождения: ВВ семенной и фолликулярной жидкости, ВВ эндометрия и плаценты. Везикулы играют ключевую роль в формировании взаимодействия между развивающимся эмбрионом и организмом матери, а также в развитии толерантности иммунных систем матери и плода. Изменение уровня и компонентного состава ВВ в жидкостях организма, обеспечивающих процессы созревания половых клеток, оплодотворения, имплантации и

развития эмбриона, может служить маркером патологических изменений (например, увеличения риска отторжения плода) [124].

Особую роль ВВ отмечают в патогенезе аутоиммунных заболеваний [125]. ВВ участвуют в транспорте множества молекул, вовлеченных в основные воспалительные и иммунологические процессы. Они способны секретировать и экспрессировать на своей поверхности провоспалительные цитокины, такие как интерлейкин-1 (IL1) [126] и фактор некроза опухоли (TNF) [127]. Так при РА тромбоцитарные микровезикулы высвобождают большое количество IL-1 β , участвующего в воспалительных ответах синовиальных фибробластов, что приводит к повреждению суставной ткани [128]. Несколько исследований продемонстрировали увеличение уровня циркулирующих тромбоцитарных микровезикул у пациентов с РА, что коррелировало с активностью заболевания [129]. Исследования, посвященные изучению ВВ при СКВ продемонстрировали увеличение плазменных уровней микровезикул, ассоциированных с тромбоцитами, лейкоцитами и клетками эндотелия у пациентов с СКВ по сравнению с группой контроля [130].

Роль ВВ в процессах свертывания крови при ИВРЗ

Прокоагулянтные ВВ играют важную роль в активации коагуляции при различных патологических состояниях [131]. При этом прокоагулянтные свойства везикул главным образом основаны на наличии фосфатидилсерина (прокоагулянтного фосфолипида, который поддерживает сборку комплексов ферментов свертывания крови) и тканевого фактора (ТФ) (основного инициатора каскада свертывания) [132]. Известно, что АФС представляет собой состояние, которое наиболее часто ассоциировано с развитием тромбоза [133]. Ввиду фосфолипидного состава антител при АФС и присутствия факторов свертывания на их поверхности, ВВ играют важную роль в прокоагулянтных явлениях при данном синдроме. Микровезикулы способны экспрессировать фосфатидилсерин, который служит местом связывания факторов свертывания II, Va и Xa, образуя протромбиновый комплекс,

который катализирует превращение протромбина в тромбин или фактор II, что, в свою очередь, позволяет трансформировать фибриноген в фибрин [134]. ТФ – трансмембранный рецептор для факторов VII/VIIa, которые играют основную роль в активации внешнего пути свертывания крови. ТФ постоянно экспрессируется клетками вне сосудов; однако его экспрессия в клетках крови в норме отсутствует и активируется при патологиях (например, сепсисе). Несмотря на то, что ТФ, ассоциированный с ВВ (ТФ-ВВ), составляет лишь небольшую фракцию от общего уровня ТФ в крови, присутствие ТФ-ВВ связано с развитием генерализованного тромбогеморрагического синдрома (Рисунок 2.) [139].

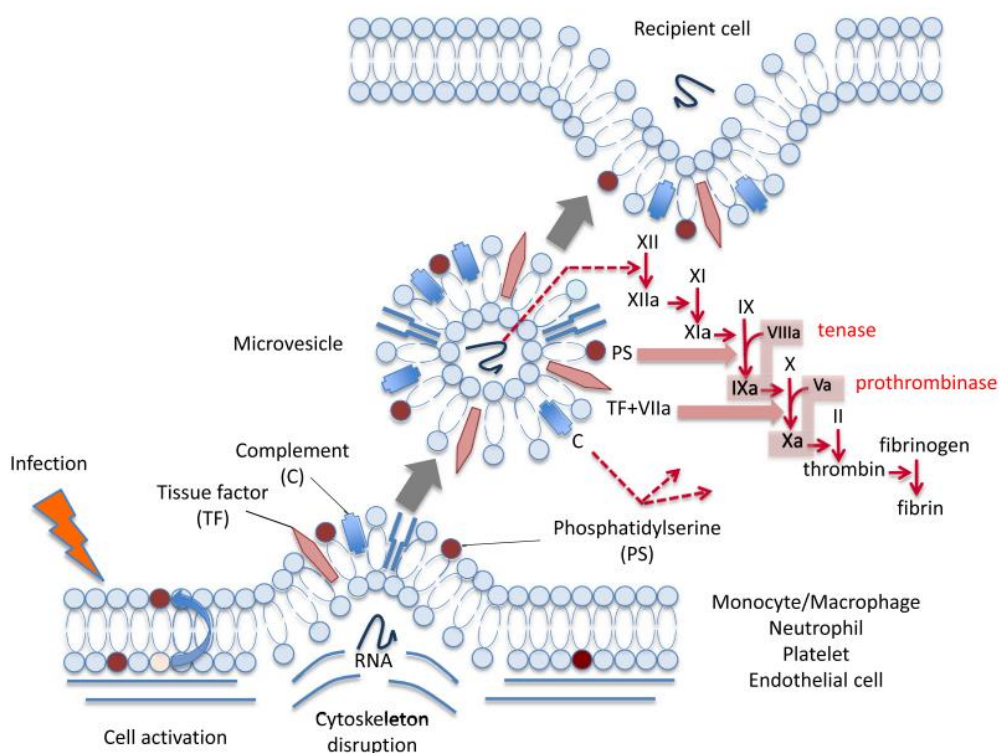


Рисунок 2. Прокоагулянтные свойства микровезикул [133]

Исследования ВВ при АФС показали увеличение уровня эндотелиальных микровезикул с высокой экспрессией тканевого фактора, однако их уровень не зависел от наличия тромбоза в анамнезе [135]. В другом исследовании было показано увеличение уровня микровезикул, ассоциированных с тромбоцитами, только у пациентов с предшествующими тромбозами [136]. Данные результаты позволяют сделать предположение о

том, что наличие аФЛ может приводить к хронической активации эндотелиальных клеток, ответственных за увеличение уровня эндотелиальных микровезикул. Следовательно, микровезикулы могут выступать маркерами риска тромбоза или акушерских осложнений у пациенток с наличием аФЛ [137].

Таким образом, ИВРЗ являются заболеваниями, ассоциированными с нарушением иммунного статуса организма. Ввиду многих физиологических причин данные заболевания чаще всего развиваются у женщин репродуктивного возраста, что, безусловно, определяет необходимость изучения и обсуждения вопросов, связанных с реализацией репродуктивной функции [12]. В настоящее время установлено, что ИВРЗ способны оказывать отрицательное влияние на функцию репродуктивной системы, приводя в ряде случаев к бесплодию. При этом отмечено и отрицательное влияние отдельных лекарственных препаратов, применяемых для лечения данной группы заболеваний: обсуждается их роль в снижении овариального резерва и в возникновении ПНЯ.

Другим противоречивым вопросом является сохранение генетического материала и/или применение аналогов ГнРГ с целью сохранения овариального резерва у данного контингента больных. Возможность криоконсервации ооцитов, эмбрионов и ткани яичников рассматривается для ИВРЗ гораздо реже чем для больных онкологическими заболеваниями, однако поскольку показатели наступления беременности при использовании данных методик неуклонно растут, этот вариант лечения представляется перспективным и для молодых пациенток с ИВРЗ. Ввиду необходимости проведения гормональной стимуляции овуляции для получения ооцитов при использовании методик криоконсервации клеток и эмбрионов, должны быть учтены возможные риски обострения ИВРЗ и тромботических осложнений [109]. Остается дискуссионным вопрос относительно исходов программ ВРТ у пациентов с ИВРЗ. Все вышеперечисленное создает предпосылки для дальнейшего

изучения этой проблемы, обуславливая необходимость разработки персонифицированных подходов к реализации репродуктивной функции у данного контингента больных.

Таким образом, обобщая литературные данные по проблеме «Реализация репродуктивной функции у пациенток с иммуновоспалительными ревматическими заболеваниями в программах вспомогательных репродуктивных технологий», отметим, что она содержит много нерешенных и спорных вопросов, имеющих теоретический и практический интерес. Исследования последних лет позволяют говорить о возможности применения ВРТ у больных ИВРЗ и подчеркивают важность индивидуального подхода к планированию и применению ВРТ у этих больных. Для более определенного суждения по некоторым вопросам изучаемой проблемы предпринято настоящее исследование.

Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материал 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 2018г. и по май 2021г. было обследовано 156 женщин, впервые обратившихся для оценки фертильности и/или проведения программы ЭКО и сохранения генетического материала.

Основную группу исследования составили 106 женщин с ИВРЗ. Группу контроля - 50 соматически здоровых женщин. В основной группе было проведено 62 стимулированных цикла ЭКО и 32 криопротокола, в контрольной - 73 и 38 циклов, соответственно.

Критерии включения в основную группу:

Женщины с достоверным диагнозом ИВРЗ: ревматоидным артритом (критерии ACR/EULAR, 2010), системной красной волчанкой (критерии ACR, 1997) с/без антифосфолипидного синдрома, анкилозирующим спондилитом (критерии ASAS, 2009).

Возраст женщин от 18 до 42 лет.

Заключение ревматолога о возможности проведения программ ВРТ.

Информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии невключения:

Все состояния, являющиеся противопоказаниями к проведению ВРТ и беременности в соответствии с Приказом МЗ РФ № 803н "О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению" от 31 июля 2020г.

Женщины с недостоверным диагнозом ИВРЗ.

Критерии включения в контрольную группу:

Соматически здоровые женщины (без хронических заболеваний).

Возраст женщин от 18 до 42 лет.

Перенос 1 эмбриона (группа контроля для женщин с ИВРЗ).

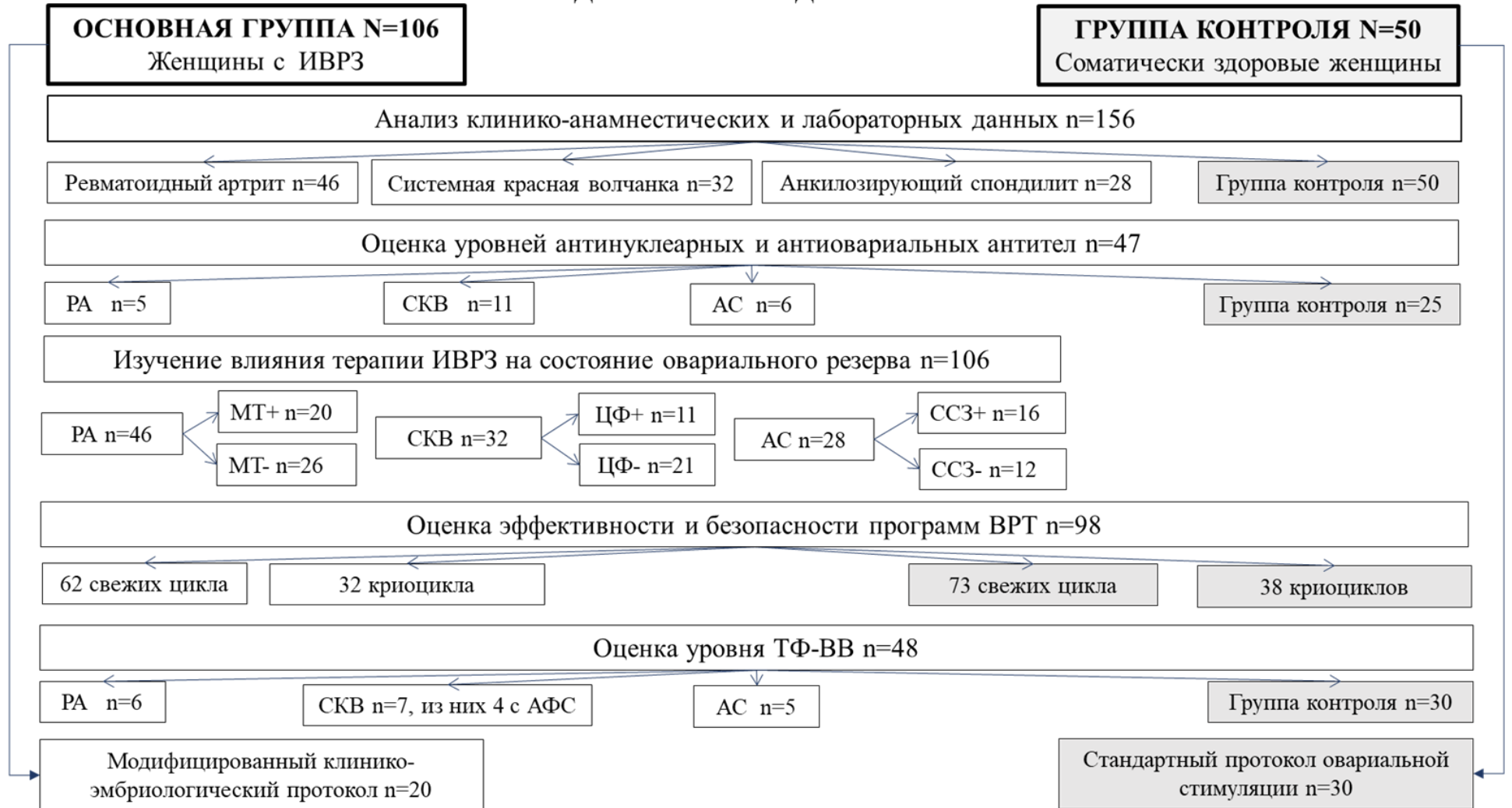
Информированное согласие на участие в исследовании.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Все больные подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Работа осуществлялась совместно с ФГБНУ «НИИ ревматологии им. В.А. Насоновой» (директор – д.м.н., профессор А.М. Лиля) в рамках договора о научном сотрудничестве.

Дизайн исследования иллюстрируется рисунком 3.

ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ



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

Рисунок 3. Дизайн исследования

Как представлено на рисунке, для решения первой задачи исследования (изучить клинико-anamнестические данные и лабораторные параметры женщин с ИВРЗ, обратившихся для проведения программ ВРТ или сохранения генетического материала) были включены 106 больных ИВРЗ – основная группа, из которых 46 пациенток с РА, 32 – с СКВ, из них 7 больных - с сопутствующим АФС, и 28 больных АС.

Пятьдесят соматически здоровых женщин составили группу контроля.

Для решения задачи 2 (оценить уровни антинуклеарных и антиовариальных антител в сыворотке крови и фолликулярной жидкости пациенток с ИВРЗ и их влияние на репродуктивную функцию) было проведено исследование сыворотки крови и фолликулярной жидкости 47 женщин: 22 пациенток основной группы (5-ти – с РА, 11-ти – с СКВ и 6-ти – с АС) и 25 соматически здоровых женщин, прошедших программу ЭКО.

Для решения задачи 3 (изучить влияние вида и продолжительности иммуносупрессивной терапии на состояние овариального резерва) были включены 106 женщин с ИВРЗ: 26 пациенток с РА, получавших лечение МТ, и 20 больных РА без терапии МТ; 11 пациенток с СКВ и терапией ЦФ и 21 пациентка с СКВ без терапии ЦФ; 16 пациенток с АС и терапией ССЗ и 12 больных АС без терапии ССЗ.

Для решения задачи 4 (оценить эффективность и безопасность программ ВРТ у женщин с ИВРЗ на основе параметров стимулированного цикла, эмбриогенеза и уровня тканевого фактора, ассоциированного с внеклеточными везикулами) программы ВРТ были проведены у 68 пациенток с ИВРЗ (26 с РА, 28 с СКВ, 14 с АС) и у 50 соматически здоровых женщин.

В основной группе проведено 62 стимулированных цикла и 32 криопротокола, в группе сравнения – 73 стимулированных цикла и 38 криопротоколов.

Уровень тканевого фактора, ассоциированного с внеклеточными везикулами, оценивался у 48 женщин, прошедших программу ЭКО: 18 пациенток с ИВРЗ (6 с РАС, 7 с СКВ, 5 с АС) и 30 соматически здоровых женщин.

Для решения задачи 5 (разработать персонифицированный алгоритм подготовки и ведения пациенток с ИВРЗ в программах ВРТ) были включены 20 пациенток с СКВ, прошедших программу ЭКО с использованием модифицированного клинико-эмбриологического протокола.

Группа сравнения была представлена 30 соматически здоровыми женщинами, прошедшими программу ЭКО в стандартном протоколе с антагонистами гонадотропин релизинг-гормона (антГнРГ) и сопоставимыми с основной группой по возрасту, длительности и типу бесплодия.

2.2. Методы исследования

2.2.1. Общеклинические методы исследования

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. При первичном осмотре измеряли рост, вес пациенток, оценивали индекс массы тела (ИМТ), артериальное давление и пульс. При сборе анамнеза обращали внимание на наследственность, аллергологический анамнез, перенесенные инфекционные и хронические соматические заболевания. Полученные данные вносили в индивидуальную карту пациента.

Подробно оценивали особенности менструальной функции и репродуктивного анамнеза пациенток (количество беременностей, родов, абортов, самопроизвольных выкидышей, неразвивающихся, внематочных беременностей, наличие осложненных беременностей и родов). Также выясняли перенесенные гинекологические заболевания, объем перенесенных оперативных вмешательств на органах малого таза. У каждой женщины уточняли данные о продолжительности бесплодия, а также о проведенных диагностических и лечебных мероприятиях.

2.2.2. Обследование пациенток с ИВРЗ

Обследование пациенток женщин группы проводилось ревматологом в ФГБНУ НИИР им. В.А.Насоновой, где для всех пациенток с ИВРЗ уточнялись:

- тип заболевания (нозологизация) и его достоверность, согласно классификационным критериям: ACR/EULAR, 2010 – для РА; ACR, 1997 – для СКВ и ASAS, 2009 – для АС;
 - клиническая стадия и степень активности по шкалам: DAS28 СРБ для РА, SLEDAI для СКВ и BASDAI для АС;
 - рентгенологическая стадия и функциональный класс – для больных РА и АС;
- и давалось заключение о возможности проведения программ ВРТ.

Репродуктологом в ФГБУ НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова анализировались:

- длительность ИВРЗ;
- терапия основного заболевания (препараты, доза, длительность приема);
- сопутствующая соматическая патология;
- гинекологический анамнез.

2.2.3. Гормональное обследование

Гормональное обследование включало в себя определение уровней фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), лютеинизирующего гормона (ЛГ), эстрадиола (Е₂) и антимюллерового гормона (АМГ), которое осуществлялось в период ранней фолликулярной фазы (2-3 день менструального цикла). Гормональное исследование перед программой ЭКО выполнялось с целью оценки овариального резерва и функционального состояния эндокринной системы, нормативные значения представлены в Таблице 1.

**Нормативные показатели гормонов в сыворотке крови
у женщин репродуктивного возраста**

Гормоны	Нормативные показатели
ФСГ	2,0–10,0 МЕ/л
ЛГ	2,3–15,0 мМЕ/л
E ₂	150–480 пкмоль/л
АМГ(нг/мл)	1,0–2,5 нг/мл (для женщин репродуктивного возраста)

**2.2.4. Овариальная стимуляция в стандартном протоколе и
трансвагинальная пункция фолликулов**

Стимуляцию функции яичников проводили в стандартном протоколе с антагонистами гонадотропин релизинг-гормона (антГнРГ). УЗИ органов малого таза выполняли на аппарате «FlexFocus 400» («ВК Medical», Дания) с использованием трансвагинального датчика с частотой 6,5 МГц. Ультразвуковой мониторинг в рамках программы проводили на 2-3, 6, и 10-12 день стимуляции. Оценивали динамику роста фолликулов, толщину и структуру эндометрия. Корректировали дозы вводимых гонадотропинов, определяли день введения антГнРГ и триггера овуляции. Стимуляция функции яичников проводилась препаратами менотропина, рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) или корифоллитропин альфа. Доза препарата подбиралась индивидуально в зависимости от возраста пациентки, данных гормонального исследования и количества антральных фолликулов при УЗ-исследовании. После проведения УЗ-мониторинга при необходимости производилась коррекция дозы препаратов гонадотропинов.

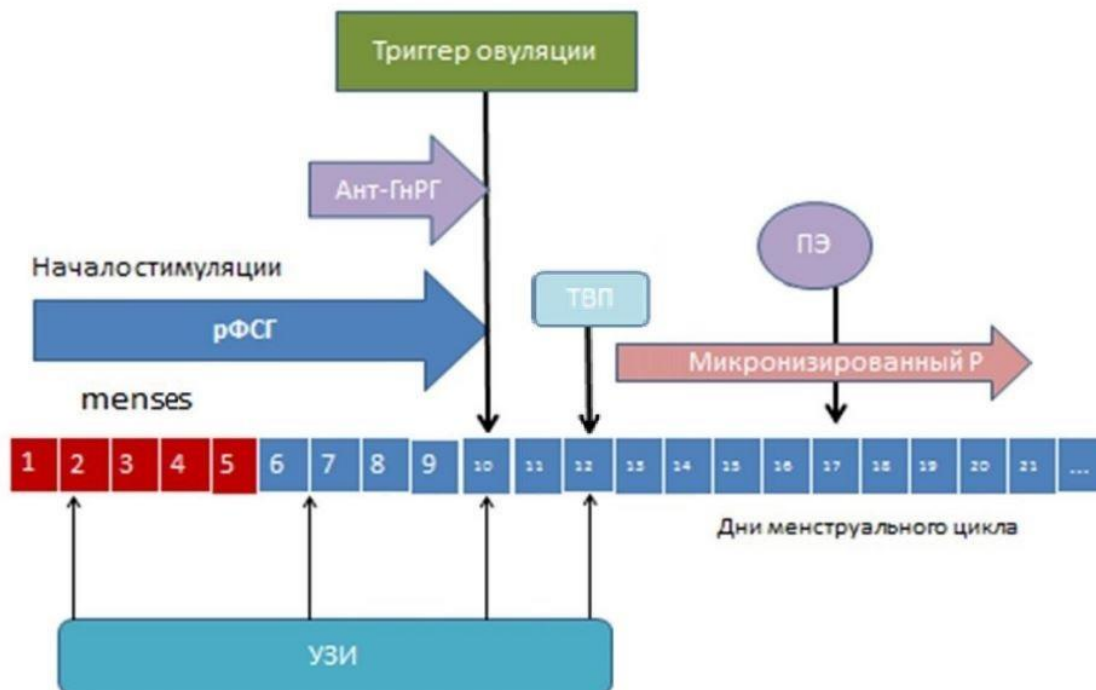
При проведении протокола с антГнРГ введение экзогенных гонадотропинов начинали со 2-3 дня менструального цикла. При достижении лидирующим фолликулом диаметра 14 мм начинали введение антГнРГ с целью

предупреждения эндогенных паразитарных пиков ЛГ. Затем препарат антГнРГ вводили ежедневно, включая день назначения триггера овуляции. Триггер овуляции назначали при достижении лидирующими фолликулами диаметра 17-18 мм. Для финального созревания ооцитов использовали человеческий хорионический гонадотропин человека (ХГч) в дозе 5000 – 10000 МЕ, а при риске развития синдрома гиперстимуляции яичников (при наличии более 15 доминантных фолликулов в обоих яичниках в день назначения триггера овуляции) – агониста гонадотропин рилизинг-гормона (а-ГнРГ) в дозе 0,2 мг.

Трансвагинальную пункцию (ТВП) яичников производили в асептических условиях через 35–36 часов после введения препарата ХГч под кратковременным внутривенным наркозом посредством вакуумной аспирации фолликулов под трансвагинальным ультразвуковым контролем с использованием одноразовых игл (Vitrolife IVF Media). Для поддержки лютеиновой фазы использовали микронизированный прогестерон (утрожестан в дозе 600 мг/сут) вагинально со следующего дня после ТВП.

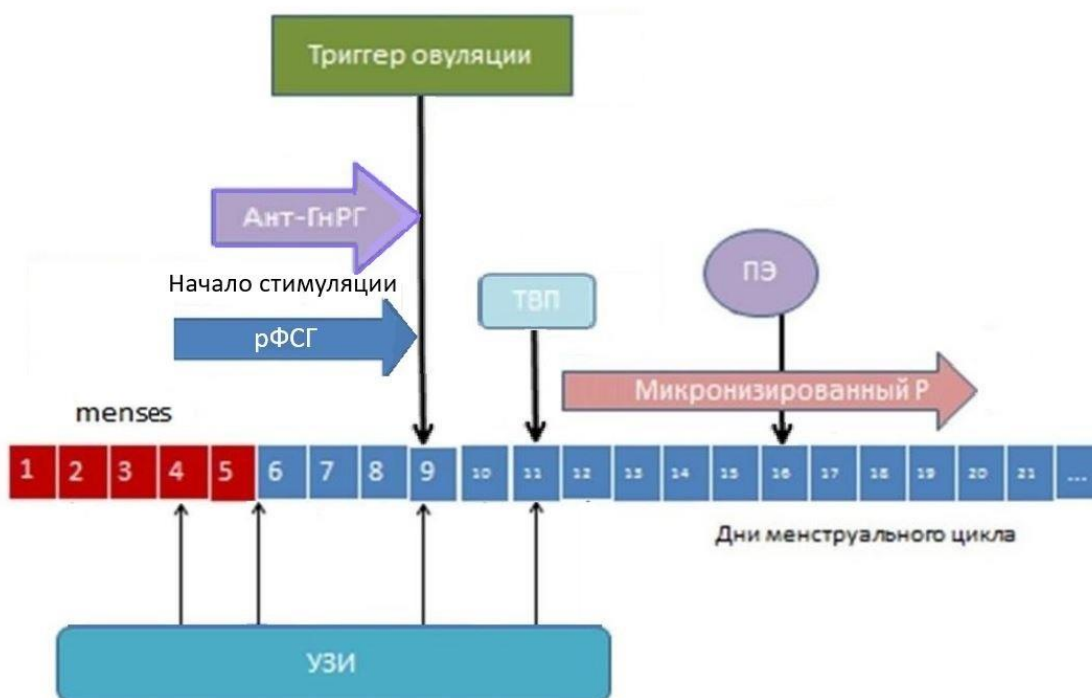
2.2.5. Овариальная стимуляция в модифицированном клинико-эмбриологическом протоколе

Учитывая возможность обострения основного заболевания и повышенный риск тромботических осложнений, для части пациенток с СКВ, включенных в основную группу, был разработан модифицированный клинико-эмбриологический протокол проведения программы ЭКО. Основу модифицированного протокола составил стандартный протокол овариальной стимуляции с антГнРГ (рис. 4 и 5).



рФСГ- рекомбинантный фолликулостимулирующий гормон, Ант-ГнРГ- антагонист гонадотропин-рилизинг гормона, ТВП- трансвагинальная пункция, ПЭ- перенос эмбриона, Микронизированный Р –микронизированный прогестерон

Рисунок 4. Стандартный протокол овариальной стимуляции с антГнРГ



рФСГ- рекомбинантный фолликулостимулирующий гормон, Ант-ГнРГ- антагонист гонадотропин-рилизинг гормона, ТВП- трансвагинальная пункция, ПЭ- перенос эмбриона, Микронизированный Р- микронизированный прогестерон

Рисунок 5. Овариальная стимуляции в модифицированном клиничко-эмбриологическом протоколе

Стимуляция яичников в модифицированном клинико-эмбриологическом протоколе начиналась с 4-5 дня менструального цикла (а не со 2-3 дня как в стандартном протоколе с антГнРГ). Протокол также характеризовался менее продолжительной стимуляцией яичников 8 [7;10] дней и более ранним введением антГнРГ - на 5 [3;6] день стимуляции. Введение антГнРГ продолжалось до дня введения триггера овуляции – Хорионического гонадотропина (10000 МЕ). В ходе стимуляции яичников у 14 больных использовались рФСГ и у 6 - комбинация рФСГ с менотропинами. Средняя суммарная доза гонадотропинов при использовании модифицированного протокола составила 1600 [1215;2175] МЕ. ТВП яичников производили в асептических условиях через 35–36 часов после введения препарата ХГч под кратковременным внутривенным наркозом посредством вакуумной аспирации фолликулов под трансвагинальным ультразвуковым контролем с использованием одноразовых игл (Vitrolife IVF Media). Для поддержки лютеиновой фазы использовали микронизированный прогестерон (600 мг/сут) вагинально со следующего дня после ТВП.

С целью профилактики тромботических осложнений женщинам в модифицированном протоколе была назначена антикоагулянтная терапия (под обязательным контролем параметров гемостаза) на все время проведения программы. Пациентки получали терапию НМГ (Эноксипарин натрия 0,4 мл/сут, п/к) с 1-го дня стимуляции до введения триггера овуляции (Хорионический гонадотропин), с возобновлением терапии со следующего дня после ТВП яичников. Пациентки, получавшие ацетилсалициловую кислоту в профилактической дозе (75-100 мг/сут *per os*), отменяли прием препарата за 3 дня до ТВП яичников, и при условии отсутствия кровотечения возобновляли на следующие сутки.

2.2.6. Эмбриологический этап, перенос эмбрионов и посттрансферный период программы ЭКО

Полученные ооциты идентифицировались сразу же после аспирации фолликулов при помощи диссекционного микроскопа на нагретой поверхности. Клетки преинкубировались *in vitro* в течение 2–3 часов при температуре 37°C в атмосфере с 5% CO₂.

В ходе эмбриологического этапа оценивали количество и качество полученных ооцитов, количество полученных эмбрионов (морул, бластоцист) и качество полученных эмбрионов (класс А, В, С). Нормальное оплодотворение регистрировали при наличии двух симметричных по размеру пронуклеусов в цитоплазме через 16-18 часов после оплодотворения. В случае наличия одного или трех и более пронуклеусов в цитоплазме оплодотворение расценивали как аномальное. Ооцит считали неоплодотворившимся при отсутствии пронуклеусов в его цитоплазме. Оценку качества полученных эмбрионов осуществляли по морфологическим критериям в соответствии с классификацией, принятой Istanbul consensus workshop on embryo assessment (ESHRE, 2011) («модифицированная» классификация D. Gardner) [Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expertmeeting // ReprodBiomedOnline 2011. - Vol. 22. - №6. - P. 632-646]. Классификация внутренней клеточной массы: – I класс (А) – хорошо различима, содержит много компактно расположенных, плотно упакованных клеток; – II класс (В) – хорошо различима, но имеет незначительные дефекты (небольшой объем, неплотно упакована, мало клеток); – III класс (С) – трудно различима, содержит всего несколько клеток. Классификация трофэктодермы: – I класс (А) – хорошо организована, многоклеточная, формирует плотный эпителий; II класс (В) – содержит малое количество неравномерно распределенных клеток; – III класс (С) – незначительное количество клеток.

Эмбриологический этап модифицированного клиничко-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 эмбрионов (ПЭ) в полость матки производили в асептических условиях на 5-е сутки культивирования с использованием катетера Wallace на фоне поддержки лютеиновой фазы микронизированным прогестероном (600 мг/сут) вагинально. Во всех случаях производился перенос одного эмбриона. Оставшиеся эмбрионы хорошего качества были криоконсервированы.

При наличии положительного результата 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.

2.2.7. Криопротокол

Проведение криопротоккола у пациенток основной и контрольной групп осуществляли на фоне подготовки эндометрия с использованием препаратов эстрогенов трансдермального пути введения (3 г/сут) и микронизированного прогестерона (600 мг/сут) вагинально под контролем УЗИ. Перенос размороженных после витрификации эмбрионов на стадии бластоцисты в полость матки выполняли на 6-е сутки от начала приема микронизированного прогестерона под ультразвуковым контролем. В случае повышенного риска тромботических осложнений дополнительная антикоагулянтная (Эноксипарин натрия 0,4 мл/сут, п/к) и антиагрегантная (ацетилсалициловая кислота 75-100 мг/сут *per os*) терапия продолжалась согласно имеющимся рекомендациям.

При наличии положительного результата 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.

2.3. Специальные методы исследования

2.3.1. Исследование уровня антинуклеарных и антиовариальных антител в сыворотке крови и фолликулярной жидкости

Иммунологические исследования включали определение в сыворотке крови и фолликулярной жидкости у женщин антинуклеарных антител (АНА) и антител к экстрагируемым ядерным антигенам (SSA/Ro, SSB/La,) с использованием наборов ORGENTEC Diagnostika (Германия). Забор крови и фолликулярной жидкости для исследования производился однократно в день ТВП яичников. Исследования проводили в соответствии с инструкциями фирмы-производителя наборов. Определение антител к ядерным антигенам основано на методе непрямого твердофазного иммуноферментного анализа, в котором используется конъюгат антител против иммуноглобулинов человека.

Уровень АНА оценивали по значению рассчитанного индекса позитивности (ИП): в норме он не превышает 1,0 Ед.

Аналитическая чувствительность тест-систем на определение SSA/Ro и SSB/La антител составляет 0,5 Ед/мл, диапазон измерения – 0,5-200 Ед/мл. Интерпретация результатов: отрицательные - <15 МЕ/мл; пограничные – 15-25 МЕ/мл; положительные - ≥ 25 МЕ/мл.

Антиовариальные антитела определяли с использованием иммуноферментных наборов фирмы DRG Instruments GmbH (Германия), которые предназначены для количественного измерения антител против ооцитов в сыворотке и фолликулярной жидкости человека в соответствии с инструкциями фирмы-производителя наборов. DRG тест на антиовариальные антитела является непрямым твердофазным иммуноферментным анализом «сэндвич» типа. Референсный диапазон составляет <10 Ед/мл, повышенные значения - >10 Ед/мл.

Определение антител к zona pellucida проводили с использованием иммуноферментных наборов CUSABIO (CUSABIO TECHNOLOGY LLC, США), которые предназначены для качественного определения антител к zona pellucida в сыворотке крови и фолликулярной жидкости человека. Уровень антител к zona

pellucida оценивали по значению величины оптической плотности (ОП) интенсивности окрашивания образцов. Величина ОП негативного контроля должна быть менее 0,1 ед. ОП, а положительного контроля – более, чем 1,0 ед. ОП. При соотношении ОП образца/ ОП негативного контроля $\geq 2,1$ результат анализа оценивается как положительный, а при величине этого соотношения $< 2,1$ - как отрицательный.

Исследование проведено в Лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» (руководитель – д.м.н. Кречетова Л.В.)

2.3.2. Исследование уровня тканевого фактора, ассоциированного с внеклеточными везикулами (ТФ-ВВ), в плазме крови

Прокоагулянтную активность тканевого фактора, ассоциированного с внеклеточными микровезикулами, в размороженных образцах очищенной от тромбоцитов плазмы крови измеряли с помощью коммерческого набора ZYMUPHEN MP-TF kit (HYPHEN BioMed, Франция) в соответствии с инструкцией производителя.

Забор крови для проведения исследования уровня ТФ-ВВ у пациенток производился двукратно: перед началом овариальной стимуляции (первая точка) и в день трансвагинальной пункции яичников (вторая точка). Размороженная плазма в объеме 20 мкл, а также стандарты и контроли вносили в лунки планшета с антителами к тканевому фактору и инкубировали с MP-TF-assay enhancer ночь при комнатной температуре с последующей отмывкой на автоматическом вошере, инкубацией с фактором VIIa и Ха в течение 2 часов при 37°C. После этого в лунки вносили субстрат для фактора X с последующей инкубацией в течение 2 часов при 37°C. Реакцию останавливали добавлением лимонной кислоты. Измерения OD производили на планшетном микроридере Infinite f50 (TECAN, Швейцария) при 405 нм. Значения фона вычитали из всех полученных данных OD. Концентрацию тканевого фактора определяли по построенной калибровочной кривой. Результат представлен в пг/мл. В качестве нормативного показателя была принята медианная концентрация фактора в контрольной группе.

Исследование проведено в Лаборатории клеточных технологий ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» (руководитель – д.б.н. Силачев Д.Н.)

Статистический анализ полученных результатов

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

Для количественных переменных проводился тест на нормальность распределения. Количественные переменные описывались следующими статистиками: медианой (Me) и интерквартильным размахом [25;75 перцентили – Q1;Q3], max и min значениями; качественные переменные - абсолютными (n) и относительными (%) частотами. Для оценки различий между двумя независимыми выборками, измеренными количественно, использовали U-тест по методу Манна-Уитни и критерий Краскела-Уоллиса. Различия групп по частоте выявления качественных показателей оценивали по таблице сопряженности 2x2 с помощью χ -теста с коррекцией по Yates. Для определения взаимного влияния показателей использовали корреляционный анализ Спирмена. Сила связи между двумя событиями была рассчитана по отношению шансов (ОШ). Определение статистической значимости различий средних величин проведено с помощью t-критерия Стьюдента. Различия считались статистически значимыми при уровне ошибки $p < 0,05$.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Клинико-анамнестические данные и лабораторные параметры женщин с ИВРЗ и группы контроля

С целью анализа клинико-анамнестических данных и лабораторных параметров пациенток с ИВРЗ и бесплодием, обратившихся для оценки и реализации репродуктивной функции, все женщины основной группы были разделены согласно их нозологической принадлежности: группу больных РА составили 46 женщин, СКВ с/без АФС – 32 женщины, в группу больных АС вошли 28 пациенток. Группу контроля составили 50 соматически здоровых женщин с бесплодием.

Характеристика обследованных больных ИВРЗ приведена в Таблице 2, из которой следует, что пациентки с РА, СКВ и АС находились в репродуктивном возрасте, на момент включения в исследование медиана возраста составила 34 года. Длительность заболевания у больных СКВ превышала таковую у пациенток с РА и АС (соответственно 11, 4 и 5 лет, $p_{\text{СКВ-РА}}=0,004$ и $p_{\text{СКВ-АС}}=0,015$), что связано с известным и подтвержденным нашим исследованием фактом более раннего дебюта заболевания у данной категории больных. Среди пациенток с СКВ начало болезни до 16-летнего возраста было отмечено в 25% случаев, в то время как в группе АС – лишь в 3,6%, а случаев ювенильного начала РА среди включенных в исследование больных не было.

Клинико-лабораторная характеристика больных основной группы

Показатель	РА, n=46	СКВ, n=32	АС, n=28
Возраст больных Me [Q1;Q3], (min-max) лет	34 [32;38] (25-42)	34 [28;37] (27-40)	34,5 [32;39] (27-42)
Длительность болезни Me [Q1;Q3], (min-max) лет	4,0 [2;8] (2-20)	11[6;17] (2-23)	5,0 [3;9] (3-30)
Возраст дебюта заболевания Me [Q1;Q3], (min-max) лет	29 [27;31] (20-41)	23 [20;24] (7-36)	27 [23;32] (10-33)
Дебют заболевания до 16 лет включительно, n (%)	-	8 (25)	1 (3,6)
РФ +, n (%)	35 (76,1)	5 (15,6)	8 (28,6)
АЦЦП +, n (%)	36 (78,3)	-	-
HLA-B27+, n (%)	-	-	26 (93)
Хроническое / подострое / острое течение, n (%)	-	27 (84,4)/ 2 (6,3)/3 (9,3)	-
Ранняя / развернутая/ поздняя стадия, n (%)	14 (30,4)/24 (52,2)/8 (17,4)	-	2 (7)/ 24 (86)/2 (7)
Ремиссия/ низкая/ средняя/ высокая активность, n (%)	10 (21,7)/ 19 (41,3)/ 13 (28,3)/ 4 (8,7)	10 (31,3)/ 16 (50)/ 4 (12,5)/ 2 (6,2)	1 (3,6)/20 (71,5)/ 5 (17,9)/2 (7)
DAS28-СРБ Me [Q1;Q3] баллов	2,8 [2,6;3,0]	-	-
SLEDAI Me [Q1;Q3] баллов	-	4 [2;6]	-

BASDAI Me [Q1;Q3] баллов	-	-	2,2 [1,4;3,2]
I рентгенологическая стадия, n (%)	21 (45,6)	-	6 (21,4)
II рентгенологическая стадия, n (%)	20 (43,5)		18 (64,3)
III рентгенологическая стадия, n (%)	5 (10,9)		4 (14,3)
I и II функциональный класс, n (%)	8 (17,4)	-	10 (35,7)
II функциональный класс, n (%)	22 (47,8)		14 (50)
III функциональный класс, n (%)	16 (34,8)		4 (14,3)
Антифосфолипидный синдром, n (%)	-	7 (21,8)	-
Наличие аФЛ:	-		-
-BA, n (%)		4 (57,1)	
-aКЛ, n (%)		2 (28,6)	
-aβ2ГП, n (%)		1 (14,3)	

РФ выявлялся в каждой из групп пациенток с ИВРЗ: ожидаемо – наиболее часто - в группе с РА - 76,1%, у 5 из 32 (15,6%) больных СКВ (все с сопутствующим синдромом Шегрена, с которым и связана позитивность РФ), и неожиданно – в 28,6% случаев с АС. Следует подчеркнуть, что РФ во всех этих случаях АС был низко позитивным (его уровень не превышал 21,6 МЕ/мл при норме до 15 МЕ/мл) и непостоянным, у всех этих пациенток ранее был исключен РА.

АЦЦП, специфический иммунологический маркер РА, выявлялся у 78,3% больных РА и не у одной пациентки с СКВ и АС. Преобладали II и III рентгенологические стадии РА и АС (54,3% и 78,6%, соответственно), I и II классы функциональной недостаточности (65,2% и 85,7%).

У больных РА и АС чаще имела место развернутая стадия заболевания (52,2% и 86%). Среди пациенток с СКВ преобладал хронический вариант течения болезни – 84,4%. Важно отметить, что во всех группах преобладала ремиссия и низкая активность заболевания (63%, 81,3% и 75,1% - соответственно для РА, СКВ и АС), а средний балл по индексу активности DAS28 СРБ для РА составил 2,8; по SLEDAI для СКВ – 4 балла и по BASDAI для АС – 2,2 балла.

У 7 из 32 больных СКВ ранее был диагностирован АФС, который проявлялся: тромбозами вен нижних конечностей в 2-х случаях; невынашиванием беременности в анамнезе, в том числе: ранними репродуктивными потерями в 4-х случаях, антенатальной гибелью плода в 2 случаях и развитием преэклампсии у одной пациентки. На момент включения в исследование волчаночный антикоагулянт (ВА) был выявлен у 4-х пациенток, антитела к кардиолипину (аКЛ) – у 2-х и к $\beta 2$ гликопротеину I ($\alpha\beta 2$ ГП) – у одной пациентки. В одном случае наблюдалась тройная серопозитивность по аФЛ.

Терапия заболевания больных основной группы

Препараты	РА, n=46	СКВ, n=32	АС, n=28
-НПВП, n (%)	36 (78,3)	-	28 (100)
-Метилпреднизолон, n (%)	30 (65,2)	29 (91)	20 (35,7)
-Гидроксихлорохин, n (%)	17 (36,9)	32 (100)	-
-Метотрексат, n (%)	26 (56,5)	-	-
-Лефлуномид, n (%)	7 (15,2)	-	-
-Циклофосфамид, n (%)	-	11 (34,4)	-
-Азатиоприн, n (%)	-	4 (12,5)	-
-Микофенолатамофетил, n (%)	-	3 (9)	-
-Сульфасалазин, n (%)	4 (8,7)	-	16 (57,1)
-ГИБП, n (%)	7 (15,2)	3 (9)	4 (14,3)

Как следует из Таблицы 3 большинство больных РА и СКВ ранее и/или на момент исследования принимали глюкокортикоидный препарат метилпреднизолон – 65% и 91%. Из базисных препаратов чаще назначались гидроксихлорохин (36,9% - больным РА и 100% - СКВ), метотрексат (56,5% - РА), циклофосфамид (34,4% - СКВ) и сульфасалазин (57,1% - АС). Семи из 46 больных РА (15,2%), 3 из 32 больных СКВ (9%) и 4 из 28 пациенток с АС (14,3%) ранее и/или на момент исследования проводилось лечение ГИБП (цертолизумабом пэгол, этанерцептом, адалимумабом, белимумабом и ритуксимабом). Больные контрольной группы дополнительных препаратов (помимо гормональной терапии в рамках овариальной стимуляции) не получали.

Сравнительная характеристика больных ИВРЗ и контрольной группы представлена в Таблице 4, из которой следует, что пациентки основной и контрольной групп были сопоставимы по возрасту, ИМТ и возрасту менархе. Число самостоятельных беременностей в анамнезе у пациенток с вторичным бесплодием было значимо ниже у пациенток с РА и АС по сравнению с группой контроля ($p_{РА-К}=0,042$, $p_{АС-К}=0,029$), в этих же группе отмечалось меньшее число родов ($p_{РА-К}=0,035$, $p_{АС-К}=0,018$). Число самостоятельных 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 ($p_{СКВ-К}=0,012$).

Клинико-anamнестические данные больных основной и контрольной групп

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
ИМТ Me [Q1;Q3] кг/м ²	21 [20,7;23,5]	21,4 [21,1;23,3]	21,8 [21,3;23,7]	22 [21,2;24,3]	нд
Возраст менархе Me [Q1;Q3] лет	12,9 [11,3-13,6]	12,6 [11,2-13,1]	11,8 [11,1-12,8]	11,4 [11,1-12,5]	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} = 0,042 p _{СКВ-К} =0,439 p _{АС-К} = 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} = 0,035 p _{СКВ-К} = 0,027 p _{АС-К} = 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} = 0,012 p _{АС-К} =0,136
Длительность бесплодия Me [Q1;Q3] лет	3 [2;6]	5 [2;7]	3,5 [2;6,5]	4,5 [2;8,5]	нд
Первичное бесплодие n (%)	24 (52,2)	20 (65,5)	16 (57,1)	22 (44)	нд
Вторичное бесплодие n (%)	22 (47,8)	12 (34,5)	12 (42,9)	28 (56)	нд
Трубно-перитонеальный фактор n (%)	17(36,9)	11(34,4)	10(35,7)	21(42)	нд
Мужской фактор n (%)	15(32,6)	9(28,1)	8(28,6)	19(38)	нд
Эндокринный фактор n (%)	4 (8,7)	3 (9,4)	2 (7,1)	6 (12)	нд
Бесплодие неясного генеза n (%)	10 (21,7)	9 (28,1)	8 (28,6)	4 (8)	p _{РА-К} = 0,047 p _{СКВ-К} = 0,038 p _{АС-К} = 0,015

Снижение овариаьного резерва n (%)	15 (32,6)	14 (43,8)	8 (28,6)	4(8)	$p_{PA-K} = 0,003$ $p_{СКВ-K} = 0,001$ $p_{АС-K} = 0,016$
------------------------------------	-----------	-----------	----------	------	---

В этой и других таблицах: НД – не достоверно; $p_{РА-K}$ – для больных РА и группы контроля; $p_{СКВ-K}$ – для больных СКВ и группы контроля; $p_{АС-K}$ – для больных АС и группы контроля.

Длительность бесплодия была сопоставима во всех группах и в среднем составила для пациенток с РА- 3 года, СКВ- 5 лет и АС- 3,5 года; медиана длительности бесплодия в группе контроля составила 4,5 года. Первичное и вторичное бесплодие встречались с одинаковой частотой во всех сравниваемых группах; не было выявлено и существенных различий в преобладании трубно-перитонеального, мужского или эндокринного факторов бесплодия. Однако было выявлено значимое превалирование бесплодия неясного генеза среди пациенток основной группы. Так, бесплодие неясного генеза встречалось в 21,7% случаев больных РА, в 28,1% - больных СКВ, у 28,6% пациенток с АС и лишь в 8% случаев соматически здоровых женщин ($p_{РА-К}=0,047$, $p_{СКВ-К}=0,038$, $p_{АС-К}=0,015$).

В основной группе существенно преобладала 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 ($p_{РА-К}= 0,003$, $p_{СКВ-К}=0,001$, $p_{АС-К}=0,016$).

В структуре гинекологической патологии между пациентками основной и контрольной групп статистически значимых различий выявлено не было. Функциональные кисты яичников у больных ИВРЗ встречалась несколько чаще, чем у пациенток контрольной группы ($p>0,05$), и относительно чаще – у пациенток с СКВ (в 12,5% против 8%, $p=0,09$), что может быть обусловлено сниженными показателями овариального резерва (таб. 5).

Структура гинекологических заболеваний больных ИВРЗ и группы контроля

Показатель	РА, n=46 n (%)	СКВ, n=32 n (%)	АС, n=28 n(%)	Группа контроля, n=50 n (%)	p
Патология шейки матки	3 (6,5)	3 (9,3)	2 (7,1)	3 (6)	нд
Хронический сальпингоофорит	12 (26)	10 (31,3)	6 (21,4)	14 (28)	нд
Гидросальпинкс	3 (6,5)	2 (6,3)	2 (7,1)	3 (6)	нд
Миома матки	5 (10,9)	5 (15,6)	3 (10,7)	6 (12)	нд
Наружный генитальный эндометриоз	6 (13)	6 (18,8)	4 (14,3)	8 (16)	нд
Киста яичника	5 (10,9)	4 (12,5)	3 (10,7)	4 (8)	нд

Оперативные вмешательства на органах малого таза были выполнены статистически значимо чаще в группе контроля, а именно: у 31 из 50 (62%) пациенток против 32,6% больных РА, 31,3% больных СКВ и 25% больных АС ($p_{РА-К}=0,003$, $p_{СКВ-К}=0,045$, $p_{АС-К}=0,017$). В структуре объема оперативных вмешательств в сравниваемых группах одинаково часто встречались сальпингоовариолизис, коагуляция очагов наружного генитального эндометриоза, тубэктомия, миомэктомия и пластика маточных труб. Однако операции на яичниках проводились значимо чаще среди пациенток группы контроля: 28% против 10,8% в группе больных РА, 9,3% у больных СКВ и 10,7% у больных АС ($p_{РА-К}=0,046$, $p_{СКВ-К}=0,038$, $p_{АС-К}=0,042$) (таб 6).

Гистероскопия была выполнена с одинаковой частотой у пациенток основной и контрольной групп. Значимой разницы в структуре выявленной патологии (полип эндометрия, гиперплазия эндометрия и хронический эндометрит) в группах показано не было.

Объем оперативных вмешательств больных ИВРЗ и группы контроля

Показатель	РА, n=46 n (%)	СКВ, n=32 n (%)	АС, n=28 n(%)	Группа контроля, n=50 n (%)	p
Сальпингоовариолизис	6 (13)	5 (15,6)	4 (14,3)	10 (20)	нд
Пластика маточных труб	-	-	-	1(2)	нд
Тубэктомия	4 (8,6)	3 (9,3)	4 (14,3)	8 (16)	нд
Операции на яичниках (резекция, диатермокоагуляция, овариоэктомия)	5 (10,8)	3 (9,3)	3 (10,7)	14 (28)	$p_{РА-К} = \mathbf{0,046}$ $p_{СКВ-К} = \mathbf{0,038}$ $p_{АС-К} = \mathbf{0,042}$
Миомэктомия	3(6,5)	4(12,5)	3(10,7)	4 (8)	нд
Коагуляция очагов эндометриоза	6 (13)	6 (18,8)	4 (14,3)	9 (18)	нд
Всего пациенток с оперативным вмешательством	15 (32,6)	10 (31,3)	7 (25)	31 (62)	$p_{РА-К} = \mathbf{0,003}$ $p_{СКВ-К} = \mathbf{0,045}$ $p_{АС-К} = \mathbf{0,017}$

Соматические заболевания в анамнезе больных сравниваемых групп, не связанные с течением основного заболевания, на момент включения пациенток в исследование находились в стадии ремиссии и не являлись противопоказанием для проведения программ ВРТ, наступления и вынашивания беременности. При анализе частоты встречаемости хронической соматической патологии не было выявлено значимых различий между исследуемыми группами (таб. 7).

Структура экстрагенитальных заболеваний больных ИВРЗ и группы контроля

Показатель	РА, n=46 n (%)	СКВ, n=32 n (%)	АС, n=28 n(%)	Группа контроля, n=50 n (%)	p
Детские инфекции	41 (89,1)	28 (87,5)	24 (85,7)	44 (88)	нд
Артериальная гипертензия	3 (6,5)	2 (6,3)	2 (7,1)	4 (18)	нд
Хронический бронхит	1 (2,2)	1 (3,1)	1 (3,5)	2 (4)	нд
Хронический гастрит	18 (39,1)	12 (37,5)	12 (42,8)	18 (36)	нд
Хронический пиелонефрит	2 (4,3)	2 (6,2)	2 (7,1)	3 (6)	нд
Хронический цистит	3 (6,5)	2 (6,2)	2 (7,1)	3 (6)	нд
Аутоиммунный тиреоидит	5 (10,9)	4 (12,5)	4 (14,3)	6 (12)	нд
Миопия различной степени	6 (13)	5 (15,6)	5 (17,8)	8 (16)	нд

Оценка показателей гормонального профиля пациенток с ИВРЗ приведена в Таблице 8, из которой следует, что концентрация АМГ была существенно ниже у больных ИВРЗ по сравнению с группой контроля: при РА - 1,8 против 2,73 нг/мл ($p=0,013$), СКВ - 1,3 нг/мл ($p=0,018$) и АС 1,45 нг/мл ($p=0,021$). Уровни ФСГ были значимо выше у больных ИВРЗ по сравнению со здоровыми женщинами: 7,4 против 6,3 МЕ/л ($p=0,009$) у больных РА, 7,8 против 6,1 МЕ/л ($p=0,011$) у больных СКВ, и 7,6 против 6,1 МЕ/л ($p=0,017$) у пациенток с АС. Значимых различий в уровнях ЛГ и E_2 выявлено не было.

Показатели гормонального профиля больных ИВРЗ и группы контроля

Показатель	РА, n=46	СКВ, n=32	АС, n=28	Группа контроля, n=50	р
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]	$p_{РА-К} = \mathbf{0,009}$ $p_{СКВ-К} = \mathbf{0,011}$ $p_{АС-К} = \mathbf{0,017}$
ЛГ Me [Q1;Q3] мМЕ/л	5,5 [4-7,7]	5,4 [4,2-7,3]	5,6 [4,2-7,9]	5,1 [3,4-6,7]	нд
Е2 Me [Q1;Q3] пмоль/л	137,5 [77,6-211,3]	129,5 [75,4-210,5]	146,0 [77,6-231,2]	160,0[107-202]	нд

Таким образом, изучение клинико-анамнестических данных и лабораторных параметров женщин с ИВРЗ позволило установить, что женщины с РА, СКВ и АС и контрольной групп были сопоставимы по возрасту и длительности бесплодия. Первичное и вторичное бесплодие встречалось с одинаковой частотой в сравниваемых группах. Не было выявлено значимой разницы в структуре гинекологической патологии между группами. Число самостоятельных беременностей и родов в анамнезе у пациенток с вторичным бесплодием было значимо ниже в группе пациенток с РА и АС. В группе больных СКВ число самостоятельных беременностей у пациенток с вторичным бесплодием оказалось сопоставимым с показателями соматически здоровых женщин, однако в этой группе было выявлено меньшее число родов и большее число ранних репродуктивных потерь. Существенных различий в распространенности трубно-перитонеального и мужского факторов бесплодия в группах установлено не было. Среди пациенток основной группы преобладало бесплодие неясной этиологии. Показатель АМГ оказался значимо ниже у пациенток основной группы чем у соматически здоровых женщин с бесплодием, и доля пациенток со снижением овариального резерва превалировала у больных ИВРЗ.

3.2. Оценка уровней антинуклеарных и антиовариальных антител в сыворотке крови и фолликулярной жидкости пациенток с ИВРЗ

Наличие АНА и антител к экстрагируемым ядерным антигенам является патогномичным для ИВРЗ. При этом роль АНА в генезе нарушений репродуктивной функции до конца не установлена. По некоторым данным существует взаимосвязь циркулирующих АНА с бесплодием неясного генеза и со сниженными показателями результативности программы ЭКО. Необходимость определения SSA/Ro и SSB/La антител обусловлена повторными потерями беременности, ассоциированными с высокой позитивностью данных антител, в том числе у больных с сопутствующим синдромом Шегрена. В свою очередь наличие органоспецифических антиовариальных антител и антител к zona pellucida при различных аутоиммунных патологиях часто рассматриваются в контексте так называемого аутоиммунного оофорита, который вносит весомый вклад в развитие аутоиммунного бесплодия.

Исследование профиля аутоантител в сыворотке крови и фолликулярной жидкости было проведено у женщин, прошедших программу ЭКО: 22 пациенток с ИВРЗ: 5 (22,7%) с РА, 11 (50%) с СКВ и 6 (27,3%) с АС; и 25 соматически здоровых женщин группы контроля, подходящих по возрасту, длительности и структуре бесплодия.

Пациентки с ИВРЗ и соматически здоровые женщины группы контроля были сопоставимы по возрасту (Me 34 и 34 лет; $p=0,634$) и длительности бесплодия (Me 4 и 4,5 года; $p=0,312$); распространенности первичного (54,5% и 56%) и вторичного (45,5% и 44%) бесплодия ($p=0,768$). ИМТ (Me 21 и 21,5 кг/м², $p=0,826$), возраст менархе (Me 11,9 и 12,3 лет, $p=0,792$) и число самостоятельных беременностей (от 1 до 4) в анамнезе у пациенток с вторичным бесплодием ($p=0,673$) в обеих группах также было сопоставимым. Существенных различий в преобладании трубно-перитонеального (22,7% и 24%, $p=0,517$) мужского (31,8% и 36%, $p=0,679$) или эндокринного (9,2% и 16%, $p=0,324$) факторов бесплодия в группах выявлено не было, однако

имелось значимое различие в частоте бесплодия неясного генеза, которое преобладало среди пациенток с ИВРЗ (36,3% и 12%, $p=0,018$), как и доля пациенток со снижением овариального резерва (АМГ менее 1,0 нг/мл) (27,3% и 4%, $p=0,025$) (таб. 9).

Таблица 9

Клинико-анамнестическая характеристика пациенток с ИВРЗ и группы контроля, которым производилась оценка уровня аутоантител

Параметры	ИВРЗ n=22	Группа контроля n=25	p
Возраст больных Me [Q1;Q3] лет	34 [32;38]	34 [33;38]	0,634
ИМТ Me [Q1;Q3] кг/м ²	21 [20,3;23,4]	21,5 [20,8;23,8]	0,826
Возраст менархе Me [Q1;Q3] лет	11,9 [11,2;13]	12,3 [11,7;13,2]	0,792
Длительность бесплодия Me [Q1;Q3] лет	4 (2;6)	4,5 (2;8,5)	0,312
Первичное бесплодие, n (%)	12 (54,5)	14 (56)	0,768
Вторичное бесплодие, n (%)	10 (45,5)	11 (44)	
Трубно-перитонеальный фактор, n (%)	5 (22,7)	8 (32)	0,517
Мужской фактор, n (%)	7 (31,8)	10 (40)	0,679
Эндокринный фактор, n (%)	2 (9,2)	4 (16)	0,324
Бесплодие неясного генеза, n (%)	8 (36,3)	3 (12)	0,018
Снижение овариального резерва, n (%)	6 (27,3)	1 (4)	0,025

У 10 из 11 пациенток с СКВ был использован модифицированный клинико-эмбриологический протокол; у остальных 12 больных ИВРЗ и всех 25-ти женщин контрольной группы применялся стандартный протокол овариальной стимуляции с антГнРГ.

Сравнение параметров стимулированного цикла у пациенток с ИВРЗ и группы контроля не выявило существенных различий в стартовой дозе гонадотропинов (225 [155,5;300] МЕ и 225[225;225] МЕ, $p=0,087$), но суммарная доза гонадотропинов у пациенток основной группы была ниже (1500 [1150;2175] МЕ против 2100 [1750;2250] МЕ в группе контроля, $p=0,017$), и стимуляция у них была менее продолжительная (8 [7;10] против 10 [9;10] дней в контрольной группе, $p=0,082$), что было обусловлено применением модифицированного клинического протокола у части больных основной группы.

Забор крови и фолликулярной жидкости производился однократно в день трансвагинальной пункции яичников. Оценка уровня антинуклеарных и антиовариальных антител в сыворотке крови и фолликулярной жидкости пациенток была проведена на основе установленных показателей (см. Глава 2. Материал и методы исследования, раздел 2.3.1).

3.2.1. Оценка уровней антинуклеарных антител у пациенток с ИВРЗ

При оценке показателей в сыворотке крови было выявлено, что средняя концентрация АНА среди пациенток основной группы составила 1,2 [0,5;2,2] Ед, что значительно превышало соответствующий показатель среди пациенток группы контроля, который составил 0,4 [0,3;2,5] Ед, $p < 0,001$. Показатели как SSA/Ro так и SSB/La антител также были значительно выше у пациенток основной группы. Так, 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, $p = 0,045$ (таб. 10).

Таблица 10

Уровни антинуклеарных антител в сыворотке крови у пациенток с ИВРЗ и группы контроля

Антинуклеарные антитела	ИВРЗ n=22	Группа контроля n=25	p
АНА Ме [Q1;Q3] Ед	1,2 [0,5;2,2]	0,4 [0,3;0,5]	<0,001
SSA/Ro Ме [Q1;Q3] МЕ/мл	7,0 [3,2;33,1]	3,7 [3,3;4,3]	0,015
SSB/La Ме [Q1;Q3] МЕ/мл	4,2 [3,0;5,0]	3,0 [2,0;3,7]	0,045

Позитивные АНА были обнаружены у 12 (54,5%) пациенток основной группы и ни у одной (0%) пациентки группы контроля ($p < 0,001$). Среди женщин основной группы также преобладала доля пациенток с наличием сывороточных SSA/Ro антител: 7 (31,8%) против 0% в группе контроля, $p = 0,002$; и SSB/La антител: 3 (13,6%,) против 0% в группе контроля, $p = 0,028$.

При оценке данных показателей в фолликулярной жидкости была выявлена значительно более высокая концентрация АНА среди пациенток основной группы, которая составила 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 ($p>0,05$) (таб. 11).

Таблица 11

Уровни антинуклеарных антител в фолликулярной жидкости пациенток с ИВРЗ и группы контроля

Антинуклеарные антитела	ИВРЗ n=22	Группа контроля n=25	p
АНА Me [Q1;Q3] Ед	1,1 [0,8;1,8]	0,6 [0,5;0,8]	0,0015
SSA/Ro Me [Q1;Q3] МЕ/мл	9,2 [4,7;23,8]	7,2 [5,3;9,1]	0,223
SSB/La Me [Q1;Q3] МЕ/мл	6,6 [3,9;10,8]	4,8 [3,5;8,4]	0,521

Позитивные АНА были обнаружены в фолликулярной жидкости у 11 (50%) пациенток основной группы и ни у одной (0%) пациентки группы контроля $p<0,001$. Среди женщин основной группы также преобладала доля пациенток с наличием в фолликулярной жидкости SSA/Ro антител: 7 (31,8%) против 0% в группе контроля, $p=0,014$; и SSB/La антител: 4 (18,2%) против 0% в группе контроля, $p=0,031$.

С целью уточнения влияния основного заболевания на показатели концентрации антинуклеарных антител в сыворотке крови и фолликулярной жидкости основная группа была разделена на подгруппы согласно нозологиям. Первую подгруппу составили 5 больных РА, вторую - 11 больных СКВ с/без АФС, третью - 6 больных АС. Каждая подгруппа была сравнена с основной группой по уровню антинуклеарных антител в сыворотке крови и фолликулярной жидкости (таб. 12 и таб. 13).

Таблица 12

Уровни антинуклеарных антител в сыворотке крови у пациенток с ИВРЗ (по нозологиям) и группы контроля

Антинуклеарные антитела	РА n=5	СКВ n=11	АС n=6	Группа контроля n=25	р
АНА Me [Q1;Q3] Ед	1,2 [0,5;1,4]	1,4 [0,8;4,4]	0,8 [0,4;1,2]	0,4 [0,3;0,5]	$p_{РА-К}=0,076$ $p_{СКВ-К}=\mathbf{0,001}$ $p_{АС-К}=0,154$
SSA/Ro Me [Q1;Q3] МЕ/мл	7,0 [3,8;14,2]	13,8 [4,2;34,8]	3,2 [2,7;10,3]	3,7 [3,3;4,3]	$p_{РА-К}=0,133$ $p_{СКВ-К}=\mathbf{0,009}$ $p_{АС-К}=0,559$
SSB/La Me [Q1;Q3] МЕ/мл	4,2 [3,4;4,7]	4,4 [3,1;32,1]	2,8 [1,8;4,2]	3,0 [2,0;3,7]	$p_{РА-К}=0,079$ $p_{СКВ-К}=\mathbf{0,018}$ $p_{АС-К}=0,764$

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

Было установлено, что пациентки с СКВ имели существенно более высокие уровни сывороточных АНА (1,4 [0,8;4,4] Ед против 0,4 [0,3;0,5] Ед, $p=0,001$), SSA/Ro (13,8 [4,2;34,8] МЕ/мл против 3,7 [3,3;4,3] МЕ/мл, $p=0,009$) и SSB/La (4,4 [3,1;32,1] МЕ/мл против 3,0 [2,0;3,7] МЕ/мл, $p=0,018$) антител по сравнению с пациентками группы контроля.

Следует отметить, что среди больных СКВ позитивные АНА в сыворотке встречались у 7 (63,6%) пациенток, Me для них составила 3,7 [1,8;4,9] Ед; среди больных РА позитивные АНА встречались в 3 (60%) случаях, Me для них составила 1,4 [1,4;3,2] Ед; а среди больных АС - только у одной пациентки (16,7%), значение показателя составило 1,6 Ед. Позитивные SSA/Ro и SSB/La антитела в сыворотке также значимо чаще определялись у больных СКВ: SSA/Ro у 5 (45,5%) пациенток, Me составила 314,8 [102,6;436,2] МЕ/мл; и SSB/La у 3 (27,3%), Me составила 173,3 [102,7;230,9] МЕ/мл. У больных РА позитивные SSA/Ro антитела определялись только у одной пациентки (20%), значение показателя составило 198,4 МЕ/мл; позитивные SSB/La антитела не определялись. У больных АС позитивные SSA/Ro

антитела также определялись только у одной пациентки (16,7%), значение показателя составило 130,3 МЕ/мл; позитивные SSB/La антитела не определялись.

Таблица 13

Уровни антинуклеарных антител в фолликулярной жидкости у пациенток с ИВРЗ (по нозологиям) и группы контроля

Антинуклеарные антитела	РА n=5	СКВ n=11	АС n=6	Группа контроля n=25	p
АНА Ме [Q1;Q3] Ед	1,7 [0,8;1,8]	2,6 [1,3;3,5]	0,8 [0,7;1,0]	0,6 [0,5;0,8]	$p_{РА-К}=0,087$ $p_{СКВ-К}=\mathbf{0,001}$ $p_{АС-К}=0,567$
SSA/Ro Ме [Q1;Q3] МЕ/мл	7,2 [4,9;12,9]	12,4 [8,6;33,5]	5,4 [4,7;8,3]	7,2 [5,3;9,1]	$p_{РА-К}=0,337$ $p_{СКВ-К}=\mathbf{0,017}$ $p_{АС-К}=0,375$
SSB/La Ме [Q1;Q3] МЕ/мл	5,4 [3,6;10,8]	5,9 [3,9;25,5]	5,2 [1,9;6,9]	4,8 [3,5;8,4]	$p_{РА-К}=0,307$ $p_{СКВ-К}=0,387$ $p_{АС-К}=0,591$

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

Пациентки с СКВ имели существенно более высокие уровни АНА (2,6 [1,3;3,5] Ед против 0,6 [0,5;0,8] Ед, $p=0,001$) и SSA/Ro (12,4 [8,6;33,5] МЕ/мл против 7,2 [5,3;9,1] МЕ/мл, $p=0,017$) антител в фолликулярной жидкости по сравнению с пациентками группы контроля. При этом значимой разницы в концентрации АНА в фолликулярной жидкости между пациентками с РА, АС и контрольной группой установлено не было ($p>0,05$).

Следует отметить, что среди больных СКВ позитивные АНА в фолликулярной жидкости встречались у 7 (63,6%) пациенток, Ме для них составила 2,3 [1,4;4,5] Ед; среди больных РА позитивные АНА встречались в 3 (60%) случаях, Ме для них составила 1,8 [1,7;2,6] Ед; а среди больных АС - ни у одной пациентки (0%). Позитивные SSA/Ro и SSB/La антитела в фолликулярной жидкости также значимо чаще определялись у больных СКВ: SSA/Ro у 4 (36,4%) пациенток, Ме составила 299,8 [179,2;383,2] МЕ/мл; и SSB/La у 3 (27,3%), Ме составила 82,3 [53,9;225,6] МЕ/мл. У больных РА позитивные SSA/Ro антитела определялись только у одной пациентки (20%), значение показателя составило 43,9 МЕ/мл; позитивные SSB/La антитела не

определялись. У больных АС позитивные SSA/Ro и SSB/La в фолликулярной жидкости не определялись.

Таким образом, для всех пациенток с ИВРЗ были характерны значимо более высокие показатели АНА, SSA/Ro и SSB/La антител в сыворотке крови и АНА в фолликулярной жидкости. Для пациенток с СКВ ожидаемо были характерны существенно более высокие значения АНА, SSA/Ro и SSB/La антител в сыворотке крови, а также АНА и SSA/Ro антител в фолликулярной жидкости как по сравнению с группой контроля, так и по сравнению с больными РА и АС.

3.2.2. Оценка уровней антиовариальных антител у пациенток с ИВРЗ

Среди пациенток основной и контрольной групп не было выявлено значимой разницы в показателях антиовариальных антител и антител к *zona pellucida* ни в сыворотке крови, ни в фолликулярной жидкости. Все полученные данные в сравниваемых группах оказались в пределах нормативных значений. Более того, не было установлено разницы при сравнении показателей по нозологическим подгруппам даже в пределах референсных значений ($p > 0,05$) (таб. 14 и 15).

Таблица 14

Уровни антиовариальных антител в сыворотке крови у пациенток с ИВРЗ и группы контроля

Антиовариальные антитела	ИВРЗ n=22	РА n=5	СКВ n=11	АС n=6	Группа контроля n=25	p
Антиовариальные антитела Me [Q1;Q3] Ед/мл	2,9 [2,4;3,7]	3,3 [2,9;4,1]	3,0 [2,3;3,7]	2,7 [2,0;2,9]	2,7 [2,3;3,2]	$p_{РА-К}=0,112$ $p_{СКВ-К}=0,463$ $p_{АС-К}=0,548$
Антитела к <i>zona pellucida</i> Me [Q1;Q3] Ед	1,3 [1,1;1,5]	1,2 [1,1;1,5]	1,1 [0,9;1,2]	1,2 [1,0;1,6]	1,2 [1,0;1,5]	$p_{РА-К}=0,823$ $p_{СКВ-К}=0,117$ $p_{АС-К}=0,802$

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

Таблица 15

Уровни антиовариальных антител в фолликулярной жидкости у пациенток с ИВРЗ и группы контроля

Антиовариальные антитела	ИВРЗ n=22	РА n=5	СКВ n=11	АС n=6	Группа контроля n=25	р
Антиовариальные антитела Ме [Q1;Q3] Ед/мл	3,3 [2,7;4,5]	3,5 [3,5;4,5]	2,8 [1,7;4,6]	2,8 [2,7;3,5]	3,0 [2,4;4,1]	$p_{РА-К}=0,319$ $p_{СКВ-К}=0,846$ $p_{АС-К}=0,914$
Антитела к zona pellucida Ме [Q1;Q3] Ед	1,5 [1,3;1,6]	1,3 [1,3;1,6]	1,1 [0,9;1,5]	1,2 [1,2;1,5]	1,3 [1,1;1,6]	$p_{РА-К}=0,515$ $p_{СКВ-К}=0,618$ $p_{АС-К}=0,369$

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

Таким образом, существенной разницы в показателях антиовариальных антител между основной и контрольной группами, а также внутри основной группы в зависимости от нозологической принадлежности больных установлено не было; все показатели не превышали нормативных значений.

3.3. Влияние иммуносупрессивной терапии ИВРЗ на состояние овариального резерва. Возможности и показания для сохранения генетического материала у женщин с ИВРЗ

С целью анализа влияния терапии основного заболевания на показатели овариального резерва все женщины основной группы были разделены согласно их нозологической принадлежности (РА, СКВ и АС) и применению отдельных препаратов (МТ, ЦФ и ССЗ).

3.3.1. Влияние терапии метотрексатом на состояние овариального резерва у больных РА

С целью уточнения влияния терапии метотрексатом (МТ) на показатели овариального резерва, определенного по значению АМГ, группа больных РА была разделена на две подгруппы. Первую подгруппу составили 26 пациенток с бесплодием, которые получали терапию МТ (группа 1а), вторую - 20 пациенток с бесплодием, не получавших МТ (группа 1б). Обе подгруппы были сопоставимы по возрасту, длительности и степени активности заболевания. Среди пациенток первой подгруппы 15 (57,7%) женщин применяли препарат перорально, 11 (42,3%) – подкожно или внутримышечно в дозе от 10 до 25 мг/нед. Медиана дозы МТ составила 15 [15;20] мг/нед, длительности терапии МТ к дню включения в исследование - 18,7 [1;15] месяцев.

При анализе лабораторных показателей было установлено, что средняя концентрация АМГ у пациенток в подгруппе 1а составила 1,87 (1,4;2,9) нг/мл, а у пациенток в подгруппе 1б - 1,37 (0,8;3,3) нг/мл. Статистически значимых различий в показателях АМГ двух подгрупп не было выявлено ($p_{1-2}=0,588$). Уровень АМГ больных РА, как получавших, так и не получавших МТ, был статистически значимо ниже чем у пациенток группы контроля ($p_{1-к}=0,034$ и $p_{2-к}=0,029$). Сравнительная оценка уровня АМГ в зависимости от использования МТ представлена в Таблице 16.

Таблица 16

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	р
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.

Показатель АМГ ниже 1,0 нг/мл был выявлен у 7 из 26 (26,9%) больных РА, получавших МТ, и у 8 из 20 (40%) пациенток, не получавших препарат; при этом не было зафиксировано значимого различия данных показателей ($\chi^2=0,876, p=0,349$).

С целью определения снижения овариального резерва в зависимости от наличия основного заболевания и приема МТ было рассчитано отношение шансов (ОШ) и 95% ДИ для него (таб. 17).

Таблица 17

Снижение овариального резерва пациенток с РА и группы контроля

Группа больных	Число больных n	Частота снижения АМГ n/%	ОШ [ДИ 95%]	р
РА	46	15/ 32,6%	5,56 [1,68; 18,36]	0,001
РА МТХ (+)	26	7/ 26,9%	4,03 [1,06; 15,33]	0,0314
РА МТХ (-)	20	8/ 40%	8,36 [2,12; 33,12]	0,030
Группа контроля	50	4/ 8%		

ОШ [ДИ 95%] было рассчитано между представленными подгруппами и контрольной группой соответственно.

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), $p=0,001$. В группе пациенток с РА снижение овариального резерва выявлялось как у больных, принимавших МТ (7/26(26,9%)), так и больных не принимавших препарат (8/20(40%)). 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, не получавшие МТ, имели более высокий риск развития овариальной недостаточности по сравнению с больными, получавшими препарат.

Следует отметить, что в результате проведения сравнительного анализа статистически значимых корреляций между показателями АМГ и степенью активности заболевания, а также дозой и длительностью приема МТХ показано не было ($p>0,05$).

Учитывая, что уровень АМГ в сыворотке крови снижается с возрастом, для более детального изучения влияния МТ на состояние овариального резерва была проведена оценка уровня АМГ в выделенных подгруппах, а также во всей группе больных РА в возрастном аспекте. Корреляционный анализ зависимости уровня АМГ от возраста пациенток с РА (пациентки были сопоставимы по возрасту во всех сравниваемых группах) показал наиболее выраженное снижение АМГ в подгруппе пациенток, принимавших МТ по сравнению с подгруппой больных РА, не получавших МТ и по сравнению со всеми пациентками с РА независимо от получаемой терапии ($r_s=-0,563$) ($p<0,05$). (Рис. 6а, 6б и 6в).

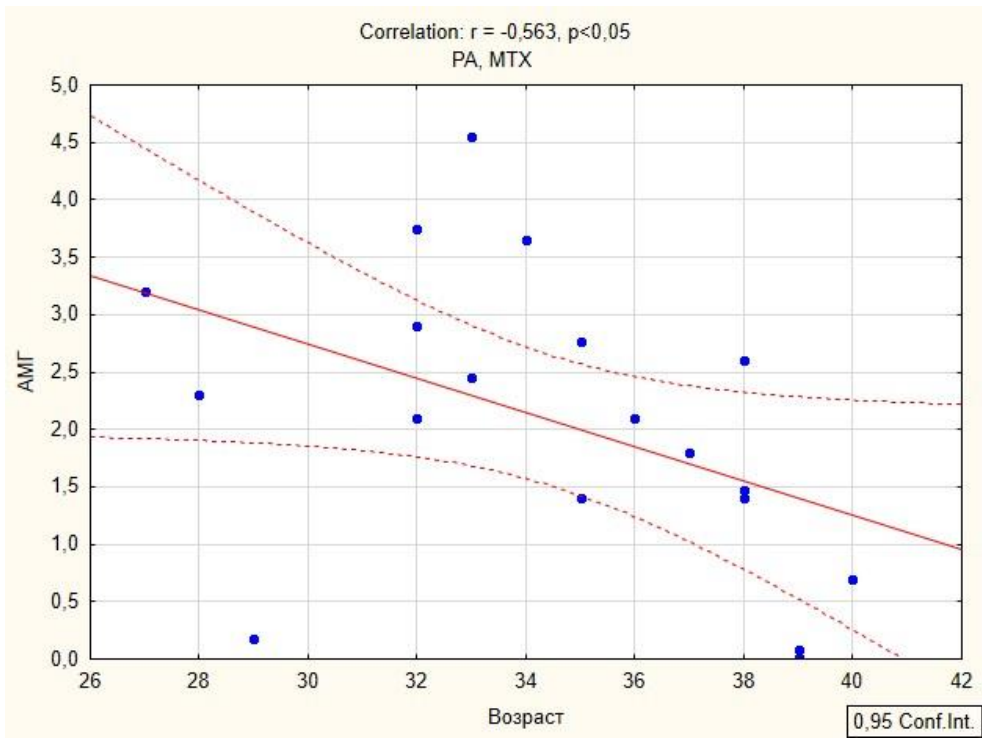


Рисунок 6а. Корреляция АМГ и возраста пациенток, получавших МТ

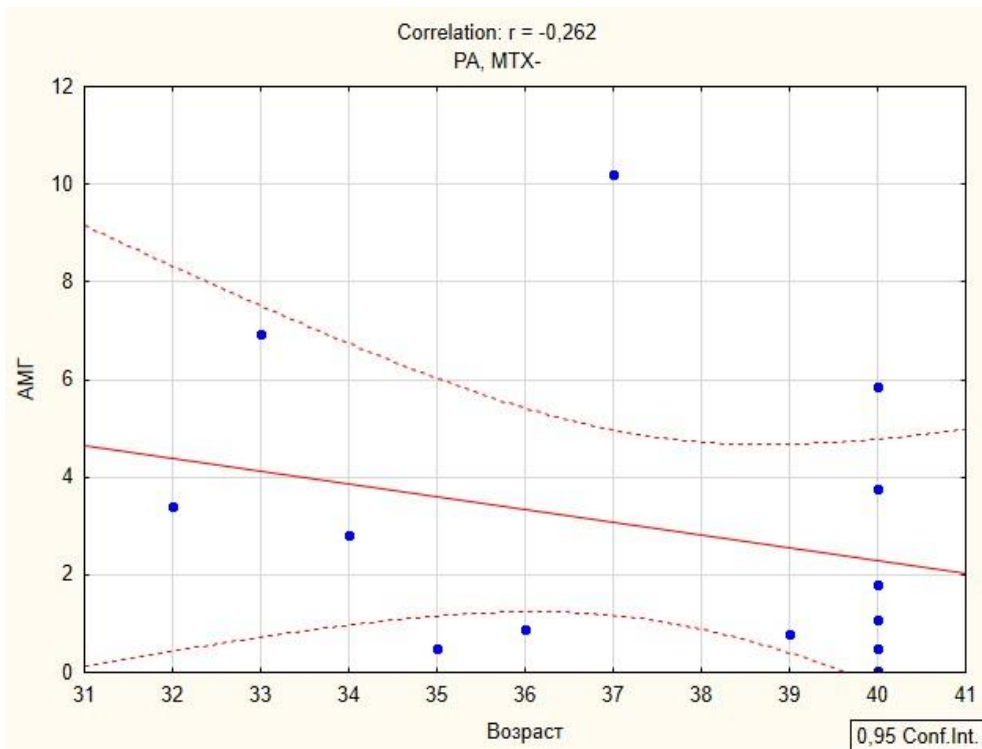


Рисунок 6б. Корреляция АМГ и возраста пациенток, не получавших МТ.

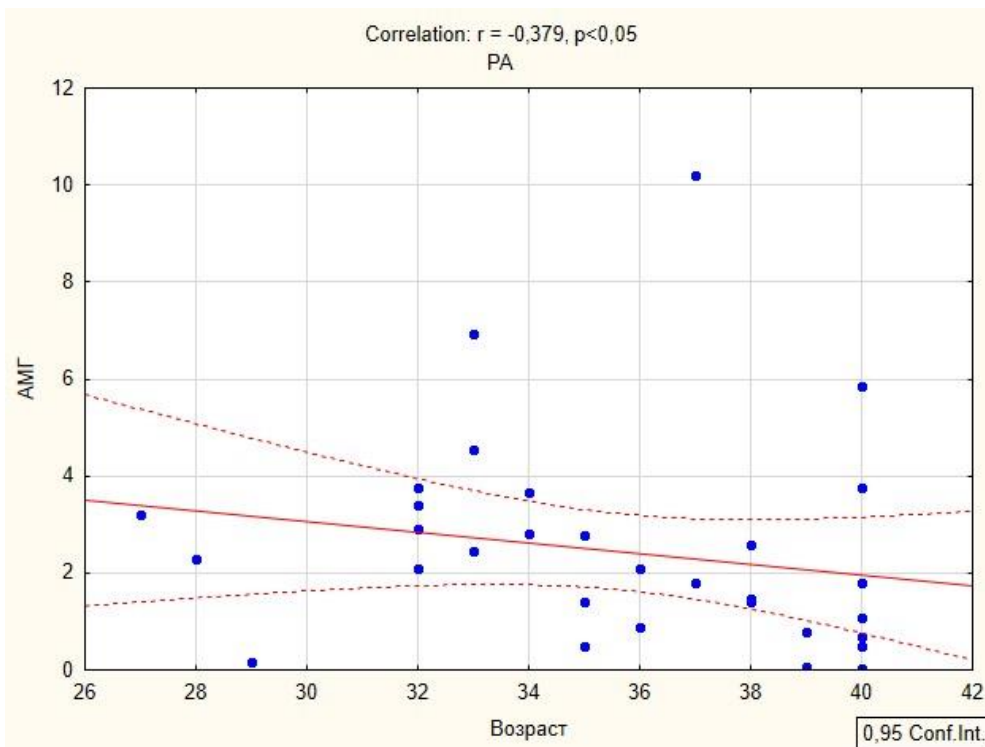


Рисунок бв. Корреляция АМГ и возраста пациенток с РА, независимо от получаемой терапии.

Была отмечена слабая отрицательная корреляция значения АМГ с возрастом начала терапии МТ ($r_s = -0,459$), ($p < 0,05$). (Рис. 7).

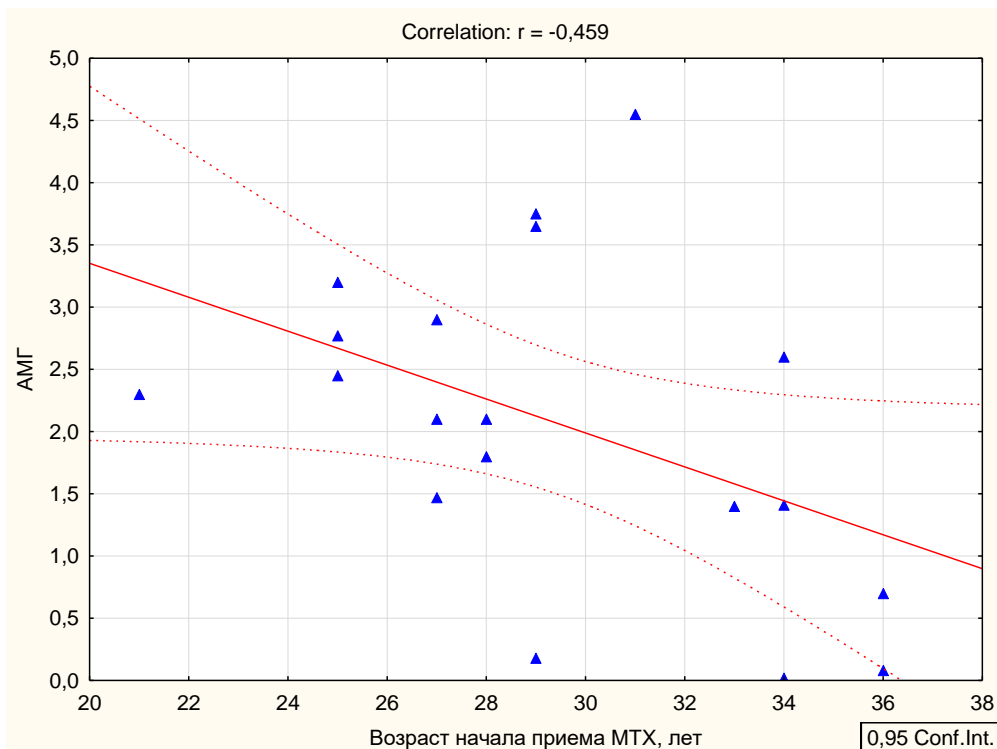


Рисунок 7. Корреляция АМГ и возраста начала приема МТ.

Таким образом, средний уровень АМГ пациенток с РА, как получавших, так и не получавших терапию МТ, был значимо ниже уровня АМГ пациенток контрольной группы. Более выраженное снижение уровня гормона было отмечено у пациенток с РА, не получавших МТ. У пациенток с РА, не получавших МТ, чаще наблюдалось снижение овариального резерва как по сравнению с пациентками группы контроля, так и по сравнению с больными, принимавшими препарат. Однако возрастное снижение АМГ было более выражено у больных с терапией МТ в анамнезе.

3.3.2. Влияние терапии циклофосфамидом на состояние овариального резерва у больных СКВ

С целью уточнения влияния терапии циклофосфамидом (ЦФ) на показатели овариального резерва, определенного по значению АМГ, группа больных СКВ была разделена на две подгруппы. Первую подгруппу (группа 2а) составили 11 пациенток с СКВ, которые получали терапию ЦФ. Вторую подгруппу (группа 2б) составила 21 пациентка с СКВ, не получавших ЦФ в анамнезе. Все пациентки первой подгруппы получали препарат в связи с манифестацией волчаночного нефрита внутривенно по схеме пульс-терапии с преднизолоном. Средняя суммарная доза ЦФ составила 5г, средняя длительности терапии ЦФ к дню включения в исследование - 8 [5;12] месяцев. При анализе лабораторных показателей было установлено, что средняя концентрация АМГ в подгруппе 2а составила 0,8 [0,5;1,2] нг/мл, а в подгруппе 2б - 1,8 (0,8;2,7) нг/мл; и значение уровня АМГ пациенток с СКВ, получавших ЦФ, было статистически значимо ниже значения уровня гормона пациенток с СКВ, не получавших ЦФ ($p_{2a-2б}=0,041$). Уровень АМГ больных СКВ, как получавших, так и не получавших ЦФ, был статистически значимо ниже чем у пациенток контрольной группы ($p_{2a-к}=0,001$ и $p_{2б-к}=0,014$). Сравнительная оценка уровня АМГ в зависимости от использования ЦФ представлена в Таблице 18.

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	р
АМГ Me [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.

Показатель АМГ ниже 1,0 нг/мл был выявлен у 8 из 11 (72,7%) больных СКВ, получавших ЦФ, и у 6 из 21 (28,5%) пациенток, не получавших препарат, то есть снижение овариального значимо чаще встречалось у больных, получавших ЦФ: 72,7% против 28,5%, $\chi^2=5,842$, p=0,016.

С целью определения снижения овариального резерва в зависимости от наличия основного заболевания и приема ЦФ было рассчитано отношение шансов (ОШ) и 95% ДИ для него (таб. 19).

Таблица 19

Снижение овариального резерва пациенток с СКВ и группы сравнения

Группа больных	Число больных n	Частота снижения АМГ n/%	ОШ [ДИ 95%]	р
СКВ	32	14/ 43,8%	8,94 [2,61; 30,88]	0,020
СКВ ЦФ (+)	11	8/ 72,7%	30,67 [5,81; 162,39]	0,017
СКВ ЦФ (-)	21	6/ 28,5%	9,86 [2,23; 43,82]	0,010
Группа контроля	50	4/ 8%		

ОШ [ДИ 95%] было рассчитано между представленными подгруппами и контрольной группой соответственно.

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. В группе пациенток с СКВ снижение овариального

резерва существенно чаще выявлялось как у больных, принимавших ЦФ (8/11(72,7%)), так и больных не принимавших препарат (6/21(28,5%)). 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, больные СКВ, получавшие ЦФ, имели более высокий риск развития овариальной недостаточности по сравнению с больными, не получавшими препарат.

Для более детального изучения влияния ЦФ на состояние овариального резерва была проведена оценка уровня АМГ в выделенных подгруппах, а также во всей группе больных СКВ в возрастном аспекте. Корреляционный анализ зависимости уровня АМГ от возраста пациенток с СКВ (пациентки были сопоставимы по возрасту во всех сравниваемых группах) показал наиболее выраженное снижение АМГ в подгруппе пациенток, принимавших ЦФ по сравнению с подгруппой больных СКВ, не получавших ЦФ и по сравнению со всеми пациентками с СКВ независимо от получаемой терапии ($r_s = -0,653$) ($p < 0,05$). (Рис. 8а, 8б и 8в).

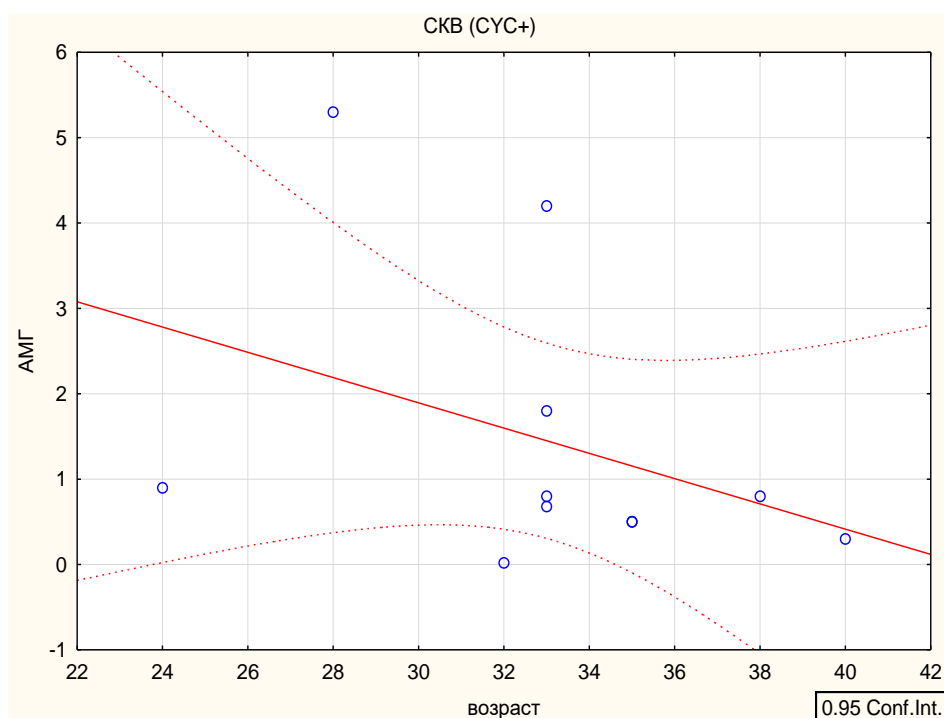


Рисунок 8а. Корреляция АМГ и возраста пациенток, получавших ЦФ

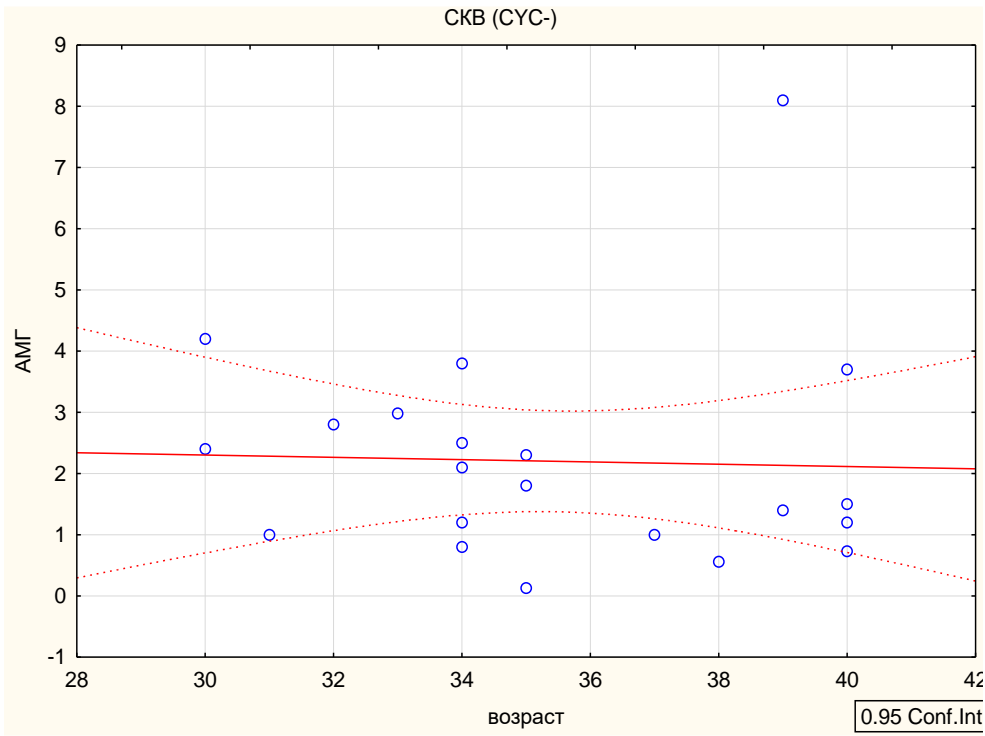


Рисунок 8б. Корреляция АМГ и возраста пациенток, не получавших ЦФ

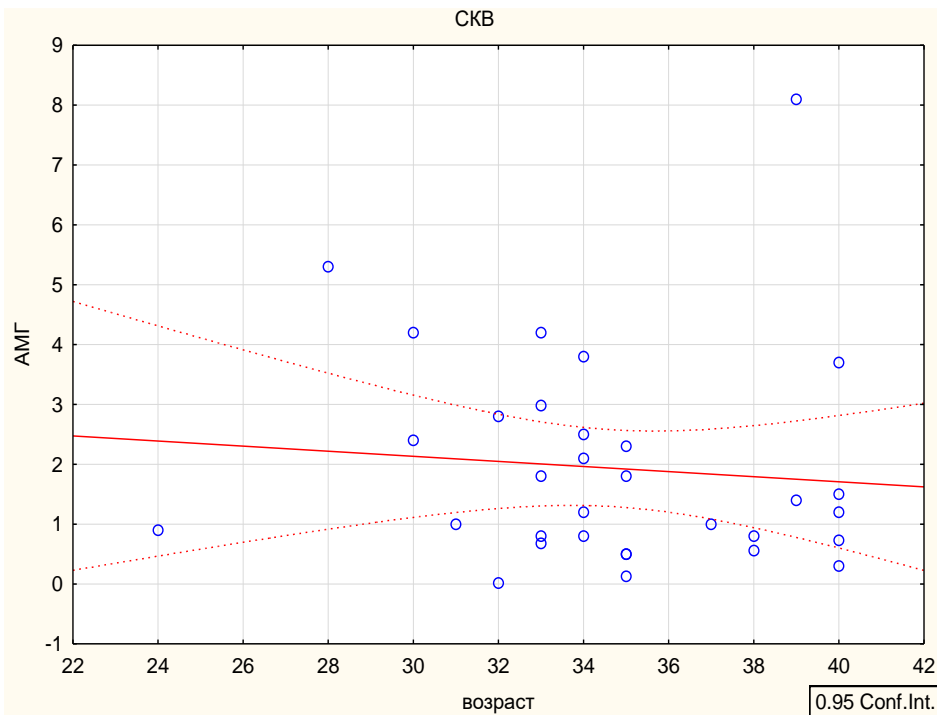


Рисунок 8в. Корреляция АМГ и возраста пациенток с СКВ, независимо от получаемой терапии.

Была отмечена сильная отрицательная корреляция значения АМГ с возрастом начала терапии ЦФ ($r_s = -0,723$), ($p < 0,05$). (Рис. 9).

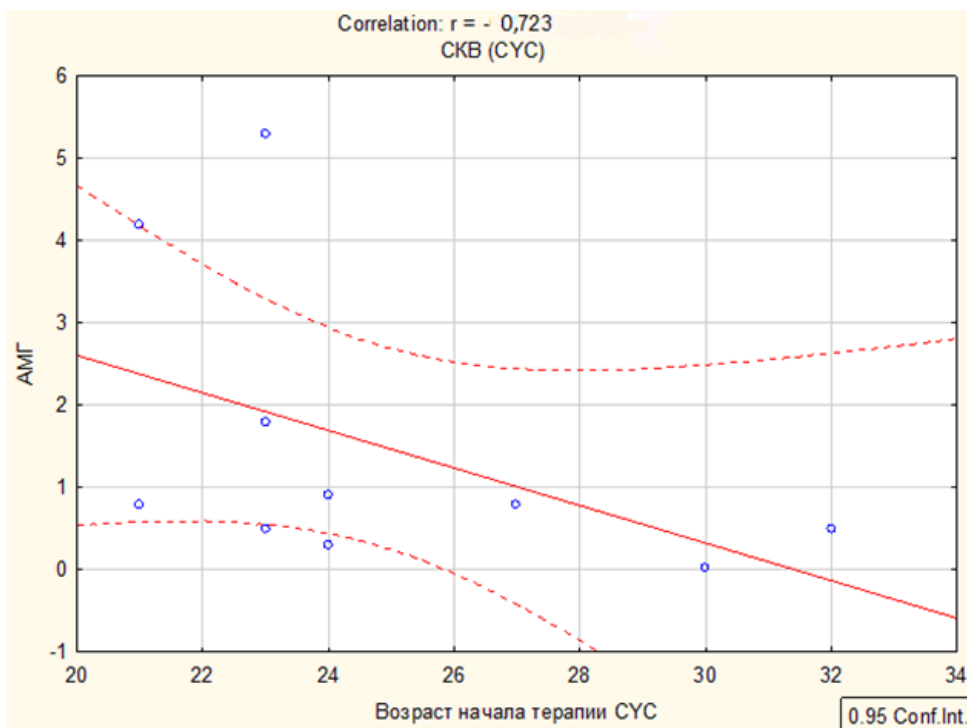


Рисунок 9. Корреляция АМГ и возраста начала приема ЦФ.

Таким образом, средний уровень АМГ пациенток с СКВ, как получавших, так и не получавших терапию ЦФ, был значимо ниже уровня АМГ пациенток контрольной группы. 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. Среди пациенток с СКВ и терапией ЦФ в анамнезе статистически значимо чаще наблюдалась снижение овариального резерва по сравнению с пациентками группы контроля. Также у пациенток с СКВ, получавших ЦФ, было отмечено более выраженное снижение АМГ с возрастом.

Обобщая полученные данные, следует подчеркнуть, что само наличие ИВРЗ (РА и СКВ) обуславливает снижение АМГ у этого контингента больных, а назначение цитотоксической терапии (МТ и ЦФ) определяет повышенный риск развития яичниковой недостаточности. Гонадотоксическое действие ЦФ значительно более выражено, чем МТ при длительности лечения этими препаратами до одного - полутора лет.

3.3.3. Влияние терапии сульфасалазином на состояние овариального резерва у больных АС

С целью уточнения влияния терапии сульфасалазином (ССЗ) на показатели овариального резерва, определенного по значению АМГ, основная группа больных АС была разделена на две подгруппы. Подгруппу группа 3а составили 16 пациенток с АС, которые получали терапию ССЗ от 12 до 60 месяцев, из них – 6 пациенток на момент включения в исследование. Медиана дозы ССЗ составила 1,25 [0,5;2,0] г/сут, длительности терапии к дню включения в исследование - 10,5 [6;18] месяцев. Подгруппу 3б составили 12 пациенток с АС, не получавших ССЗ. Четыре из 46 пациенток с РА также принимали ССЗ, однако длительность приема препарата не превышала 3-х месяцев, в связи с чем они не были включены в исследование.

Средняя концентрация АМГ у пациенток в подгруппе 3а составила 1,6 [1,2;2,5] нг/мл, а в подгруппе 3б - 1,15 [0,8;2,5] нг/мл. Статистически значимых различий в показателях АМГ двух подгрупп не было выявлено ($p_{3а-3б}=0,523$). Уровень АМГ больных АС, как получавших, так и не получавших ССЗ, был статистически значимо ниже, чем у пациенток группы контроля ($p_{3а-к}=0,025$ и $p_{3б-к}=0,018$) (таб. 20).

Таблица 20

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 Me[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%, $\chi^2=4,811$, $p=0,029$. Клинико-

анамнестические данные пациенток с низким показателем АМГ приведены в Таблице 21.

Все пациентки со сниженным показателем АМГ были сопоставимы по возрасту, имели HLA-B27 антиген и низкую активность АС. Была выявлена значимая разница в длительности заболевания у пациенток получавших и не получавших ССЗ (3, 5 лет против 13 [9;17] лет $p=0,031$). Следует отметить, что все пациентки получали НПВП и лишь одна принимала ГИБП - Цертолизумаб пэгол в дозе 400мг/4нед в течение 36 месяцев к моменту исследования.

Клинико-anamнестические данные пациенток АС со сниженным уровнем АМГ

Пациентка	Возраст, лет	Длительность АС, лет	HLA B27-АГ	ССЗ, доза, длительность приема	НПВП, доза	ГИБП	АМГ нг/мл	BASDAI баллов
1. ГЛА	35	3	+	2 г/сут 36 месяцев	Мелоксикам 15 мг/нед	-	0,45	2
2. ВАБ	37	2	+	3 г/сут 24 месяца	Эторикоксиб 90 мг/сут	-	0,55	2,2
3. ИЯО	31	5	+	-	Ибупрофен 400 мг/сут	-	0,80	2,1
4. КСН	40	20	+	-	Целекоксиб 400 мг/сут	-	0,65	1,4
5. БАА	33	8	+	-	Эторикоксиб 90 мг/сут	Цертолизумаб пэгол 400мг/4нед 36 месяцев	0,70	2,2
6. ПВЛ	37	18	+	-	Мелоксикам 15 мг/нед	-	0,60	2,4
7. РЕО	35	14	+	-	Ацеклофенак 100мг/сут	-	0,40	2,5
8. КСН	40	12	+	-	Эторикоксиб 90 мг/сут	-	0,30	2,2

Таким образом, средний уровень АМГ пациенток с АС, как получавших, так и не получавших терапию ССЗ, был значимо ниже чем уровень АМГ пациенток группы контроля. Доля пациенток с низким показателем АМГ превалировала среди пациенток, не получавших ССЗ, и для них было характерно более длительное течение заболевания, что позволяет обсуждать отрицательное влияние ревматического заболевания и его длительности на показатели овариального резерва в большей степени чем прием ССЗ.

3.3.4. Возможности и показания для сохранения генетического материала у женщин с ИВРЗ

Учитывая гонадотоксическое воздействие определенных видов терапии основного заболевания закономерным является вопрос сохранения генетического материала у больных ИВРЗ. Оценка показаний к сохранению репродуктивного материала у женщин основной группы показала, что среди обратившихся больных половина пациенток планировала реализацию репродуктивной функции с помощью программы суррогатного материнства.

Всего для сохранения генетического материала обратилось 6 пациенток, что составляет 5,7% от всех пациенток с ИВРЗ, включенных в исследование (n=106), и 8,8% от всех пациенток с ИВРЗ прошедших программу ЭКО (n=68). Как указано выше, 3 (50%) пациентки обратились с целью криоконсервации генетического материала (эмбрионов) для последующей реализации программы суррогатного материнства, а еще 3 (50%) пациентки обратились перед планируемым лечением гонадотоксическими препаратами.

Нозологическая структура пациенток, обратившихся для криоконсервации генетического материала, была представлена: в 3 (50%) случаях РА, требующим проведения иммуносупрессивной гонадотоксической терапии, в одном (16,7%) случае тяжелым течением СКВ и АФС, в двух (33,3%) случаях СКВ и АФС, характеризующимся повторными потерями беременности, (рис. 14).

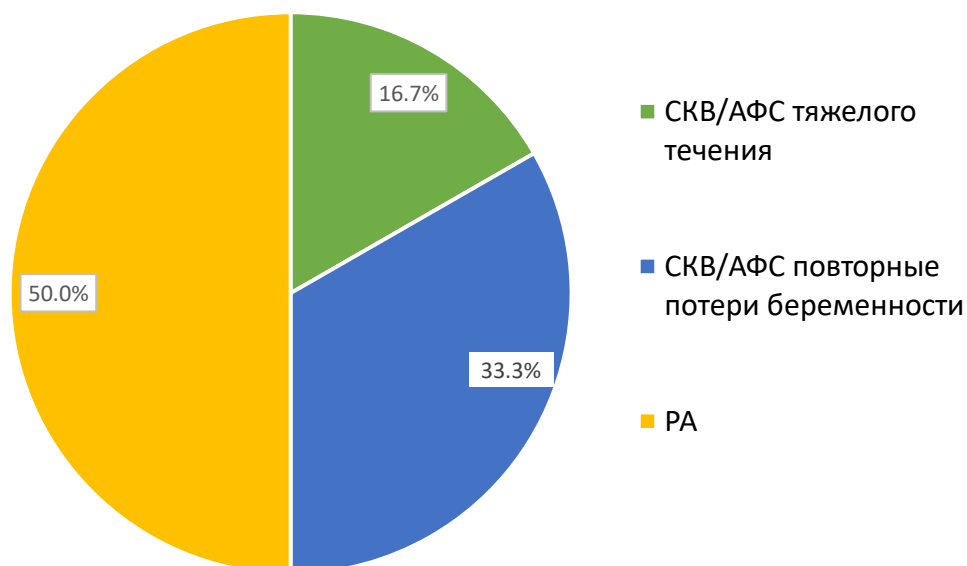


Рисунок 10. Нозологическая структура пациенток с ИВРЗ, обратившихся для сохранения генетического материала

Пациентки с РА (n=3), обратившиеся для плановой криоконсервации генетического материала в возрасте 35, 35 и 36 лет перед предстоящей гонадотоксической терапией, имели умеренную и высокую активность заболевания. В 2-х случаях планировалось применение высоких доз метотрексата, а в одном случае – метотрексата и лефлуномида. Совместно с лечащим ревматологом было принято решение об использовании стандартного протокола овариальной стимуляции с антГнРГ во всех трех случаях. В ходе ТВП яичников было получено 10, 12 и 8 ооцитов. Произведена криоконсервация 2, 3 и 2 эмбрионов на стадии бластоцист соответственно.

Тяжелое течение СКВ и АФС у одной пациентки 33-х лет характеризовалось ювенильным началом, волчаночным нефритом с нефротическим синдромом с исходом в почечную недостаточность 1 степени, артериальной гипертензией; эписиндромом, гематологическими (анемия, тромбоцитопения) и выраженными иммунологическими нарушениями. АФС проявился одним случаем потери беременности на раннем сроке, рецидивирующим тромбозом нижних конечностей, сочетанным митральным пороком сердца с преобладанием недостаточности, сетчатым ливедо и наличием позитивные аФЛ. Пациентка ранее принимала продолжительную цитотоксическую терапию (ЦФ). Было отмечено выраженное снижение

овариального резерва (АМГ – 0,22 нг/мл). Вынашивание беременности было противопоказано лечащим ревматологом.

Пациентке была проведена программа ЭКО/ICSI (в связи с мужским фактором бесплодия) в разработанном модифицированном клинико-эмбриологическом протоколе с антГнРГ и дозреванием ооцитов *in vitro*. Стимуляция яичников препаратами ЧМГ в дозе 150 МЕ в день началась с 5-го дня менструального цикла (суммарная доза составила 1050 МЕ). Введение антГнРГ начинали со 4-го дня гонадотропной стимуляции яичников и продолжали до дня введения триггера овуляции – Хорионического гонадотропина (10000МЕ). При ТВП яичников получено 4 ооцита. Один зрелый ооцит М2 оплодотворили методом ICSI. Оставшиеся ооциты дозревали *in vitro* в течение 24 часов с использованием сред для *in vitro* maturation (IVM), которые затем были также оплодотворены методом ICSI. Произведена криоконсервация 2-х эмбрионов на стадии дробления.

В ходе овариальной стимуляции неоднократно оценивались клинико-лабораторные параметры, в том числе общий и биохимический анализ крови, а также параметры гемостазиограммы и D-димер. Отклонений от референсных значений выявлено не было. Профилактически с первого дня стимуляции яичников был назначен низкомолекулярный гепарин (Эноксипарин натрия 0,4мл/сут), который был отменен за 24 часа до ТВП и возобновлен на следующий день после проведения процедуры.

Для других пациенток с СКВ и АФС (n=2) в возрасте 32 и 39 лет было характерно повторное прерывание беременности (от 3 до 6) на ранних сроках гестации, а также 2 случая антенатальной гибели плода в сроке 22-23 недели гестации у одной пациентки.

Этим пациенткам также была проведена программа ЭКО в модифицированном клинико-эмбриологическом протоколе с антГнРГ. Стимуляция препаратами ЧМГ в дозе 150 МЕ в день началась с 5-го дня менструального цикла (суммарная доза 1500 МЕ). Введение антГнРГ начинали с 4-го дня гонадотропной стимуляции яичников и продолжали до дня введения триггера овуляции – хорионического гонадотропина (10000МЕ). При

трансвагинальной пункции яичников было получено 5 ооцитов в первом случае и 6 ооцитов во втором. Произведена криоконсервация 2-х эмбрионов на стадии бластоцист в первом и втором случае.

В ходе овариальной стимуляции у пациенток с сопутствующим АФС неоднократно оценивались параметры гемостазиограммы и D-димер. Отклонений от референсных значений выявлено не было. Профилактически с первого дня стимуляции яичников был назначен низкомолекулярный гепарин (Эноксипарин натрия 0,4мл/сут), который был отменен за 24 часа до ТВП и возобновлен на следующий день после проведения процедуры.

Таким образом, лишь небольшая доля от всех пациенток с ИВРЗ обращается с целью сохранения генетического материала. Часть пациенток обращается перед планируемым гонадотоксическим лечением. Другие больные проходят подготовку к программе суррогатного материнства в связи с тяжелым течением основного заболевания, которое является противопоказанием к вынашиванию беременности, или ввиду повторных потерь беременности в разных сроках гестации, обусловленных сопутствующим АФС.

3.4. Оценка эффективности безопасности программ ВРТ

у больных ИВРЗ

3.4.1. Анализ параметров овариальной стимуляции, эмбриологического этапа и исходов программ ЭКО у женщин с ИВРЗ в стандартном протоколе овариальной стимуляции

Согласно последним данным программа ЭКО может успешно применяться у пациенток с ИВРЗ. Существующий риск обострения основного заболевания и тромботических осложнений на фоне гормональной стимуляции может быть низким при компенсации заболевания и назначении адекватной терапии, контролирующей его активность, и применении антитромботического лечения.

Для оценки эффективности и безопасности программ ЭКО у больных ИВРЗ был проведен анализ параметров овариальной стимуляции (вида, стартовой и суммарной дозы гонадотропинов, длительности стимуляции) и эмбриологического этапа у 48 женщин с ИВРЗ, прошедших программу ЭКО в стандартном протоколе овариальной стимуляции с антГнРГ. Важно отметить, что еще 20 пациенток с СКВ прошли программу ЭКО в разработанном модифицированном клинико-эмбриологическом протоколе, и их показатели оценивались отдельно (см. раздел 3.5).

Основную группу составили 26 больных РА, 8 больных СКВ и 14 пациенток с АС. В группу контроля вошли 50 соматически здоровых женщин, также прошедших программу ЭКО в стандартном протоколе овариальной стимуляции с антГнРГ. Сравнимые группы были сопоставимы по возрасту, длительности и типу бесплодия. Вид и доза гонадотропинов подбирались индивидуально в зависимости от возраста пациентки, данных гормонального профиля и количества антральных фолликулов при УЗ-исследовании. Все больные основной группы имели стабильно низкую активность или ремиссию основного заболевания на протяжении не менее 6-ти предшествующих месяцев.

В основной группе проведено 62 стимулированных цикла и 32 криопротокола, в группе контроля – 73 стимулированных цикла и 38 криопротоколов.

Не было выявлено значимой разницы в виде гонадотропинов, стартовой дозе (225 [168,7;300] МЕ и 225 [225;225] МЕ, $p=0,57$) и длительности стимуляции

(10 [9;10] и 9 [8;10] дней, $p=0,37$) между основной и контрольной группами, однако суммарная доза гонадотропинов была значимо выше в основной группе (2650 [1215;2800] МЕ и 2000 [1650;2250] МЕ; $p=0,045$), что обусловлено снижением овариального резерва у пациенток с ИВРЗ и, соответственно, применением более высоких доз гонадотропинов с целью овариальной стимуляции (таб. 16).

Таблица 16

Параметры овариальной стимуляции в программе ЭКО у пациенток с ИВРЗ и группы контроля

Показатели	ИВРЗ n=48	Группа контроля n=50	p
Вид ГТ у пациенток в стимулированном цикле			
Число пациентов, применявших менотропины n (%)	4 (8,3)	4 (8)	0,48
Число пациентов, применявших рФСГ n (%)	12 (25)	13 (26)	
Число пациентов, применявших комбинацию рФСГ/менотропины n (%)	26 (54,2)	28 (56)	
Число пациентов, применявших корифоллитропин альфа n (%)	6 (12,5)	5 (10)	
Длительность стимуляции Ме [Q1;Q3] дней	10 [9;10]	9 [8;10]	0,37
Стартовая доза гонадотропинов Ме [Q1;Q3] МЕ	225 [168,7;300]	225 [225;225]	0,57
Суммарная доза гонадотропинов Ме [Q1;Q3] МЕ	2650 [1215;2800]	2000 [1650;2250]	0,045

Анализ параметров эмбриологического этапа показал, что у пациенток с ИВРЗ 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]; $p=0,005$), эмбрионов на стадии дробления (4 [2;7] и 6 [4;10]; $p=0,032$), бластоцист (1 [0;3] и 3 [1;6]; $p=0,001$) и криоконсервированных эмбрионов (1(0;2) и 2(0;4); $p=0,015$) по сравнению с контрольной группой. У пациенток с ИВРЗ получено меньшее количество бластоцист отличного качества (15 (24,2%) и 31 (42,5%); $p=0,003$), а число полученных бластоцист хорошего (36 (58%) и 45 (61,6%); $p=0,75$) и удовлетворительного качества (29 (46,7%) и 44 (50,3%); $p=0,87$) оказалось сопоставимым в группах сравнения (таб. 17).

Параметры эмбриологического этапа у пациенток с ИВРЗ и группы контроля

Параметры	ИВРЗ n=62	Группа контроля n=73	p
Число полученных ооцитов Me [Q1;Q3]	5 [2;10]	10 [7;17]	0,016
Число зрелых ооцитов (MII) Me [Q1;Q3]	4 [2;9]	8 [5;12]	0,023
Число зигот (2 PN) Me [Q1;Q3]	3 [1;7]	7 [4;10]	0,005
Число эмбрионов на стадии дробления Me [Q1;Q3]	4 [2;7]	6 [4;10]	0,032
Число бластоцист Me [Q1;Q3]	1 [0;3]	3 [1;6]	0,001
Число криоконсервированных эмбрионов Me [Q1;Q3]	1 [0;2]	2 [0;4]	0,015
Качество эмбрионов			
Отличные n (%)	15 (24,2)	31 (42,5)	0,003
Хорошие n (%)	36 (58)	45 (61,6)	0,75
Удовлетворительные n (%)	29 (46,7)	44 (50,3)	0,87

Селективный перенос одного эмбриона проводился в 100% случаев, и производился на 4,5 [3;5] сутки культивирования в основной группе и на 5 [4;5] сутки в группе контроля, $p > 0,05$.

С целью оценки исходов стимулированных циклов пациентки с ИВРЗ были поделены на три группы в зависимости от основного заболевания. Сравнительная характеристика исходов стимулированного цикла у пациенток с ИВРЗ в стандартном протоколе овариальной стимуляции представлена в Таблице 18.

Исходы переноса эмбриона в стимулированном цикле у пациенток с ИВРЗ и группы контроля

Исход стимулированного цикла	РА n=26		СКВ n=8		АС n=14		Группа контроля n=50		p		
	n'	%	n'	%	n'	%	n'	%	p _{ра-к}	p _{скв-к}	p _{ас-к}
Биохимическая беременность	5	19,2	3	37,5	2	14,3	20	40	0,042	0,812	0,014
Клиническая беременность	4	15,4	3	37,5	2	14,3	17	34	0,032	0,941	0,032
Роды	2	7,7	2	25	0	0	14	28	0,027	0,771	0,001
Ранние репродуктивные потери	2	7,7	1	12,5	2	14,3	3	6	0,713	0,042	0,034

n' – на количество перенесенных эмбрионов в стимулированном цикле.

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.

Проведенный анализ показал, что у пациенток с РА по сравнению со здоровыми женщинами в стимулированных циклах отмечалась более низкая частота биохимической (19,2% против 40%, p=0,042), клинической (15,4% против 34%, p=0,032) беременности и родов (7,7% против 28%, p=0,027). Различий в частоте ранних репродуктивных потерь (самопроизвольного прерывания беременности и неразвивающейся беременности) выявлено не было (7,7% и 46%, p=0,713) (рис. 11).

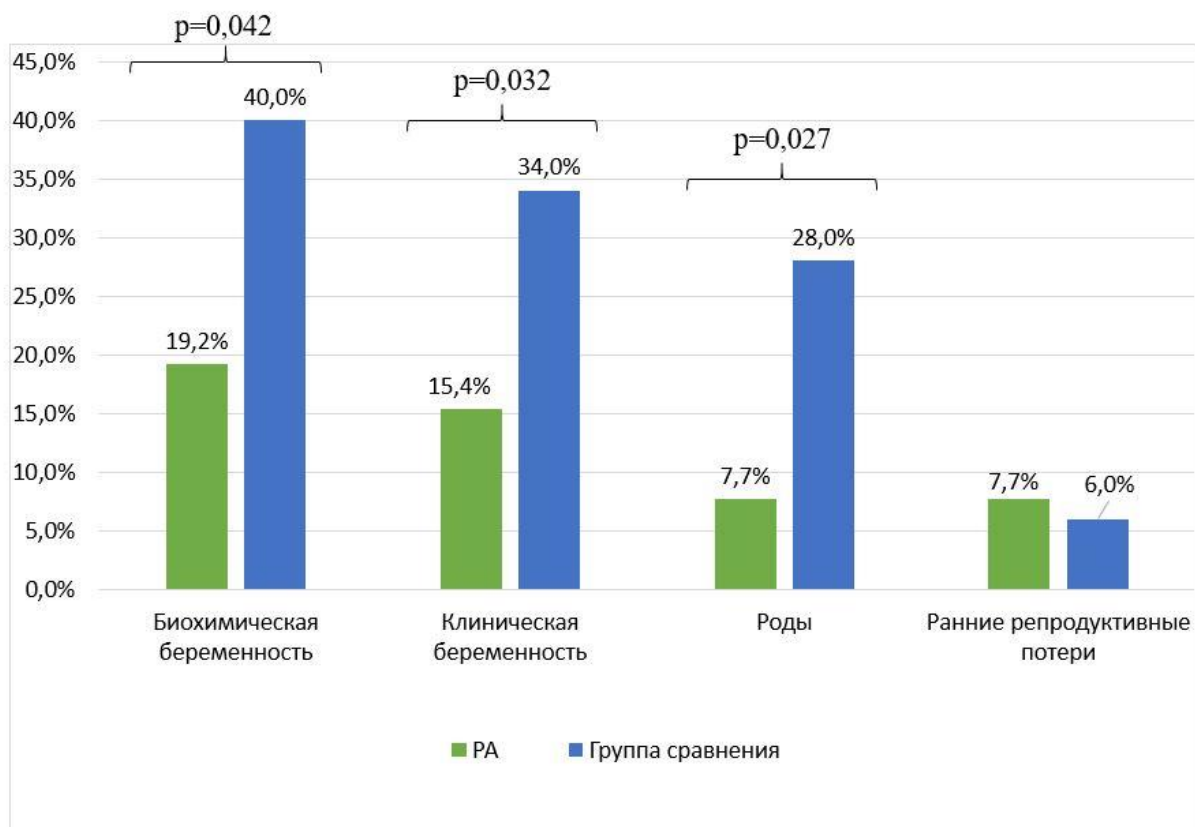


Рисунок 11. Исходы стимулированных циклов у пациенток с РА

Среди больных СКВ и женщин контрольной группы выявлена одинаковая частота биохимической (37,5% и 40%, $p=0,812$), клинической (37,5% и 34%, $p=0,941$) беременности и родов (25% и 28%, $p=0,771$). Однако частота ранних репродуктивных потерь была значимо выше среди пациенток с СКВ (12,5% против 6%, $p=0,042$) (рис.12).

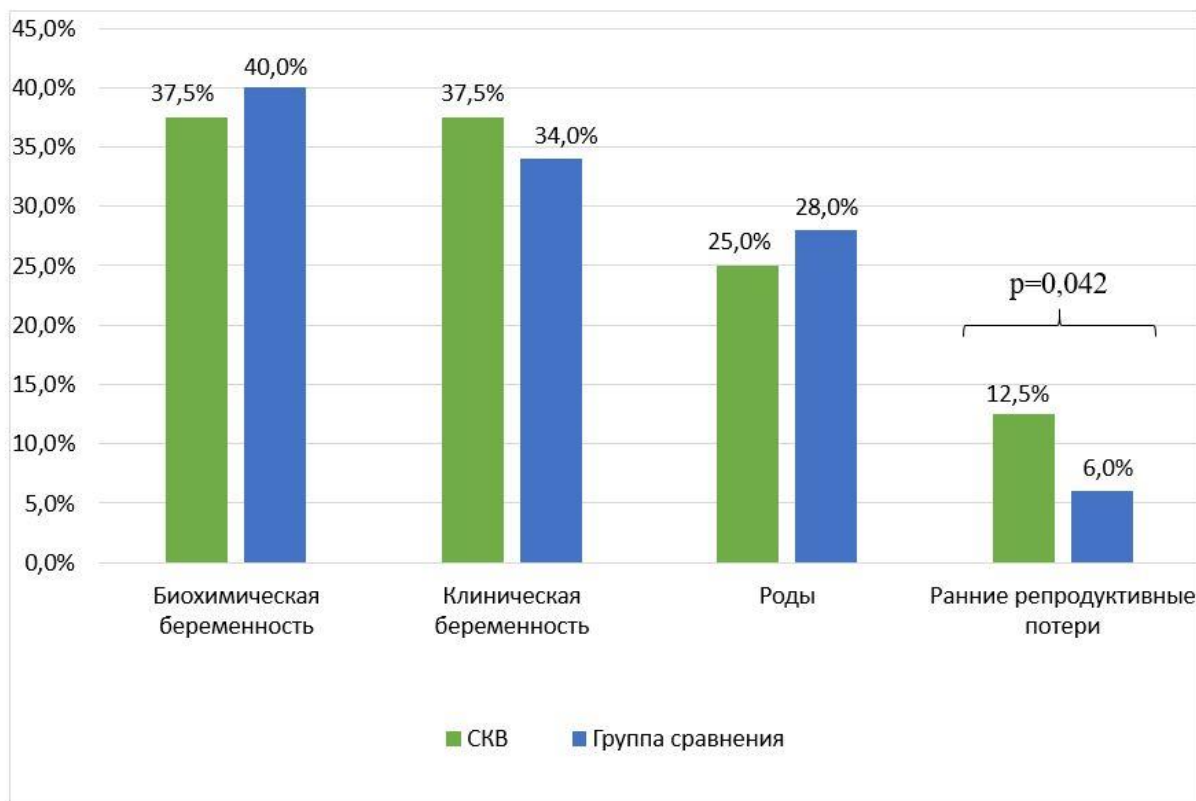


Рисунок 12. Исходы стимулированных циклов у пациенток с СКВ

У пациенток с АС по сравнению со здоровыми женщинами выявлена более низкая частота биохимической (14,3% против 40%, $p=0,014$), клинической (14,3% против 34%, $p=0,032$) беременности и родов (0% против 28%, $p=0,001$). Для пациенток с АС была также характерна более высокая частота ранних репродуктивных потерь (14,3% против 6%, $p=0,034$) (рис.13).

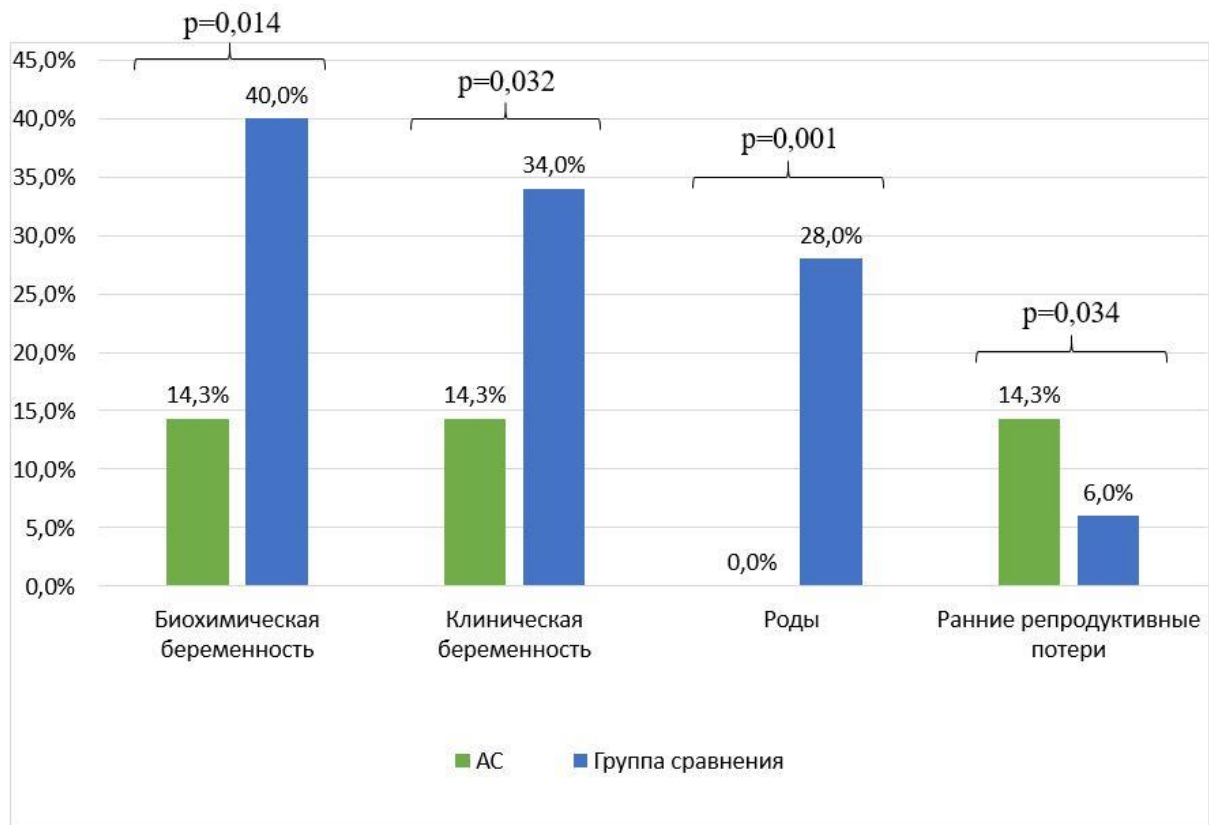


Рисунок 13. Исходы стимулированных циклов у пациенток с АС

Таким образом, анализ основных параметров овариальной стимуляции, показал, что для пациенток основной группы была характерна большая суммарная доза используемых гонадотропинов. При этом у женщин с ИВРЗ было получено меньшее число ооцитов, зрелых ооцитов, зигот, эмбрионов на стадии дробления, бластоцист и криоконсервированных эмбрионов. У пациенток с РА и АС выявлена низкая частота биохимической, клинической беременности и родов живым плодом по сравнению с женщинами группы контроля. У пациенток с СКВ данные показатели оказались сопоставимыми с показателями контрольной группы, однако у этих больных наблюдалась более высокая частота самопроизвольного прерывания беременности. Больные АС также характеризовались более высокой частотой ранних репродуктивных потерь.

3.4.2. Анализ параметров и исходов программ криопотокола у женщин с ИВРЗ

Всего в программы криопотокола были включены 27 пациенток с ИВРЗ: 12 больных РА, 5 пациенток с СКВ, 10 больных АС. В группу контроля вошли 30 соматически здоровых женщин. Всего было выполнено 32 (от 1 до 2) криопотокола у женщин с ИВРЗ и 38 (от 1 до 2) криопотоколов в контрольной группе. Селективный перенос одного эмбриона проводился в 100% случаев

Сравнительная характеристика исходов программ у пациенток с ИВРЗ представлена в Таблице 19.

Таблица 19

Исходы переноса эмбриона в криопотоколе у пациенток с ИВРЗ и контрольной группы

Исход криопотокола	РА n=12		СКВ n=5		АС n=10		Группа контроля n=30		p		
	n'	%	n'	%	n'	%	n'	%	p _{ра-к}	p _{скв-к}	p _{ас-к}
Биохимическая беременность	3	25	2	40	2	20	15	50	0,088	0,781	0,024
Клиническая беременность	2	16,7	2	40	2	20	14	46,7	0,048	0,623	0,036
Роды	1	8,3	1	20	1	10	12	40	0,032	0,061	0,008
Ранние репродуктивные потери	1	8,3	1	20	1	10	2	6,7	0,513	0,016	0,358

n' – на количество перенесенных эмбрионов в стимулированном цикле.

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.

Проведенный анализ показал, что у пациенток с РА по сравнению со здоровыми женщинами в криопотоколах отмечалась сопоставимая частота биохимической (25% и 50%, p=0,088) беременности, но низкая частота клинической (16,7% против 46,7%, p=0,048) беременности и родов (8,3% против 40%, p=0,032). Различий в частоте ранних репродуктивных потерь (самопроизвольного прерывания беременности и неразвивающейся беременности) выявлено не было (8,3% и 6,7%, p=0,513) (рис. 14).

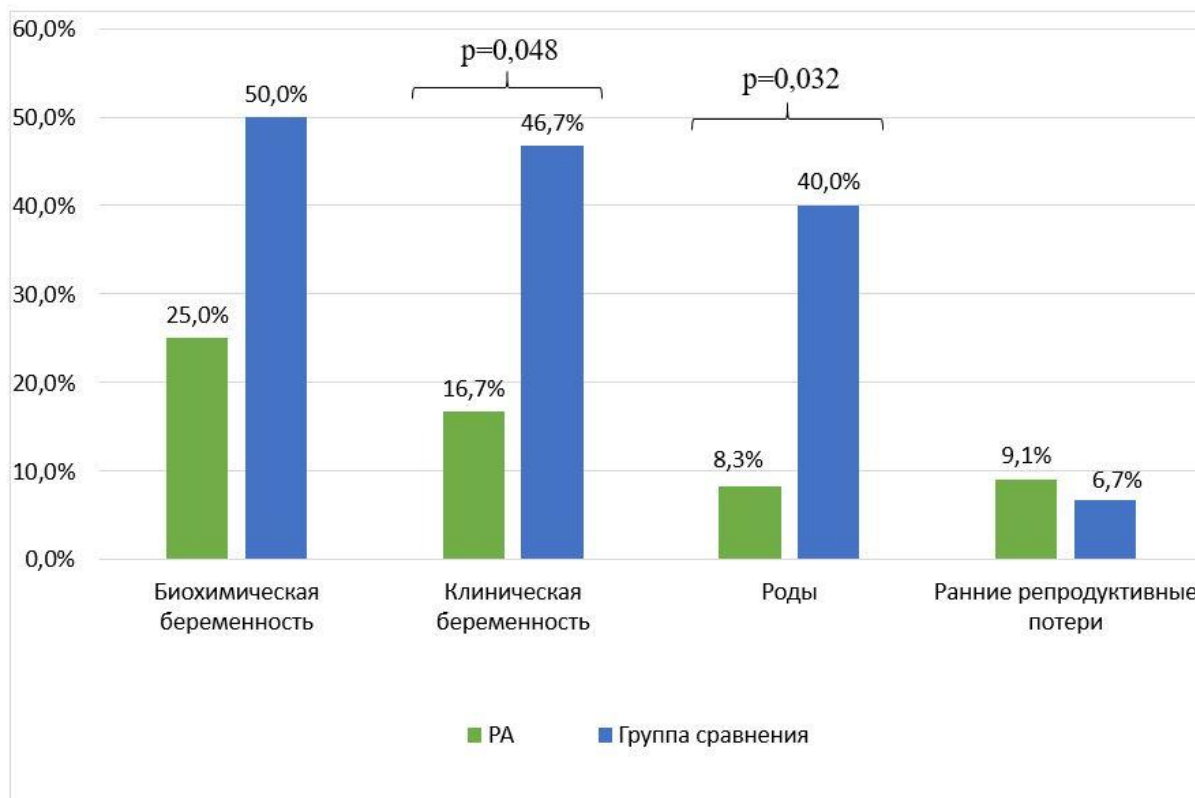


Рисунок 14. Исходы программ криопротокола у пациенток с РА

Среди больных СКВ и женщин контрольной группы выявлена одинаковая частота биохимической (40% и 50%, $p=0,781$), клинической (40% и 46,7%, $p=0,623$) беременности и родов (20% и 40%, $p=0,061$). Однако частота ранних репродуктивных потерь была значимо выше среди пациенток с СКВ (20% против 6,7%, $p=0,042$) (рис.15).

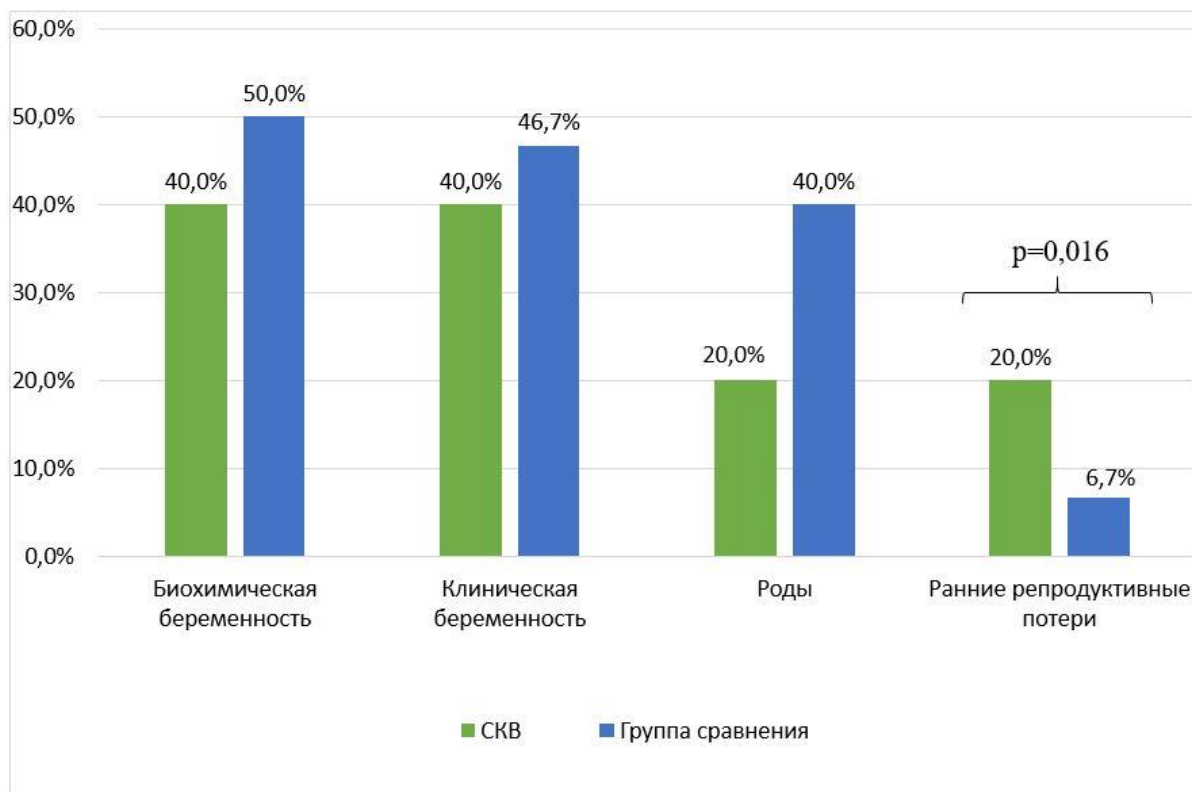


Рисунок 15. Исходы программ криопротокола у пациенток с СКВ

У пациенток с АС по сравнению со здоровыми женщинами выявлена более низкая частота биохимической (20% против 50%, $p=0,044$), клинической (20% против 46,7%, $p=0,036$) беременности и родов (10% против 40%, $p=0,008$). Частота ранних репродуктивных потерь в группах сравнения оказалась сопоставимой (10% и 6,7%, $p=0,358$) (рис.16).

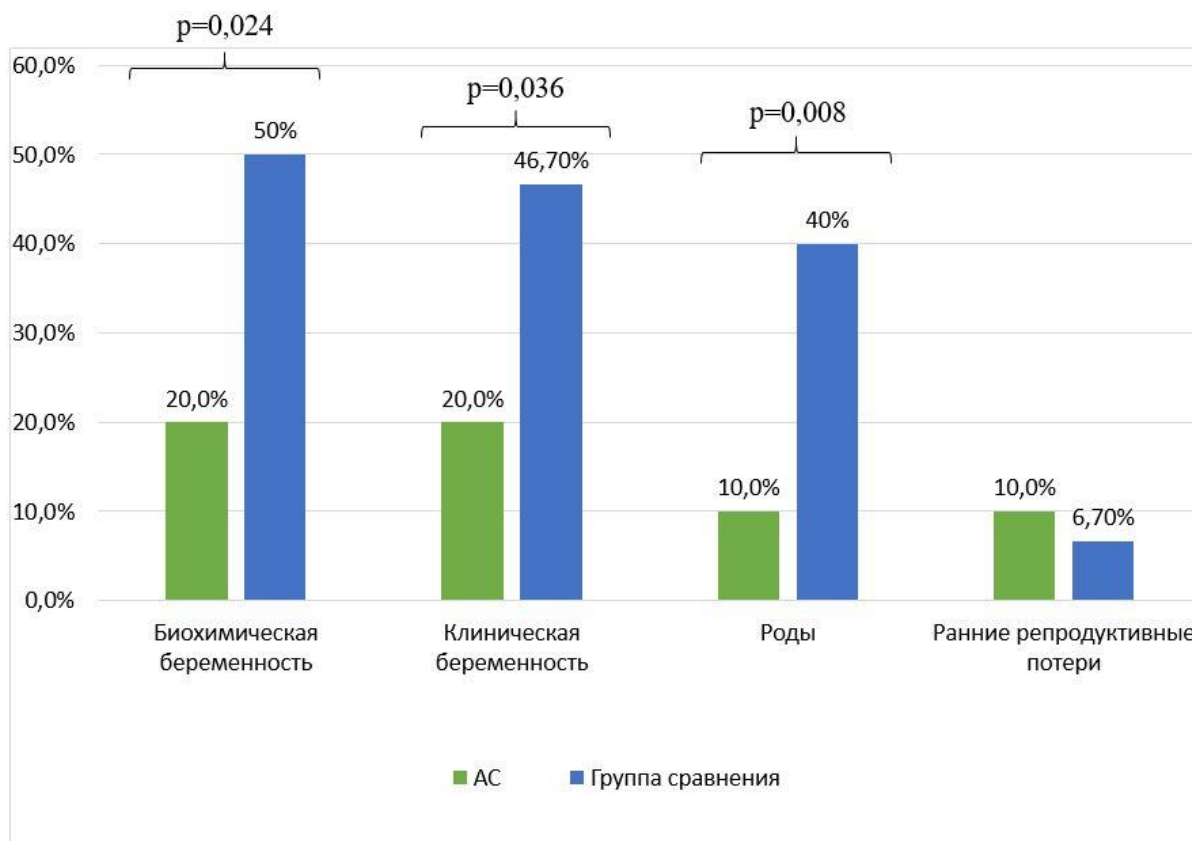


Рисунок 16. Исходы программ криопотокола у пациенток с АС

Таким образом, анализ исходов криопотоколов показал, что для пациенток с РА и АС была характерна низкая частота клинической беременности и родов живым плодом по сравнению с женщинами группы контроля. У пациенток с СКВ данные показатели оказались сопоставимыми с показателями контрольной группы, однако у этих больных наблюдалась более высокая частота самопроизвольного прерывания беременности.

Пациентки основной группы были консультированы лечащим ревматологом на всех этапах проведения программ и продолжали прием ранее назначенной лекарственной терапии основного заболевания. Обострений ИВРЗ во время овариальной стимуляции, переноса эмбрионов, в ходе программ криопотокола и на ранних сроках беременности (в случае ее наступления) зарегистрировано не было, что свидетельствует о безопасности проведения программ ВРТ у данной категории больных при компенсации основного заболевания и приеме терапии.

Полученные результаты анализа исходов стимулированных циклов в стандартном протоколе овариальной стимуляции с анГнРГ и криопотоколов у

женщин с ИВРЗ демонстрируют низкую эффективность программ ВРТ в группах пациенток с РА и, особенно, с АС. Несмотря на то что эффективность программ в группе больных СКВ была сопоставима с показателями соматически здоровых женщин, в данной группе пациенток отмечалась высокая частота ранних репродуктивных потерь.

3.4.3. Оценка уровня тканевого фактора, ассоциированного с внеклеточными везикулами, в плазме крови пациенток с ИВРЗ в программе ЭКО

В ряде исследований обсуждается роль внеклеточных везикул (ВВ) в патофизиологии аутоиммунных нарушений, их влияние на созревание ооцитов и имплантацию, а также участие в тромботических процессах. Проккоагулянтные свойства ВВ реализуются в основном за счет тканевого фактора (ТФ), таким образом, определение уровня тканевого фактора, ассоциированного с внеклеточными везикулами (ТФ-ВВ), может выступать в качестве раннего маркера риска тромбозов у пациенток с ИВРЗ.

Оценка уровня ТФ-ВВ в плазме крови была проведена у 18 пациенток с ИВРЗ и бесплодием, прошедших программу ЭКО, из них: 6 женщин (33,3%) с РА, 7 (38,9%) с СКВ с/без АФС, и 5 (27,8%) с АС. Группу контроля составили 30 соматически здоровых женщин с бесплодием, также прошедших программу ЭКО.

Анализ клинико-anamнестических данных показал, что пациентки с ИВРЗ и соматически здоровые женщины группы контроля были сопоставимы по возрасту (Me 33 и 33,5 года; $p=0,684$) и длительности бесплодия (Me 4,5 и 4,5 года; $p=0,512$). Первичное (55,5% и 53,3%) и вторичное (44,5% и 46,7%) бесплодие встречалось с одинаковой частотой в обеих группах ($p=0,862$). Различий в ИМТ (Me 21 и 22 кг/м², $p=0,798$), возрасте менархе (Me 11,8 и 12,1 лет, $p=0,532$) и числе самостоятельных беременностей (от 1 до 4) в анамнезе у пациенток с вторичным бесплодием в обеих группах выявлено не было ($p=0,793$). Существенных различий в преобладании трубно-перитонеального (27,8% и 30%, $p=0,539$), мужского (33,3% и 40%, $p=0,728$) или эндокринного (11,1% и 20%, $p=0,123$) факторов бесплодия в сравниваемых группах также не было отмечено. Однако

было показано значимое преобладание бесплодия неясного генеза в основной группе больных 27,8% против 10% в контрольной группе, $p=0,013$. Доля пациенток со снижением овариального резерва (АМГ менее 1,0 нг/мл) также существенно превалировала в группе пациенток с ИВРЗ (22,2% и 3%, $p=0,006$) (таб. 20).

Таблица 20

Клинико-anamнестические данные пациенток с ИВРЗ и группы контроля, которым производилась оценка уровня ТФ-ВВ

Показатель	ИВРЗ n=18	Группа контроля n=30	p
Возраст больных Me [Q1;Q3] лет	33 [31;37]	33,5 [32;38]	0,684
ИМТ Me [Q1;Q3] кг/м ²	21 [20,5;23,2]	22 [21,6;23,8]	0,798
Возраст менархе Me [Q1;Q3] лет	11,8 [11,2;12,8]	12,1 [11,5;13,1]	0,532
Длительность бесплодия Me [Q1;Q3] лет	4,5 [2;7]	4,5 [2;8,5]	0,512
Первичное бесплодие, n (%)	10 (55,5)	16 (53,3)	0,862
Вторичное бесплодие, n (%)	8 (44,5)	14 (46,7)	
Трубно-перитонеальный фактор, n (%)	5 (27,8)	9 (30)	0,539
Мужской фактор, n(%)	6 (33,3)	12 (40)	0,728
Эндокринный фактор, n (%)	2 (11,1)	6 (20)	0,123
Бесплодие неясного генеза, n (%)	5 (27,8)	3 (10)	0,013
Снижение овариального резерва, n (%)	4 (22,2)	1 (3)	0,006

Все пациентки прошли программу ЭКО. Следует подчеркнуть, что у всех семи пациенток с СКВ был использован модифицированный клинико-эмбриологический протокол.

Анализ параметров стимулированного цикла у женщин основной группы не выявил существенных различий в стартовой дозе гонадотропинов (225 [155,5;300] МЕ и 225 [225;225] МЕ; $p=0,087$). Однако в основной группе была отмечена меньшая длительность стимуляции (8 [7;10] против 10 [9;10] дней в группе контроля, $p=0,082$) и, соответственно, меньшая суммарная доза гонадотропинов (1500 [1150;2175] МЕ и 2100 [1750;2250] МЕ; $p=0,017$), что было обусловлено применением модифицированного клинико-эмбриологического протокола.

Забор крови для проведения исследования уровня ТФ-ВВ у пациенток основной и контрольной группы производился двукратно: перед началом

овариальной стимуляции (первая точка) и в день трансвагинальной пункции яичников (вторая точка), т.е. до и после овариальной стимуляции. Оценка уровня ТФ-ВВ в плазме крови пациенток была проведена на основе установленных показателей (см. Глава 2. Материал и методы исследования, раздел 2.3.1).

Средняя концентрация ТФ-ВВ у пациенток с ИВРЗ до овариальной стимуляции составила 0,438 [0,16;1,82] пг/мл, а после стимуляции – 0,901 [0,0;2,19] пг/мл, при этом разница данных показателей оказалась статистически не значимой ($p=0,75$).

Средняя концентрация ТФ-ВВ у пациенток группы контроля до и после овариальной стимуляции составила соответственно 0,121 [0,0;1,36] пг/мл, и 0,222 [0,0;0,59] пг/мл, показатели статистически не различались, $p=0,69$.

Сравнение уровней ТФ-ВВ между основной и контрольной группами до и после овариальной стимуляции продемонстрировало статистически значимо более высокие показатели ТФ-ВВ у больных ИВРЗ, чем в группе соматически здоровых женщин как до ($p=0,039$), так и после овариальной стимуляции ($p=0,018$) (рис. 17).

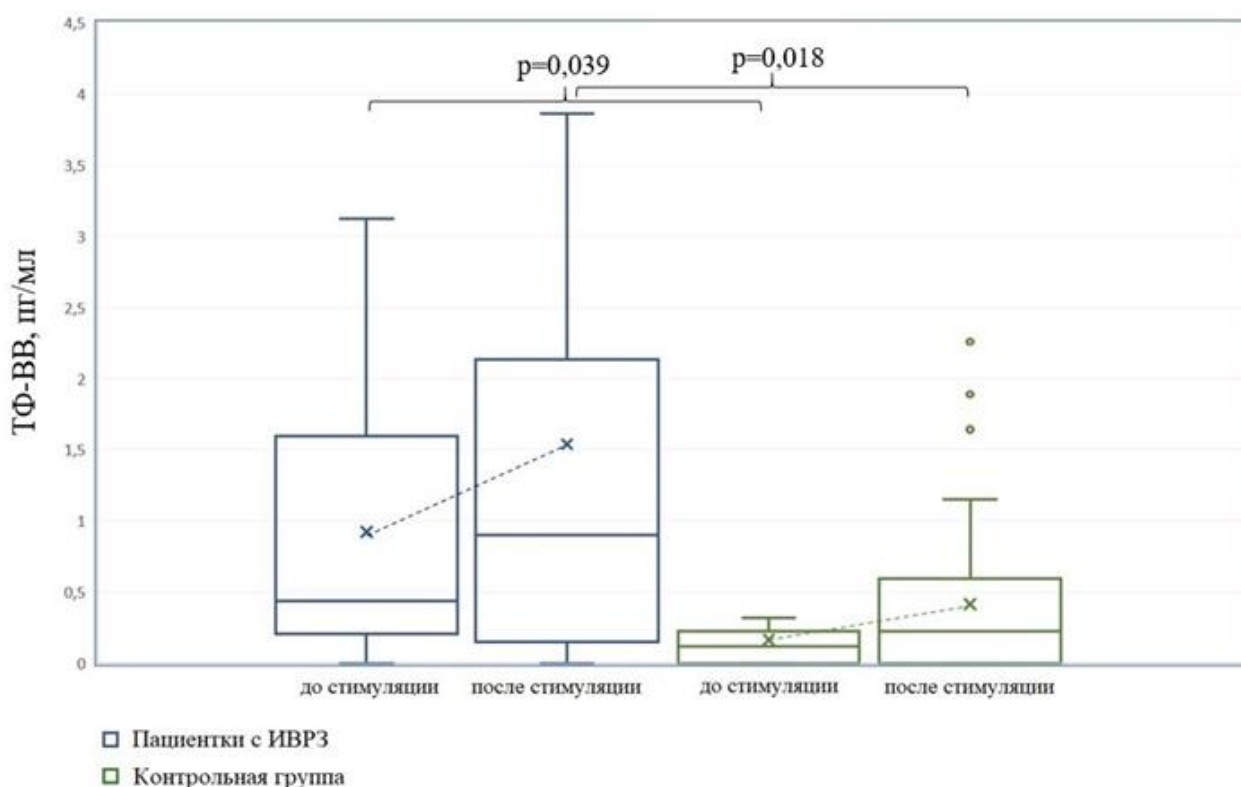


Рисунок 17. Уровень тканевого фактора, ассоциированного с внеклеточными везикулами плазмы крови, до и после овариальной стимуляции у пациенток с ИВРЗ и контрольной группы

Оценка уровней ТФ-ВВ до и после овариальной стимуляции у пациенток основной группы в зависимости от их нозологической принадлежности показала, что средние концентрации ТФ-ВВ больных основной группы до овариальной стимуляции составили: для женщин с РА - 0,321 [0,0;0,74] пг/мл, СКВ - 0,586 [0,0;1,68] пг/мл и АС - 0,618 [0,83;1,32] пг/мл. Сравнение полученных данных с соответствующими показателями пациенток контрольной группы не выявило значимой разницы между уровнями ТФ-ВВ больных РА и группы контроля ($p_{РА-К}=0,723$), однако была продемонстрирована значимая разница в концентрации фактора между пациентками с СКВ и АС и соматически здоровыми женщинами ($p_{СКВ-К}=0,031$ и $p_{АС-К}=0,017$).

После стимуляции яичников концентрация ТВ-ВВ нарастала во всех сравниваемых группах больных и соматически здоровых женщин. Средние концентрации ТФ-ВВ пациенток основной группы после овариальной стимуляции составили: для больных РА - 0,593 [0,0;0,91] пг/мл, СКВ - 0,891 [0,0;2,32] пг/мл и АС - 1,02 [0,83;1,95] пг/мл. Показатели больных РА и СКВ статистически значимо не отличались от аналогичного показателя контрольной группы ($p_{РА-К}=0,633$ и $p_{СКВ-К}=0,142$), тогда как у больных АС полученный результат значительно его превышал (1,02 [0,83;1,95] против 0,222 [0,0;0,59], $p_{АС-К}=0,005$) (таб. 21).

Таблица 21

Уровень ТФ-ВВ пациенток с ИВРЗ и группы контроля до и после овариальной стимуляции

Показатель	РА (n=6)	СКВ (n=7)	АС (n=5)	Группа контроля (n=30)	p
Уровень ТФ-ВВ до овариальной стимуляции Me [Q1;Q3] пг/мл	0,321 [0,0;0,74]	0,586 [0,0;1,68]	0,618 [0,83;1,32]	0,121 [0,0;1,36]	$p_{РА-К}=0,723$ $p_{СКВ-К}=0,031$ $p_{АС-К}=0,017$
Уровень ТФ-ВВ после овариальной стимуляции Me [Q1;Q3] пг/мл	0,593 [0,0;0,91]	0,891 [0,0;2,32]	1,02 [0,83;1,95]	0,222 [0,0;0,59]	$p_{РА-К}=0,633$ $p_{СКВ-К}=0,142$ $p_{АС-К}=0,005$

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

Следует отметить, что статистически значимой разницы при сравнении показателей как до так и после овариальной стимуляции внутри основной группы выявлено не было ($p > 0,05$).

Таким образом, уровень ТФ-ВВ у пациенток основной группы по сравнению с показателями группы контроля как до, так и после овариальной стимуляции оказался существенно выше, свидетельствуя о возможном повышенном риске тромбоза у данной категории больных и обуславливая необходимость разработки и применения персонифицированных протоколов, обеспечивающих минимизацию данного осложнения.

Среди пациенток основной группы наиболее высокие концентрации ТФ-ВВ до овариальной стимуляции ожидаемо отмечались у больных СКВ и неожиданно – пациенток с АС, у которых они сохранялись и на фоне проведения стимуляции. Отсутствие повышения концентраций ТФ-ВВ после овариальной стимуляции в группе больных СКВ возможно обусловлено применением модифицированного клинико-эмбриологического протокола. В свою очередь группа больных АС представляет повышенный интерес, поскольку, как было продемонстрировано выше, именно в ней наблюдалась наименьшая эффективность программ ЭКО.

3.5. Разработка персонифицированного алгоритма подготовки и ведения больных ИВРЗ (СКВ) в программах ЭКО

Больные СКВ представляют собой особую группу пациенток с ИВРЗ, так как в ходе овариальной стимуляции в рамках программы ЭКО на фоне гиперэстрогении у них может повышаться риск как обострения основного заболевания, так и тромботических осложнений, особенно у пациенток с сопутствующим АФС. Несмотря на существующие риски в некоторых исследованиях была продемонстрирована эффективность и относительная безопасность проведения программы ЭКО у женщин данной категории. Однако к настоящему времени нет разработанных и утвержденных профильных рекомендаций по проведению программ ВРТ для данной группы пациенток.

Учитывая возможность обострения основного заболевания и повышенный риск тромботических осложнений согласно заключению ревматолога, для части пациенток с СКВ (n=20, из них 4 с сопутствующим АФС), составивших основную группу, был разработан модифицированный клинико-эмбриологический протокол проведения программы ЭКО.

Основу модифицированного протокола составил стандартный протокол овариальной стимуляции с анТГнРГ (см. Глава 2. Материал и методы исследования, раздел 2.2.5). Разработанный модифицированный клинико-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 ИVM с последующим оплодотворением. В ходе стимуляции яичников у 14 больных использовались рФСГ и у 6 - комбинация рФСГ с менотропинами. Средняя суммарная доза гонадотропинов при использовании модифицированного протокола составила 1600 [1215;2175] МЕ. Все пациентки были предварительно консультированы лечащим ревматологом, пациентки с АФС были консультированы гематологом.

Для оценки 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. Группу сравнения составили 30 соматически здоровых женщин, прошедших программу ЭКО в стандартном протоколе с антГнРГ, сопоставимых по возрасту, длительности и типу бесплодия, а также показателям овариального резерва с пациентками основной группы (таб. 22).

Таблица 22

Клинико-анамнестическая характеристика пациенток с СКВ в модифицированном клинико-эмбриологическом протоколе и группы сравнения

Параметры	СКВ n=20	Группа сравнения n=30	p
Возраст больных Ме [Q1;Q3] лет	36 [33;39]	34 (33;40)	0,784
ИМТ Ме [Q1;Q3] кг/м ²	21,5 [20,8;23,5]	21,2 [20,5;23,6]	0,629
Возраст менархе Ме [Q1;Q3] лет	13,1 [11,8;13,7]	12,8 [11,9;13,2]	0,356
Длительность бесплодия Ме [Q1;Q3] лет	5 (2;7)	4,5 (2,5;8)	0,517
Первичное бесплодие, n (%)	12 (60)	17 (56,7)	0,928
Вторичное бесплодие, n (%)	8 (40)	11 (43,3)	
Трубно-перитонеальный фактор, n (%)	6 (30)	11 (36,7)	0,747
Мужской фактор, n (%)	7 (35)	9 (30)	0,673
Бесплодие неясного генеза, n (%)	7 (35)	10 (33,3)	0,724
Снижение овариального резерва, n (%)	5 (25)	6 (20)	0,113

При применении модифицированного клинико-эмбриологического протокола 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 E2 в день введения триггера овуляции (922,4 [836;1112,2] пкмоль/л против 2535 [2289,2;2787,5] пкмоль/л, p=0,048) были значимо ниже в основной группе, что указывало на снижение риска гиперэстрогении в ходе применения разработанного протокола в отличие от стандартного протокола стимуляции яичников с антГнРГ (таб. 23).

**Параметры овариальной стимуляции у пациенток с СКВ при применении
модифицированного
клинико-эмбриологического протокола и группы сравнения**

Показатели	Модифицированный клинико- эмбриологический протокол (n=20)	Стандартный протокол с антГнРГ (n=30)	p
Длительность стимуляции Ме [Q1;Q3] дней	8 [7;10]	10 [9;10]	0,045
Стартовая доза гонадотропинов Ме [Q1;Q3] МЕ	225 [168;300]	225 [225;225]	0,07
Суммарная доза гонадотропинов Ме [Q1;Q3] МЕ	1600 [1215;2175]	2100 [1650;2250]	0,015
Уровень E2 в день введения триггера Ме [Q1;Q3] пкмоль/л	922,4 [836;1112,2]	2535 [2289,2;2787,5]	0,048

Анализ параметров эмбриологического этапа показал, что такие показатели как число полученных ооцитов (4 [2;6] и 5 [2;8]), зрелых ооцитов (3 [1;4] и 4 [2;7]), зигот (2 [1;3] и 3 [2;6]), эмбрионов на стадии дробления (2 [1;3] и 2 [2;5]), бластоцист (1 [0;3] и 2 [1;4]) и криоконсервированных эмбрионов (1 [0;2] и 2 [0;3]) были сопоставимы с показателями группы сравнения ($p > 0,05$). У пациенток с СКВ и группы сравнения число эмбрионов отличного (6 (30%) и 11 (36,7%)), хорошего (9 (45%) и 13 (43,3%)) и удовлетворительного (5 (25%) и 6 (20%)) качества также оказалось сопоставимым ($p > 0,05$) (таб. 24).

Параметры эмбриологического этапа у пациенток с СКВ при применении модифицированного клинико-эмбриологического протокола и группы сравнения

Параметры	СКВ (n=20)	Группа сравнения (n=30)	p
Получено ооцитов Me [Q1;Q3]	4 [2;6]	5 [2;8]	0,89
Количество зрелых ооцитов (MII) Me [Q1;Q3]	3 [1;4]	4 [2;7]	0,12
Количество зигот (2 PN) Me [Q1;Q3]	2 [1;3]	3 [2;6]	0,67
Количество эмбрионов на стадии дробления Me [Q1;Q3]	2 [1;3]	2 [2;5]	0,87
Количество бластоцист Me [Q1;Q3]	1 [0;3]	2 [1;4]	0,15
Число криоконсервированных эмбрионов Me [Q1;Q3]	1 [0;2]	2 [0;3]	0,75
Качество эмбрионов			
Отличные n (%)	6 (30)	11 (36,7)	0,32
Хорошие n (%)	9 (45)	13 (43,3)	0,29
Удовлетворительные n (%)	5 (25)	6 (20)	0,43

Селективный перенос одного эмбриона проводился в 100% случаев, и производился на 4,5 [3;5] сутки культивирования в основной группе и на 5 [4;5] сутки в группе контроля, $p > 0,05$.

Сравнительная характеристика исходов стимулированного цикла у пациенток с СКВ в модифицированном протоколе овариальной стимуляции представлена в Таблице 25.

**Исходы переноса эмбриона у пациенток с СКВ при применении
модифицированного клинико-эмбриологического
протокола и группы сравнения**

Исход модифицированного клинико-эмбриологического протокола	СКВ n=20		Группа сравнения n=30		p
	n'	%	n'	%	
Биохимическая беременность	7	35	11	36,7	0,905
Клиническая беременность	6	30	10	33,3	0,875
Роды	4	20	8	26,7	0,586
Ранние репродуктивные потери	2	10	2	6,7	0,674

n' – на количество перенесенных эмбрионов в стимулированном цикле

Анализ исходов программ ЭКО с применением модифицированного клинико-эмбриологического протокола был проведен для всей группы пациенток с СКВ. Частота наступления биохимической (35% и 36,7%), клинической беременности (30% и 33,3%) и родов (20% и 26,7%) оказалась сопоставимой между пациентками с СКВ и женщинами группы сравнения, $p > 0,05$. Частота ранних репродуктивных потерь при использовании модифицированного протокола также была сопоставимой в сравниваемых группах (10% и 6,7%), $p > 0,05$ (рис. 18).

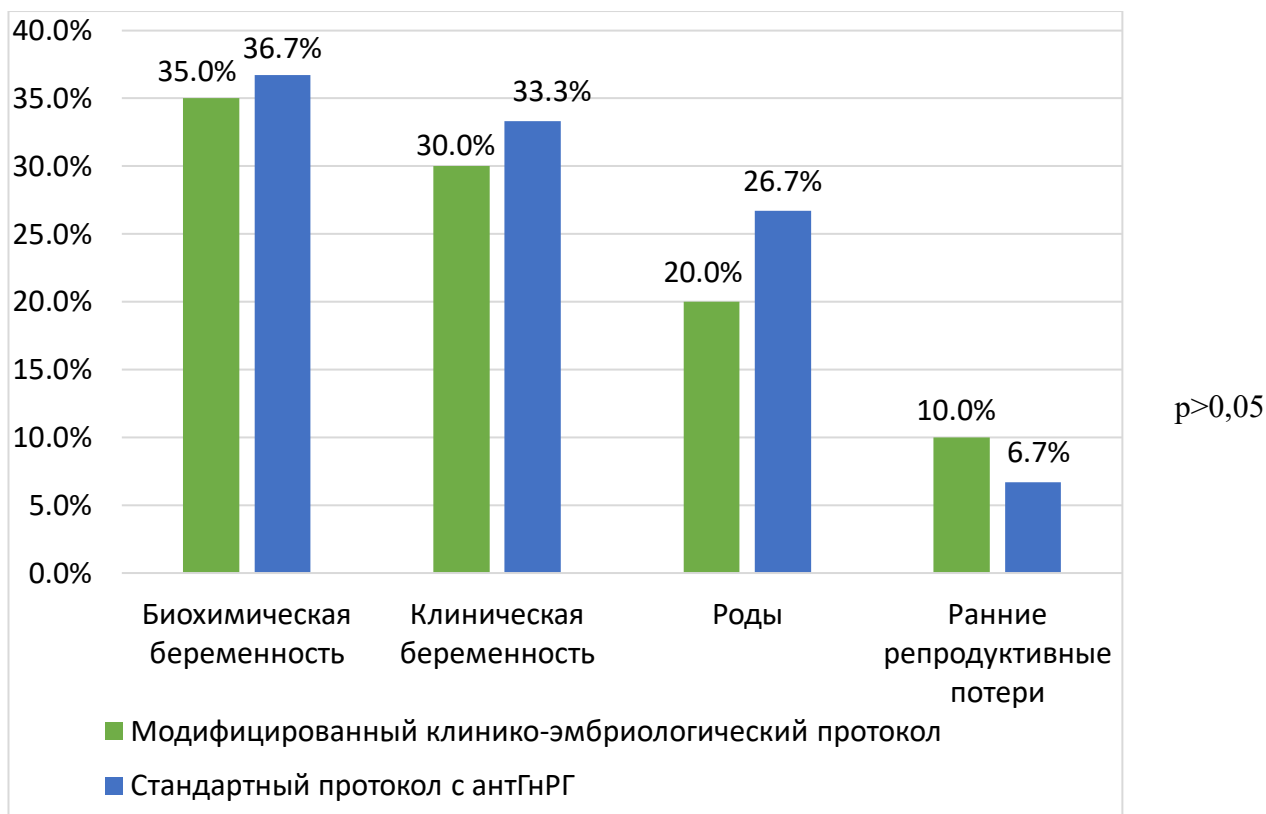


Рисунок 18. Исходы стимулированных циклов у пациенток с СКВ и группы сравнения при применении модифицированного клинико-эмбриологического протокола

Пациентки основной группы были консультированы лечащим ревматологом на всех этапах проведения программы. Слабое обострение СКВ в течение 3-х месяцев после проведения программы наблюдалось у двух из 20 больных (10%): в одном случае диагностировано обострение кожного синдрома, в другом - ухудшение иммунологических показателей – снижение С3- и С4-компонентов комплемента. У пациенток с АФС не было зафиксировано эпизодов тромбоза в течение 2-х лет до начала программы ЭКО и в течение полугода после ее проведения. У пациенток с наступившей беременностью не было зарегистрировано обострения СКВ и тромботических осложнений на ранних сроках гестации. Все женщины основной группы продолжали прием ранее назначенной лекарственной терапии основного заболевания.

Таким образом, при применении модифицированного клинико-эмбриологического протокола длительность стимуляции, суммарная доза гонадотропинов и уровень Е2 в день введения триггера овуляции были значимо ниже в основной группе больных, что указывает на снижение риска

гиперэстрогении при применении данного протокола. Показатели эмбриологического этапа и исходов программ оказались сопоставимы в группах сравнения. Полученные результаты свидетельствуют о безопасности и эффективности использования разработанного протокола у отдельных групп больных ИВРЗ (в частности СКВ) с высоким риском обострения основного заболевания и тромботических осложнений, ассоциированных со стандартной гормональной стимуляцией.

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ СОБСТВЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Известно, что ранее в подавляющем большинстве случаев беременность женщинам с ИВРЗ, тем более с высокой активностью основного заболевания, была противопоказана, а возможность реализации программ ВРТ у данного контингента больных вовсе не обсуждалась. Применение современных методов иммунологической диагностики, новых групп препаратов и технологий в лечении ИВРЗ позволило значительно улучшить качество жизни пациентов. Сегодня беременность пациенткам с данными заболеваниями зачастую не противопоказана, однако вопрос о методах ее достижения остается открытым, что обосновывает необходимость изучения особенностей фертильности и реализации репродуктивной функции, в том числе с использованием ВРТ, у данной категории пациенток.

Проведено проспективное клиническое исследование, цель которого основывалась на гипотезе о том, что у женщин с ИВРЗ, использующих иммуносупрессивную терапию основного заболевания снижена частота наступления беременности, а также параметры овариального резерва, что обусловлено как течением основного заболевания, так и его терапией. В исследование было включено 156 женщин, обратившихся для оценки фертильности и/или проведения программы ЭКО и сохранения генетического материала. Основную группу исследования составили 106 женщин с ИВРЗ. Группу контроля - 50 соматически здоровых женщин. В основной группе проведено 62 стимулированных циклов и 32 криопротокола, в контрольной группе - 73 и 38 циклов, соответственно.

Наличие хронических заболеваний и применение лекарственной терапии может отрицательно влиять на состояние репродуктивной системы. ИВРЗ не являются исключением, более того, в большинстве случаев заболевания данной группы развиваются у женщин репродуктивного возраста, что обуславливает необходимость оценки отрицательного влияния основного заболевания и его терапии на фертильность.

На первом этапе исследования был проведен анализ клинико – анамнестических данных и лабораторных параметров женщин с ИВРЗ и оценка влияния основного заболевания на состояние овариального резерва. Полученные данные показали, что женщины с РА, СКВ и АС и контрольной групп были сопоставимы по возрасту и длительности бесплодия. Анализ гинекологического анамнеза пациенток не продемонстрировал преобладания первичного или вторичного бесплодия, а также значимой разницы в структуре гинекологической патологии между группами. Однако число самостоятельных беременностей и родов в анамнезе у пациенток с вторичным бесплодием было значимо ниже в группе пациенток с РА ($p_{РА-К}=0,042$ и $p_{РА-К}=0,035$) и АС ($p_{АС-К}=0,029$ и $p_{АС-К}=0,018$). Данные результаты соответствуют результатам других исследований, согласно которым женщины с ИВРЗ имеют меньшее число детей, чем здоровые женщины, а также меньшее число детей, чем они планировали изначально [19]. В группе больных СКВ число самостоятельных беременностей у пациенток с вторичным бесплодием оказалось сопоставимым с показателями соматически здоровых женщин, однако в этой группе было зафиксировано меньшее число родов ($p_{СКВ-К}=0,027$) и большее число ранних репродуктивных потерь ($p_{СКВ-К}=0,012$). Эти данные согласуются с исследованием Østensen M. (2017), согласно которому наиболее значимыми проявлениями нарушения репродуктивной функции у больных РА является первичное и вторичное (на фоне уже развившегося заболевания) бесплодие, тогда как у больных СКВ чаще наблюдаются проблемы с вынашиванием беременности [20].

Различий в распространенности трубно-перитонеального и мужского факторов бесплодия в группах установлено не было, однако бесплодие неясной этиологии значимо чаще встречалось среди всех пациенток с ИВРЗ: с РА ($p_{РА-К}=0,047$), СКВ ($p_{СКВ-К}=0,038$) и АС ($p_{АС-К}=0,015$), что согласуется с результатами исследования Eudy A.M. и соавт. (2019) и Andreoli L. и соавт. (2017), где также было показано преобладание бесплодия неясной этиологии у пациенток с ИВРЗ [138] [2].

Далее была проведена оценка состояния овариального резерва на основании концентрации сывороточных гормонов больных. При анализе лабораторных

показателей было выявлено, что концентрация АМГ была существенно ниже во всех группах больных ИВРЗ ($p_{РА-К} = 0,013$, $p_{СКВ-К} = 0,018$, $p_{АС-К} = 0,021$), а уровни ФСГ статистически значимо выше ($p_{РА-К} = 0,009$, $p_{СКВ-К} = 0,011$, $p_{АС-К} = 0,017$). Полученные данные соответствуют результатам других исследований, посвященных оценке уровней АМГ и ФСГ у больных ИВРЗ [24].

Таким образом, для всей группы пациенток с ИВРЗ характерно значимое преобладание бесплодия неясного генеза и снижение овариального резерва по сравнению с контрольной группой. Среди причин нарушения реализации репродуктивной функции и возникновения бесплодия «неясной» этиологии у пациенток с аутоиммунными воспалительными заболеваниями в литературе обсуждается значение иммунологических нарушений, наблюдаемых у этого контингента больных. Так, для пациенток с РА отрицательное влияние заболевания может быть опосредовано через активацию воспалительных медиаторов, таких как цитокины, хемокины и факторы роста [7], которые играют важную роль в преимплантационных взаимодействиях бластоцисты и эндометрия [139]. В контексте бесплодия у женщин с СКВ обсуждается вклад гормональных нарушений, возникающих при обострении основного заболевания [140], а также возможное развитие аутоиммунного оофорита, обусловленное наличием циркулирующих аутоантител [141]. Наименее изученную группу представляют больные с АС, так как даже при условии полной компенсации основного заболевания и отсутствия применения гонадотоксической терапии показатели наступления беременности и состояния овариального резерва у данной категории больных остаются низкими.

На втором этапе исследования была проведена оценка профиля специфических аутоантител в сыворотке крови и фолликулярной жидкости у 22 пациенток с ИВРЗ и 25 соматически здоровых женщин, прошедших программу ЭКО. Были оценены значения антинуклеарных и антиовариальных антител.

В настоящее время проведено достаточное количество исследований по изучению влияния АНА на женскую репродуктивную функцию, а также на исходы программ ЭКО. Следует отметить, что АНА могут обнаруживаться и у

соматически здоровых женщин, при этом установлено их отрицательное влияние на показатели фертильности. Так, наличие АНА ассоциировано с большей распространённостью бесплодия неясного генеза, самопроизвольного прерывания беременности в ранних сроках, а также снижением овариального резерва [142,143]. Продемонстрировано негативное влияние АНА и на эффективность программ ЭКО. В ходе метаанализа, проведенного в 2019 году китайскими исследователями, было показано, что наличие АНА в крови и фолликулярной жидкости пациенток, прошедших программу ЭКО/ICSI ассоциировано с более низкой частотой имплантации эмбриона и наступления клинической беременности, а также с более высокой частотой самопроизвольного прерывания беременности в ранних сроках [144]. Особую роль данные антитела приобретают и в случае наступления беременности, так как они способны трансплацентарно оказывать повреждающее действие на плод, в частности вызывать брадиаритмию плода [145].

Согласно результатам нашего исследования среди пациенток с ИВРЗ выявлены существенно более высокие значения сывороточных АНА ($p < 0,001$), SSA/Ro ($p = 0,015$) и SSB/La ($p = 0,045$) антител, и фолликулярных АНА ($p = 0,0015$) по сравнению с женщинами группы контроля. Более того, при оценке показателей в зависимости от нозологии было установлено, что для группы пациенток с СКВ с/без АФС характерно значимое преобладание АНА ($p = 0,001$), SSA/Ro ($p = 0,009$) и SSB/La ($p = 0,018$) антител в сыворотке крови, а также АНА ($p = 0,001$) и SSA/Ro ($p = 0,017$) антител в фолликулярной жидкости. Интересно, что снижение овариального резерва установлено у всей группы пациенток с ИВРЗ независимо от получаемой терапии [12]. Следовательно, можно предположить, что негативное влияние основного заболевания на состояние овариального резерва реализуется в том числе за счет наличия циркулирующих аутоантител [184]. Несмотря на то что наличие АНА является диагностическим критерием заболеваний (в частности СКВ) [33], данные антитела могут играть значимую роль в развитии так называемого аутоиммунного бесплодия у всей группы женщин с ИВРЗ.

Что касается антиовариальных антител, чаще всего их наличие ассоциировано с так называемым «аутоиммунным оофоритом», который наблюдается при различных аутоиммунных заболеваниях. В части исследований предполагается аутоиммунный механизм развития ПНЯ при наличии аутоантител данной группы [146]. Несмотря на то что основную группу в нашем исследовании составили пациентки с уже установленным диагнозом аутоиммунного заболевания, ни в одном случае не было зафиксировано повышения нормативных значений показателей антиовариальных антител и антител к *zona pellucida* ни в сыворотке крови, ни в фолликулярной жидкости пациенток. Полученные данные могут свидетельствовать о преобладании не локального а системного аутоиммунного процесса. Вероятно, данные результаты можно объяснить хорошей компенсацией и отсутствием осложнений основного заболевания. Надлежащая терапия заболевания до, во время и после проведения программы ЭКО, возможно, послужила профилактикой развития «аутоиммунного оофорита».

Важным аспектом в контексте изучения влияния ИВРЗ на состояние репродуктивной функции является оценка воздействия лекарственной терапии основного заболевания. Известно, что базисную терапию большинства ИВРЗ составляют иммуносупрессивные препараты, часть из которых являются цитотоксическими (МТ и ЦФ). В то время как гонадотоксическое воздействие некоторых препаратов доказано (например ЦФ), влияние других препаратов на репродуктивную систему, в частности на состояние овариального резерва, является спорным и требует дальнейшего исследования.

На третьем этапе исследования был проведен анализ состояния овариального резерва женщин с ИВРЗ в зависимости от применения иммуносупрессивной терапии. Все женщины основной группы были разделены согласно их нозологической принадлежности (РА, СКВ и АС) и применению отдельных препаратов (МТ, ЦФ и ССЗ).

С целью уточнения влияния терапии *метотрексатом* (МТ) на показатели овариального резерва (в частности значение АМГ) основная группа больных РА

была разделена на две подгруппы. Первую подгруппу составили 26 пациенток с бесплодием и РА, которые получали терапию МТ. Вторую подгруппу составили 20 пациенток с бесплодием и РА, которые не получали МТ.

При анализе лабораторных показателей было выявлено, что средняя концентрация АМГ у пациенток первой подгруппы составила 1,87 [1,4;2,9] нг/мл, а у пациенток второй подгруппы - 1,37 [0,8;3,3] нг/мл. Уровень АМГ больных РА, как получавших, так и не получавших МТ, был статистически значимо ниже чем у пациенток группы контроля ($p_{1a-k}=0,034$ и $p_{1b-k}=0,029$). 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, не получавшие МТ, имели более высокий риск развития овариальной недостаточности по сравнению с больными, получавшими препарат.

Следует отметить, что корреляционный анализ зависимости уровня АМГ от возраста пациенток с РА (пациентки были сопоставимы по возрасту во всех сравниваемых группах) показал наиболее выраженное снижение АМГ в подгруппе пациенток, принимавших МТ по сравнению с подгруппой больных РА, не получавших МТ и по сравнению со всеми пациентками с РА независимо от получаемой терапии ($r_s = -0,563$) ($p < 0,05$).

Результаты исследования продемонстрировали, что РА и терапия МТ ассоциируются со снижением уровня АМГ и, соответственно, овариального резерва, что согласуется с данными других исследований [14]. Было показано, что возрастное снижение АМГ более выражено у больных с терапией МТ в анамнезе. Была отмечена отрицательная корреляция показателя АМГ с возрастом начала терапии МТ ($r_s = -0,459$), ($p < 0,05$), что позволяет сделать вывод о том, что при использовании МТ в более позднем репродуктивном возрасте наблюдается более выраженное снижение овариального резерва. Влияние МТ на состояние

овариального резерва в этом случае возможно аналогично влиянию циклофосфамида (ЦФ) [147].

Следует учитывать, что средняя доза МТ и длительность терапии были относительно небольшими, что могло повлиять на результат. С другой стороны, полученные данные позволяют обсуждать возможность подавления активности аутоиммунного процесса при использовании терапии, что в меньшей степени приводит к риску снижения овариального резерва.

С целью уточнения влияния терапии *циклофосфамидом (ЦФ)* на показатели овариального резерва (в частности значение АМГ) основная группа больных СКВ была разделена на две подгруппы. Первую подгруппу составили 11 пациенток с СКВ, которые получали терапию ЦФ. Вторую подгруппу составила 21 пациентка с СКВ без указания на прием ЦФ в анамнезе.

При анализе лабораторных показателей было установлено, что средняя концентрация АМГ у пациенток первой подгруппы составила 0,8 [0,5;1,2] нг/мл, а у пациенток второй подгруппы - 1,8 [0,8;2,7] нг/мл. При этом значение уровня АМГ пациенток с СКВ, получавших ЦФ, было статистически значимо ниже значения уровня гормона пациенток с СКВ, не получавших ЦФ ($p_{2a-2б}=0,041$). Уровень АМГ больных СКВ, как получавших, так и не получавших ЦФ, был статистически значимо ниже чем у пациенток группы контроля ($p_{2a-к}=0,001$ и $p_{2б-к}=0,014$).

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), $p=0,020$. В группе пациенток с СКВ снижение овариального резерва существенно чаще выявлялось как у больных, принимавших ЦФ (8/11(72,7%)), так и больных не принимавших препарат (6/21(28,5%)). 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, больные СКВ, получавшие ЦФ, имели более высокий риск развития овариальной недостаточности по сравнению с больными, не получавшими препарат.

Было показано, что возрастное снижение АМГ более выражено у больных с терапией ЦФ в анамнезе. Была отмечена сильная отрицательная корреляция показателя АМГ с возрастом начала терапии ЦФ ($r_s = -0,723$), ($p < 0,05$), что позволяет сделать вывод о том, что при использовании ЦФ в более позднем репродуктивном возрасте наблюдается более выраженное снижение овариального резерва.

Данные результаты совпадают с результатами других исследований, посвященных оценке влияния ЦФ на состояние овариального резерва. Так, по данным Manger K. и соавт. (2004), при применении ЦФ у пациенток с СКВ частота развития преждевременной недостаточности яичников (ПНЯ) распределяется следующим образом: менее 50% - среди пациенток моложе 30 лет, около 60% - среди пациенток от 30 до 40 лет [4].

Обобщая полученные данные, следует подчеркнуть, что само наличие ИВРЗ (РА и СКВ) обуславливает снижение АМГ у этого контингента больных, а назначение цитотоксической терапии (МТ и ЦФ) определяет повышенный риск развития недостаточности яичников. Гонадотоксическое действие ЦФ значительно более выражено, чем МТ при длительности лечения этими препаратами до одного - полутора лет. В отличие от МТ ЦФ является препаратом с установленным гонадотоксическим эффектом и при его приеме риск преждевременного снижения овариального резерва увеличивается в 30 раз, что обуславливает необходимость сохранения генетического материала при планировании данного вида терапии.

Сульфасалазин не является цитотоксическим препаратом, и, согласно имеющимся данным, не оказывает отрицательного влияния на состояние женской репродуктивной системы [80]. Несмотря на предполагаемое отсутствие негативного воздействия препарата на состояние овариального резерва, было принято решение проанализировать влияние его применения у пациенток с АС.

С целью уточнения влияния терапии ССЗ на показатели овариального резерва (в частности значение АМГ) основная группа больных АС была разделена на две подгруппы. Первую подгруппу составили 16 пациенток с АС, которые

получали терапию ССЗ. Вторую подгруппу составили 12 пациенток с АС без терапии ССЗ.

При анализе лабораторных показателей было выявлено, что средняя концентрация АМГ у пациенток первой подгруппы составила 1,6 [1,2;2,5] нг/мл, у пациенток второй подгруппы - 1,15 [0,8;2,5] нг/мл. Статистически значимых различий в показателях АМГ двух подгрупп не было выявлено ($p_{3a-3б}=0,523$). Уровень АМГ больных АС, как получавших, так и не получавших ССЗ, был статистически значимо ниже, чем у пациенток группы контроля ($p_{3a-к}=0,025$ и $p_{3б-к}=0,018$).

Важно отметить, что показатель АМГ ниже 1,0 нг/мл был отмечен 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%, $\chi^2=4,811$, $p=0,029$. Все пациентки со сниженным показателем АМГ были сопоставимы по возрасту, имели HLA-B27 антиген и низкую активность АС. Однако была показана значимая разница в длительности заболевания у пациенток получавших и не получавших ССЗ (3, 5 лет против 13 [9;17] лет $p=0,031$).

Таким образом, средний уровень АМГ пациенток с АС, как получавших, так и не получавших терапию ССЗ, был значимо ниже чем уровень АМГ пациенток группы контроля. Доля пациенток с низким показателем АМГ превалировала среди пациенток, не получавших ССЗ, и для них было характерно более длительное течение заболевания, что позволяет обсуждать отрицательное влияние ревматического заболевания и его длительности на показатели овариального резерва в большей степени чем прием ССЗ. Однако, в связи с малочисленностью обследованной группы, для окончательного суждения о влиянии АС на репродуктивное здоровье больных, уровень АМГ и возможности реализации ими репродуктивной функции необходимы дальнейшие исследования.

Криоконсервация генетического материала не распространена у пациенток с ИВРЗ, однако по данным ряда исследований данная методика является

приоритетной для всех групп пациентов по сравнению с применением аналогов ГнРГ [105] [106]. Целесообразность применения аналогов ГнРГ для сохранения овариального резерва и профилактики ПНЯ у больных с ИВРЗ не достаточно изучена и имеет противоречивые результаты [4]. Важно отметить, что в ходе проведенного исследования не удалось оценить эффективность овариопротекции при применении аналогов ГнРГ, так как больные основной группы, получавшие гонадотоксическую терапию, обратились уже после ее завершения.

В ходе исследования с целью сохранения генетического материала всего обратилось 6 пациенток, из которых 3 (50%) пациентки обратились с целью сохранения генетического материала (а именно эмбрионов) для последующей реализации программы суррогатного материнства, а еще 3 (50%) пациентки обратились с целью сохранения генетического материала (а именно эмбрионов) перед планируемым лечением гонадотоксическими препаратами. Нозологическая структура пациенток, обратившихся для криоконсервации генетического материала, была представлена: в одном (16,7%) случае тяжелым течением СКВ и АФС, в двух (33,3%) случаях СКВ и АФС, характеризующимся повторными потерями беременности, в 3 (50%) случаях РА, требующим проведения иммуносупрессивной гонадотоксической терапии.

В 3-х случаях (у пациенток с СКВ и АФС) была проведена программа ЭКО в модифицированном клинико-эмбриологическом протоколе с антГнРГ с использованием профилактических доз НМГ. В результате произведена криоконсервация 2-х эмбрионов на стадии дробления у пациентки с тяжелым течением СКВ и АФС и 2-х эмбрионов на стадии бластоцист у двух пациенток с АФС соответственно.

В 3-х случаях (у пациенток с РА) была проведена программа ЭКО в стандартном протоколе с антГнРГ. В результате произведена криоконсервация 2, 3 и 2 эмбрионов на стадии бластоцист у трех пациенток соответственно.

Криоконсервация генетического материала может быть рассмотрена в качестве варианта сохранения фертильности у больных ИВРЗ в нескольких случаях. Прежде всего, сохранение генетического материала можно рекомендовать при планировании иммуносупрессивной цитотоксической

терапии, например при использовании циклофосфида, метотрексата или лефлуномида. Другим показанием к криоконсервации ооцитов и/или эмбрионов может быть тяжелое течение основного заболевания и наличие противопоказаний к вынашиванию беременности. В этом случае возможна криоконсервация генетического материала с последующим применением программы суррогатного материнства [148]. Проведение программ ЭКО у данных групп пациенток является эффективным и безопасным методом сохранения фертильности при условии индивидуального подбора протокола овариальной стимуляции и контроля течения основного заболевания и возможных его осложнений.

Эффективность и безопасность проведения программ ВРТ наиболее изучена в группе пациенток с СКВ. В нескольких исследованиях показано, что исходы программ ЭКО у данной группы пациенток сопоставимы с показателями соматически здоровых женщин [2] [11]. Однако данные по эффективности программ у пациенток с РА и АС ограничены, а в отечественной литературе не было найдено никаких исследований касательно применения ВРТ у пациенток с ИВРЗ, как с СКВ, так и с РА и АС.

На четвертом этапе исследования был проведен анализ основных параметров овариальной стимуляции, эмбриологического этапа и исходов программы ЭКО у женщин с ИВРЗ в стандартном протоколе овариальной стимуляции с антГнРГ.

Основную группу составили 26 больных РА, 8 больных СКВ и 14 пациенток с АС. В группу контроля вошли 50 соматически здоровых женщин, также прошедших программу ЭКО.

Анализ параметров стимулированного цикла у пациенток с ИВРЗ в стандартных протоколах с антГнРГ не выявил значимой разницы в виде гонадотропинов, стартовой дозе (225 [168,7;300] МЕ и 225 [225;225] МЕ, $p=0,57$) и длительности стимуляции (10 [9;10] и 9 [8;10] дней, $p=0,37$) между основной и контрольной группами, однако суммарная доза гонадотропинов была значимо выше в основной группе (2650 [1215;2800] МЕ и 2000 [1650;2250] МЕ; $p=0,045$), что обусловлено снижением овариального резерва у пациенток с ИВРЗ и,

соответственно, применением более высоких доз гонадотропинов с целью овариальной стимуляции.

Анализ параметров эмбриологического этапа показал, что у пациенток с ИВРЗ 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]; $p=0,005$), эмбрионов на стадии дробления (4 [2;7] и 6 [4;10]; $p=0,032$), бластоцист (1 [0;3] и 3 [1;6]; $p=0,001$) и криоконсервированных эмбрионов (1(0;2) и 2(0;4); $p=0,015$) по сравнению с контрольной группой. У пациенток с ИВРЗ получено меньшее количество бластоцист отличного качества (15 (24,2%) и 31 (42,5%); $p=0,003$), а число полученных бластоцист хорошего (36 (58%) и 45 (61,6%); $p=0,75$) и удовлетворительного качества (29 (46,7%) и 44 (50,3%); $p=0,87$) оказалось сопоставимым в группах сравнения.

С целью оценки исходов стимулированных циклов пациентки из основной группы были поделены на 3 группы в зависимости от основного заболевания. Последующий анализ показал, что у пациенток с РА по сравнению со здоровыми женщинами в стимулированных циклах отмечалась более низкая частота биохимической (19,2% против 40%, $p=0,042$), клинической (15,4% против 34%, $p=0,032$) беременности и родов (7,7% против 28%, $p=0,027$). Различий в частоте ранних репродуктивных потерь (самопроизвольного прерывания беременности и неразвивающейся беременности) выявлено не было (7,7% и 46%, $p=0,713$). Среди больных СКВ и женщин контрольной группы выявлена одинаковая частота биохимической (37,5% и 40%, $p=0,812$), клинической (37,5% и 34%, $p=0,941$) беременности и родов (25% и 28%, $p=0,771$). Однако частота ранних репродуктивных потерь была значимо выше среди пациенток с СКВ (12,5% против 6%, $p=0,042$). У пациенток с АС по сравнению со здоровыми женщинами выявлена более низкая частота биохимической (14,3% против 40%, $p=0,014$), клинической (14,3% против 34%, $p=0,032$) беременности и родов (0% против 28%, $p=0,001$). Для пациенток с АС была также характерна более высокая частота ранних репродуктивных потерь (14,3% против 6%, $p=0,034$).

В программы криопротокола были включены 27 пациенток с ИВРЗ: 12 больных РА, 5 пациенток с СКВ, 10 больных АС. В группу контроля вошли 30 соматически здоровых женщин.

Проведенный анализ исходов программ криопротокола показал, что у пациенток с РА по сравнению со здоровыми женщинами отмечалась сопоставимая частота биохимической (25% и 50%, $p=0,088$) беременности, но низкая частота клинической (16,7% против 46,7%, $p=0,048$) беременности и родов (8,3% против 40%, $p=0,032$). Различий в частоте ранних репродуктивных потерь (самопроизвольного прерывания беременности и неразвивающейся беременности) выявлено не было (8,3% и 6,7%, $p=0,513$). Среди больных СКВ и женщин контрольной группы выявлена одинаковая частота биохимической (40% и 50%, $p=0,781$), клинической (40% и 46,7%, $p=0,623$) беременности и родов (20% и 40%, $p=0,061$). Однако частота ранних репродуктивных потерь была значимо выше среди пациенток с СКВ (20% против 6,7%, $p=0,042$). У пациенток с АС по сравнению со здоровыми женщинами выявлена более низкая частота биохимической (20% против 50%, $p=0,044$), клинической (20% против 46,7%, $p=0,036$) беременности и родов (10% против 40%, $p=0,008$). Частота ранних репродуктивных потерь в группах сравнения оказалась сопоставимой (10% и 6,7%, $p=0,358$).

Полученные результаты позволили сделать вывод о том, что для пациенток с РА характерны более низкие показатели наступления биохимической, клинической беременности, а также родов в результате программ ЭКО и криопротокола. Это может быть обусловлено отрицательным влиянием течения РА, а также проводимой терапии за счет следующих механизмов: нарушение взаимодействия провоспалительных медиаторов. Многие цитокины, хемокины и факторы роста играют важную роль в физиологии репродукции, в частности в процессе имплантации [149], однако их роль в снижении фертильности у больных системными воспалительными заболеваниями до конца не изучена [6]. Использование нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП), которые могут нарушать процессы овуляции, имплантации и плацентации путем ингибирования синтеза простагландинов [28]. Считается, что селективные

ингибиторы циклооксигеназы 2 (ЦОГ-2), подавляют овуляцию сильнее, чем неселективные НПВП. Однако данные выводы основаны на исследованиях с немногочисленными выборками [150]. Использование преднизолона, что может оказывать влияние на функционирование гипоталамо-гипофизарно-яичниковой оси (ГГЯС). Наряду с НПВП и ГК многие пациенты в качестве базисной терапии получают МТ, который оказывает негативное влияние на быстро делящиеся клетки, к которым можно отнести клетки ткани яичника или и эндометрия.

Показатели наступления биохимической, клинической беременности, а также родов в результате программ ЭКО и криопротокола у пациенток с СКВ оказались сопоставимыми с результатами группы сравнения, однако у женщин с СКВ значимо чаще наблюдалось самопроизвольное прерывание беременности после программ ЭКО, что согласуется с данными литературы [15]. Фертильность у пациенток с СКВ может быть снижена за счет следующих механизмов: аменореи, которая может развиться на фоне обострения заболевания; вторичной недостаточности яичников вследствие гонадотоксической терапии [151]; а также влияния антинуклеарных и антифосфолипидных антител [152]. При отсутствии серьезных осложнений заболевания и цитотоксической терапии в анамнезе фертильность у женщин с СКВ сопоставима с общепопуляционной.

В группе больных АС были зафиксированы самые низкие показатели наступления биохимической, клинической беременности, а также родов в результате программ ЭКО и криопротокола. Следует также отметить, что для пациенток с АС была характерна более высокая ранняя репродуктивных потерь. Причина низкой эффективности программ у данной группы пациенток остается до конца неясной. Возможно, как и в случае РА большую роль играет терапия – в частности прием НПВП, отрицательное влияние которых обсуждалось выше [95] [96]. В исследовании английских авторов обсуждается негативное влияние наличия гена HLAB27-антигена на репродуктивную функцию не только у больных АС, но и у соматически здоровых женщин. Считается, что наличие антигена HLAB27 ассоциировано не только с повышенным риском развития аутоиммунных состояний, но и невынашивания беременности [153].

Известно, что ИВРЗ, в частности СКВ и АФС, ассоциированы с повышенным риском тромбоза во время овариальной стимуляции при проведении программы ЭКО. Наиболее весомый вклад в гиперкоагуляционное состояние, обусловленное стимуляцией яичников, вносит наличие циркулирующих аФЛ при АФС [2]. Механизм, за счет которого происходит тромбообразование, является комплексным и не последнюю роль в нем играют прокоагулянтные ВВ. Так в ходе нескольких работ у пациентов с аФЛ был выявлен повышенный уровень циркулирующих эндотелиальных микровезикул. При исследовании сыворотки крови 30 пациентов с наличием ВА и 30 здоровых представителей контрольной группы Combes и соавт. (1999) сообщили о двукратном увеличении уровня эндотелиальных микровезикул среди пациентов основной группы. Также было показано, что уровень эндотелиальных микровезикул был значительно повышен у пациентов с наличием тромботических осложнений в анамнезе [72]. Сообщается, что больные с АФС имеют значительно более высокие уровни тканевого фактора, ассоциированного с циркулирующими микровезикулами, по сравнению с группой контроля. При этом уровни ТФ-ВВ коррелировали с наличием ВА и повышенным уровнем антител к $\beta 2$ ГП1 [154].

Проведение овариальной стимуляции даже у соматически здоровых пациентов является фактором риска возникновения гиперкоагуляционного состояния. При этом скорость формирования сгустка у пациенток на стадии стимуляции яичников коррелирует с исходами программы ЭКО [155]. В данный процесс могут быть вовлечены не только циркулирующие ВВ, но и ВВ фолликулярной жидкости. Так Краевая Е.Е. и соавт. показали, что формирование фибринового сгустка в фолликулярной жидкости происходит при непосредственном участии прокоагулянтных ВВ, в частности ВВ, ассоциированных с наличием ТФ [156].

В ходе исследования была проведена оценка уровня ТФ-ВВ в плазме крови 18 пациенток с ИВРЗ (из них: 6 женщин с РА, 7 с СКВ с/без АФС и 5 с АС) и 30 соматически здоровых женщин, находящихся в программе ЭКО, до и после овариальной стимуляции. Было установлено, что в ходе стимуляции яичников у пациенток основной группы уровень ТФ-ВВ значимо не повышался. Однако при

сравнении показателей с данными группы контроля было зафиксировано значительное повышение уровня ТФ-ВВ у пациенток основной группы до и после овариальной стимуляции соответственно (0,593 (0,0;1,86) пг/мл против 0,112 (0,0;1,36) пг/мл, $p=0,039$) и (0,901 (0,0;2,19) пг/мл против 0,222 (0,0;0,59) пг/мл, $p=0,018$). Полученные данные указывают на наличие более высокого риска тромботических осложнений у пациенток с ИВРЗ в ходе овариальной стимуляции по сравнению со здоровыми женщинами [2].

Оценка уровней ТФ-ВВ до и после овариальной стимуляции у пациенток основной группы в зависимости от их нозологической принадлежности показала, что средние концентрации ТФ-ВВ больных основной группы до овариальной стимуляции составили: для женщин с РА - 0,321 [0,0;0,74] пг/мл, СКВ - 0,586 [0,0;1,68] пг/мл и АС - 0,618 [0,83;1,32] пг/мл. Сравнение полученных данных с соответствующими показателями пациенток контрольной группы не выявило значимой разницы между уровнями ТФ-ВВ больных РА и группы контроля ($p_{РА-К}=0,723$), однако была продемонстрирована значимая разница в концентрации фактора между пациентками с СКВ и АС и соматически здоровыми женщинами ($p_{СКВ-К}=0,031$ и $p_{АС-К}=0,017$). После стимуляции яичников концентрация ТФ-ВВ нарастала во всех сравниваемых группах больных и соматически здоровых женщин. Средние концентрации ТФ-ВВ пациенток основной группы после овариальной стимуляции составили: для больных РА - 0,593 [0,0;0,91] пг/мл, СКВ - 0,891 [0,0;2,32] пг/мл и АС - 1,02 [0,83;1,95] пг/мл. Показатели больных РА и СКВ статистически значимо не отличались от аналогичного показателя контрольной группы ($p_{РА-К}=0,633$ и $p_{СКВ-К}=0,142$), тогда как у больных АС полученный результат значительно его превышал (1,02 [0,83;1,95] против 0,222 [0,0;0,59], $p_{АС-К}=0,005$).

Таким образом, уровень ТФ-ВВ у пациенток основной группы по сравнению с показателями группы контроля как до, так и после овариальной стимуляции оказался существенно выше, свидетельствуя о возможном повышенном риске тромбоза у данной категории больных и обуславливая необходимость разработки и применения персонализированных протоколов, обеспечивающих минимизацию данного осложнения.

Среди пациенток основной группы наиболее высокие концентрации ТФ-ВВ до овариальной стимуляции ожидаемо отмечались у больных СКВ и неожиданно – пациенток с АС, у которых они сохранялись и на фоне проведения стимуляции. Отсутствие повышения концентраций ТФ-ВВ после овариальной стимуляции в группе больных СКВ возможно обусловлено применением модифицированного клинико-эмбриологического протокола. В свою очередь группа больных АС представляет повышенный интерес, поскольку, как было продемонстрировано выше, именно в ней наблюдалась наименьшая эффективность программ ЭКО. Однако, следует отметить, что исследуемые нами группы были сравнительно малочисленными, что могло повлиять на полученные результаты, в связи с чем необходимы дальнейшие исследования с увеличением числа случаев наблюдения пациентов с этим заболеванием.

В публикациях касательно проведения программ ЭКО у пациенток с ИВРЗ рекомендуют применение так называемых «мягких» протоколов овариальной стимуляции, которые позволяют снизить риск гиперэстрогении и возможных осложнений основного заболевания [2]. В этой связи больные СКВ представляют собой особую группу пациенток с ИВРЗ, так как в ходе овариальной стимуляции в программе ЭКО на фоне гиперэстрогении у них может повышаться риск как обострения основного заболевания, так и тромботических осложнений, особенно у пациенток с сопутствующим АФС. Несмотря на существующие риски в некоторых исследованиях была продемонстрирована эффективность и относительная безопасность проведения программы ЭКО у женщин данной категории [11]. Однако к настоящему времени нет разработанных и утвержденных профильных рекомендаций по проведению программ ВРТ для данной группы пациенток.

Учитывая возможность обострения основного заболевания и повышенный риск тромботических осложнений согласно заключению ревматолога, для части пациенток с СКВ (n=20, из них 4 с сопутствующим АФС), составивших основную группу, **на пятом этапе исследования** был разработан модифицированный

клинико-эмбриологический протокол проведения программы ЭКО (см. Глава 2. Материал и методы исследования, раздел 2.2.5).

Для оценки 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. Группу сравнения составили 30 соматически здоровых женщин, прошедших программу ЭКО в стандартном протоколе с антГнРГ, сопоставимых по возрасту, длительности и типу бесплодия, а также показателям овариального резерва с пациентками основной группы.

При применении модифицированного клинико-эмбриологического протокола 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 E2 в день введения триггера овуляции (922,4 [836;1112,2] пкмоль/л против 2535 [2289,2;2787,5] пкмоль/л, $p=0,048$) были значимо ниже в основной группе, что указывало на снижение риска гиперэстрогении в ходе применения разработанного протокола в отличие от стандартного протокола стимуляции яичников с антГнРГ.

Анализ параметров эмбриологического этапа показал, что такие показатели как число полученных ооцитов (4 [2;6] и 5 [2;8]), зрелых ооцитов (3 [1;4] и 4 [2;7]), зигот (2 [1;3] и 3 [2;6]), эмбрионов на стадии дробления (2 [1;3] и 2 [2;5]), бластоцист (1 [0;3] и 2 [1;4]) и криоконсервированных эмбрионов (1 [0;2] и 2 [0;3]) были сопоставимы с показателями группы сравнения ($p>0,05$). У пациенток с СКВ и группы сравнения число эмбрионов отличного (6 (30%) и 11 (36,7%)), хорошего (9 (45%) и 13 (43,3%)) и удовлетворительного (5 (25%) и 6 (20%)) качества также оказалось сопоставимым ($p>0,05$).

Анализ исходов программ ЭКО с применением модифицированного клинико-эмбриологического протокола был проведен для всей группы пациенток с СКВ. Частота наступления биохимической (35% и 36,7%), клинической беременности (30% и 33,3%) и родов (20% и 26,7%) оказалась сопоставимой

между пациентками с СКВ и женщинами группы сравнения, $p > 0,05$. Частота ранних репродуктивных потерь при использовании модифицированного протокола также была сопоставимой в сравниваемых группах (10% и 6,7%), $p > 0,05$.

Таким образом, при применении модифицированного клинико-эмбриологического протокола длительность стимуляции, суммарная доза гонадотропинов и уровень E2 в день введения триггера овуляции были значимо ниже в основной группе больных, что указывает на снижение риска гиперэстрогении при применении данного протокола. Показатели эмбриологического этапа и исходов программ оказались сопоставимы в группах сравнения, а серьезных обострений основного заболевания или тромботических явлений диагностировано не было. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности и безопасности использования разработанного протокола у отдельных групп больных ИВРЗ (в частности СКВ) с высоким риском обострения основного заболевания и тромботических осложнений, ассоциированных со стандартной гормональной стимуляцией.

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 IVМ, 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 СОКРАЩЕНИЙ

- АМГ - антимюллеровский гормон
- АЗА - азатиоприн
- аГнРГ – агонисты гонадотропин-рилизинг гормона
- антГнРГ – антагонист гонадотропин-рилизинг гормона
- АС – анкилозирующий спондилит
- АНА – антинуклеарные антитела
- аФЛ – антифосфолипидные антитела
- АФС - антифосфолипидный синдром
- ВА – волчаночный антикоагулянт
- ВМИ – внутриматочная инсеминация
- ВОЗ - Всемирная организация здравоохранения
- ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии
- ГИБП – генно-инженерные биологические препараты
- ГК - глюкокортикоиды
- ГП1 – гликопротеин 1
- ЕЦ – естественный цикл
- ИВРЗ – иммунно-воспалительные ревматические заболевания
- ИППП – инфекции передающиеся половым путем
- ИФА – иммуноферментный анализ
- ИМТ – индекс массы тела
- КЛ - кардиолипид
- ЛГ - лютеинизирующий гормон
- МЕ – международные единицы
- ММФ – микофенолатамофетил
- МТ - метотрексат
- НПВС – нестероидные противовоспалительные средства
- Прл - пролактин
- ПЭ – перенос эмбрионов
- РА – ревматоидный артрит

рФСГ – рекомбинантный фолликулостимулирующий гормон
РНК - рибонуклеиновая кислота
РФ – ревматоидный фактор
СГЯ – синдром гиперстимуляции яичников
СКВ – системная красная волчанка
СРБ – С-реактивный белок
ССЗ - сульфасалазин
СЦ – стимулированный цикл
ТВП – трансвагинальная пункция
ТТГ – тиреотропный гормон
ТПФ - трубно-перитонеальный фактор бесплодия
УЗИ – ультразвуковое исследование
ФСГ - фолликулостимулирующий гормон
ФНО – фактор некроза опухоли
ХГЧ – хорионический гонадотропин человека
ЦФ - циклофосфамид
чМГ – человеческий менопаузальный гонадотропин
ЧНБ– частота наступления беременности
ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение
BASDAI - Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index
DAS28 - Disease Activity Score 28
E2 - эстрадиол
ICSI –Intra Cytoplasmic Sperm Injection
SLEDAI - Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Østensen M. Sexual and reproductive health in rheumatic disease. *Nat Rev Rheumatol*. 2017; 13(8):485-493.
2. Andreoli L., Bertias G.K., Agmon-Levin N. et al. EULAR recommendations for women's health and the management of family planning, assisted reproduction, pregnancy and menopause in patients with systemic lupus erythematosus and/or antiphospholipid syndrome. *AnnRheumDis*. 2017;76(3):476-485.
3. Российские клинические рекомендации под редакцией академика РАН Е.Л. Насонова. 2017.
4. Somers E.C., Marder W., Christman G.M., et al. Use of a gonadotropin-releasing hormone analog for protection against premature ovarian failure during cyclophosphamide therapy in women with severe lupus. *Arthritis Rheum*. 2005; 52:2761–7.
5. Kerr L.D. Inflammatory arthropathy: a review of rheumatoid arthritis in older patients. *Geriatrics*. 2004; 59(10):32-5; quiz 36.
6. Brouwer J., Laven J.S., Hazes J.M., Schipper I., Dolhain R.J. Levels of serum antiMullerian hormone, a marker for ovarian reserve, in women with rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2013; 65:1534–8.
7. Henes M., Henes J.C., Neunhoeffler E., et al. Fertility preservation methods in young women with systemic lupus erythematosus prior to cytotoxic therapy: experiences from the FertiPROTEKT network. *Lupus* 2012;21:953–4.
8. Choux C., Cavalieri M., Barberet J., et al. Traitements immunosuppresseurs et préservation de la fertilité : indications et modalités pratiques [Immunosuppressive therapy and fertility preservation: Indications and methods]. *Rev Med Interne*. 2018;39(7):557-565.
9. Hermine I. Brunner, MD, Clovis A. Silva, MD, Andreas Reiff, et al. Randomized Double-Blinded Dose Escalation Trial of Triptorelin for Ovary

-
- Protection in Childhood-Onset Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheumatol.* 2015; 67(5): 1377–1385.
10. Bellver J., Pellicer A. Ovarian stimulation for ovulation induction and in vitro fertilization in patients with systemic lupus erythematosus and antiphospholipid syndrome. *Fertil Steril.* 2009; 92(6):1803-10.
 11. Orquevaux P., Masseur A., Le Guern V. et al. In Vitro Fertilization in 37 Women with Systemic Lupus Erythematosus or Antiphospholipid Syndrome: A Series of 97 Procedures. *J Rheumatol.* 2017; 44(5):613-618.
 12. Власова Г.А., Перминова С.Г., Кошелева Н.М., Назаренко Т.А.: Репродуктивная функция у женщин с иммуновоспалительными ревматическими заболеваниями. *Акушерство и гинекология.* 2019; 10: 51-59. <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.10.51-59>
 13. Oktem O., Hande Y., Hale B., Bulent U., Reproductive aspects of systemic lupus erythematosus. *Journal of Reproductive Immunology.* 2016; 117:57-
 14. Straub R.H., Bijlsma J.W., Masi A. et al. Role of neuroendocrine and neuroimmune mechanisms in chronic inflammatory rheumatic diseases--the 10-year update. *Semin Arthritis Rheum.* 2013; 43(3):392-404.
 15. Colasanti T., Maselli A., Conti F., et al. Autoantibodies to estrogen receptor α interfere with T lymphocyte homeostasis and are associated with disease activity in systemic lupus erythematosus (SLE). *Arthritis Rheum.* 2012; 64(3):778-87.
 16. Capellino S., Straub R.H., Cutolo M. Aromatase and regulation of the estrogen-to-androgen ratio in synovial tissue inflammation: common pathway in both sexes. *Ann N Y Acad Sci.* 2014; 1317:24-31.
 17. Capellino S., Montagna P., Villaggio B. et al. Cutolo M. Hydroxylated estrogen metabolites influence the proliferation of cultured human monocytes: possible role in synovial tissue hyperplasia. *Clin Exp Rheumatol.* 2008; 26(5):903-9.

-
18. Cutolo M., Brizzolara R., Atzeni F. et al. The immunomodulatory effects of estrogens: clinical relevance in immune-mediated rheumatic diseases. *Ann N Y Acad Sci.* 2010; 1193:36-42.
 19. Østensen M., Andreoli L., Brucato A. et al. State of the Art: Reproduction and Pregnancy in Rheumatic Diseases, *Autoimmunity Reviews*, 2014; 293:36-41.
 20. Megan E. B. Clowse, Eliza Chakravarty, Karen H. et al. Effects of Infertility, Pregnancy Loss, and Patient Concerns on Family Size of Women With Rheumatoid Arthritis and Systemic Lupus Erythematosus, *Arthritis Care & Research* Vol. 64, No. 5, 2012, pp 668–674.
 21. Østensen M. New insights into sexual functioning and fertility in rheumatic diseases. *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* 2004; 18, 219–232.
 22. Helland Y. et al. Rheumatic diseases and sexuality: disease impact and self-management strategies. *Arthritis Care Res.* 2011; 743–750.
 23. Sowers M. Anti-Müllerian hormone and inhibin B variability during normal menstrual cycles. *Fertil. Steril.* 2010; 94(4):1482-6.
 24. Henes, M. et al. Ovarian reserve alterations in premenopausal women with chronic inflammatory rheumatic diseases: impact of rheumatoid arthritis, Behcet’s disease and spondyloarthritis on antiMullerian hormone levels. *Rheumatology (Oxford)* 54, 2015; 1709–1712.
 25. Pınar Y.B., Pınar K., Nura F. et al., Ovarian reserve in patients with ankylosing spondylitis. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2020; 303(1):189-193.
 26. Wallenius M., Skomsvoll J.F., Irgens L.M., et al. Fertility in women with chronic inflammatory arthritides. *Rheumatology* 2011; 50,1162-7.
 27. Brouwer J., Hazes J.M., Laven J.S. Fertility in women with rheumatoid arthritis: influence of disease activity and medication. *Ann Rheum Dis.* 2015;74(10):1836–41.
 28. Van Sinderen M., Menkhorst E., Winship A. Preimplantation human blastocyst-endometrial interactions: the role of inflammatory mediators. *Am J. Reprod Immunol* 2013;69(5):427–40.

-
29. Ince-Askan H., Dolhain R.J. Pregnancy and rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2015;29(4–5):580–96.
 30. Pasoto S., Mendonca B., Bonfa E. Menstrual disturbances in patients with systemic lupus erythematosus without alkylating therapy: clinical, hormonal, and therapeutic associations. *Lupus.* 2002;11:175–80.
 31. Medeiros P.B., Febrônio M.V., Bonfá E., Menstrual and hormonal alterations in juvenile systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2009;18(1):38-43.
 32. LaBarbera A.R., Miller M.M., Ober C. Autoimmune etiology in premature ovarian failure. *Am J Reprod Immunol Microbiol.* 1988;16(3):115-22.
 33. Blanco-Favela F., Quintal-Alvarez G., Leñanos-Miranda A. Association between prolactin and disease activity in systemic lupus erythematosus. Influence of statistical power. *J Rheumatol.* 1999;26(1):55-9.
 34. Forges T., Monnier-Barbarino P., Faure G. C. Autoimmunity and antigenic targets in ovarian pathology. *Hum Reprod Update.* 2004;10(2):163-75.
 35. Mok C.C., Chan P.T., To C.H. Anti-müllerian hormone and ovarian reserve in systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatol.* 2013; 65:06–10.
 36. Carp H.J.A., Shoenfeld Y. Anti-Phospholipid Antibodies and Infertility. *Clinic Rev Allerg Immunol* 2007; 32:159–161.
 37. Di Somone N., Meroni P.L., de Papa N. et al. Antiphospholipid antibodies affect trophoblast gonadotropin secretion and invasiveness by binding directly and through adhered beta2-glycoprotein-I. *Arthritis Rheum* 2000;43:140–150.
 38. Baker W.F., Bick R.L. The clinical spectrum of antiphospholipid syndrome. *Hematol Oncol Clin N Am* 2008;22(1):33-52.
 39. Lyden T., Vogt E., Ng A.K. Monoclonal antiphospholipid antibody reactivity against human placental trophoblast. *J Reprod Immunol* 1992; 22:1–14.
 40. Kaider A. S., Kaider B. D., Janowicz P. B. Immunodiagnostic evaluation in women with reproductive failure. *American Journal of Reproductive Immunology.* 1999;42(6):335–346.

-
41. Mardesic T., Ulcova-Gallova Z., Huttelova R. The influence of different types of antibodies on in vitro fertilization results. *Am J Reprod Immunol* 2000; 43:1–5.
 42. Eldar-Geva T., Wood C., Lolatgis N. et al. Cumulative pregnancy and livebirth rates in women with antiphospholipid antibodies undergoing assisted reproduction. *Hum Reprod* 1999; 14:1461–1466.
 43. American Society for Reproductive Medicine: A Practice Committee report. Antiphospholipid antibodies do not affect IVF success. American Society for Reproductive Medicine, Birmingham, AL, USA, 1999; pp 1–3.
 44. Hornstein M.D., Davis O.K., Massey J.B. et al. Antiphospholipid antibodies and in vitro fertilization success: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2000; 73:330–333.
 45. Mahler, M., Meroni, P. L., Bossuyt, X. Current concepts and future directions for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as antinuclear antibodies. *J. Immunol. Res.* 2014, 315179.
 46. Meroni, P. L. & Schur, P. H. ANA screening: an old test with new recommendations. *Ann. Rheum. Dis.* 69, 2010;1420–1422.
 47. Aringer, M. et al. 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Ann. Rheum. Dis.* 78, 1151–1159.
 48. Wilson C., Eade O.E., Elstein M., Lloyd R., Wright R. (1975) Smooth muscle antibodies in infertility. *Lancet* 2:238–2:238–239.
 49. Taylor P.V., Campbell J.M., Scott J.S. (1989) Presence of autoantibodies in women with unexplained infertility. *Am J Obstet Gynecol* 161:377–379.
 50. Reimand K., Talja I., Metskula K., (2001) Autoantibody studies of female patients with reproductive failure. *J Reprod Immunol* 51:167–176.
 51. Parks C.G., Miller F.W., Satoh M., Reproductive and hormonal risk factors for antinuclear antibodies (ANA) in a representative sample of U.S. women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 23, 2014;2492–2502.

-
52. Kikuchi K., Shibahara H., Hirano Y., Kohno T., Antinuclear antibody reduces the pregnancy rate in the first IVF-ET treatment cycle but not the cumulative pregnancy rate without specific medication. *Am J Reprod Immunol* 50, 2003;363–367.
 53. Ying Y., Zhong Y.P., Zhou C.Q. Antinuclear antibodies predicts a poor IVF-ET outcome: impaired Egg and embryo development and reduced pregnancy rate. *Immunol Invest* 41, 2008; 458–468.
 54. Li Y., Wang Y., Ma Y., Investigation of the impact of antinuclear antibody on the outcome of in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection treatment. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2015; 54:742–748.
 55. Simerly C., Balczon R., Brinkley B.R., Microinjected kinetochore antibodies interfere with chromosome movement in meiotic and mitotic mouse oocytes. *J Cell Biol* 1990; 111: 1491–1504.
 56. Moraes-Ruehsen M., Jones G.S. Premature ovarian failure. *Fertil Steril*, 1967; 18:440–461.
 57. Anasti J.N. Premature ovarian failure: an update. *Fertil Steril* 1998; 70:1–15.
 58. Kalantaridou S.N., Davis S.R., Nelson L.M. Premature ovarian failure. *Endocrin Metab Clin* 1998; 27:989–1006.
 59. Coulam C.B., Ryan R.J. Prevalence of circulating antibodies directed toward ovaries among women with premature ovarian failure. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 1985; 9:23–24.
 60. Forges T, Monnier-Barbarino P, Faure GC, Bene MC (2004) Autoimmunity and antigenic targets in ovarian pathology. *Hum Reprod Update* 10:163–175.
 61. Sotsiou F., Bottazzo G.F., Doniach D. ImmunoXuorescence studies on autoantibodies to steroid-producing cells, and to germline cells in endocrine disease and infertility. *Clin Exp Immunol*, 1980; 39:97–111.
 62. Williamson H.O., Phansey S.A., Mathur S., et al. Myasthenia gravis, premature menopause, and thyroid autoimmunity. *Am J Obstet Gynecol* 1980. 137:893–901.

-
63. Kamada M., Daitoh T., Mori K., Etiological implication of autoantibodies to zona pellucida in human female infertility. *Am J Reprod Immunol*, 1992; 28:104–109.
 64. Alper M.M., Garner P. (1985) Premature ovarian failure: Its relation to autoimmune disease. *Obstet Gynecol* 66:27–30.
 65. Case records of the Massachusetts General Hospital (1986) Weekly clinicopathological exercises; Case 46-1986. *N Engl J Med* 315:1336–1343.
 66. Tang V.W., Faiman C. (1983) Premature ovarian failure: A search for circulating factors against gonadotropin receptors. *Am J Obstet Gynecol* 146:816–821.
 67. Collen R.J., Lippe B.M., Kaplan S.A. (1979) Primary ovarian failure, juvenile rheumatoid arthritis and vitiligo. *Am J Dis Child* 133:598–600.
 68. Kyriaki E., Alexios J. A., Panagiota R., et al. Antiovarian antibodies in primary Sjogren's syndrome. *Rheumatol Int.* 2017; 27(12):1149-55.
 69. Tomioka R.B., Ferreira G.R.V., Aikawa N.E. Non-steroidal anti-inflammatory drug induces luteinized unruptured follicle syndrome in young female juvenile idiopathic arthritis patients. *Clin Rheumatol.* 2018; 37(10):2869-2873.
 70. Micu, M. C., Micu, R., Ostensen M. Luteinized unruptured follicle syndrome increased by inactive disease and selective cyclooxygenase 2 inhibitors in women with inflammatory arthropathies. *Arthritis Care Res.* 2011; 1334–1338.
 71. Kailasam C., Hunt L.P., Ryder I., Bhakri I., Gordon U.D. Safety and effectiveness of diclofenac sodium in assisted reproduction treatment: a randomized prospective double-blind study. *Reprod Biomed Online* 2008; 16:724–9.
 72. Whirledge, S., Cidlowski, J. A. Glucocorticoids, stress and fertility. *Minerva Endocrinol.* 35, 109–125 (2010).
 73. Hickman R. A., Gordon C. Causes and management of infertility in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* 50, 1551–1558 (2011).

-
74. Nguyen Q.N., Zerafa N., Liew S.H., Cisplatin- and cyclophosphamide-induced primordial follicle depletion is caused by direct damage to oocytes. 2019.
 75. Leroy C., Rigot J.M., Leroy M., et al. Immunosuppressive drugs and fertility. *Orphanet J Rare Dis* 2015; 10:136.
 76. Silva C.A., Brunner H.I. Gonadal functioning and preservation of reproductive fitness with juvenile systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2007; 16:593–9.
 77. Boumpas D.T., Austin H.A. 3rd, Vaughan E.M., Yarboro C.H., Klippel J.H., Balow J.E. Risk for sustained amenorrhea in patients with systemic lupus erythematosus receiving intermittent pulse cyclophosphamide therapy. *Ann Intern Med* 1993; 119:366–9.
 78. Wetzels JF. Cyclophosphamide-induced gonadotoxicity: a treatment dilemma in patients with lupus nephritis? *Neth J Med* 2004;62:347–52
 79. Park M.C., Park Y.B., Jung S.Y. Risk of ovarian failure and pregnancy outcome in patients with lupus nephritis treated with intravenous cyclophosphamide pulse therapy. *Lupus* 2004; 13:569–74.
 80. Clowse M.E., Copland S.C., Hsieh T.C., et al. Ovarian reserve diminished by oral cyclophosphamide therapy for granulomatosis with polyangiitis (Wegener's). *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2011; 63:1777–81
 81. Chaigne B., Guillevin L. New therapeutic approaches for ANCA-associated vasculitides. *Presse Med* 2016;45:e171–8.
 82. Akawatcharangura, P., Taechakraichana, N. & Osiri, M. Prevalence of premature ovarian failure in systemic lupus erythematosus patients treated with immunosuppressive agents in Thailand. *Lupus* 25, 436–444 (2016).
 83. Hill M. J. et al. Ovarian reserve and subsequent assisted reproduction outcomes after methotrexate therapy for ectopic pregnancy or pregnancy of unknown location. *Fertil. Steril.* 101, 413–419 (2014).
 84. Brent R.L. Teratogen update: reproductive risks of leflunomide (Arava); a pyrimidine synthesis inhibitor: counseling women taking leflunomide before

-
- or during pregnancy and men taking leflunomide who are contemplating fathering a child. *Teratology* 2001; 63(2):106–12.
85. Chambers C.D., Johnson D.L., Robinson L.K. et al. Birth outcomes in women who have taken leflunomide during pregnancy. *Arthritis Rheum* 2010; 62(5):1494–503.
 86. Kim M., Rostas S., Gabardi S. Mycophenolate fetal toxicity and risk evaluation and mitigation strategies. *Am J Transplant.* 2013; 13:83–89.
 87. Leroy C., Rigot J., Leroy M. et al. Immunosuppressive drugs and fertility. *Orphanet J Rare Dis.* 2015; 10:136.
 88. Mok C.C., Chan P.T. Anti-mullerian hormone and ovarian reserve in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2013 ;65:206–10.
 89. Flint J. et al. BSR and BHPR guideline on prescribing drugs in pregnancy and breastfeeding Part I: standard and biologic disease modifying anti-rheumatic drugs and corticosteroids. *Rheumatology (Oxford)* 55, 2016;1693–1697.
 90. Riley S. A. et al. Sulphasalazine induced seminal abnormalities in ulcerative colitis: results of mesalazine substitution. *Gut* 28, 1987; 1008–1012.
 91. Osadchy A., Ratnapalan T., Koren G. Ocular toxicity in children exposed in utero to antimalarial drugs: review of the literature. *J Rheumatol* 2011; 38(12):2504–8.
 92. Parke A., West B. Hydroxychloroquine in pregnant patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 1996; 23:1715- 1718.
 93. Buchanan N.M.M., Toubi E., Khamashta M.A. Hydroxychloroquine and lupus pregnancy: review of a series of 36 cases. *Ann Rheum Dis.* 1996; 55:486- 488.
 94. Генно-инженерные биологические препараты в лечении ревматоидного артрита. Под ред. Е.Л. Насонова. ИМА-ПРЕСС, Москва, 2013, 549С. Глава 37 Н.М. Кошелева. Терапия генно-инженерными биологическими препаратами и беременность. с.467-475.
 95. Yu X. W. et al. *Int J Gynecol Obstet* 2005; 88:44-8
 96. Weber-Schoendorfer C. et al. *Br J Clin Pharmacol* 2015; 80:727-39

-
97. Levy R.A., de Jesus G.R., de Jesus N.R., Klumb E.M. Critical review of the current recommendations for the treatment of systemic inflammatory rheumatic diseases during pregnancy and lactation. *Autoimmun Rev* 2016; 15: 955–63.
 98. Власова Г.А., Перминова С.Г., Кошелева Н.М., Веюкова М.А. Влияние терапии иммуновоспалительных ревматических заболеваний на репродуктивную функцию. *Акушерство и гинекология*. 2021; 7: 53-60.
 99. Bellver J., Pellicer A. Ovarian stimulation in SLE and antiphospholipid syndrome. *Fertil Steril* 2009;92:1803
 100. Di Nisio M., Rutjes A.W., Ferrante N. et al. Thrombophilia and outcomes of assisted reproduction technologies: a systematic review and meta-analysis. *Blood* 2011; 118: 2670-8.
 101. Guballa N., Sammaritano L., Schwartzman S. Ovulation induction and in vitro fertilization in systemic lupus erythematosus and antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 550-6.
 102. Henriksson P., Westerlund E., Wallén H. et al. Incidence of pulmonary and venous thromboembolism in pregnancies after in vitro fertilisation: cross sectional study. *BMJ* 2013; 346: e8632.
 103. Humaidan P., Polyzos N.P., Alsbjerg B., et al. GnRHα trigger and individualized luteal phase hCG support according to ovarian response to stimulation: two prospective randomized controlled multi-centre studies in IVF patients. *Hum Reprod* 2013; 28: 2511-21.
 104. Bellver J., Pellicer A. Ovarian stimulation in SLE and antiphospholipid syndrome. *Fertil Steril* 2009;92:1803
 105. Henriksson P., Westerlund E., Wallén H. et al. Incidence of pulmonary and venous thromboembolism in pregnancies after in vitro fertilisation: cross sectional study. *BMJ* 2013; 346: e8632.
 106. Marder W, Fisseha S, Ganser MA, et al. Ovarian Damage During chemotherapy in Autoimmune Diseases: Broad Health Implications beyond

-
- Fertility. *Clin Med Insights Reprod Heal.* 2012; 2012(6):9–18. DOI: 10.4137/CMRH.S10415
107. Moore H.C., Unger J.M., Phillips K.A. et al. Goserelin for ovarian protection during breast-cancer adjuvant chemotherapy. *N Engl J Med* 2015; 372:923–32.
 108. Blumenfeld Z., Evron A. Preserving fertility when choosing chemotherapy regimens - the role of gonadotropin-releasing hormone agonists. *Expert Opin Pharmacother.* 2015; 16(7):1009–20.
 109. Pfeifer S., Goldberg J., Lobo R., Pisarska M., et al. Ovarian tissue cryopreservation: a committee opinion. *Fertil Steril* 2014;101: 1237–43.
 110. Ladanyi C., Mor A., Christianson M.S.. Recent advances in the field of ovarian tissue cryopreservation and opportunities for research. *J Assist Reprod Genet* 2017; 34:709–22.
 111. Cobo A., Garcia-Velasco J.A., Coello A., Oocyte vitrification as an efficient option for elective fertility preservation. *Fertil Steril* 2016; 105:755–64
 112. Pfeifer S., Goldberg J., McClure R. et al. Mature oocyte cryopreservation: a guideline. *Fertil Steril* 2013; 99:37–43.
 113. Goldman R.H., Racowsky C., Farland L.V., Munne S., Ribustello L., Fox J.H. Predicting the likelihood of live birth for elective oocyte cryopreservation: a counseling tool for physicians and patients. *Hum Reprod* 2017; 32:853–9.
 114. ABM. Le rapport médical et scientifique de l'assistance médicale à la procréation et de la génétique humaines en France; 2015
 115. Van der Pol E., Boing A.N., Harrison P., Sturk A., Nieuwland R. Classification, functions, and clinical relevance of extracellular vesicles. *Pharmacol Rev* 2012; 64: 676–705.
 116. Raposo G., Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *J Cell Biol.* 2013; 200:373–83.

-
117. Ratajczak J., Wysoczynski M., Hayek F., Janowska-Wieczorek A, Ratajczak MZ. Membrane-derived microvesicles: important and underappreciated mediators of cell-to-cell communication. *Leukemia*. 2006;20:1487–95.
 118. Vidal, M. Exosomes: Revisiting their role as "garbage bags" / M. Vidal // *Traffic*.- 2019.- Vol. 20, № 11.- P. 815–828.
 119. Extracellular Vesicles: Composition, Biological Relevance, and Methods of Study / M. P. Zaborowski [et al.] // *Bioscience*.- 2015.- Vol. 65, № 8.- P. 783–797.
 120. Beyer C., Pisetsky D.S. The role of microparticles in the pathogenesis of rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol* 2010; 6:21–9.
 121. Burger D., Schock S., Thompson C.S., Montezano A.C., Hakim A.M., Touyz R.M. Microparticles: biomarkers and beyond. *Clin Sci* 2013; 124:423–41.
 122. Simon C., Greening D.W., Bolumar D., Balaguer N., Salamonsen L.A., Vilella F. Extracellular Vesicles in Human Reproduction in Health and Disease. *Endocr Rev*. 2018 Jun 1; 39(3):292-332.
 123. Machtinger R., Laurent L.C, Baccarelli A.A. Extracellular vesicles: roles in gamete maturation, fertilization and embryo implantation. *Hum Reprod Update*. 2016 Mar-Apr; 22(2):182-93.
 124. Kurian N. K. Extracellular vesicle mediated embryo-endometrial cross talk during implantation and in pregnancy / N. K. Kurian, D. Modi.//*J. Assist. Reprod. Genet*. 2019.- Vol. 36, № 2.- P. 189–198.
 125. Buzas E.I., György B., Nagy G., Falus A., Gay S. Emerging role of extracellular vesicles in 634 inflammatory diseases. *Nat Rev Rheumatol* 2014;10:356–64
 126. Nickel W., Rabouille C. Mechanisms of regulated unconventional protein secretion. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009; 10:148–55.
 127. Peterson D.B., Sander T., Kaul S., Wakim B.T. et al. Comparative proteomic analysis of PAI-1 and TNF-alpha-derived endothelial microparticles. *Proteomics* 2008; 8:2430–46.

-
128. Boilard E., Nigrovic P.A., Larabee K., Watts G.F.M., Coblyn J.S., Weinblatt M.E. et al. Platelets amplify inflammation in arthritis via collagen-dependent microparticle production. *Science* 2010; 327:580–3
 129. Umekita K., Hidaka T., Ueno S. et al. 937 Leukocytapheresis (LCAP) decreases the level of platelet-derived microparticles (MPs) and increases the level of granulocytes-derived MPs: a possible 939connection with the effect of LCAP on rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol Jpn Rheum Assoc* 2009; 19:265–72.
 130. Sellam J., Proulle V., Jungel A., Ittah M., Miceli Richard C., Gottenberg J.E. et al. Increased levels of circulating microparticles in primary Sjogren's syndrome, systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis and relation with disease activity. *Arthritis* 2009.
 131. Nieuwland R., Berckmans R.J., McGregor S., Boing A.N., Romijn F.P., Westendorp R.G., Hack C.E., Sturk A. Cellular origin and procoagulant properties of microparticles in meningococcal sepsis. *Blood*. 2000; 95: 930–5.
 132. Iba T., Ogura H. Role of extracellular vesicles in the development of sepsis-induced coagulopathy. *J Intensive Care*. 2018; 19;6:68.
 133. Silvariño R., Danza Á., Mérola V. Venous thromboembolic disease in systemic autoimmune diseases: an association to keep in mind. *Autoimmun Rev*. 2012;12(2):289-94.
 134. Michelson A.D., Rajasekhar D., Bednarek F.J., Barnard M.R. Platelet and platelet-derived microparticle surface factor V/Va binding in whole blood: differences between neonates and adults. *Thromb Haemost*. 2000 Oct; 84(4):689-94.
 135. Dignat-George F., Camoin-Jau L., Sabatier F. Endothelial microparticles: a potential contribution to the thrombotic complications of the antiphospholipid syndrome. *Thromb Haemost*. 2004 Apr;91(4):667-73.

-
136. Jy W., Tiede M., Bidot C.J. Platelet activation rather than endothelial injury identifies risk of thrombosis in subjects positive for antiphospholipid antibodies. *Thromb Res.* 2007; 121(3):319-25.
137. Ardoin S.P., Shanahan J.C., Pisetsky D.S. The role of microparticles in inflammation and thrombosis. *Scand J Immunol.* 2007 Aug-Sep;66(2-3):159-65.
138. Eudy A. M., McDaniel G., Hurd W. W. Fertility and Ovarian Reserve among Women with Rheumatoid Arthritis. *J Rheumatol.* 2019;46(5):455-459.
139. Van Sinderen M., Menkhorst E. Winship A., Cuman C, Dimitriadis E. Preimplantation human blastocyst-endometrial interactions: the role of inflammatory mediators. *Am J Reprod Immunol (New York, NY : 1989).* 2013;69(5):427–40.
140. Medeiros P.B., Febrônio M.V., Bonfá E. Menstrual and hormonal alterations in juvenile systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2009 Jan;18(1):38-43.
141. LaBarbera A. R., Miller M. M., Ober C., Rebar R. W. Autoimmune etiology in premature ovarian failure. *Am J Reprod Immunol Microbiol.* 1988 Mar; 16(3):115-22. doi: 10.1111/j.1600-0897.1988.tb00180.x.
142. Deroux A., Dumestre-Perard C., Dunand-Faure C., Bouillet L, Hoffmann P. Female infertility and serum auto-antibodies: a systematic review. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2017;53(1):78-86.
143. Ticconi C., Rotondi F., Veglia M. et al. Antinuclear autoantibodies in women with recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol.* 2010; 64(6):384-392.
144. Zeng M., Wen P., Duan J.. Association of antinuclear antibody with clinical outcome of patients undergoing in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection treatment: A meta-analysis. *Am J Reprod Immunol.* 2019; 00:e13158.
145. Менжинская И.В., Ходжаева З.С., Бокерия Е.Л., Клименченко Н.И., Потапова А.А., Ванько Л.В., Кречетова Л.В., Кошелева Н.М. Клинико-диагностическое значение аутоантител к экстрагируемым ядерным

-
- антигенам у беременных с брадиаритмией плода. *Акушерство и гинекология*. 2020; 7: 53-60.
146. Silva C.A., Yamakami L.Y., Aikawa N.E. Autoimmune primary ovarian insufficiency. *Autoimmun Rev*. 2014 Apr-May;13(4-5):427-30.
147. Manger K., Wildt L., Kalden J.R., Manger B. Prevention of gonadal toxicity and preservation of gonadal function and fertility in young women with systemic lupus erythematosus treated by cyclophosphamide: the PREGO-Study. *Autoimmunity reviews*. 2006; 5(4):269–272.
148. Mecacci F. Pieralli A. Bianchi B. Paidas M.J. The impact of autoimmune disorders and adverse pregnancy outcome. *Semin Perinatol*. 2007; 31: 223-226
149. Van Sinderen M., Menkhorst E., Winship A. Preimplantation human blastocyst-endometrial interactions: the role of inflammatory mediators. *Am J Reprod Immunol* 2013;69(5):427-40.
150. Mendonca L.L., Khamashta M.A., Nelson-Piercy C. Non-steroidal anti-inflammatory drugs as a possible cause for reversible infertility. *Rheumatology*. 2000; 39(8):880–2.
151. José Bellver., Antonio Pellicer Ovarian stimulation for ovulation induction and in vitro fertilization in patients with systemic lupus erythematosus and antiphospholipid syndrome. *Fertil Steril*. 2009 Dec;92(6):1803-10.
152. Ticconi C., Rotondi F., Veglia M., et al. Antinuclear autoantibodies in women with recurrent pregnancy loss. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2010;64(6):384–392.
153. Kollnberger S. The Role of HLA-Class I Heavy-Chain Interactions with Killer-Cell Immunoglobulin-Like Receptors in Immune Regulation. *Crit Rev Immunol*. 2016;36(3):269-282. doi: 10.1615/CritRevImmunol.2016017965. PMID: 28008807.
154. Chaturvedi S., Cockrell E., Espinola R. et al. Circulating microparticles in patients with antiphospholipid antibodies: characterization and associations. *Thromb Res* 2015;135(1):102–108.

-
155. An enhanced clot growth rate before in vitro fertilization decreases the probability of pregnancy / A.N. Balandina [et al.] // PLoS One.- 2019. -Vol, 14. № 5.- p. e0216724.
156. Kraevaya E.E., Silachev D.N., Beznoshchenko O.S. et al. Effect of extracellular vesicles of follicular fluid on ovarian coagulation hemostasis. Problemy Reproduktsii (Russian Journal of Human Reproduction). 2020;26(2):18-26. (In Russ.).



Приложение 1. Алгоритм ведения пациенток с ИВРЗ в программах ВРТ



Приложение 2. Алгоритм сохранения генетического материала и реализации репродуктивной функции у пациенток с ИВРЗ