

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

**СЕМЕНЯК АЛІНА ВІКТОРІВНА**

УДК 618.177 – 089.888.11:618.177:616.9 – 085

**ПРОФІЛАКТИКА ТА ЛІКУВАННЯ УСКЛАДНЕНЬ УРОГЕНІТАЛЬНИХ ІНФЕКЦІЙ У  
ЖІНОК ІЗ БЕЗПЛІДНІСТЮ ПРИ ВИКОРИСТАННІ ДОПОМІЖНИХ РЕПРОДУКТИВНИХ  
ТЕХНОЛОГІЙ**

14.01.01 – акушерство і гінекологія

**АВТОРЕФЕРАТ**

дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата медичних наук

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Буковинській державній медичній академії МОЗ України

**Науковий керівник:** доктор медичних наук, професор  
**Юзько Олександр Михайлович,**  
 Буковинська державна медична академія  
 МОЗ України, завідувач кафедри акушерства і гінекології з  
 курсом дитячої та підліткової гінекології

**Офіційні опоненти:** доктор медичних наук, професор  
**Мазорчук Борис Федорович,**  
 Вінницький НАЦІОНАЛЬНИЙ медичний  
 університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України,  
 завідувач кафедри акушерства і гінекології № 1

член-кор. АМН України,  
 доктор медичних наук, професор  
**Венцківський Борис Михайлович,**  
 Національний медичний університет ім. О.Богомольця,  
 завідувач кафедри акушерства і гінекології № 1

**Провідна установа –** Київська медична академія післядипломної освіти ім. П.Л.  
 Шупика МОЗ України, кафедра акушерства, гінекології та  
 перинатології

Захист відбудеться “ \_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 2005 року о 12<sup>00</sup> на засіданні спеціалізованої вченої ради  
 Д 05.600.01 при Вінницькому національному медичному університеті ім. М.І.Пирогова МОЗ  
 України (210018, м. Вінниця, вул. М.І.Пирогова, 56).

З дисертацією можна ознайомитись в бібліотеці Вінницького національного медичного  
 університету ім. М.І.Пирогова (210018, м.Вінниця, вул. М.І.Пирогова, 56).

Автореферат розісланий “ \_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 2005 р.

Вчений секретар

спеціалізованої ради,

доктор медичних наук, доцент

М.І.Покидько

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Безплідність – важлива медико-соціальна проблема сучасної медицини. Частіше всього причиною безплідності подружньої пари є перенесені запальні захворювання статевих органів, які викликані найпростішими (вагінальними трихомонадами), умовно патогенною бактеріальною мікрофлорою (стафілококами, стрептококами, ешерихіями, бактрероїдами, пептострептококами), хламідіями, мікоплазмами, уреоплазмами та іншими мікроорганізмами і вірусами (Дубосарская З.М., Мазорчук Б.Ф., 1995).

Включення в програму допоміжних репродуктивних технологій інфікованої пари або інфікування чоловіка чи жінки в ході реалізації програми може призвести до порушень здоров'я, насамперед майбутньої дитини, а також до зниження ефективності програми (Кулаков В.И, 2000).

В той же час, залишається недостатньо вивченим питання, яким чином стан мікроекології піхви впливає на ефективність лікування безплідності в програмі допоміжних репродуктивних технологій (Белобородов С.М., Анкирская А.С., 2001; Кузмичев Л.Н., Кулаков В.И., Леонов Б.В., 2001).

В останні роки відмічено, що при наявності в подружньої пари хронічних запальних захворювань репродуктивних органів у патогенезі безплідності суттєву роль відіграють порушення імунних реакцій системного та локального характеру, що обумовлює розлади ендокринно-імунних механізмів, у регуляції яких беруть участь гормони, зокрема статеві – естрогени і прогестерон. Формується вторинний імунодефіцитний стан, який також значно посилює безплідність (Пинегин Б.В., Латышева Т.В, 2001; Романенко Т.Г., Щербинская Е.С., 2001; Gabriel Virella, Marcel Dekker, 1998). Може виникнути патогенетичне коло: запальний процес репродуктивних органів → порушення ендокринно-імунних механізмів → вторинний імунодефіцитний стан → безплідність (Гадиева Ф.Г., 2001). Відповідно, нормалізація гормонального фону функціональної репродуктивної системи позитивно впливає на стан імунної відповіді, що сприяє відновленню нормоценозу піхви і, в результаті, підвищується ефективність екстракорпорального запліднення.

В процесі лікування інфекцій, що передаються статевим шляхом, традиційні ліки та методи лікування часто є неефективними і приносять короткострокове полегшення хворим, що пов'язано зі зміною чутливості збудника до широкого застосування (часто необгрунтованого) антибіотиків, а також зі станом імунної та гормональної системи жіночого організму при безплідності. Для відновлення нормального функціонування імунної, ендокринної систем організму та мікробіоценозу піхви в даній категорії пацієнток у програмі ДРТ потрібні нові підходи і методи, які враховують патогенетичні особливості захворювання.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота є фрагментом наукової тематики кафедри акушерства і гінекології з курсом дитячої та підліткової гінекології Буковинської державної медичної академії: „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 Буковинській державній медичній академії, відповідає зазначеній спеціальності. Автор дисертації є виконавцем фрагменту відповідно до теми дисертації.

**Мета дослідження:** підвищити ефективність лікування безплідності методом екстракорпорального запліднення при вторинному імунодефіцитному стані, який обумовлений урогенітальною інфекцією.

**Завдання дослідження:**

1. Оцінити мікробіоценоз піхви та цервікального каналу в жінок із безплідністю, які готуються до екстракорпорального запліднення, та частоту урогенітальних інфекцій у них.
2. Оцінити базовий рівень гормонів у даної групи пацієнток.
3. Проаналізувати стан системного імунітету в даної категорії пацієнток у співставленні з гормональним балансом та даними мікробіоценозу.
4. Впровадити новий спосіб лікування ускладнень урогенітальних інфекцій у жінок із безплідністю під час стимуляції суперовуляції в програмі екстракорпорального запліднення.
5. Оцінити ефективність запропонованого лікування в жінок із безплідністю.

*Об'єкт дослідження* – жіноча безплідність.

*Предмет дослідження* – мікрофлора піхви та цервікального каналу, гормональний гомеостаз, імунологічні взаємовідносини при безплідності в програмі допоміжних репродуктивних технологій.

*Методи дослідження* – клінічний, мікробіологічний, імунофлуоресцентний, імуноферментний, імунологічний, статистичний.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Встановлено, що вторинний імунодефіцитний стан, який формується на фоні запальних процесів репродуктивних органів у жінок із безплідністю, взаємопов'язаний із гормональними розладами жіночої репродуктивної системи, корекція яких призводить до нормалізації імунологічних показників на фоні стимуляції суперовуляції з позитивним впливом на стан ендометрію. Вперше автором комплексно досліджувалися стан мікроценозу піхви та цервікального каналу, імунний статус і функціональний стан репродуктивної системи в жінок із безплідністю різного генезу.

Встановлено залежність між станом мікробіоценозу піхви та ефективністю лікування безплідності методом екстракорпорального запліднення і переносу ембріонів. Доведено

доцільність скринінгу на дисбіоз піхви та корекції порушень перед використанням методів допоміжної репродукції паралельно з дослідженнями імунного стану пацієнок.

Запропоновано та патогенетично обґрунтовано новий спосіб лікування та профілактики ускладнень урогенітальних інфекцій у пацієнок із безплідністю, які лікуються по програмі екстракорпорального запліднення і переносу ембріонів, що одночасно забезпечує позитивний вплив на стан ендометрію.

**Практичне значення одержаних результатів.** За допомогою розробленого способу підготовки жінок із безплідністю до проведення допоміжних репродуктивних технологій та нового способу корекції імунного стану можна значно підвищити ефективність допоміжних репродуктивних технологій, зокрема екстракорпорального запліднення і переносу ембріонів. Спосіб рекомендується для широкого впровадження в практичну медицину. Розроблена тактика лікування використовується у Буковинському центрі репродуктивної медицини. Теоретичні положення роботи використовуються у навчальному процесі на кафедрі акушерства та гінекології з курсом дитячої і підліткової гінекології Буковинської державної медичної академії.

**Впровадження результатів дослідження в практику.** Спосіб реабілітації 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. Теоретичні положення роботи використовуються у навчальному процесі на кафедрі акушерства та гінекології з курсом дитячої і підліткової гінекології Буковинської державної медичної академії.

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

Розробила і втілила в практику спосіб підготовки жінок із безплідністю до проведення екстракорпорального запліднення і переносу ембріонів, а також лікування імунологічних порушень.

**Апробація результатів роботи.** Матеріали досліджень доповідались та обговорювались 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 Буковинської державної медичної академії (2002-2004).

**Публікації.** За результатами проведених досліджень дисертантом опубліковано шість наукових праць, із яких три статті та двоє тез – у фахових журналах ВАК України. Отримано один деклараційний патент.

**Об'єм і структура дисертації.** Дисертація оформлена на 115 листках комп'ютерного набору. Побудована за стандартним типом і складається з наступних розділів: вступ, огляд літератури, матеріали та методи досліджень, п'ять розділів власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів дослідження, висновки, практичні рекомендації і література. Дисертація ілюстрована 25 таблицями та 6 рисунками. Список літератури містить 236 літературних джерел, із яких 89 латиницею.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріали та методи дослідження.** Для вирішення завдань дослідження протягом 2002-2004 років проведено загально-клінічне, гінекологічне, клініко-лабораторне та ультразвукове обстеження 82 жінок, які були розділені на 2 групи: основна – 60 жінок із безплідністю різного генезу, контрольна – 22 практично здорові фертильні жінки.

Клініко-лабораторне обстеження жінок проводили клінічним, мікробіологічним, імунофлуоресцентним, імуноферментним та імунологічним методами.

Матеріалом для дослідження були виділення з заднього склепіння піхви та цервікального каналу, циліндричний епітелій з цервікального каналу, а також сироватка крові.

Мікробіологічне дослідження проводили шляхом мікроскопії та засіву досліджуваного матеріалу на оптимальні живильні середовища. Виділення із заднього склепіння піхви брали стерильним ватним тампоном, шляхом “витирання” тампону на стінках слизових оболонок піхви.

Виділення з цервікального каналу брали тонким стерильним ватним тампоном, не торкаючись стінок піхви, після ретельної обробки піхвової частини шийки матки ватним тампоном, змоченим фізіологічним розчином або стерильною водою.

Матеріал для засіву і мікроскопії готували паралельно, використовуючи для цього окремі стерильні тампони. При приготуванні мазків рівномірно розподіляли матеріал на предметному склі м'якими рухами. Мазок висушували при кімнатній температурі, фіксували й фарбували методом Грам-Синьова, метиленовим синім та іншими диференційними методами.

Мікроскопію проводили у світловому мікроскопі з імерсійним об'єктивом. Відмічали появу запальної реакції: наявність лейкоцитів, слизу, фібрину, при появі мікроорганізмів відмічали ступінь обсіменіння, відношення до забарвлення по Граму та морфологічні особливості.

Досліджуваний матеріал, взятий тампоном, засівали на половину чашки Петрі з оптимальними для кожної групи мікроорганізмів поживними середовищами.

Посіви інкубували при температурі 37<sup>0</sup>С протягом доби. Для встановлення популяційного рівня мікрофлори із тампону видавлювали ексудат у мірну пробірку і додавали до нього десятикратний об'єм стерильного фізрозчину (рН 7,0-7,2). Таким чином, отримували розведення 10<sup>-1</sup>. Із нього готували серію розведень від 10<sup>-2</sup> до 10<sup>-7</sup>. Із кожного тетраційного розведення відбирали по 0,1 мл і засівали суцільним газоном на сектори чашки Петрі з твердим живильним середовищем (Ендо, Левіна, жовтково-сольовий агар, кров'яний агар і середовище Сабура). При появі росту на щільному середовищі проводили підрахунок колоній різної форми та величини. Потім проводили видову ідентифікацію мікроорганізмів і, при необхідності, визначення їх чутливості до антибактеріальних препаратів методом стандартних індикаторних дисків.

Результат дослідження був негативним при відсутності росту на всіх живильних середовищах протягом 72 годин.

Ідентифікацію виділених чистих культур проводили за морфологічними, тинкторіальними, культуральними, біохімічними властивостями. Популяційний рівень визначали за кількістю колоній, що виростили при висіву 0,1 мл ексудату та з врахуванням розведення, виражали його у lg КУО/мл або lg КУО/г.

Для мікроекологічного аналізу результатів мікробіологічних досліджень використовували показники індексу постійності (С), який характеризує ступінь домінування того чи іншого збудника гнійно-запального процесу та характеризується частотою виділення виду мікроорганізму в патологічному матеріалі.

Для оцінки частоти виявлення популяцій різних мікроорганізмів у патологічному матеріалі використовували показник зустрічання (Рі), який визначається числом штамів даного виду по відношенню до загальної кількості штамів, що виділені в обстежених вагітних.

Імунофлуоресцентний (ІФЛ) метод дослідження використовували для виявлення хламідій, мікоплазм, уреоплазм та вірусу простого герпесу II в матеріалі з цервікального каналу шийки матки пацієнток. ІФЛ дослідження проводилося з використанням діагностичних антитіл: "Хламіді-Скан" – для виявлення антигенів *Chlamidia trachomatis* методом прямої імунофлуоресценції; "Герпес-Скан" – для виявлення вірусу простого герпесу; "Міко-Скан" – для виявлення антигенів *Mycoplasma hominis*; "Уреа-Скан" – для виявлення антигенів *Ureaplasma urealyticum*.

З метою дослідження гормонального статусу в обстежених жінок проводилося визначення вмісту в сироватці крові гонадотропних гормонів – лютропіну (ЛГ), фолітропіну (ФСГ) та пролактину, а також гормонів яєчника - естрадіолу, прогестерону та тестостерону. Рівень гормонів визначали імуноферментним методом (ІФА) з використанням наборів реагентів: "ИФА-АФ-Естр";

"Стероид ИФА-тестостерон"; "ИФА- пролактин"; "Стероид ИФА-прогестерон"; "Гонадотропин ИФА-ФСГ"; "Гонадотропин ИФА-ЛГ".

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  $y \times 10^9$ /л, відносної 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-CD 3+ 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 (CD 3+ - маркер, який присутній на мембранах загальної популяції Т-клітин; CD 4+ - специфічний маркер Т-лімфоцитів-хелперів/індукторів; CD 8+ - специфічний маркер Т-лімфоцитів-супресорів/цитолітичних; CD 22+ - 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 "Флюоресцейн- 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.

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  $p$  (достовірність різниці) визначали по таблиці Стюдента-Фішера. Різниці між середніми величинами, що порівнювалися, рахувалися достовірними при  $p < 0,05$ .

Кореляційний аналіз проводили у програмах SPSS for Windows 8.0.0 (SPSS Inc., 1989-1997) та STATISTICA for Windows 5.1 (© StatSoft Inc., 1984-1996). Для даних із нормальним типом розподілом використовували кореляційний аналіз за критерієм Пірсона. Для даних з іншими типами розподілу користувались непараметричними статистичними методами. При цьому кореляційний аналіз проводили за ранговою кореляцією за критеріями Спірмена. Статистичний аналіз отриманих даних у невеликих групах ( $n=8$ ,  $n=10$ ) проводився непараметричними методами по Mann-Whitney.

**Результати досліджень та їх обговорення.** З метою встановлення ролі патогенних та умовно патогенних мікроорганізмів у процесах розвитку безплідності, а також впливу їх на стан імунної системи нами вивчено видовий склад мікрофлори вмісту піхви та цервікального каналу в 60 жінок із безплідністю та у 22 практично здорових жінок контрольної групи.

Встановлено, що видовий склад мікрофлори вмісту піхви та цервікального каналу в жінок із безплідністю є досить різноманітним і представлений рядом патогенних та умовно патогенних мікроорганізмів. У практично здорових жінок контрольної групи виявлялися: епідермальний стафілокок – у 1 випадку (5,0%), фекальний ентерокок – у 2 (10,0%), дріжджоподібні гриби роду *Candida* – у 1 (5,0%). У жінок із безплідністю виявлялися наступні мікроорганізми, які контамінували слизову оболонку піхви та цервікального каналу: умовно патогенні – золотистий стафілокок – у 9 випадках (15,0%), епідермальний стафілокок – у 23 (38,3%) ( $p < 0,001$ ), фекальний ентерокок – у 1 (1,7%) ( $p < 0,001$ ), ешерихії – у 19 (31,7%), дріжджоподібні гриби роду *Candida* – у 18 (30,0%) ( $p < 0,001$ ), коринебактерії – у 11 (18,3%) та патогенні – піогенний стрептокок – у 2 (3,3%) і трихомонади – у 8 (13,3%). Також було виділено із ексудату піхви та цервікального каналу мікроорганізми з переважно внутрішньоклітинним циклом життєдіяльності – хламідії – у 8 (13,3%) жінок, мікоплазми – у 6 (10,0%), уреоплазми – у 7 (11,7%) та віруси простого герпесу типу

2 – у 2(3,3%). Всього виділено та ідентифіковано 114 штамів патогенних та умовно патогенних мікроорганізмів. У 23 жінок, які страждали безплідністю, також виявлені хламідії, мікоплазми, уреоплазми та віруси герпесу. Виявлені мікроорганізми належать до 12 різних таксономічних груп патогенних та умовно патогенних мікроорганізмів у даному біотопі жінки. Це засвідчує, що в більшості жінок персистує по декілька мікроорганізмів одночасно. Аналіз результатів бактеріологічного та імунофлуоресцентного обстеження також показав, що в 35 жінок виявилися асоціації патогенних та умовно патогенних мікроорганізмів, які склалися з двох різних за походженням штамів. У 19 жінок спостерігалось моноінфікування умовно патогенними чи патогенними збудниками. У контрольній групі спостерігалось в 4 жінок моноінфікування умовно патогенними збудниками.

Таким чином, одержані результати бактеріологічних досліджень свідчать, що безплідність перебігає на фоні персистенції одночасно кількох патогенних, умовно патогенних мікроорганізмів та мікроорганізмів, а також мікроорганізмів, які мають здатність до внутрішньоклітинного паразитизму. Велике різноманіття різних видів мікроорганізмів, що персистують одночасно у вказаному біотопі жінок, хворих на безплідність, засвідчує про поліетіологічність даного захворювання. Провідними збудниками даного процесу були патогенні хламідії (13,3%), мікоплазми (10,0%), уреоплазми (11,7%), а також стафілококи (53,3%), ешерихії (31,7%), дріжджоподібні гриби роду *Candida* (30,0%) та коринебактерії (18,3%).

Аналіз ефективності лікування безплідності методом ЕКЗ і ПЕ вказує, що позитивний результат відмічено в 17 жінок із 60, що складало 28,3%. Відсутність умовно патогенної та патогенної мікрофлори була в 6 жінок, із яких після лікування безплідності методом ЕКЗ і ПЕ вагітність настала у двох (33,3%). З 54 жінок, в яких виявлено умовно патогенні та патогенні мікроорганізми і проведено курс лікування, була вагітність у 15, що становило 27,8%.

Кандидоз у жінок із безплідністю діагностовано у 18 випадках (30%). Після лікування кандидозу вагітність настала в 7 жінок, що складало 41,2%. Таким чином можна зробити висновок, що дріжджоподібні гриби роду *Candida* мають незначний негативний вплив на лікування безплідності методом ЕКЗ і ПЕ.

При наявності в анамнезі в жінок основної групи у виділеннях із піхви *S. epidermidis* (у 23 жінок – 38,3%) і асоціацій із умовно патогенними та патогенними мікроорганізмами після лікування була вагітність у 6 жінок, що складало серед 17 жінок із позитивними результатами 35,3%, а *S. aureus* (у 9 жінок – 15,0%) – у трьох – 17,6%. *E. coli* та асоціації із умовно патогенними та патогенними мікроорганізмами виявлялися у виділеннях із піхви в 19 жінок (31,7%), з яких вагітність настала у 5 жінок (29,4% у структурі жінок із позитивними результатами).

Трихомоніаз виявлено в 8 жінок із безплідністю, з яких після проведеного курсу лікування вагітність за допомогою екстракорпорального запліднення відмічена в 3, що серед жінок з позитивними результатами складало 17,6%.

Найбільш виражений негативний вплив на лікування безплідності методом ЕКЗ і ПЕ виявлено у жінок із діагностованими внутрішньоклітинними паразитами (хламідіями, мікоплазмами та уреаплазмами). Частота настання вагітності методом ЕКЗ і ПЕ складала 5,9%. Хламідіоз у жінок основної групи при цьому діагностовано в 8 випадках (13,3%), мікоплазмоз – у 6 (10%), уреаплазмоз – у 7 (11,7%).

Таким чином, можна відмітити, що у жінок із безплідністю частіше виявлялася умовно патогенна мікрофлора, а мікрофлора з внутрішньоклітинним механізмом персистенції виявлялася рідше. Негативний вплив на ефективність лікування безплідності методом ЕКЗ і ПЕ був більш вираженим при виявленні в анамнезі саме мікрофлори з внутрішньоклітинним механізмом персистенції.

Одночасно з вивченням мікроценозу піхви і цервікального каналу проводилося дослідження стану імунної системи. Порушення при визначенні основних імунокомпетентних клітин в периферичній крові проявлялися зниженням моноцитів на 41,6% (в основній групі кількість –  $4,5 \pm 0,4\%$ , у контрольній –  $7,7 \pm 0,8\%$ ,  $p < 0,01$ ) та сегментоядерних нейтрофільних лейкоцитів на 10,3% (в основній групі –  $57,1 \pm 1,06\%$ , у контрольній –  $63,7 \pm 1,7\%$ ,  $p < 0,05$ ) і збільшенням на 62,2% лімфоцитів (в основній групі –  $34,3 \pm 1,3\%$ , у контрольній –  $21,1 \pm 1,1\%$ ,  $p < 0,001$ ) та паличкоядерних нейтрофільних лейкоцитів на 26,6% (в основній групі –  $3,67 \pm 0,33\%$ , у контрольній –  $2,9 \pm 0,2\%$ ,  $p \leq 0,05$ ).

З метою визначення порушень клітинної імунної відповіді нами вивчена відносна кількість Т-лімфоцитів та їх субпопуляції. При цьому відмічено зниження Т-лімфоцитів на 24,5% (в основній групі кількість –  $32,9 \pm 1,6\%$ , у контрольній –  $43,6 \pm 0,7\%$ ,  $p < 0,01$ ), Т-активних лімфоцитів на 31,5% (в основній групі –  $18,7 \pm 0,8\%$ , у контрольній –  $27,3 \pm 0,9\%$ ,  $p < 0,001$ ), що призводить до зниження ефекторного індексу на 9,3% (в основній групі –  $56,8 \pm 3,7\%$ , у контрольній –  $62,6 \pm 1,7\%$ ,  $p < 0,001$ ), Т-лімфоцитів-хелперів/індукторів – на 26,4% (в основній групі –  $19,8 \pm 0,7\%$ , у контрольній –  $26,9 \pm 0,4\%$ ,  $p < 0,001$ ), Т-лімфоцитів-супресорів/цитолітичних – на 17,4% (в основній групі –  $13,8 \pm 1,4\%$ , у контрольній –  $16,7 \pm 0,4\%$ ,  $p < 0,01$ ). Встановлено, що у жінок із безплідністю формувалася вторинний імунодефіцитний стан клітинної імунної відповіді за рахунок зниження загального пулу Т-лімфоцитів та їх субпопуляцій, що призводило до пониження процесів розпізнання, супресорної, кілінгової та імунорегуляторної функції в межах автономної саморегуляції.

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 безплідністю не встановлено глибоких порушень гуморальної імунної відповіді. Зростання концентрації циркулюючих імунних комплексів на 19,0% (в основній групі кількість –  $133,5 \pm 6,3\%$ , у контрольній –  $112,2 \pm 1,1\%$ ,  $p < 0,01$ ) свідчило про адекватність специфічної гуморальної імунної відповіді на збудники запального процесу, виявлені з патологічного матеріалу.

При безплідності значно зростала відносна кількість 0-лімфоцитів: на 61,5% (в основній групі кількість –  $42,8 \pm 2,1\%$ , у контрольній –  $26,5 \pm 0,9\%$ ,  $p < 0,01$ ), що, можливо, пов'язано з наявністю внутрішньоклітинних (хламідій, мікоплазм, уреоплазм, вірусів герпесу) мікроорганізмів – збудників запальних процесів. Саме на клітини, в яких паразитують дані мікроорганізми, формується переважно клітинна імунна відповідь, а також включаються клітини кілінгової системи (0-лімфоцити), що, можливо, призводить до їх збільшення.

Фагоцитарна активність поліморфноядерних лейкоцитів мала тільки тенденцію до зниження, але це зниження незначне (в основній групі кількість –  $64,3 \pm 1,1\%$ , у контрольній –  $68,1 \pm 0,5\%$ ,  $p > 0,05$ ). Не виявлені зміни і у захоплюючої здатності фагоцитуючих клітин. Тобто, фагоцитоз на перших етапах його формування порушується незначно. Це пов'язано, з нашої точки зору, з тим, що у цієї категорії хворих не змінюється активність системи комплементу, а також зростає концентрація неспецифічних природних (нормальних) антитіл, які беруть участь в опсонізації мікроорганізмів.

Дослідження фагоцитарної активності на заключних етапах показало, що значно знижувалася потенційна бактеріцидна активність фагоцитарних клітин: на 43,4% (в основній групі кількість –  $17,8 \pm 0,7\%$ , у контрольній –  $30,9 \pm 0,3\%$ ,  $p < 0,001$ ), що свідчить про глибокі порушення фагоцитозу на заключних етапах.

Порушення неспецифічного протиінфекційного захисту організму пацієнток із безплідністю сприяли підвищенню чутливості організму не тільки до патогенних, але і до умовно патогенних мікроорганізмів (стафілококів, коринебактерій, ентеробактерій, дріжджоподібних грибів роду *Candida*) та до формування хронічного запального процесу в організмі жінок.

Перераховане вище засвідчувало про формування в пацієнток із безплідністю вторинного імунодефіцитного стану. Останній сприяє посиленню не тільки запального процесу, але і порушує процеси запліднення, оскільки в основі останнього лежать імунні механізми.

Враховуючи наявність змін зі сторони імунної системи в жінок із безплідністю на фоні хронічної персистенції умовно патогенних та патогенних мікроорганізмів, нами проведено кореляційний аналіз між даними імунограми та виявленими мікроорганізмами з піхви та цервікального каналу.

При наявності в анамнезі мікрофлори, яка має переважно внутрішньоклітинний механізм персистенції, встановлено тільки слабкий взаємозв'язок між уреоплазмами і вірусами простого герпесу та IgA ( $R=0,36$  і  $R=0,32$ ), між уреоплазмами і мікоплазмами та титром нормальних антитіл ( $R=0,39$  і  $R=0,36$ ), між хламідіями та IgM ( $R=0,43$ ), що може бути свідченням відсутності адекватної реакції імунної системи на хронічну персистенцію внутрішньоклітинних мікроорганізмів.

Вірогідний кореляційний взаємозв'язок встановлено між Т-клітинною ланкою імунітету та деякими представниками умовно патогенної мікрофлори – коринебактеріями, стафілококами, ентерококами, ешерихіями. При цьому спостерігався негативний кореляційний зв'язок між золотистими стафілококами, Т-лімфоцитами ( $R=-0,52$ ) і Т-активними лімфоцитами ( $R=-0,44$ ), позитивний взаємозв'язок з НСТ-тестом ( $R=0,48$ ), фекальними ентерококами і Т-лімфоцитами ( $R=-0,56$ ), ешерихіями і Т-лімфоцитами ( $R=-0,51$ ), Т-активними лімфоцитами ( $R=-0,34$ ), ФА ( $R=-0,44$ ), ФЧ ( $R=-0,46$ ), що засвідчує про персистенцію даних мікроорганізмів на фоні імунодефіцитного стану і зниження ФА. Коринебактерії спричинили появу позитивного кореляційного взаємозв'язку з Т-лімфоцитами ( $R=0,44$ ), Т-активними лімфоцитами ( $R=0,40$ ), Т-лімфоцитами-хелперами/індукторами ( $R=0,47$ ) та негативного взаємозв'язку з IgA ( $R=-0,51$ ). Персистенція дріжджоподібних грибів роду *Candida* спричинила появу негативного взаємозв'язку з НСТ-тестом стимульованим ( $R=-0,52$ ), позитивного взаємозв'язку з титром нормальних антитіл ( $R=0,49$ ). Негативний взаємозв'язок з ФА відмічено при наявності піогенного стрептококу ( $R=-0,50$ ). Також спостерігався негативний взаємозв'язок з IgA ( $R=-0,48$ ), позитивний з В-лімфоцитами ( $R=0,54$ ). Персистенція епідермального стафілококу спричинило появу лише негативного взаємозв'язку з IgM ( $R=-0,53$ ).

Таким чином, враховуючи наявність кореляційного взаємозв'язку між умовно патогенними та патогенними мікроорганізмами з показниками імунограми, а також одночасної персистенції кількох мікроорганізмів, які спричинили вище вказані розлади в системі імунітету, можна зробити висновок, що в жінок із безплідністю при хронічній персистенції умовно патогенних і патогенних мікроорганізмів відбуваються зміни зі сторони клітинної та гуморальної імунної відповіді, а також неспецифічної ефекторної системи протиінфекційного захисту.

При дослідженні функціонального стану репродуктивної системи у практично здорових жінок контрольної групи встановлено, що концентрація естрадіолу складала  $0,375 \pm 0,0031$  нмоль/л, ФСГ –  $7,29 \pm 0,60$  МО/л, ЛГ –  $8,06 \pm 0,80$  МО/л, прогестерону –  $3,19 \pm 0,15$  нмоль/л, тестостерону –  $1,28 \pm 0,15$  нмоль/л, пролактину –  $348,85 \pm 18,8$  МО/л.

Встановлено, що в жінок із безплідністю, пов'язаною із відсутністю овуляції, спостерігався гіпоестрагенний стан (концентрація естрадіолу  $0,22 \pm 0,03$  нмоль/л,  $p < 0,01$ ) при підвищеному рівні ФСГ ( $8,57 \pm 0,72$  МО/л,  $p < 0,05$ ) та зниженому рівні ЛГ ( $4,56 \pm 0,35$  МО/л,  $p < 0,01$ ), що може бути

свідченням відсутності адекватної реакції яєчників на стимулюючий вплив гіпофізарних гормонів. Також при безплідності, пов'язаною з відсутністю овуляції відмічено зниження рівня прогестерону ( $1,49 \pm 0,02$  нмоль/л,  $p < 0,01$ ). Встановлено, що в жінок із безплідністю трубного походження також спостерігався гіпоестрогенний стан (естрадіол –  $0,19 \pm 0,01$  нмоль/л,  $p < 0,01$ ) при підвищеному рівні ФСГ ( $10,12 \pm 0,71$  МО/л,  $p < 0,01$ ) та зниженому рівні ЛГ ( $6,53 \pm 0,62$  МО/л,  $p < 0,05$ ). При безплідності іншої природи (обумовленої ендометріозом та урогенітальною інфекцією) спостерігалось тільки підвищення рівня ФСГ ( $9,98 \pm 0,67$  МО/л,  $p < 0,01$ ). У жінок із неуточненою безплідністю відмічено зниження концентрації ЛГ ( $4,10 \pm 0,22$  МО/л,  $p < 0,05$ ) і прогестерону ( $2,37 \pm 0,19$  нмоль/л,  $p < 0,05$ ) в порівнянні з контрольною групою.

При проведенні кореляційного аналізу (табл. 1) визначено наявність позитивного кореляційного взаємозв'язку між рівнем естрадіолу та кількістю Т-лімфоцитів ( $R=0,62$ ,  $p < 0,05$ ), кількістю Т-активних лімфоцитів ( $R=0,53$ ,  $p < 0,05$ ) та кількістю Т-лімфоцитів-хелперів/індукторів ( $R=0,69$ ,  $p < 0,05$ ). Рівень ФСГ корелював із спонтанним НСТ-тестом ( $R=0,56$ ,  $p < 0,05$ ). ЛГ позитивно корелював також із НСТ-тестом (спонтанним) ( $R=0,85$ ,  $p < 0,05$ ), причому кореляційний зв'язок сильний. Рівень прогестерону негативно корелював із рівнем імуноглобуліну А ( $R=-0,56$ ,  $p < 0,05$ ). Рівень тестостерону також негативно корелював із сироватковим рівнем імуноглобуліну А ( $R=-0,61$ ,  $p < 0,05$ ). Рівень пролактину позитивно корелював із НСТ-тестом ( $R=0,79$ ,  $p < 0,05$ ).

Таблиця 1

Результати кореляційного аналізу між імунологічними та гормональними показниками в жінок із безплідністю

Імунологічні показники	Коефіцієнт кореляції Спірмена (R) із показниками гормонального фону					
	ФСГ	ЛГ	естрадіол	прогестерон	тестостерон	пролактин
Т-лімфоцити	-0,15	-0,09	0,62*	0,36	-0,27	-0,27
Т-активні лімфоцити	-0,42	-0,44	0,53*	0,23	-0,20	-0,43
Т-лімфоцити-супресори/цитолітичні	-0,20	-0,03	0,33	0,29	-0,21	-0,31
Т-лімфоцити-хелпери/індуктори	-0,14	-0,25	0,69*	0,17	-0,39	-0,17
імуnoreгуляторний індекс	0,03	-0,25	0,01	-0,13	0,09	0,19

В-лімфоцити	-0,12	-0,11	0,27	-0,03	-0,39	-0,42
IgA	0,47	0,41	0,04	-0,56*	-0,61*	0,43
IgM	-0,29	-0,07	-0,37	-0,01	0,39	0,09
IgG	-0,02	-0,42	-0,03	0,02	-0,25	-0,48
фагоцитарна активність	0,06	0,08	0,31	-0,30	-0,05	-0,05
фагоцитарне число	-0,10	-0,06	0,40	-0,26	0,06	-0,09
НСТ-тест	0,56*	0,85*	0,03	-0,32	-0,25	0,79*
НСТ-стимульований пірогеналом	-0,08	0,12	-0,06	-0,12	-0,22	-0,10
ЦІК	0,04	0,27	0,05	-0,21	0,06	0,41
титр комплементу	-0,15	-0,21	0,24	0,10	0,28	-0,01

Примітка: \* вірогідність даних  $p < 0,05$

Тому при лікуванні безплідності необхідною умовою повинна бути нормалізація як гормональних, так імунологічних показників. Враховуючи наявність у жінок із безплідністю вторинного імунодефіцитного стану і кореляційних взаємозв'язків між показниками гормонального фону та показниками імунограми, нами запропоновано проводити корекцію імунного стану в жінок із безплідністю в програмі ЕКЗ і ПЕ на фоні стимуляції суперовуляції препаратом “Прогінова”. Препарат призначався під час стимуляції суперовуляції від 2 до 8 мг на добу під контролем УЗД залежно від товщини ендометрію з шостого дня менструального циклу. Результати імунологічних досліджень у жінок, яким не призначали препарат “Прогінова” (І група), і в жінок, яким його призначали (ІІ група), наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Показники клітинної ланки системного імунітету хворих із безплідністю на фоні стимуляції суперовуляції під час пункції фолікулів ( $M \pm m$ )

Показники	І група	ІІ група	Контрольна група
T-CD 3+ лімфоцити, %	35,4±1,72*	±1,7*	43,6±0,7
T- активні лімфоцити, %	20,3±0,9*	26,1±1,2	27,3±0,9
Ефекторний індекс, %	57,3±1,5	66,9±2,15	62,6±1,7
T-CD 4+ лімфоцити, %	20,5±0,8*	24,1±1,3	26,9±0,4
T-CD 8+ лімфоцити, %	14,9±1,7	14,6±0,5*	16,7±0,4

Імунорегуляторний індекс	1,8±0,17	1,7±0,4	1,6±0,02
-----------------------------	----------	---------	----------

Примітка. \* p<0,05

Стимуляцію овуляції починали в ранню фолікулінову фазу. Використовували різні варіанти схем із людським менопаузальним гонадотропіном (хумегон, меногон, менопур, пурегон). Призначали препарати по 2-3 ампули, які містять по 75 МО ФСГ і ЛГ, із 2-3-го по 5-6-й день менструального циклу. В подальшому доза людського менопаузального гонадотропіну визначалася кількістю фолікулів, їх розміром і швидкістю росту. Моніторинг рівня естрадіолу і ультразвукове дослідження проводили в 1-й день стимуляції, потім з 5-го дня стимуляції кожен день або через 1-2 дні, залежно від реакції організму. Позитивними змінами вважали збільшення домінантного фолікула на 2-3 мм/добу, концентрації естрадіолу – 40-100% від рівня попереднього дня (Финогенова Е.А., 1998). Стимуляцію гонадотропінами в середньому проводили 10-15 днів. В деяких схемах під час стимуляції суперовуляції використовували одночасне введення з людським менопаузальним гонадотропіном аналогів гонадоліберину (декапептин, диферелін) по 0,1 мкг/добу протягом 4-8 днів, в подальшому (до 11-13-го дня менструального циклу) дозу зменшували до 0,05 мкг/добу.

При застосуванні довгої схеми стимуляцію суперовуляції починали з введення аналогів гонадоліберину (декапептин, диферелін) по 0,1 мкг/добу в середині лютеїнової фази попереднього циклу (19-22 –й день менструального циклу). При настанні повної блокади секреції естрадіолу – концентрація 0,05-0,10 нмоль/л, зниженні активності стероїдогенезу яєчниками до 20-30% вихідного рівня (частіше всього на 2-5-й день менструального циклу) починали стимуляцію суперовуляції фолікулів введенням людських менопаузальних гормонів.

Овуляторну дозу препаратів хоріонічного гонадотропіну (профазі, прегніл) – 5000-10000 Од – призначали при досягненні домінантним фолікулом діаметру не менше 18 мм, 2-3 фолікулами – не менше 15-17 мм, концентрації естрадіолу в сироватці крові не менше 300 нмоль/л на один фолікул і товщини ендометрію 8-10 мм.

Забір крові (10 мл) для визначення стану імунної системи проводили під час трансвагінальної пункції фолікулів яєчників з 9<sup>00</sup> до 11<sup>00</sup>. Трансвагінальна пункція фолікулів яєчників проводилася під контролем вагінального ультразвукового датчика.

Враховуючи наявність змін у імунній системі в жінок із безплідністю і нормалізацію показників даної системи на фоні прийому препарату “Прогінова” при порівнянні з контрольною групою нами проведено статистичний аналіз отриманих результатів, у яких були відмічені найбільш вірогідні зміни (Т-клітинна ланка імунної системи) непараметричними методами по Mann-Whitney.



Для визначення впливу стимуляції суперовуляції на стан імунної системи ми порівнювали показники Т-лімфоцитів та їх субпопуляцій у жінок із безплідністю до і після стимуляції суперовуляції під час проведення трансвагінальної пункції фолікулів. При цьому вірогідних змін не було виявлено. Отже, стимуляція суперовуляції не поглиблює вторинний імунодефіцитний стан жінок із безплідністю.

При аналізі показників Т-клітинного імунітету в жінок основної групи на фоні стимуляції суперовуляції до запропонованого лікування та аналогічних показників контрольної групи непараметричними методами встановлено наявність сильних негативних вірогідних змін Т-лімфоцитів ( $p < 0,01$ ), Т-активних лімфоцитів ( $p < 0,0007$ ), Т-лімфоцитів-хелперів/індукторів ( $p < 0,0015$ ) (табл. 3).

Таблиця 3

Непараметричні показники отриманих результатів клітинної ланки системного імунітету в жінок основної групи до прийому препарату “Прогінова” та контрольної групи

Показники	Z	p
Т-CD 3+ лімфоцити	-2,573	0,0100
Т-активні лімфоцити	-3,361	0,0007
Т-CD 8+ лімфоцити	-0,788	0,4271
Т-CD 4+ лімфоцити	-3,151	0,0015

Порівнюючи показники Т-лімфоцитів та їх субпопуляцій у жінок із безплідністю до і після запропонованого лікування під час трансвагінальної пункції фолікулів, відмічено наявність сильних позитивних вірогідних змін Т-активних лімфоцитів ( $p < 0,006$ ) та Т-лімфоцитів-хелперів/індукторів ( $p < 0,02$ ), що є свідченням позитивного впливу препарату “Прогінова” на клітинну ланку імунної відповіді (табл. 4).

Таблиця 4

Непараметричні показники отриманих результатів клітинної ланки системного імунітету в жінок основної групи до і після прийому препарату “Прогінова”

Показники	Z	P
Т-CD 3+ лімфоцити	1,365	0,1715
Т-активні лімфоцити	2,731	0,0060
Т-CD 8+ лімфоцити	-0,053	0,9579
Т-CD 4+ лімфоцити	2,205	0,0260

Отримані результати Т-клітинної ланки системи імунітету в жінок після проведеного лікування препаратом “Прогінова” під час транвагінальної пункції фолікулів і аналогічні показники в жінок контрольної групи суттєво не відрізнялися. Відмічено відсутність вірогідних змін Т-активних лімфоцитів і Т-лімфоцитів-хелперів/індукторів, при наявності позитивних вірогідних змін Т-лімфоцитів ( $p < 0,04$ ) і Т-лімфоцитів-супресорів/цитолітиків ( $p < 0,05$ ), що, можливо, є необхідним для нормальної імплантації і розвитку плодового яйця (Татарчук Т.Р., Сольский Я.П., 2003) (табл.5).

Таблиця 5

Непараметричні показники отриманих результатів клітинної ланки системного імунітету в жінок основної групи після прийому препарату “Прогінова” та контрольної групи

Показники	Z	p
Т-CD 3+ лімфоцити	-1,995	0,0400
Т-активні лімфоцити	0,998	0,3127
Т-CD 8+ лімфоцити	-1,890	0,0500
Т-CD 4+ лімфоцити	1,470	0,1377

Таким чином, можна зробити висновок про позитивний вплив на стан імунної системи запропонованого лікування. Позитивним результатом лікування безплідності ми вважали настання вагітності. У жінок із безплідністю, які на фоні стимуляції суперовуляції приймали препарат “Прогінова”, позитивний результат лікування шляхом ЕКЗ і ПЕ був у 42,9% випадків. У жінок, які не приймали препарат “Прогінова”, позитивний результат був у 28,6% випадків. Вище вказане свідчить про доцільність і необхідність корекції імунного фону в жінок із безплідністю препаратами естрогенів.

## ВИСНОВКИ

У дисертації обґрунтовано науковий підхід до профілактики та лікування вторинного імунодефіцитного стану в жінок із безплідністю на основі дослідження стану мікробіоценозу піхви та цервікального каналу, визначення рівня гормонів і стану імунної системи, встановлення кореляційних зв'язків між ними при застосуванні екстракорпорального запліднення.

1. У жінок із безплідністю, які готувалися до лікування за програмою допоміжних репродуктивних технологій, виявлено в матеріалі виділень із піхви та цервікального каналу 114 штамів мікроорганізмів, які належать до 12 різних таксономічних груп. З них 91 (79,8%) штам виявлено у виділеннях із піхви, 23 (20,2%) – із цервікального каналу. Провідними збудниками

були стафілококи (53,3%), ешерихії (31,7%), дріжджоподібні гриби роду *Candida* (30,0%), хламідії (15,7%), мікоплазми (11,8%) та уреоплазми (13,3%).

2. При обстеженні в жінок із безплідністю, пов'язаною з відсутністю овуляції, встановлено вірогідне зниження в крові концентрації естрадіолу на 41,3%, лютропіну – на 43,3%, прогестерону – на 53,2% та підвищення концентрації фолітропіну на 14,9%. При безплідності трубного походження вірогідно знижена в крові концентрація естрадіолу на 48,9%, лютропіну – на 18,9% та підвищена концентрація фолітропіну на 28,0%. При безплідності іншої природи (ендометріоз або урогенітальна інфекція) відмічено тільки вірогідне підвищення рівня фолітропіну на 27,0%. При неуточненій жіночій безплідності спостерігалось вірогідне зниження концентрації лютропіну на 49,1% та прогестерону – на 25,6%.

3. На фоні стимуляції суперовуляції у жінок із безплідністю нами виявлено вторинний імунодефіцитний стан, який характеризувався зниженням загального пулу Т-лімфоцитів на 24,5%, Т-активних лімфоцитів на 31,5%, Т-лімфоцитів-хелперів/індукторів – на 26,4%, Т-лімфоцитів-супресорів/цитолітичних – 17,4% ( $p < 0,05$ ). Зміни гуморальної ланки системи імунітету проявлялися зростанням на 19,0% загальних циркулюючих імунних комплексів ( $p < 0,05$ ), що свідчило про ефективність специфічної гуморальної імунної відповіді. Відмічено наявність глибоких порушень фагоцитозу на заключних етапах за рахунок зниження потенційної бактерицидної активності фагоцитарних клітин і резерву бактерицидної активності поліморфноядерних лейкоцитів.

4. Проведений кореляційний аналіз зв'язків між даними імунограми, рівнем гонадотропних та стероїдних гормонів у периферичній крові в жінок із безплідністю показав наявність позитивного взаємозв'язку між рівнем естрадіолу та кількістю Т-лімфоцитів ( $R=0,62$ ,  $p < 0,05$ ), кількістю Т-активних лімфоцитів ( $R=0,53$ ,  $p < 0,05$ ) та кількістю Т-лімфоцитів-хелперів/індукторів ( $R=0,69$ ,  $p < 0,05$ ); рівнем фолітропіну ( $R=0,56$ ,  $p < 0,05$ ) і лютропіну ( $R=0,85$ ,  $p < 0,05$ ) із спонтанним НСТ-тестом, наявність негативного зв'язку між рівнем прогестерону ( $R=-0,56$ ,  $p < 0,05$ ) і тестостерону ( $R=-0,61$ ,  $p < 0,05$ ) із IgA. Рівень пролактину позитивно корелював із НСТ-тестом ( $R=0,79$ ,  $p < 0,05$ ).

5. В жінок із безплідністю під час стимуляції суперовуляції з використанням “Прогінови” спостерігалася нормалізація кількості Т-активних лімфоцитів ( $p < 0,006$ ) (у жінок із безплідністю без застосування “Прогінови” їх кількість складала  $20,3 \pm 0,9\%$ , із застосуванням –  $26,1 \pm 1,2\%$ ) та Т-лімфоцитів-хелперів/індукторів ( $p < 0,02$ ) (у жінок із безплідністю без застосування “Прогінови” їх кількість складала  $20,5 \pm 0,8\%$ , із застосуванням –  $24,1 \pm 1,3\%$ ), що є свідченням позитивного впливу даного препарату на клітинну ланку імунної відповіді. Дане лікування сприяло підвищенню ефективності екстракорпорального запліднення до 42,9% проти 28,6% у жінок, які мали в анамнезі урогенітальну інфекцію, але їм не застосовувалася “Прогінова”.

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для своєчасної профілактики загострень урогенітальних інфекцій в жінок із безплідністю в програмі підготовки до екстракорпорального запліднення і переносу ембріонів необхідно проводити дослідження стану імунної системи у даної категорії пацієток (Т- і В-клітинну ланку імунної системи та стан неспецифічної ефекторної системи протиінфекційного захисту).

2. Під час стимуляції суперовуляції слід проводити корекцію імунних порушень шляхом застосування препарату “Прогінова”, що містить 2 мг естрадіолу валерата, по індивідуальній схемі від 2 до 8 мг/добу під контролем УЗД залежно від товщини ендометрію з шостого дня менструального циклу. Якщо відмічено відставання в розвитку ендометрію (в нормі товщина ендометрію на шостий день менструального циклу досягає 4-5 мм), лікування слід розпочинати з 2 мг/добу під час стимуляції суперовуляції. Якщо зміни позитивні, лікування продовжують в тій же дозі. При відсутності позитивних динамічних змін зі сторони ендометрію дозу збільшують на 2 мг/добу (не більше 8 мг/добу), виходячи з того, що на момент овуляції (14-й день менструального циклу) товщина ендометрію повинна складати 8 мм.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ З ТЕМИ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Семеняк А.В. Стан імунної системи в жінок із безплідністю // Буковинський медичний вісник. – 2004. – Т.8, №4. – С.44-48.

2. Юзько О.М., Семеняк А.В. Вплив препаратів естрогенів на імунний стан у жінок із безплідністю під час стимуляції суперовуляції // Вісник морфології. – 2004. – Т.10, №2. – С.361-364 (Автором проведено лікування жінок із безплідністю під час стимуляції суперовуляції шляхом застосування естрогенних препаратів).

3. Юзько О.М., Юзько Т.А., Семеняк А.В. Ефективність штучного запліднення в жінок з безпліддям при різних формах дисбіозу піхви та цервікального каналу // Клінічна та експериментальна патологія. – 2004. – Т.3, №4. – С.90-94 (Автором проаналізовано настання вагітності в жінок у залежності від отриманих результатів дослідження мікроценозу піхви та цервікального каналу).

4. Семеняк А.В. Стан імунної системи у жінок безплідністю на фоні стимуляції суперовуляції // Міжнародна науково-практична конференція “Науковий потенціал світу”, 1-15 листопада 2004 р., Дніпропетровськ. – 2с.

5. Юзько О.М., Семеняк А.В. Нові шляхи підвищення ефективності екстракорпорального запліднення // Клінічна та експериментальна патологія. – 2004. – Т.3, №2. – С.179 (Автором доведена залежність між безплідністю і мікроценозом піхви).

6. Деклараційний патент України №67542 А, МПК А 61 Р15/00, 15/02. Спосіб лікування урогенітальних інфекцій у жінок із безпліддям / Юзько О.М., Семеняк А.В., Лакуста Н.М. Опубл. 16.04.04. Бюл. №6 (Автором проведений патентний пошук та оформлена патентна документація. Проведено клінічні дослідження в пацієток із застосуванням даного способу).

## АНОТАЦІЯ

Семеняк А.В. Профілактика та лікування ускладнень урогенітальних інфекцій у жінок із безплідністю при використанні допоміжних репродуктивних технологій. 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, 2005.

В роботі на сучасному рівні комплексно досліджено стан мікроценозу піхви, імунної системи, рівень гонадотропних і стероїдних гормонів та кореляційні взаємозв'язки між отриманими даними в жінок із безплідністю при лікуванні методами допоміжних репродуктивних технологій.

Встановлено, що безплідність перебігала на фоні вторинного імунодефіцитного стану. Доведено взаємозв'язок між мікроценозом піхви та цервікального каналу і станом імунної системи. Зміни мікроценозу піхви, які виявлені в 90% жінок із безплідністю, сприяли розвитку вторинного імунодефіцитного стану.

У жінок, безплідність яких пов'язана з відсутністю овуляції та трубного походження, спостерігався гіпоестрогенний фон із підвищеним рівнем фолікулостимулюючого та зниженим рівнем лютеїнізуючого гормонів із зміщенням їх співвідношення в бік фолікулостимулюючого. Відмічено зниження прогестерону в жінок, безплідність яких пов'язана з відсутністю овуляції. У жінок із безплідністю іншої природи спостерігалось підвищення рівня фолікулостимулюючого гормону, а у жінок із неуточненою безплідністю – зниження лютеїнізуючого гормону та прогестерону. Кореляційний аналіз засвідчив наявність взаємозв'язку між показниками гормонального фону та показниками імунограми.

Доведено доцільність дослідження стану імунної системи при лікуванні безплідності методами допоміжних репродуктивних технологій та обґрунтована необхідність корекції імунної системи в жінок із безплідністю на фоні стимуляції суперовуляції препаратом “Прогінова”. Це

дозволило підвищити ефективність екстракорпорального запліднення в жінок із безплідністю та урогенітальною інфекцією в анамнезі до 42,9%, в той час як без застосування “Прогінови” ефективність настання вагітності склала 28,6%.

**Ключові слова:** безплідність, мікроценоз, імунна система, гормони крові, екстракорпоральне запліднення.

## ANNOTATION

Semeniak A.V. Prophylaxis and medical treatment of complications of urogenital infections in women with sterility while using adjuvant reproductive technologies. Manuscript.

The dissertation on reception of a scientific degree of the candidate of medical sciences on the speciality 14.01.01 – obstetrics and gynecology. – Vinnytsia National Pirohov Memorial Medical University. Ukrainian Ministry of Health Protection, Vinnytsia, 2005.

The paper investigates in a complex, up-to-date way the state of vaginal microbiocenosis, the level of the gonadotropic and steroid hormones and correlations among the obtained findings in women with sterility treated by means of methods of adjuvant reproductive technologies.

It has been established that sterility proceeds against a background of the secondary immunodeficiency stage.

A correlation between the microbiocenosis of the vagina and the cervical canal and the state of the immune system has been proved.

Changes of vaginal microbiocenosis detected in 90% of the women with sterility favour the development of the secondary immunodeficiency state.

In women whose sterility is associated with the absence of ovulation and of tubal origin there exists a hypoestrogenic background with an increased level of the folliclestimulating hormone (FSH) and a decreased level of the luteinizing hormone (LH) with their shift towards FSH. A decrease of progesterone in women whose sterility is due to the absence of ovulation has been noted. An elevation of the FSH level is noted in women with sterility of another nature, whereas one can observe a fall of LH and progesterone in women with unspecified sterility.

The correlation analysis is indicative of presence of a correlation between the parameters of the hormonal background and the parameters of immunograms.

The expediency of investigating the state of immune system, while treating sterility by means of methods of adjuvant reproductive technologies has been proved.

A need of correcting the immune system in women with sterility against a background of stimulating superovulation by means of the “Proginova” medication has been substantiated in a cycle of stimulating superovulation. It has enabled to raise the efficacy of extracorporeal fertilization in women

with urogenital infection in past history up to 42,9%, whereas efficacy without the use of the “Proginova” to stimulate pregnancy has made up 28,6%.

**Key words:** sterility, microbiocenosis, immune system, hormones, extracorporeal fertilization.

## АННОТАЦИЯ

Семеняк А.В. Профилактика и лечение осложнений урогенитальных инфекций у женщин с бесплодием при использовании вспомогательных репродуктивных технологий. 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, 2005.

В работе на современном уровне комплексно исследовано состояние микроценоза влагалища, цервикального канала, иммунной системы, уровень гонадотропных и стероидных гормонов и корреляционные взаимосвязи между полученными данными у женщин с бесплодием при лечении методами вспомогательных репродуктивных технологий и у практически здоровых женщин с сохраненной репродуктивной функцией.

Полученные результаты бактериологических исследований свидетельствуют, что бесплодие протекало на фоне персистенции одновременно нескольких патогенных и условно патогенных микроорганизмов, а также микроорганизмов, которые имеют способность к внутриклеточному паразитизму. Большое многообразие разных видов микроорганизмов, которые персистируют одновременно в указанном биотопе женщин, больных на бесплодие, свидетельствует о полиэтиологичности данного заболевания. Ведущими возбудителями данного процесса были патогенные хламидии, микоплазмы, уреаплазмы, а также стафилококки, эшерихии, дрожжеподобные грибы рода *Candida* и коринебактерии. Наиболее выраженное негативное влияние на лечение бесплодия методом экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов выявлено у женщин с диагностированными внутриклеточными паразитами в анамнезе. Изучение клеточного звена иммунной системы как основного в формировании клеточного иммунного ответа показало, что у пациенток с бесплодием формируется вторичное иммунодефицитное состояние на фоне воспалительных процессов в репродуктивных органах. При этом отмечено снижение Т-лимфоцитов, Т-активных лимфоцитов, Т-лимфоцитов-хелперов/индукторов, Т-лимфоцитов-супрессоров/цитолитических, что влечет за собой нарушение автономной саморегуляции в системе иммунитета, процессов распознавания и супрессорной функции.

Доказана взаимосвязь между микроценозом влагалища, цервикального канала и состоянием иммунной системы. При наличии в анамнезе микрофлоры, которая имеет внутриклеточный

механизм персистенции, отмечена взаимосвязь между ними, титром нормальных антител и IgM. При наличии условно патогенной микрофлоры отмечена взаимосвязь с Т-лимфоцитами, Т-активными лимфоцитами, Т-лимфоцитами-хелперами/индукторами, НСТ-тестом, IgA, титром нормальных антител. При наличии патогенной микрофлоры выявлена взаимосвязь с фагоцитарной активностью, В-лимфоцитами. Изменения микроценоза влагалища, которые выявлены у 90% женщин с бесплодием, содействовали развитию вторичного иммунодефицитного состояния. Последний усиливает не только воспалительный процесс, но и нарушает процессы оплодотворения, поскольку в основе него лежат иммунные механизмы.

У женщин, бесплодие которых связано с отсутствием овуляции и трубного происхождения, наблюдался гипэстрогенный фон с повышенным уровнем фолликулостимулирующего и сниженным уровнем лютеинизирующего гормонов со смещением их соотношения в сторону фолликулостимулирующего. Отмечено снижение прогестерона у женщин, бесплодие которых связано с отсутствием овуляции. У женщин с бесплодием иной природы наблюдалось повышение уровня фолликулостимулирующего гормона, а у женщин с неуточненным бесплодием – снижение лютеинизирующего гормона и прогестерона.

Учитывая, что между иммунной и эндокринной системами есть взаимосвязь, проведен корреляционный анализ между данными иммунограммы и показателями гормонального фона. Корреляционный анализ засвидетельствовал наличие положительной взаимосвязи между эстрадиолом и количеством Т-лимфоцитов, Т-активных лимфоцитов и Т-лимфоцитов-хелперов/индукторов.

Доказана целесообразность исследования состояния иммунной системы при лечении бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий.

С учетом наличия у женщин с бесплодием вторичного иммунодефицитного состояния и корреляционных взаимосвязей между показателями гормонального фона и показателями иммунограммы обоснована необходимость коррекции иммунной системы у женщин с бесплодием на фоне стимуляции суперовуляции препаратом “Прогинова”. Препарат назначался во время стимуляции суперовуляции от 2 до 8 мг в сутки под контролем УЗД в зависимости от толщины эндометрия с шестого дня менструального цикла. С помощью разработанного способа подготовки женщин с бесплодием к проведению вспомогательных репродуктивных технологий и нового способа коррекции иммунного состояния повышена эффективность экстракорпорального оплодотворения у женщин с урогенитальной инфекцией в анамнезе до 42,9%. У женщин, которые не принимали препарат “Прогинова”, положительный результат был в 28,6% случаев. Выше сказанное свидетельствует о целесообразности и необходимости коррекции иммунного фона у женщин с бесплодием препаратами эстрогенов.



**Ключевые слова:** бесплодие, микроценоз, иммунная система, гормоны крови, экстракорпоральное оплодотворение.

### **ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

ВІДС – вторинний імунодефіцитний стан;

ДРТ – допоміжні репродуктивні технології;

ЕКЗ – екстракорпоральне запліднення;

Ig – імуноглобулін;

ІФА – імуноферментний аналіз;

ІФЛ – імунофлуоресцентний метод;

КУО – колоніютворюючі одиниці;

ЛГ – лютропін;

ПЕ – перенос ембріонів;

ФСГ – фолітропін;

ЦК – 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.