

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМ. М.І. ПИРОГОВА**

Бакун Оксана Валеріанівна

УДК 618.177 – 089.888.4:618.844.6]-092

Підвищення ефективності запліднення *in vitro* при лікуванні жіночого безпліддя трубного походження з урахуванням ролі антиоваріальних антитіл

14.01.01 – акушерство і гінекологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Вінниця – 2007

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Буковинському державному медичному університеті МОЗ України

Науковий керівник:

доктор медичних наук, професор

Юзько Олександр Михайлович,

Національна медична академія післядипломної освіти

ім. Шупика МОЗ України, завідувач кафедри акушерства і гінекології №1

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук,

Жук Світлана Іванівна,

Національна медична академія післядипломної освіти

ім. Шупика МОЗ України, професор кафедри

акушерства, гінекології та перинатології

член-кор. АМН України,

доктор медичних наук, професор

Венцківський Борис Михайлович,

Національний медичний університет ім. О.О.Богомольця,

завідувач кафедри акушерства і гінекології № 1

Провідна установа –

Інститут педіатрії, акушерства і гінекології АМН України,
відділ планування сім'ї та статевого дозрівання дівчат та підлітків

Захист відбудеться “ ___ ” _____ 2007 року о 12 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 05.600.01 при Вінницькому національному медичному університеті ім. М.І.Пирогова МОЗ України (21018, м. Вінниця, вул. М.І.Пирогова, 56).

З дисертацією можна ознайомитись в бібліотеці Вінницького національного медичного університету ім. М.І.Пирогова (21018, м. Вінниця, вул. М.І.Пирогова, 56).

Автореферат розісланий “ ___ ” _____ 2007 р.

Вчений секретар

спеціалізованої ради,

доктор медичних наук, професор

С.Д.Хіміч

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Безпліддя – важлива медико-соціальна проблема сучасної медицини (Грищенко, Феськов, Блажко, 2004; Говоруха, 2004).

Патологія маткових труб є однією з найбільш поширених причин інфертильності у жінок репродуктивного віку. Зміни в трубах виявляються у 35-74% хворих з безпліддям. У більшості жінок причиною оклюзійних порушень маткових труб є запальний процес, який ініціюється генітальною інфекцією, тривала персистенція якої втягує у запальний процес і тканину яєчників (Кулаков, Леонов, 2000; Госкодеря, 2004). Хронічний сальпінгоофорит, як типова запальна реакція тісно пов'язана з імунітетом та процесами регенерації. Значний інтерес викликають дослідження, присвячені вивченню ролі імунокомпетентних систем в патогенезі запальних захворювань жіночих статевих органів (Лалаян, 2002; Пархоменко, 2002). За станом факторів специфічного клітинного імунітету можна судити про наслідки запального процесу. Імунологічна недостатність послаблює компенсаторно-приспосувальні механізми, гальмує процеси регенерації. Утворення автоантитіл до антигену яєчника та маткових труб ускладнює перебіг запального процесу та сприяє рецидивам. Аномальний рівень автоантитіл супроводжує репродуктивні невдачі (Калинина, 2002; Габелова, Гэгзян, Потин, Богданова, 2003).

При даній формі безпліддя реконструктивно-пластичні операції на маткових трубах недостатньо ефективні. Успішні операції спостерігаються в 13,2-45,7% випадків, частота настання трубної вагітності після лікування складає 4,7-16,1% (Смольников, Финогенова, 2000). Ефективність відновлення репродуктивної функції при трубно - перитонеальному безплідді знаходиться в прямій залежності від ступеня розповсюдження злукового процесу. В зв'язку з цим є необхідно проаналізувати можливі причини неефективності спроб ЕКЗ і ПЕ у жінок з безпліддям трубного походження, обумовленим запальними змінами. ЕКЗ і ПЕ – дороге, складне і небезпечне для здоров'я жінки втручання. Тому надзвичайно важливим є вишукування нових методів, які дозволяють підвищити ефективність цієї програми і зменшити медикаментозне навантаження на організм жінки. Все це призводить до необхідності проведення підготовки хворих до програми ЕКЗ і ПЕ з урахуванням даних про стан системи гемостазу, імунної системи, систем детоксикації, тканинного дихання, - цьому відповідає такий метод екстракорпоральної гемокорекції, як плазмаферез (Яворская, 2000; Калашникова, 2004).

В літературі не приведені дані щодо впливу плазмаферезу на ефективність запліднення *in vitro*, а також на рівень антиоваріальних антитіл, гормональний гомеостаз, імунний статус, а також впливу антиоваріальних антитіл на запліднення *in vitro*. Тому роботи, направлені на підвищення ефективності запліднення *in vitro* у хворих з безпліддям трубного походження шляхом комплексної підготовки з включенням плазмаферезу, вважаються актуальними.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом наукової тематики кафедри акушерства і гінекології з курсом дитячої та підліткової гінекології Буковинського державного медичного університету: „Розробка та впровадження методів діагностики, лікування та профілактики в перинатальному періоді та при патологічних станах репродуктивної функції у дівчат та жінок” (№ державної реєстрації 01.01 U 005253).

Робота виконана в Буковинському державному медичному університеті, відповідає зазначеній спеціальності. Автор дисертації є виконавцем фрагменту відповідно до теми дисертації.

Мета і завдання дослідження

Мета роботи: підвищити ефективність лікування жіночого безпліддя трубного походження при застосуванні допоміжних репродуктивних технологій шляхом комплексної підготовки до запліднення *in vitro* з використанням плазмаферезу.

Завдання дослідження:

1. Дати характеристику ефективності допоміжних репродуктивних технологій у жінок з безпліддям трубного походження.
2. Оцінити роль антиоваріальних антитіл у жінок з безпліддям трубного походження.
3. Вивчити особливості функціонування системи гормонального гомеостазу у жінок з безпліддям трубного походження.
4. Дослідити стан імунітету у даної категорії пацієнток у співставленні з гормональним балансом, наявністю антиоваріальних антитіл та продукцією лімфоцитами ФНП- α і ІЛ-4.
5. Впровадити методику плазмаферезу у жінок з безпліддям трубного походження на етапі підготовки до програми допоміжних репродуктивних технологій.
6. Оцінити ефективність використання плазмаферезу при застосуванні допоміжних репродуктивних технологій у жінок з безпліддям трубного походження.

Об'єкт дослідження – жінки з безпліддям трубного походження, які лікуються по програмі допоміжних репродуктивних технологій

Предмет дослідження – гормональний гомеостаз, рівень антиоваріальних антитіл, імунологічні взаємовідносини при безплідді в програмі допоміжних репродуктивних технологій.

Методи дослідження – клінічний, імуноферментний, імунологічний, статистичний.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше комплексно досліджено рівень антиоваріальних антитіл, гормональний гомеостаз, імунний статус і функціональний стан репродуктивної системи в жінок із безпліддям трубного походження в програмі лікування допоміжними репродуктивними технологіями. Встановлено залежність між рівнем антиоваріальних антитіл та ефективністю лікування безпліддя заплідненням *in vitro* і переносом ембріонів. Доведено доцільність скринінгу визначення рівня антиоваріальних антитіл перед використанням запліднення *in vitro* паралельно з дослідженнями імунного стану пацієнток.

Вперше запропоновано метод плазмаферезу при комплексній підготовці з метою підвищення ефективності запліднення *in vitro* у пацієток з безпліддям трубного походження та вивчено вплив його на імунну відповідь, гормональний гомеостаз та рівень антиоваріальних антитіл.

Запропоновано новий спосіб підготовки пацієток із безпліддям, які лікуються по програмі запліднення *in vitro* з використанням плазмаферезу, що одночасно забезпечує позитивний вплив на стан ендометрію.

Практичне значення одержаних результатів. За допомогою розробленого способу підготовки жінок із безпліддям до проведення допоміжних репродуктивних технологій з використанням плазмаферезу вдалось підвищити ефективність запліднення *in vitro*. Спосіб рекомендується для впровадження в практичну медицину. Розроблений спосіб підготовки до запліднення *in vitro* використовується у Буковинському центрі репродуктивної медицини. Теоретичні положення роботи використовуються у навчальному процесі на кафедрі акушерства та гінекології №1 НМАПО ім. П.Л. Шупика

Впровадження результатів дослідження в практику. Спосіб комплексної підготовки впроваджено в клінічну практику гінекологічних відділень пологових будинків № 1 та № 2 м. Чернівці, Буковинського центру репродуктивної медицини, Вінницької обласної клінічної лікарні ім. М.І.Пирогова, Інституту репродуктивної медицини м. Києва. Запропоновані інформаційний “Застосування ензимотерапії при лікуванні жіночого безпліддя в програмі допоміжних репродуктивних технологій”, патент України №11622, МПК А 62С 35/00, А 61М 1/36 “Спосіб лікування загрози невиношування вагітності після застосування допоміжних репродуктивних технологій”, нововведення “Плазмаферез в репродуктології” та раціоналізаторська пропозиція “Підвищення ефективності екстракорпорального запліднення шляхом використання плазмаферезу” підвищують ефективність запліднення *in vitro* у жінок з безпліддям трубного походження.

Теоретичні положення роботи використовуються у навчальному процесі на кафедрі акушерства та гінекології №1 НМАПО ім. П.Л. Шупика.

Особистий внесок здобувача в одержані наукових результатів, що виносяться на захист. Дисертант разом з науковим керівником створила методологічну основу роботи, адекватну меті та завданням дисертації. Персонально проаналізувала наукову літературу та дані інформаційного пошуку з вказаної проблеми. Провела клініко-лабораторне обстеження жінок із безпліддям. Приймала участь при проведенні трансвагінальної пункції яєчників та при переносі ембріонів. Самостійно провела статистичну обробку отриманих результатів, аналіз і узагальнення їх, розробила висновки та практичні рекомендації. Написала всі розділи кандидатської дисертації.

Розробила і втілила в практику спосіб комплексної підготовки жінок із безпліддям з використанням плазмаферезу перед проведенням запліднення *in vitro*.

Апробація результатів роботи. Результати досліджень доповідались та обговорювалися на науково-практичній конференції "Дитяча гінекологія – основа репродуктивного здоров'я" (Чернівці, 2004); IV національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю (Чернівці, 2004); щорічних наукових конференціях співробітників Буковинського державного медичного університету (2004-2006); Міжнародній науково-практичній конференції “Актуальні питання сучасного акушерства” (м. Тернопіль, 2007); 76-ій міжвузівській науковій конференції студентів та молодих учених з міжнародною участю “Працюємо, творимо, презентуємо” (м. Івано-Франківськ, 2007).

Публікації. За результатами проведених досліджень дисертантом опубліковано 11 наукових праць, в тому числі у фахових журналах – 6, в тезах – 3. Отримано один деклараційний патент.

Об'єм і структура дисертації. Дисертація оформлена на 147 сторінках комп'ютерного набору. Побудована за стандартним типом і складається з наступних розділів: вступ, огляд літератури, матеріали та методи досліджень, чотирьох розділів власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів дослідження, висновки, практичні рекомендації і література. Дисертація ілюстрована 37 таблицями та 27 рисунками. Список літератури містить 318 літературних джерел, із яких 106 латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження.

Проведено загально-клінічне, гінекологічне, клініко-лабораторне та ультразвукове обстеження у 109 жінок, які були розділені на 2 групи: I група (основна) - 58 жінок з безпліддям трубного походження, II група (контрольна) – 51 практично здорова фертильна жінка. Клініко-лабораторне обстеження жінок проводили клінічним, імуноферментним та імунологічним методами. Комісією з біоетики Буковинського державного медичного університету (протокол № 8 від 15.04.2006 р.) встановлено, що проведене дослідження не суперечить загальноприйнятим біоетичним нормам та може бути використане в дисертаційному дослідженні.

З метою дослідження гормонального гомеостазу в обстежених жінок проводилося визначення вмісту в сироватці крові гонадотропних гормонів – лютропіну (ЛГ), фолітропіну (ФСГ), а також гормона яєчника – естрадіолу (Е2). Рівень гормонів визначали імуноферментним методом (ІФА) з використанням наборів реагентів: “ІФА-АФ-Естр”; “Гонадотропин ІФА-ФСГ”; “Гонадотропин ІФА-ЛГ” на апараті “Пікон” (заводський номер 542; дата, вид метрологічного контролю – 20.04.06. св. №143).

Для характеристики імунного статусу жінок груп обстеження, виявлення дефектів та встановлення ступеню їх порушення в клітинній, гуморальній ланках імунітету та в системі факторів неспецифічного протиінфекційного захисту організму використовували наступний комплекс

показників: 1) абсолютна та відносна кількість імунокомпетентних клітин у периферичній крові жінок одержана шляхом визначення: загального аналізу крові з лейкоцитарною формулою (абсолютної кількості лейкоцитів у $x \cdot 10^9$ /л, відносною кількості паличкоядерних і сегментоядерних нейтрофільних лейкоцитів, еозинофілів, базофілів, лімфоцитів та моноцитів); 2) абсолютна (10^9 клітин/л) та відносна (%) кількість субпопуляцій Т- та В- лімфоцитів (кількість Т-CD3+ лімфоцитів, Т-активних лімфоцитів, Т-CD 4+, Т-CD 8+, В-CD 22+); 3) функціональна активність В-лімфоцитів: за визначенням концентрації сироваткових імуноглобулінів основних класів (IgM, IgG, IgA) та циркулюючих імунних комплексів; 4) основні характеристики функціональної активності поліморфноядерних лейкоцитів крові в: фагоцитарній реакції за визначенням фагоцитарного числа (ФЧ) і фагоцитарної активності (ФА) та спонтанному НСТ-тесті по методу Park в модифікації Нестерової; 5) характеристика неспецифічної ефекторної системи захисту з урахуванням активності системи комплементу з визначенням титру комплементу та титру нормальних антитіл; 6) розрахункові параметри: лейкоцитарний індекс інтоксикації, індекс алергізації, ефекторний індекс, імунорегуляторний індекс – вираховували за формулою.

Загальний аналіз крові проводили за загальноприйнятою методикою з визначенням відсоткового співвідношення імунокомпетентних клітин при підрахунку їх у камері Горяєва.

Визначення основних субпопуляцій Т- та В-лімфоцитів проводили в реакції непрямой поверхневої імуофлуоресценції з моноклональними антитілами до поверхневих диференційованих антигенів клітин (CD3+ - маркер, який присутній на мембранах загальної популяції Т-клітин; CD4+ - специфічний маркер Т-лімфоцитів-хелперів/індукторів; CD8+ - специфічний маркер Т-лімфоцитів-супресорів/цитолітичних; CD22+ - ідентифікаційний маркер загальної популяції В-лімфоцитів). Для визначення Т-лімфоцитів та їх субпопуляцій, а також В-лімфоцитів використовували мишачі моноклональні антитіла та FITC-кон'югати вторинних антитіл фірми "ДИА-М" (Росія) з позначкою "Флуоресцеїн - изотихоцианат".

Рівень імуноглобулінів основних класів (А, М, G) у сироватці крові визначали, застосовуючи прямий метод радикальної імунодифузії в агарі (реакція преципітації за Манчіні). Для цього брали дослідну сироватку, агар "Difco", медіналовий буфер та стандартні моноспецифічні антисироватки проти імуноглобулінів класів А, М, G. Сироватки розводили дистильованою водою.

Фагоцитарну активність нейтрофілів крові визначали у фагоцитарній реакції за визначенням фагоцитарного числа та фагоцитарної активності у відсотках фагоцитуючих клітин у декілька етапів за методикою І.В.Нестерової. Проводили підрахунок відсотка клітин, які фагоцитують, та визначали фагоцитарне число – середнє число частинок латексу, яке поглинула одна клітина. Титр комплементу в сироватці крові визначали за 100% гемолізом. Рівень циркулюючих імунних комплексів визначали за методом селективної преципітації у розчині поліетиленгліколь.

TNF- α і IL-4 ELISA розроблений для кількісного визначення *in vitro* фактора некрозу пухлин- α і інтерлейкіну-4. Людський TNF- α і IL-4 являє собою твердофазний двошаровий ензимний імунозв'язуючий сорбентний метод ELISA. Моноклональні антитіла специфічні для TNF- α та IL-4 були нанесені на лунки поділок мікротитра. Одночасно культивувались антиген і поліклональні антитіла, характерні для TNF- α та IL-4.

Визначення рівня антиоваріальних антитіл в крові проводилось за допомогою імуноферментного набору фірми Bioserv Ovari-Antibodi –ELISA для визначення в сироватці крові автоантитіл направлених проти оваріальних антигенів на апараті “Пікон”. Даний аналіз ґрунтується на непрямому твердофазовому методі.

Планшет сорбований оваріальними антигенами. Ферментний кон'югат, який містить антисироватку проти різних ділянок людських імуноглобулінів і зв'язаний з пероксидазою хрому, утворює комплекс оваріальні антигени – антитіла під час інкубації. Кон'югат, який не зв'язався, відмивається промивним розчином. На наступному етапі до комплексу антиген-антитіло додається субстратний розчин, який містить ТМБ, що утворює у ферментній реакції продукт, забарвлений в блакитний колір. Ферментна реакція зупиняється через визначений час додаванням кислоти. Концентрація окисленого ТМБ, виміряна фотометрично - пропорційна концентрації антиоваріальних антитіл в зразку.

Обстеження проводилось до початку програми запліднення, з початком та в процесі контрольованої стимуляції яєчників, в день пункції яєчників.

В залежності від комплексу заходів підготовки до запліднення жінки основної групи були розділені на 2 підгрупи: 1 – 38 жінок, яким проводилась традиційна підготовка до запліднення, друга – 20 жінок, яким в комплекс підготовки до запліднення був включений плазмаферез. Дискретний плазмаферез проводиться за 14 – 21 день до початку стимуляції суперовуляції по загальноприйнятій методиці і складається з кількох етапів.

1. – Етап забору першої порції крові. Забір крові проводиться в одноразові пластикові контейнери типу „Гемакон” 500/300. Спосіб забору крові в пластиковий контейнер типу „Гемакон” 500/300- полімерний контейнер з консервантом для крові, одноразового застосування, стерильний, апірогенний з голкою одноразового застосування. Свідоцтво про державну реєстрацію № 2766/2004 від 30.04.2004. Реєстраційне посвідчення № ИА/08446/01 від 06.04.2004. Після перевірки системи „Гемокон” 500/300 голкою для пункції вени проколюється гумова частина системи ПК 21-02. Затискувачем на системі перекривається інфузія кровозамінника: кров пацієнта самотоком поступає в пластиковий контейнер на 500 мл.

Після закінчення забору перших 500мл крові система „Гемокон” від'єднується від системи ПК 21-02 і перекривається затискачем. Інфузія плазмозамінюючого розчину продовжується.

2. – Етап центрифугування крові. Перша порція крові не повинна перевищувати 500 мл. Відділення плазми проводиться центрифугуванням за допомогою центрифуги ЦПР 5-01. Режим центрифугування залишається одним і тим же: швидкість центрифугування 2 тис. оберт/хв., тривалість центрифугування 20 хв при температурі 0-15°C.

По закінченні центрифугування контейнер з кров'ю обережно переноситься у плазмоекстрактор для видалення плазми.

3. – Етап відділення плазми від формених елементів крові. Відділення плазми від формених елементів проводиться за допомогою плазмоекстрактора ПЕ – 01, при розміщенні “Гемокону” у вертикальному положенні. При вилученні плазми формені елементи готові до повернення пацієнту а плазма до утилізації.

4. – Етап повернення формених елементів крові. Формені елементи в пластиковому контейнері змішуються з 40-50 мл фізіологічного розчину натрію хлориду до однорідної рідини, вводяться внутрішньовенно краплинно через одноразову систему, яка використовується для інфузії плазмозаміщуючого розчину при заборі першої порції крові. Швидкість повернення формених елементів становить 60-80 крапель на 1 хвилину.

5. – Етап забору другої порції крові. Після закінчення повернення формених елементів крові можна робити забір повторних порцій крові під контролем загального стану пацієнта та геодинамічних показників. При задовільній переносимості операції забір крові можна прискорити до 10-15 хв. Етапи центрифугування, відділення плазми проводяться під час інфузії внутрішньовенно реосорбілакту (рефортану). Весь процес плазмаферезу (від забору крові до повернення формених елементів) займає 50-70 хв і більше. Беручи до уваги, що під час сеансу плазмаферезу проводиться забір 2-3 рази, виділяється 600-800мл плазми весь процес операції плазмаферезу займає 3-4 години.

6. – Завершення сеансу плазмаферезу. Після закінчення повернення формених елементів продовжується інфузія внутрішньовенна реосорбілакту (рефортану). Катетер видаляється, накладається асептична пов'язка.

Статистичний аналіз отриманих даних проводився за методами варіаційної статистики з визначенням середніх величин, середньої похибки, середньоквадратичного відхилення. Достовірність вибіркової різниці вимірювалася довірливим критерієм точності. Величину р (достовірність різниці) визначали по таблиці Студента - Фішера. Різниці між середніми величинами, що порівнювалися, рахувалися достовірними при $p < 0,05$.

Статистичний аналіз отриманих даних у невеликих групах ($n=10$) проводився з використанням методу різниць.

Результати досліджень та їх обговорення.

Середній вік пацієток основної групи склав $33,4 \pm 0,6$ року, контрольної – $32,1 \pm 0,8$ року ($p > 0,05$). В основній групі службовців було $22,9 \pm 4,2$ %, робітниць – $14,5 \pm 3,1$ %, інтелігенції – $35,4 \pm 3,6$ %, домогосподарок – $27,2 \pm 4,9$ %. В контрольній групі ці цифри склали відповідно, $19,6 \pm 6,7$ %, $19,6 \pm 4,2$ %, $39,2 \pm 5,7$ % та $21,6 \pm 7,5$ %. В основній групі достовірно більшою була кількість жінок з порушенням менструального циклу – $51,7 \pm 4,7$ %, а в контрольній групі $31,3 \pm 4,3$ %, $p < 0,05$. Хронічний сальпінгофорит спостерігався в $50,0 \pm 4,2$ %, в контрольній – $19,6 \pm 1,9$ %. Апендектомії проводились у $5,2 \pm 0,5$ % жінок основної групи, та в $13,7 \pm 1,0$ % жінок контрольної групи ($p < 0,05$). Кесарів розтин проводився в $1,7 \pm 0,05$ % жінок основної групи та в $3,9 \pm 0,09$ % контрольної групи. Вишкрібання стінок порожнини матки з діагностично-лікувальною метою проводилось у $1,7 \pm 0,05$ % жінкам основної групи та в $11,7 \pm 0,9$ % жінкам контрольної групи.

При дослідженні рівня антиоваріальних антитіл в крові нами, що в контрольній групі рівень антиоваріальних антитіл був $7,1 \pm 0,9$ Од/мл, а в основній групі - $4,1 \pm 0,5$ Од/мл, що в 1,7 разів менше ($p < 0,05$) (табл.1).

Можливо, зниження рівня антиоваріальних антитіл у пацієток основної групи обумовлено обтяженим акушерсько-гінекологічним анамнезом, що проявлявся у наявності хронічних сальпінгофоритів, штучних абортів, самовільних викиднів, захворювань яєчників, в тому числі полікістоз яєчників, порушенні оваріально - менструального циклу, вишкрібаннях матки, прийманні оральних контрацептивів, проведенні лапароскопічних операцій, неодноразових стимуляцій суперовуляцій, що могло призвести до виснаження яєчників. З іншого боку, саме за рівнем антиоваріальних антитіл можна говорити про функціональну активність яєчників.

Таблиця 1

Показники рівня антиоваріальних антитіл у обстежених жінок ($M \pm m$)

| Групи обстежених жінок | n= | Показники антитіл |
|------------------------|----|-----------------------|
| Основна група | 20 | $4,1 \pm 0,5^*$ Од/мл |
| Контрольна група | 10 | $7,1 \pm 0,9$ Од/мл |

Примітка: * - $p < 0,05$

Рівень антиоваріальних антитіл у жінок основної групи ми визначали в день пункції фолікулів, яка проводилась орієнтовно від 12 до 16 дня менструального циклу під час контрольованої стимуляції яєчників. Нами відмічено, що на 12 день менструального циклу рівень антиоваріальних антитіл був $4,25$ Од/мл, на 13 день- $4,5$ Од/мл, на 14 день- $5,73$ Од/мл, на 15- $4,2$ Од/мл, на 16 день- $1,2$ Од/мл.

Проаналізувавши рівень антитіл у обстежених пацієнок основної групи, нами було встановлено, що підвищення його рівня відмічалось у пацієнок із вторинним безпліддям, які не вагітніли більше 5 років, у яких була проведена тубектомія, кістектомія, аднексектомія. Навпаки, знижений рівень антиоваріальних антитіл спостерігався у пацієнок з первинним безпліддям, у яких вагітність не наступала до 5 років, а також у яких були аномалії розвитку матки та міоми матки.

Одночасно з вивченням рівня антиоваріальних антитіл, проводилося дослідження стану імунної системи. Порушення при визначенні основних імунокомпетентних клітин в периферичній крові проявлялися зниженням абсолютної кількості лейкоцитів на 6,1% (в основній групі кількість - $5,54 \pm 0,01\%$, у контрольній - $5,9 \pm 0,08\%$, $p < 0,05$), відносної кількості моноцитів на 42,7% (в основній групі кількість - $5,1 \pm 0,16\%$, у контрольній - $8,9 \pm 0,24\%$, $p < 0,01$) та лімфоцитів на 14,6% (в основній групі кількість - $25,7 \pm 2,4\%$, в контрольній - $30,10 \pm 2,1\%$, $p < 0,05$). Ці зміни є сигналом про те, що у жінок з безпліддям має місце процес, обумовлений мікроорганізмами, які персистують в організмі жінок. Це підтверджується зростанням лейкоцитарного індексу на 40,56% (в основній групі - $2,22 \pm 2,4\%$, в контрольній - $1,32 \pm 0,04\%$, $p < 0,05$) та індексу імунореактивності організму жінок на 31,24% (в основній групі - $5,25 \pm 0,19\%$, в контрольній - $3,61 \pm 0,04\%$, $p < 0,01$) і зменшенням індексу алергізації на 34,74% (в основній групі - $0,62 \pm 0,04\%$, в контрольній - $0,95 \pm 0,03\%$, $p < 0,05$). Порушення при визначенні основних показників факторів неспецифічної ефекторної системи протиінфекційного захисту у жінок з безпліддям проявлялись у зростанні відносної кількості О-лімфоцитів на 20,5 % (в основній групі - $38,6 \pm 0,54\%$, в контрольній - $30,7 \pm 0,31\%$, $p < 0,001$), титру нормальних антитіл на 4,4 % (в основній групі - $4,12 \pm 0,12\%$, в контрольній - $3,94 \pm 0,07\%$, $p > 0,05$) та імунологічного коефіцієнту на 12 % (в основній групі - $0,25 \pm 0,01\%$, в контрольній - $0,22 \pm 0,01\%$, $p < 0,05$).

Зменшення загальної відносної кількості лімфоцитів, абсолютної кількості лейкоцитів, індексу алергізації та зростання індексу імунореактивності засвідчує про можливі зміни показників клітинної та гуморальної ланок системного імунітету. Тому наступним етапом було вивчення стану клітинної імунної відповіді.

При цьому відмічено зниження Т-лімфоцитів на 14,6% (в основній групі кількість - $25,7 \pm 2,4\%$, у контрольній - $30,1 \pm 2,1\%$, $p < 0,05$), а зниження відносної кількості Т-лімфоцитів здійснюється за рахунок Т-цитолітичних лімфоцитів та Т-лімфоцитів-супресорів/цитолітичних, що можливо пояснити тим, що в даному випадку можлива персистенція вірусної інфекції, при якій формується клітинна імунна відповідь із залученням переважно Т-цитолітичних лімфоцитів і Т-лімфоцитів-супресорів/цитолітичних.

Про стан гуморальної імунної відповіді судили за відотною кількістю зрілих В-лімфоцитів (BCD 22+), за концентрацією імуноглобулінів основних класів (IgM, IgG і IgA) у сироватці

периферичної крові, за концентрацією загальних циркулюючих імунних комплексів та за аналітичними коефіцієнтами, що характеризують імуноглобулінсекреторну функцію В-лімфоцитів. У жінок із безпліддям не встановлено глибоких порушень гуморальної імунної відповіді. Однакова концентрація циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові підтверджує про однакову ефективність гуморальної імунної відповіді на антиген у жінок із безпліддям у порівнянні із практично здоровими жінками.

З метою визначення ролі прозапальних та протизапальних цитокінів у жінок, що страждають безпліддям, нами вивчена концентрація протизапального цитокіну інтерлейкіну-4 (IL-4) та прозапального – фактора некрозу пухлин – альфа (TNF- α). Результати вивчення концентрації протизапального цитокіну інтерлейкіну-4 (IL-4) та прозапального – фактора некрозу пухлин – альфа (TNF- α) показали, що у жінок з безпліддям концентрація цих цитокінів не відрізняється від такого показника у практично здорових жінок, але встановлена тенденція до зростання на 3,3% концентрації протизапального інтерлейкіну – 4 (в основній групі – 408,7 \pm 45,67 пкг/мл, в контрольній-395,4 \pm 22,2 пкг/мл, $p>0,05$) та зменшення на 4,2% концентрації прозапального фактора некрозу пухлин – альфа (в основній групі – 509,2 \pm 24,10 пкг/мл, в контрольній групі – 531,3 \pm 23,7 пкг/мл, $p>0,05$).

Таким чином, у жінок, з безпліддям зменшується абсолютна кількість лейкоцитів, відносна кількість моноцитів та загальний пул лімфоцитів, останніх за рахунок Т- лімфоцитів та незначно за рахунок і В- лімфоцитів; зменшується коефіцієнт активності фагоцитозу за рахунок зниження активності системи комплементу та бактерицидної активності фагоцитуючих клітин, зниження концентрації імуноглобуліну А. Перераховане вище засвідчує, що у жінок із безпліддям формується прихований імунодефіцитний стан, який не проявляється клінічними симптомами.

Разом з тим, зростання лейкоцитарного індексу інтоксикації, відносної кількості нейтрофільних лейкоцитів, індексу імунореактивності, імунологічного коефіцієнту засвідчують про можливу персистенцію умовнопатогенного, швидше за все, внутрішньоклітинного збудника, що персистує на епітеліоцитах слизових оболонок обстежених жінок, що вимагає використання ряду сучасних високоінформативних методик виявлення цих збудників.

При дослідженні функціонального стану репродуктивної системи констатовано, що у жінок із безпліддям трубного походження на 2-3 день менструального циклу виявлено збільшення концентрації естрадіолу в крові (в основній групі - 58,9 \pm 1,20пкг/мл, в контрольній - 36,9 \pm 1,02, $p<0,01$). Підвищення рівня естрогенів в крові пацієток основної групи до стимуляції суперовуляції лишній раз вказує на відхилення в ендокринній функції, в першу чергу яєчників.

Рівень ЛГ на 2-3-ій день менструального циклу у пацієток з безпліддям відрізнявся від показників у контрольній групі незначно (в основній групі - . 5,8 \pm 1,70пкг/мл, в контрольній -

6,22±1,21пкг/мл,р>0,05). Співвідношення ЛГ до ФСГ в основній та контрольній групах було в межах 0,58-0,63.

В результаті стимуляції суперовуляції має місце значне (9-ти кратне) збільшення рівня естрогенів крові обстежуваних пацієнок (в основній групі – 1595,6±196,3, в контрольній – 175,6±32,2,р<0,01). У пацієнок з безпліддям на висоті стимуляції суперовуляції констатовано статистично значуще зниження рівня лютеїнізуючого гормону (в основній групі - 1,08±0,06 пкг/мл, в контрольній - 16,2±5,27р<0,001).

У обстежених жінок виявлено деяке підвищення рівня фолітропіну (в основній групі – 10,7±1,16пкг/мл, в контрольній - 7,05±0,8пкг/мл, р<0,05). Співвідношення ЛГ/ФСГ склало відповідно: 0,1 в стимульованому циклі, 2,2 в контрольній групі. Знижена секреція ЛГ у пацієнок з безпліддям трубного походження послаблює синтез попередників стероїдних гормонів. Внаслідок цього знижується продукція андрогенів в яєчнику.

Враховуючи те, що одним із завдань нашої роботи було вивчення ефективності використання плазмаферезу при застосуванні запліднення *in vitro*, ми проводили вивчення впливу його на організм жінки з безпліддям трубного походження, враховуючи показники імунного статусу, гормонального гомеостазу та антиваріальних антитіл. Для оцінки ефективності плазмаферезу жінки основної групи нами були розділені на дві підгрупи. Першу підгрупу склали жінки із безпліддям в кількості 38 осіб, яким проводилась традиційна підготовка до запліднення *in vitro*.

Другу підгрупу склали пацієнтки з безпліддям в кількості 20 осіб, яким проводилась запропонована нами комплексна підготовка до ЗІВ з включенням плазмаферезу (табл.2).

Таблиця 2

Показники позитивних та негативних результатів при ЗІВ жінок основної групи

| Підгрупи основної групи | Кількість осіб у групі | Кількість вагітностей | | Кількість невдач | | Кількість невідомих результатів | |
|-------------------------|------------------------|-----------------------|------|------------------|------|---------------------------------|------|
| | | абс. | % | абс. | % | абс. | % |
| 1 підгрупа | 38 | 15 | 39,4 | 16 | 42,1 | 7 | 18,4 |
| 2 підгрупа | 20 | 10 | 50,0 | 8 | 40 | 2 | 10,0 |

Кількість позитивних результатів запліднення *in vitro* було в 1,3 рази більше в жінок, яким проводилась запропонована нами комплексна підготовка з включенням плазмаферезу в порівнянні із групою, яким проводилась загальноприйнята підготовка до ЗІВ. Кількість негативних результатів в групі жінок, яким проводилась запропонована нами комплексна підготовка з включенням плазмаферезу була в 1,1 рази менша в порівнянні із групою, де проводилась тільки

загальноприйнята підготовка до ЗІВ. Кількість невідомих результатів була в 1,8 рази більшою у групі, де проводилась загальноприйнята підготовка до ЗІВ в порівнянні із групою, в якій проводилась запропонована нами комплексна підготовка до ЗІВ з включенням плазмаферезу.

Проаналізувавши дані, які вказані вище та анамнестичні дані хворих безпліддям жінок із обтяженим акушерсько-гінекологічним анамнезом та повторними спробами штучного запліднення можна стверджувати, що плазмаферез є ефективним методом в комплексі з загальноприйнятою щодо підготовки до програм ЗІВ.

Що стосується рівня антиоваріальних антитіл слід відмітити, що до проведення плазмаферезу він склав $4,1 \pm 0,4$ Од/мл. В 1 підгрупі після проведеної традиційної підготовки до ЗІВ рівень антиоваріальних антитіл склав $4,6 \pm 0,8$ Од/мл, що більше, але різниця не вірогідна ($p > 0,05$). Рівень антиоваріальних антитіл у 2 підгрупі відносно його ж рівня до проведеного лікування зменшився у 1,3 рази і склав $3,2 \pm 0,5$ Од/мл, що вірогідно менше в порівнянні його рівня до плазмаферезу та в порівнянні з першою підгрупою після традиційної підготовки до ЗІВ.

Отже, після проведення плазмаферезу підвищений рівень антиоваріальних антитіл різко зменшується, що вказує на його ефективність та можливість використання в програмі підготовки до ЗІВ.

Що стосується впливу плазмаферезу на гормональний гомеостаз, то слід відмітити, що всі показники досліджуваних гормонів у жінок після плазмаферезу знижувались. Так, рівень ЛГ знизився з $8,4 \pm 0,7$ пкг/мл до $3,2 \pm 0,4$ пкг/мл ($p < 0,05$), тобто у 2,6 рази, рівень ФСГ з $5,2 \pm 0,4$ пкг/мл до $2,2 \pm 1,2$ пкг/мл ($p < 0,05$), тобто у 2,2 рази, рівень естрадіолу з $90,7 \pm 7,3$ пкг/мл до $52,3 \pm 6,3$ пкг/мл ($p < 0,05$), тобто в 1,7 рази. Концентрація гонадотропних гормонів зменшилась після проведеного дискретного плазмаферезу за рахунок виведення незначної кількості їх із плазмою крові і не досягла рівня у здорових жінок. Співвідношення ЛГ/ФСГ склало відповідно: 1,6 до проведення плазмаферезу та 1,4 після проведеного плазмаферезу. Це досить важливо, оскільки нормальне функціонування яєчників можливе лише при співвідношенні ЛГ/ФСГ 1-1,5. При порівнянні показників естрадіолу до проведення плазмаферезу виявлено зростання його в 1,7 рази в порівнянні з показником після проведеного методу.

Зниження концентрації ЛГ у пацієток з безпліддям трубного походження у фолікулінову фазу менструального циклу та недостатня концентрація ФСГ на фоні нормальної концентрації естрадіолу призводять до порушення фолікулогенезу, овуляції та наступних секреторних перебудов ендометрія. Це, у свою чергу, може бути однією з причин безпліддя.

Зниження рівня естрадіолу після плазмаферезу свідчить про ефективне збереження репродуктивного потенціалу яєчників.

Аналіз отриманих даних, що стосувався концентрацій статевих стероїдних та гонадотропних гормонів, свідчить про позитивний вплив запропонованої нами комплексної підготовки з

включенням плазмаферезу на стероїдогенез в яєчниках в порівнянні з групою хворих з безпліддям трубного походження в стимульованому циклі.

Одержанні результати проведених досліджень показали, що плазмаферез суттєво не впливає на показник фагоцитарної активності, в тому числі на його бактерицидну активність (НСТ-спонтанний і НСТ-стимульований), коефіцієнт активності фагоцитозу та інші показники. Разом з тим, відмічається позитивна тенденція до зростання захоплюючої ефективності фагоцитуючих клітин за рахунок збільшення титру нормальних антитіл, збільшення потенційної здатності до бактерицидної активності фагоцитуючих клітин та їх резерву, що засвідчує збільшення коефіцієнту активності фагоцитозу на 7%, та імунологічного коефіцієнту.

Таким чином, проведення плазмаферезу сприяє покращанню загального стану неспецифічного протиінфекційного захисту організму жінок, що страждають безпліддям. Покращується коефіцієнт активності фагоцитозу та імунологічний коефіцієнт, а також зростає активність системи комплементу. Використання проведення плазмаферезу призводить до ряду позитивних змін у неспецифічній ефекторній системі протиінфекційного захисту, при цьому зменшується відносна кількість О-лімфоцитів, зростає фагоцитарна активність нейтрофільних лімфоцитів, захоплюючи здатність фагоцитарних клітин, потенційна здатність до бактерицидної активності фагоцитів та її резерви, що призводить до зростання коефіцієнту активності фагоцитозу у порівнянні із жінками, яким не проводили плазмаферез, а використовували традиційну підготовку.

Таким чином, проведення плазмаферезу у жінок з безпліддям, є більш ефективним заходом, який покращує провідні показники (фагоцитарне число, НСТ-стимульований, коефіцієнт активності фагоцитозу) неспецифічного протиінфекційного захисту організму жінок.

Проведення у жінок із безпліддям плазмаферезу не впливає на показники клітинної ланки системного імунітету: загальний пул ТСД 3- лімфоцитів має деяку тенденцію до зменшення за рахунок ТСД 8- лімфоцитів - цитолітичних Т- лімфоцитів. При цьому покращується імунорегуляторна функція Т- лімфоцитів.

Провівши порівняння характеристики клітинної ланки системного імунітету у жінок з безпліддям, у залежності від традиційної реабілітації та імунореабілітації плазмаферезом констатовано, що традиційна базова реабілітація жінок, що страждають безпліддям не призводить до значних змін показників клітинної ланки системного імунітету. Спостерігається при цьому незначна тенденція до покращення відносної кількості імунорегуляторних Т- лімфоцитів: незначне зростання відносної кількості ТСД3- лімфоцитів (Т- хелперів/індукторів), що засвідчує про покращення процесів розпізнання антигенів системою імунітету та збереження відносної кількості ТСД8- лімфоцитів (Т- цитолітичних лімфоцитів). Такі незначні зміни сприяють покращенню імунорегуляторного індексу. Останній засвідчує про покращення автономної саморегуляції у системі імунітету.

Проведення жінкам із безпліддям плазмаферезу призводить до тенденції зростання загального пулу TCD 3- лімфоцитів за рахунок TCD 4- лімфоцитів- T- хелперів/ індукторів, що сприяє підвищенню процесів розпізнання та тенденції до зростання імунорегуляторного індексу.

Результати вивчення ефективності плазмаферезу у жінок, що страждають безпліддям на показники гуморальної ланки системного імунітету вказують на те, що проведення плазмаферезу не призводить до помітних змін у показниках функціонального стану гуморальної ланки системного імунітету. Виходячи із цього можливо зробити висновок про те, що плазмаферез не порушує функцію В-лімфоцитів та продукцію ними імуноглобулінів основних класів (Ig M, Ig G та Ig A). Стабільність циркулюючих імунних комплексів засвідчує про адекватність гуморальної імунної відповіді.

Результати вивчення впливу проведення плазмаферезу у жінок, що страждають безпліддям, на концентрацію прозапального та протизапального цитокінів вказують на те, що: концентрація протизапального цитокіну (інтерлейкіну-4) після проведення плазмаферезу має незначну тенденцію до зростання на 7,65%, але це зростання не вірогідне. Разом з тим, концентрація прозапального цитокіну (фактору некрозу пухлин-альфа) після проведення плазмаферезу знижується на 21,1%, що є істотно за статистичним аналізом. Зниження концентрації фактора некрозу пухлин - альфа та тенденція до зростання протизапального цитокіну (IL-4) засвідчує про те, що проведення плазмаферезу є ефективним засобом зменшення запальної реакції в організмі.

З отриманих даних видно, що загальноприйнята підготовка до ЗІВ призводить до тенденції зниження як прозапального, так і протизапального цитокіну відповідно на 14, 5 % і 8,3 %. Але це зниження концентрації інтерлейкінів статистично не істотне.

Проведення плазмаферезу більш ефективно впливає на показники концентрації протизапального цитокіну. Концентрація інтерлейкіну-4 у жінок, що страждають безпліддям, суттєво зростає, що засвідчує про те, що плазмаферез знижує запальні процеси, підтвердженням цього є тенденція до зниження концентрації фактора некрозу пухлин у порівнянні з жінками, яким проводили загальноприйнятну підготовку до ЗІВ та суттєво знижується у порівнянні з контролем.

Таким чином, проведення плазмаферезу жінкам, що страждають безпліддям, призводить до зменшення запальних процесів в їх організмі та є ефективним засобом імунореабілітації у цієї категорії пацієнток.

ВИСНОВКИ

У дисертації обґрунтовано науковий підхід до вирішення проблеми підвищення ефективності лікування жіночого безпліддя трубного походження у процесі підготовки до запліднення *in vitro* шляхом профілактики та лікування у них вторинного імунодефіцитного стану комплексним методом з використанням плазмаферезу на основі дослідження рівня антиоваріальних антитіл, визначення рівня гормонів і стану імунної системи.

1. У обстежених жінок з безпліддям трубного походження позитивні результати допоміжних репродуктивних технологій складають: при першій спробі - 33,3%, при повторних спробах – 16,6%.

2. В контрольній групі рівень антиоваріальних антитіл був у 1,73 рази більшим, ніж в жінок основної групи (відповідно, $7,1 \pm 0,9$ ОД/мл та $4,1 \pm 0,5$ ОД/мл). На 12 день менструального циклу під час стимуляції суперовуляції рівень антиоваріальних антитіл був 4,3 ОД/мл, на 13 - 4,5 ОД/мл, на 14 день – 5,7 ОД/мл на 15-4,2 ОД/мл, на 16 – 1,2 ОД/мл, що вірогідно менше в порівнянні з основною та контрольною групами.

3. У жінок із безпліддям трубного походження на 2-3 день менструального циклу мало місце статистично значуще збільшення в 1,6 рази концентрації естрадіолу в крові (з $45,3 \pm 1,02$ до $58,9 \pm 1,20$ пкг/мл). Рівень ЛГ у пацієток із безпліддям відрізнявся від показників у контрольній групі незначно. Співвідношення ЛГ/ФСГ в основній та контрольній групах було в межах 0,58-0,63. У пацієток в день пункції яєчника в циклі стимуляції суперовуляції рівень естрадіолу в крові був $1595,6 \pm 196,3$ пкг/мл, що в 9 разів більше ніж в контрольній групі ($p < 0,05$). Відмічено статистично значуще зниження рівня ЛГ ($1,08 \pm 0,06$ пкг/мл) в порівнянні з контрольною групою ($16,2 \pm 5,27$ пкг/мл). Виявлено деяке підвищення рівня ФСГ в обстежених жінок ($10,7 \pm 1,16$ пкг/мл) в порівнянні з контрольною групою ($7,05 \pm 0,8$ пкг/мл). Співвідношення ЛГ/ФСГ склало відповідно 0,1 в стимульованому циклі та 2,2 в контрольній групі.

4. У жінок із безпліддям трубного походження зменшувалась абсолютна кількість лейкоцитів, відносна кількість моноцитів та загальний пул лімфоцитів, останній за рахунок Т-лімфоцитів та незначно за рахунок В-лімфоцитів; зменшувався коефіцієнт активності фагоцитозу за рахунок зниження активності системи комплементу та бактерицидної активності фагоцитуючих клітин, зниження концентрації імуноглобуліну А. Перераховане вище свідчить, що у жінок із безпліддям формується прихований імунодефіцитний стан, який не проявляється клінічними симптомами. Зростання лейкоцитарного індексу інтоксикації, відносної кількості нейтрофільних лейкоцитів, індексу імунореактивності, імунологічного коефіцієнту свідчило про можливу персистенцію умовнопатогенного, швидше за все, внутрішньоклітинного збудника, що персистує на епітеліюцитах слизових оболонок у жінок із безпліддям. У жінок, що страждають безпліддям

встановлена тенденція до зростання (на 3,3%) концентрації протизапального інтерлейкіна 4 та зменшення (на 4,2%) концентрації прозапального фактора некрозу пухлин - альфа.

5. Рівень антиоваріальних антитіл в крові до лікування становив $4,1 \pm 0,4$ ОД/мл, після проведеної традиційної підготовки до запліднення *in vitro* - $4,6 \pm 0,8$ ОД/мл, після проведеної нами підготовки з включенням плазмаферезу - $3,2 \pm 0,5$ ОД/мл ($p < 0,05$), що вказує на його ефективність та можливість використання в програмі підготовки до запліднення *in vitro*. Концентрація ФСГ, ЛГ та естрадіолу не зазнає суттєвих змін під час проведення плазмаферезу, що свідчить про відсутню негативну дію на гонадотропну функцію гіпофізу та стероїдогенез в яєчниках проведеної еферентної терапії. Зниження рівня естрадіолу після плазмаферезу свідчить про ефективне збереження репродуктивного потенціалу яєчників. Плазмаферез сприяє покращенню загального стану неспецифічного протиінфекційного захисту, зменшенню активності системи комплементу та імунологічного коефіцієнту, імуnoreгуляторної функції Т-лімфоцитів, підвищенню процесів розпізнання та тенденції до зростання імуnoreгуляторного індексу, зниження концентрації фактора некрозу пухлин – альфа та зростання інтерлейкіну – 4.

6. Використання запропонованої нами комплексної підготовки до запліднення *in vitro* з включенням плазмаферезу сприяє підвищенню ефективності допоміжних репродуктивних технологій з 39,4 % до 50,0 %.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. У жінок з безпліддям трубного походження в процесі підготовки до запліднення *in vitro* рекомендовано дослідження рівня антиоваріальних антитіл в крові.

2. При виявленні підвищеного рівня антиоваріальних антитіл необхідно скеровувати їх на комплексну підготовку з включенням плазмаферезу.

3.2. Дискретний плазмаферез (від 1 до 3 сеансів) проводиться за 14-21 днів до початку стимуляції суперовуляції по загальноприйнятій методиці.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ З ТЕМИ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Бакун О.В. Характеристика рівня антиоваріальних антитіл в нормі і при патології //
2. Бакун О.В. Визначення антиоваріальних антитіл у жінок із безпліддям // *Biomedical and biosocial anthropology*
3. Бакун О.В. Вплив плазмаферезу на гормональний гомеостаз жінок із безпліддям трубного генезу на етапі підготовки до запліднення *in vitro* // *Biomedical and biosocial anthropology*
4. Бакун О.В. Концентрація гіпофізарних гормонів в крові жінок із безпліддям // *Здоровье женщины.* -№
5. Юзько О.М., Бакун О.В. Вплив плазмаферезу на імунологічні показники у жінок з безпліддям трубного походження при заплідненні *in vitro* // *Здоровье женщины*

6. Бакун О.В. Показники системного імунітету у пацієнок із безпліддям // Репродуктивное здоровье женщины
7. Бакун О.В., Юзько О.М. Плазмаферез в програмі допоміжних репродуктивних технологій (огляд літератури) // Репродуктивное здоровье женщины.- 2006.-№2(26).-С.156-158.
- 8.Бакун О.В. Методи лікування автоімунного оофориту (огляд літератури) // Буковинський медичний вісник.-Т.10.-№3.-2006.-С.137-141.
9. Бакун О.В. Деякі аспекти впливу плазмаферезу на гормональний гомеостаз.- Тези Чернівці
- 10.Бакун О.В. Показники рівня антиоваріальних антитіл у жінок із безпліддям.- Тези доповідей .- Ів.-Франківськ
11. Юзько О.М., Бакун О.В., Юзько Т.А. “Вагітність, роди та стан новонароджених після екстракорпорального запліднення” Тези доповідей наукової конференції: “Здорова дитина: здоров’я дитини та її сім’ї”.- м. Чернівці, 2005 р.,- С. 58.

АНОТАЦІЯ

Бакун О.В. Підвищення ефективності запліднення *in vitro* при лікуванні жіночого безпліддя трубного походження з врахуванням ролі антиоваріальних антитіл. Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.01 – акушерство і гінекологія. – Вінницький національний медичний університет імені М.І.Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2007.

В роботі на сучасному рівні комплексно досліджено рівень антиоваріальних антитіл, гонадотропних і стероїдних гормонів, стан імунної системи, запропоновано комплексну підготовку до запліднення *in vitro* з включенням плазмаферезу жінкам з безпліддям трубного походження.

Встановлено, що рівень антиоваріальних антитіл в контрольній групі був значно більшим в порівнянні з жінками основної групи. В жінок з безпліддям сформувався прихований імунodefіцитний стан, який не проявлявся клінічними симптомами. У жінок основної групи було відмічено статистично значуще підвищення рівня естрадіолу в крові. Одночасно в основній групі жінок ендокринна функція гонадотропоцитів передньої долі гіпофізу не відрізнялась від показників контрольної групи. В день пункції яєчника в циклі стимуляції суперовуляції у жінок з безпліддям відмічено підвищення рівня естрадіолу, фолітропіну та зниження рівня лютеїнізуючого гормону.

Аналіз отриманих даних, що стосувався рівня антиоваріальних антитіл та концентрацій статевих стероїдних і гонадотропних гормонів, свідчить про позитивний вплив запропонованої

нами комплексної підготовки з включенням плазмаферезу на стероїдогенез в яєчниках в порівнянні з групою хворих з безпліддям трубного походження в стимульованому циклі.

Було відмічено покращення провідних показників неспецифічного протиінфекційного захисту організму жінок, імунорегуляторної функції Т-лімфоцитів, підвищення процесів розпізнання, функціональної здатності клітинної ланки системного імунітету, а також доведено, що плазмаферез призводить до зменшення запальних процесів та є ефективним засобом реабілітації у жінок з безпліддям трубного походження. Це дозволило підвищити ефективність екстракорпорального запліднення в жінок з безпліддям трубного походження, яким проводили комплексну підготовку з включенням плазмаферезу до 50%, в той час з проведенням традиційної підготовки настання вагітності складало 39,4%.

Ключові слова: безпліддя, імунна система, гормони крові, запліднення *in vitro*, плазмаферез, антиоваріальні антитіла.

ANNOTATION

Bakun O.V. Optimization of the *in vitro* fertilization in tubal sterility therapy in view of the role of antiovary antibodies. Manuscript.

Dissertation for the degree of Candidate of Medical Science in 14.01.01 — obstetrics and gynecology. Vinnytsja National Medical University named after M.I.Pirogov Ukrainian Ministry of Health Vinnytsja, 2007.

A modern comprehensive analysis of antiovary antibodies, gonadotropic and steroid hormones is presented in the paper; the state of the immune system is also analyzed. The author represents the overall preparation for the *in vitro* fertilization, including plasmapheresis in women with tubal sterility. The level of antiovary antibodies was found higher in women of the control group relative to those in the basic group.

A latent immunodeficiency, clinically non-manifesting, was found in sterile women.

A statistically significant increase in blood estradiol level was also defined in basic group women. In the meantime the endocrine function of prehypophysis gonadotropes in basic group women does not differ from the data in the control group. In the day of the ovary paracentesis under the superovulation promotion in sterile women the increase of estradiol and follitropin level and the decrease of luteinizing hormone occurred. Data analysis that considered the level of antiovary and the concentration of the reproductive, steroid and gonadotropic hormones speaks for the positive influence of the proposed overall preparation including plasmapheresis on the steroidogenesis of the ovary relative to the group of women with tubal sterility in the promoted cycle. The improvement of the basic data of the general anti-infective protection of the female organism, the immunomodulatory function of T- lymphocytes were observed,

and also the evaluation process of the functional ability of the systemic immunity cell link was simplified. It was also showed that plasmapheresis promotes the decrease of inflammatory processes and appears to be a highly effective means of immunologic rehabilitation of women with tubal sterility. This makes it possible to intensify an extracorporal fertilization in women with tubal sterility that underwent overall preparation including plasmapheresis, up to 50%. At the same time pregnancy occurred only in 39,4% cases prepared traditionally.

Key words: in vitro fertilization, sterility, immune system, blood hormones, plasmapheresis, antiovary antibodies.

АННОТАЦИЯ

Бакун О.В. Повышение эффективности оплодотворения *in vitro* при лечении женского бесплодия трубного происхождения с учетом роли антиовариальных антител. Рукопись.

Диссертация на соискание научной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.01 – акушерство и гинекология. – Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И.Пирогова, МЗ Украины, Винница, 2007.

В работе на современном уровне комплексно исследовано уровень антиовариальных антител, гонадотропных и стероидных гормонов, состояние иммунной системы, предложено комплексную подготовку к оплодотворению *in vitro* с включением плазмафереза женщинам с бесплодием трубного происхождения.

Доказано, что уровень антиовариальных антител в контрольной группе был значительно выше в сравнении с женщинами основной группы.

У женщин с бесплодием сформировалось скрытое иммунодефицитное состояние, которое не проявлялось клиническими симптомами.

У женщин основной группы было отмечено статистически значительное повышение уровня эстрадиола в крови. Одновременно в основной группе женщин эндокринная функция гонадотропоцитов передней доли гипофиза не отличалась от показателей контрольной группы.

В день пункции яичника в цикле стимуляции суперовуляции у женщин с бесплодием было отмечено повышение уровня эстрадиола, фоллитропина и снижение уровня лютеинизирующего гормона.

Анализ полученных данных относительно уровня концентраций половых стероидных и гонадотропных гормонов, свидетельствует о положительном влиянии предложенной нами комплексной подготовки с включением плазмафереза на стероидогенез в яичниках в сравнении с группой больных с бесплодием трубного происхождения в стимулированном цикле.

Было отмечено улучшение ведущих показателей неспецифической противoinфекционной защиты организма женщин, иммунорегуляторной функции Т-лимфоцитов, повышение процессов распознавания, функциональной способности клеточного звена системного иммунитета, а также доказано, что плазмаферез приводит к снижению воспалительных процессов и есть эффективным средством иммунореабилитации у женщин с бесплодием трубного происхождения. Это позволило повысить эффективность экстракорпорального оплодотворения в женщин с бесплодием трубного происхождения до 50%, которым проводили комплексную подготовку с включением плазмафереза, в то же время с проведением традиционной подготовки наступление беременности составляло 39,4%.

Ключевые слова: бесплодие, иммунная система, гормоны крови, оплодотворение *in vitro*, плазмаферез, антиовариальные антитела.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВІДС – вторинний імунодефіцитний стан;

ДРТ – допоміжні репродуктивні технології;

ЕКЗ – екстракорпоральне запліднення;

ЗІВ – запліднення *in vitro*;

Ig – імуноглобулін;

ІФА – імуноферментний аналіз;

ІФЛ – імунофлуоресцентний метод;

ЛГ – лютропін;

ПЕ – перенос ембріонів;

ФСГ – фолітропін;

ЦІК – циркулюючі імунні комплекси;

CD 22+ – маркер загальної популяції В-лімфоцитів;

CD 4+ – специфічний маркер Т- лімфоцитів-хелперів/індукторів;

CD 8+ – специфічний маркер Т- лімфоцитів-супресорів/цитолітичних.